

镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性 及组织结构的影响

赵维信 魏 华 贾 江 吕大可

(上海水产大学, 200090)

提 要 对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)成虾六种组织的谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)活性正常值作了测定,其中心脏和绿腺的GPT和GOT活性较高,鳃和肝胰脏次之,卵巢和肌肉较低。不同镉离子浓度(0.37 、 0.74 和 1.48×10^{-6})对罗氏沼虾的急性中毒试验表明,受水中 0.74 和 1.48×10^{-6} Cd^{2+} 影响,心脏、鳃和肝胰脏的GPT和GOT活性显著降低;绿腺的GPT和GOT活性在 0.74×10^{-6} 组显著升高。组织学观察显示, Cd^{2+} 中毒引起鳃丝增粗,鳃丝血腔扩大;肝小管严重萎缩,肝细胞解体;绿腺细胞解体,迷路结构消失。

关键词 镉, GPT, GOT, 组织结构, 罗氏沼虾

目前由于重金属污染水体引起鱼虾中毒情况时有发生,因此对金属毒理研究已越来越为人们所重视。这类研究较多地集中在确定重金属的致死浓度和监测水生动物体内重金属积累量等,而有关重金属中毒的生化效应研究较少。已知重金属是经过抑制代谢而影响水生动物的生命活动。Rainbow(1992)阐述了无脊椎动物对重金属的积累机理;卢敬让等(1989)报道了镉对中华绒螯蟹血清谷丙转氨酶活力的影响。本工作就镉对罗氏沼虾组织中普遍存在的代谢酶—谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)活性的影响进行研究,并观察了罗氏沼虾鳃、肝胰脏和绿腺受镉中毒的组织学变化,以探讨罗氏沼虾重金属中毒致死的机理。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采用性成熟的雌性罗氏沼虾(为用于罗氏沼虾人工育苗的亲虾),体长 $10.9-12.3$ cm,体重 $27.8-33.3$ g。罗氏沼虾从养殖场运至实验室,暂养48小时后进行急性中毒实验。试验分四组,一个对照组,三个处理组。试验是在 $80 \times 40 \times 35$ cm^3 ,有效水体为60升的塑料水箱中进行的。

将分析纯的氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)配成镉离子(Cd^{2+})浓度为 0.37 、 0.74 和 1.48×10^{-6} 三个浓度级。每组放置4尾罗氏沼虾,每天投饵一次,换水两次,水温保持 $23-25^\circ\text{C}$, pH $7.0-8.0$,溶解氧为 $6.7-8.7$ mg/L , $\text{NH}_3\text{-N}$ 为 0.23 mg/L ,各箱用一个充气石不间断地充气。待最高浓

度组死亡虾(或严重昏迷虾)达50%(约处理后9~11小时)时中止实验,进行取样。逐尾解剖取出部分鳃、肝胰脏、卵巢、绿腺、心脏和肌肉等组织。用吸水纸吸去表面水分,天平上准确称重。然后分别用玻璃匀浆器匀浆,以4000转/分钟在4℃离心30分钟,取上清液,用蒸馏水定容至50 ml,放置4℃冰箱,待测定酶活性。同时,用 Bouin's 液固定部分鳃、肝胰脏和绿腺,做石蜡切片并进行组织学观察。

表1 镉对罗氏沼虾的急性中毒试验

Table 1 Acute poisoning experiments of cadmium in *Macrobrachium rosenbergii*

Cd ²⁺ 浓度 ($\times 10^{-6}$)	第一次试验(持续11 h)			第二次试验(持续9 h)		
	试验虾 (尾)	存活虾 (尾)	昏迷虾 (尾)	试验虾 (尾)	存活虾 (尾)	死亡虾 (尾)
对照组	4	4	0	3	3	0
0.37	4	2	2	4	2	2
0.74	4	2	2	4	2	2
1.48	4	0	4	4	1	3

