DOI:10.19789/j.1004-9398.2019.03.009

Pb^{2+} 对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响*

叶文斌[1,2,3**] 何玉鹏[1,2] 文晓晓[1] 尤旦娃[1] 赵 丽[1] 杨 滟[1]

(1. 陇南师范高等专科学校,农林技术学院,甘肃 成县 742500; 2. 陇南特色农业生物资源研究开发中心,甘肃 成县 742500; 3. 甘肃省农业固体废弃物资源化利用重点实验室,甘肃 天水 741000)

摘要: 为了研究 Pb^{2+} 对果蝇生育力和寿命及抗氧化能力的影响,以黑腹果蝇(*drosophila melanogaster*)为研究对象,考查不同浓度的 Pb^{2+} 对果蝇生存能力的影响,包括果蝇子一代到子四代(F_1 至 F_4)代生育力和寿命的变化,雌、雄果蝇数量的变化,抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活力及丙二醛(MDA)含量的变化. 结果表明,添加不同浓度的 Pb^{2+} 使 F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇世代生育力减弱,寿命降低,果蝇体内 MDA 含量大量积累,SOD 和 CAT 活性急剧降低,降低了果蝇的抗氧化能力,导致果蝇提前衰老、降低或丧失生殖能力甚至死亡,而高浓度的 Pb^{2+} 对雌、雄果蝇性别分化产生影响,分别为 1.316∶1 和 1.165∶1,果蝇世代总量雌、雄果蝇性别比为 1.115∶1.

关键词: Pb^{2+}; 黑腹果蝇; 生育力; 寿命; 抗氧化