注:死亡虾不取样。

1.2 GPT 和 GOT 活性测定

按赖氏比色法测定。取0.5 ml GPT 或 GOT 基质液,加0.1 ml 组织匀浆稀释液。测 GPT 时在30℃保温30分钟;测 GOT 时在30℃保温60分钟,然后加2,4-二硝基苯肼(1 mM)0.5 ml 混匀,在30℃水浴中保温10分钟,加5 ml NaOH(0.4 N),在碱性条件下于30℃水浴中显色5分钟,用国产721型分光光度计在500 nm 波长下比色。查对标准曲线并计算酶活性,酶活性单位为每100 mg 组织每分钟分解氨基酸产生丙酮酸的微克分子数($\mu\text{g mol}/100 \text{ mg} \cdot \text{min}$)为一个酶单位。

2 结 果

2.1 罗氏沼虾组织中 GPT 和 GOT 活性的正常值如表2

表2 罗氏沼虾组织中 GPT 和 GOT 活性

Table 2 GPT and GOT activities of tissues in *Macrobrachium rosenbergii*

组织	GPT(酶单位) $M \pm SD(n)$	GOT(酶单位) $M \pm SD(n)$
绿腺	1057 $\pm$ 279.7(7)	1222 $\pm$ 384.0(6)
心脏	1245 $\pm$ 298.7(6)	1445 $\pm$ 417.8(6)
鳃	344.3 $\pm$ 87.2(6)	430.7 $\pm$ 76.9(6)
肝胰脏	348.6 $\pm$ 51.2(7)	322.7 $\pm$ 43.4(6)
卵巢	200.5 $\pm$ 31.0(6)	187.5 $\pm$ 32.24(6)
肌肉	117.8 $\pm$ 15.5(6)	74.4 $\pm$ 11.9(6)

六种组织中,心脏和绿腺中的 GPT 和 GOT 活性较高,鳃和肝胰脏次之,卵巢和肌肉中较

低。

2.2 Cd^{2+} 对罗氏沼虾四种组织 GPT 活性的影响见图1

绿腺受水中 Cd^{2+} 影响, GPT 活性呈上升趋势, 0.74×10^{-6} 组的 GPT 活性与对照组之间有显著差异 ($P < 0.05$)。心脏、鳃和肝胰脏受水中 Cd^{2+} 影响, GPT 活性降低, 以心脏最明显, 试验所用的三种 Cd^{2+} 浓度均引起心脏 GPT 活性极显著降低 ($P < 0.001$)。鳃和肝胰脏的 GPT 活性在 0.37×10^{-6} 组与对照组无明显差异 ($P > 0.05$); 肝胰脏的 GPT 活性在 0.74 和 1.48×10^{-6} 组均呈极显著降低 ($P < 0.001$); 鳃的 GPT 活性在 0.74×10^{-6} 组显著降低 ($P < 0.05$), 在 1.48×10^{-6} 组极显著降低 ($P < 0.01$)。

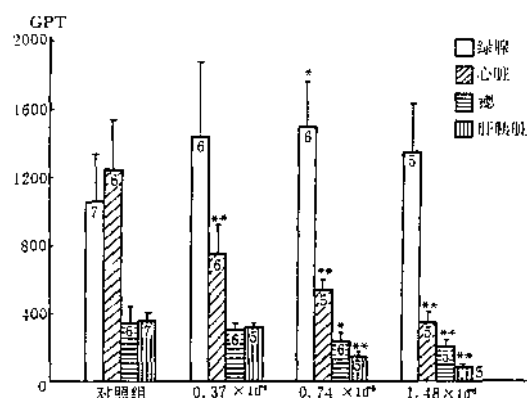


图1 Cd^{2+} 对罗氏沼虾绿腺、心脏、鳃和肝胰脏 GPT 活性的影响。(直方柱内的数字为测定样本数, * 与对照组比较差异显著; ** 与对照组比较差异极显著)。

Fig. 1 Effects of Cd^{2+} on GPT activities of green gland, heart, gill and hepatopancreas in *Macrobrachium rosenbergii*

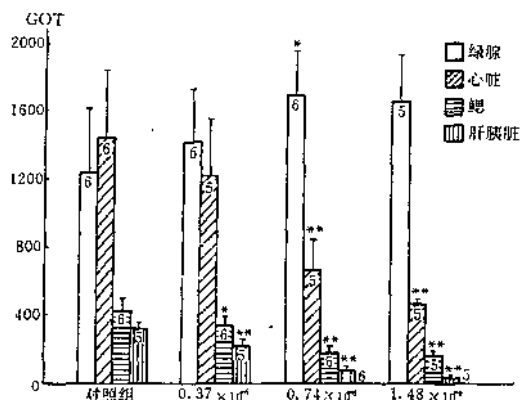


图2 Cd^{2+} 对罗氏沼虾绿腺、心脏、鳃和肝胰脏 GOT 活性的影响。(直方柱内的数字为测定样本数, * 与对照组比较差异显著; ** 与对照组比较差异极显著)。

Fig. 2 Effects of Cd^{2+} on GOT activities of green gland, heart, gill and hepatopancreas in *Macrobrachium rosenbergii*

2.3 Cd^{2+} 对罗氏沼虾四种组织 GOT 活性的影响见图2

绿腺受水中 Cd^{2+} 影响, GOT 活性升高, 在 0.74×10^{-6} 组 GOT 活性升高与对照组之间有显著差异 ($P < 0.05$)。心脏、鳃和肝胰脏受水中 Cd^{2+} 影响, GOT 活性降低, 肝胰脏的 GOT 活性在三种 Cd^{2+} 浓度影响下均呈极显著降低 ($P < 0.01$); 鳃的 GOT 活性在 0.37×10^{-6} 组显著降低 ($P < 0.05$), 在 0.74 和 1.48×10^{-6} 组呈极显著降低 ($P < 0.001$); 心脏的 GOT 活性在 0.37×10^{-6} 组与对照组无显著差异 ($P > 0.05$), 但在 0.74 和 1.48×10^{-6} 组均呈极显著降低 ($P < 0.001$)。

2.4 Cd^{2+} 对罗氏沼虾组织学的影响

2.4.1 Cd^{2+} 对鳃丝的影响(见图版 1)

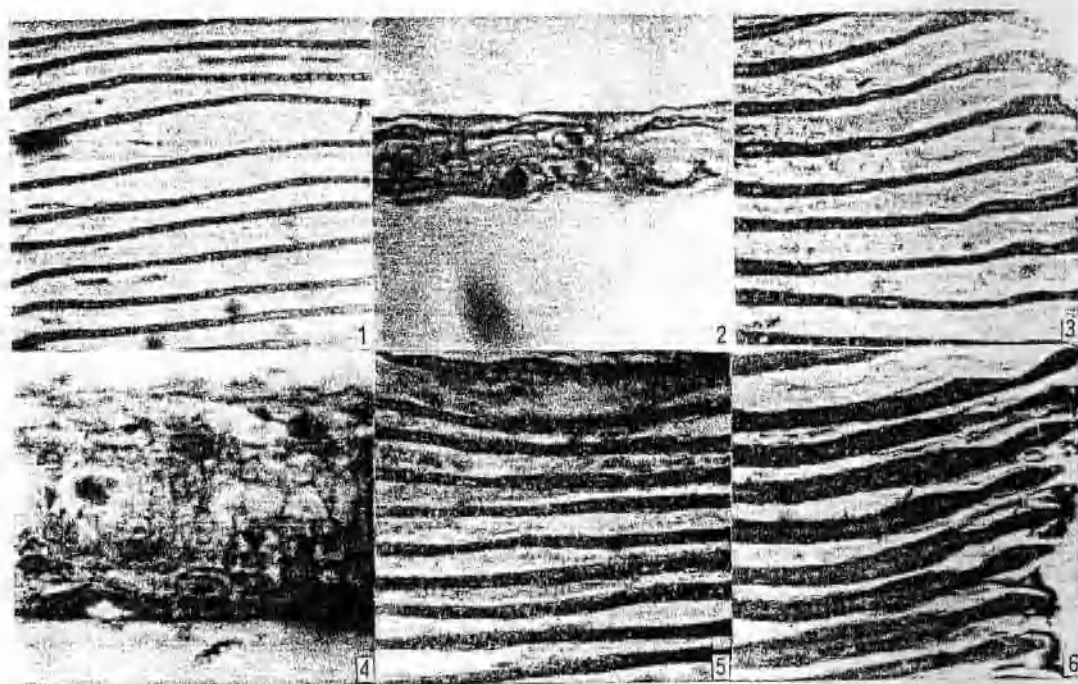
正常鳃丝壁由外表的角质膜和下面的单层扁平上皮细胞组成, 上皮细胞核为扁平长形, 鳃丝的中央为血腔并有血细胞(图版 1—1、2)。鳃丝受水中 Cd^{2+} 影响, 出现鳃丝极显著增粗(见

表3),分泌物增加,但在 1.48×10^{-6} 组的鳃丝分泌物减少;血腔扩大;鳃丝壁受损直至解体(图版 I-3、4、5、6)。

表3 不同 Cd^{2+} 浓度对罗氏沼虾鳃丝增粗的影响

Table 3 Effects of different Cd^{2+} concentration on thickening gill filaments in *Macrobrachium rosenbergii*

Cd^{2+} 浓度 ($\times 10^{-6}$)	样本数 (n)	鳃丝平均厚度(μm) M $\pm$ SD	P 值
对照组	20	13.6 ± 1.57	
0.37	17	28.6 ± 3.20	<0.001
0.74	17	32.2 ± 3.84	<0.001
1.48	17	41.3 ± 4.03	<0.001



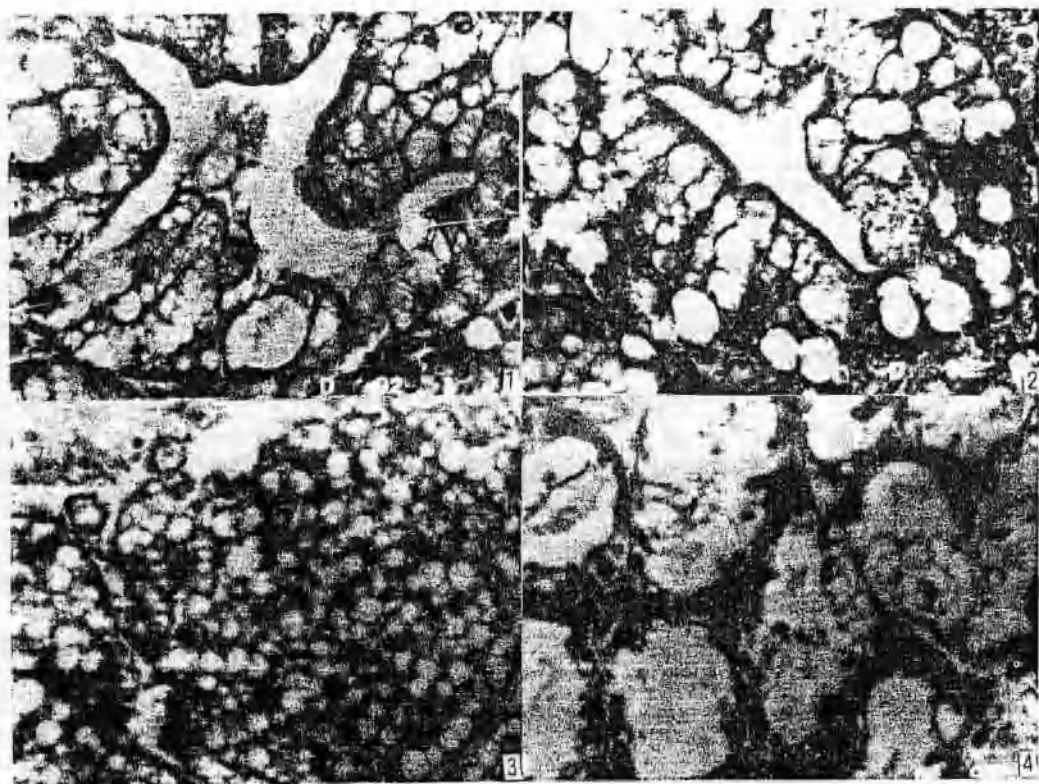
图版 I Cd^{2+} 对罗氏沼虾鳃丝结构的影响

Plate I Effects of Cd^{2+} on the structures of gill filaments in *Macrobrachium rosenbergii*

1, 对照组, 示正常鳃丝($\times 100$); 2. 正常鳃丝的部分放大($\times 1000$); 3. $0.37 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示鳃丝增粗, 分泌物增加($\times 100$); 4. $0.37 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示鳃丝的部分放大($\times 1000$); 5. $0.74 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示鳃丝增粗, 分泌物增加($\times 100$); 6. $1.48 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组示鳃丝增粗, 分泌物减少($\times 100$)。

2.4.2 Cd^{2+} 对肝胰脏的影响(见图版 II)

罗氏沼虾的肝胰脏由无数肝小管组成。每一肝小管由柱状细胞呈辐射状排列而成, 细胞游离端具纹状缘, 细胞核位于细胞近基部, 肝小管的中央为管腔(图版 II-1)。肝小管受水中 Cd^{2+} 影响, 出现肝细胞空泡增多(图版 II-2); 随着 Cd^{2+} 浓度升高, 肝小管萎缩, 肝细胞核缩小, 细胞内含物消失, 肝小管几乎成了空叶(图版 II-3、4)。



图版Ⅱ Cd^{2+} 对罗氏沼虾肝胰脏结构的影响

Plate 1 Effects of Cd^{2+} on the structures of hepatopancreas in *Macrobrachium rosenbergii*

1. 对照组, 示正常肝小管($\times 260$); 2. $0.37 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示肝细胞空泡增多($\times 260$); 3. $0.74 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示肝细胞解体($\times 260$); 4. $1.48 \times 10^{-6} \text{Cd}^{2+}$ 组, 示肝细胞解体, 肝小管萎缩($\times 260$)。

2.4.3 Cd^{2+} 对绿腺的影响(见图版Ⅲ)

绿腺是罗氏沼虾的排泄器官, 绿腺的腺体部为弯曲回迭迷路结构, 由单层上皮细胞构成众多小管状结构。切片上可见两类管腔横切面, 一类管腔相对较小, 管壁较厚, 管壁细胞近似立方形; 另一类管腔相对较大, 管壁较薄, 管壁细胞为扁柱状。管壁上皮细胞界限不清楚, 核圆形或椭圆形, 具4—5个核仁; 上皮细胞的游离端具刷状缘(图版Ⅲ—1、2)。受水中 Cd^{2+} 影响, 绿腺上皮细胞核缩小; 在高 Cd^{2+} 浓度下, 细胞核缩小成致密的一团(图版Ⅲ—3、4), 细胞解体, 迷路结构消失。

3 讨 论

谷丙转氨酶和谷草转氨酶是广泛存在于动物细胞线粒体中的重要氨基转移酶, 在机体蛋白质代谢中起着重要作用。本工作首次证明在罗氏沼虾的组织细胞中也广泛存在这两种氨基转移酶活性, 其中以心脏和绿腺中较高, 鳃和肝胰脏中次之, 卵巢和肌肉中较低。

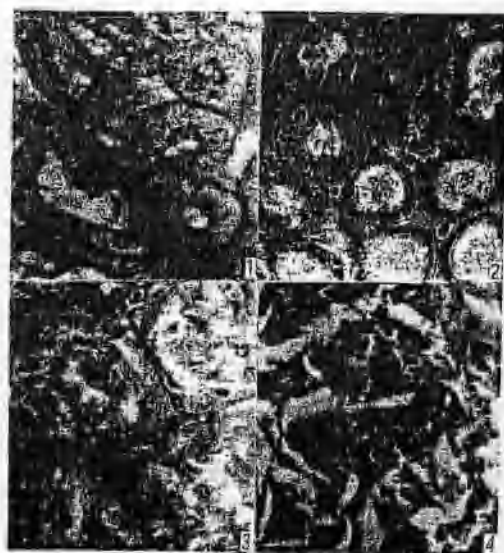
脊椎动物在正常情况下, 组织细胞内的转氨酶只有少量被释放到血浆中, 因此, 血清中的转氨酶活性较小。当组织病变而引起细胞膜通透性增加, 或者受损伤的组织范围较大时, 细胞内的转氨酶大量释放出来进入血浆。卢敬让等[1989]研究了中华绒螯蟹血清 GPT 活性, 在不

同镉浓度条件下,血清 GPT 活性随镉浓度增加而升高;本研究证明罗氏沼虾受镉中毒后,心脏、鳃、肝胰脏等组织的 GPT 和 GOT 活性降低,由此说明,低等无脊椎动物,虾、蟹等甲壳动物在组织发生病变或大面积受损伤时,血清中 GPT 和 GOT 浓度升高,主要来源于心脏、鳃和肝胰脏。绿腺的 GPT 或 GOT 活性在受 Cd^{2+} 影响后,表现为活性升高,说明 GPT 和 GOT 未大量进入血液。绿腺在 Cd^{2+} 中毒后,转氨酶活性变化与心脏、鳃和肝胰脏截然不同。

当动物暴露在含重金属镉的水体中, Cd^{2+} 通过鳃和消化道进入体内,是被动的过程,无需消耗能量,由于高亲和力的重金属离子容易与蛋白质结合而被细胞吸收[Rainbow, 1992],通过抑制细胞线粒体的氧化磷酸化作用使细胞膜的物理通透性增加[卢敬让等, 1989],就更增加了有毒物质的进入,致使线粒体膜破裂,甚至细胞解体。本工作的组织学观察中,肝细胞受重金属中毒后,细胞质内空泡增加,这与在镉中毒的中华绒螯蟹肝细胞的观察[卢敬让等, 1989]和锌中毒的中国对虾肝细胞的观察[张克俭, 1993]相一致。根据卢敬让、赖伟[1991]亚显微结构研究表明,镉中毒引起中华绒螯蟹肝细胞线粒体膨大、内嵴减少或消失,内质网膨胀,这些都表现为细胞质空泡化。

Thurberg 等[1973]发现镉引起河口蟹鳃组织耗氧量降低; Cd^{2+} 中毒导致鳃上皮细胞主动转运体系损伤,使物质主动转运机制和渗透压调节能力削弱以致消失[卢敬让, 赖伟, 1991],鳃上皮细胞膜的物理通透性增加,至使细胞解体。由于鳃丝直接与外界水接触, Cd^{2+} 中毒使上皮层通透性增加,水分渗入血腔导致鳃丝明显增粗,大体解剖外观为鳃叶肿胀。在低 Cd^{2+} 浓度组 ($0.37, 0.74 \times 10^{-6}$) 尚可见到鳃上皮细胞受到刺激后,分泌物增加,而在高 Cd^{2+} 浓度组,分泌物又趋减少,表明上皮细胞的分泌功能已受抑制或上皮细胞已严重受损并临近解体。

绿腺是虾、蟹(十足类)成体的排泄器官,本工作观察表明,罗氏沼虾绿腺的迷路结构与螯虾[李永才, 黄溢明, 1984]相类似,具有与脊椎动物近球小管相似的结构,细胞游离端具刷状缘[Linda, H., 和 Linda, L., 1983]。绿腺受水中 Cd^{2+} 影响, GPT 和 GOT 活性呈上升趋势,表明 Cd^{2+} 对绿腺细胞的 GPT 和 GOT 有激活作用,这与排泄器官有较强的解毒作用是一致的。据报道,金属硫蛋白主要存在于脊椎动物的近曲小管细胞内,当金属硫蛋白有足够贮存量时,可通过镉被结合而保护肾小管不受损害[纪云晶, 1991];贝类、甲壳类和鱼类等可以通过金属硫蛋白与重金属结合或形成小分子量金属络合物,或形成细胞内金属颗粒积累和贮存重金属并使之解毒[刘发义、吴玉霖, 1988]。本研究结果表明,在 Cd^{2+} 影响下,可能由于绿腺迷路细胞解毒作用增强,相应细胞的 GPT 和 GOT 活性升高,尽管在高 Cd^{2+} 浓度组,迷路结构已解体, GPT



图版 III Cd^{2+} 对罗氏沼虾绿腺结构的影响
Plate III Effects of Cd^{2+} on the structures of green gland in *Macrobrachium rosenbergii*
1, 2. 对照组, 示正常绿腺的迷路结构, 由单层上皮细胞构成众多的小管 ($\times 530$); 3. 0.74×10^{-6} Cd^{2+} 组, 示小管的上皮细胞开始解体 ($\times 530$); 4. 1.48×10^{-6} Cd^{2+} 组, 示小管结构消失, 细胞核收缩 ($\times 530$)。

和 GOT 活性仍较高,表明绿腺对重金属 Cd^{2+} 的耐受能力较强。由此可以认为绿腺可能是罗氏沼虾乃至其它十足目甲壳动物重金属解毒的主要场所。

参 考 文 献

- [1] 卢敬让等, 1989. 镉对中华绒螯蟹肝 R-细胞亚显微结构及血清谷丙转氨酶(SGPT)活力的影响. 青岛海洋大学学报, 19(2):61-68.
- [2] 卢敬让、赖伟, 1991. 镉对中华绒螯蟹组织及亚显微结构的影响. 海洋与湖沼, 22(6):565-570.
- [3] 纪云晶主编, 1991. 实用毒理学手册, pp. 13-67. 中国环境出版社(京).
- [4] 刘发义、吴玉霖, 1988. 重金属污染物在海洋生物体内的积累和解毒机理. 海洋科学, (5):63-66.
- [5] 李永才、黄溢明主编, 1984. 比较生理学, pp. 175-199. 高等教育出版社(京).
- [6] 张克俭, 1993. 锌和氮氮对对虾肝脏的毒性作用. 水产学报, 17(1):52-59.
- [7] Rainbow, P. S., 1992. 海洋生物对重金属的积累及意义. 海洋环境科学, 11(1):44-55.
- [8] Linda, H. Mantal and Linda, L. Farmer, 1983. Osmotic and Ionic Regulation. In "The Biology of Crustacea" Dorothy, E. Bliss Editor in Chief, Vol. 5, pp. 54-143. Academic Press, Inc., New York.
- [9] Thurberg, F. P. et al., 1973. Effects of copper and cadmium on osmoregulation and oxygen consumption in two species of estuarine crabs. Mar. Biol. 23:171-175.

EFFECTS OF CADMIUM ON TRANSAMINASE ACTIVITIES AND STRUCTURES OF TISSUES IN FRESHWATER GIANT PRAWN (*MACROBRACHIUM ROSENBERGII*)

Zhao Weixin, Wei Hua, Jia Jiang and Lu Dake

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT The normal values of activities of glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and glutamic-oxalacetic transaminase (GOT) in the six kinds of tissues of *Macrobrachium rosenbergii* were determined. The activities of GPT and GOT were more higher in heart and green gland, the medium in gill and hepatopancreas and lower in ovary and muscle.

Acute poisoning experiments on *M. rosenbergii* were carried out at varying ionic concentrations of cadmium (0.37 , 0.74 and 1.48×10^{-6}). The activities of GPT and GOT of heart, gill and hepatopancreas showed significant decrease at 0.74 and 1.48×10^{-6} groups. The activities of GPT and GOP of green gland showed a significant rising at 0.74×10^{-6} group. The effects of cadmium on the histological structures of gill, hepatopancreas and green gland were observed by means of light microscope. The results showed that the gill filaments were thickened and the haemolymph spaces were enlarged with the Cd^{2+} concentration increasing; the volume of hepatic tubule reduced and the liver cells broke down at high Cd^{2+} concentration; the cells of green gland broke down and the structure of labyrinth disappear at high Cd^{2+} concentration.

KEYWORDS cadmium, GPT, GOP, histological structures, *Macrobrachium rosenbergii*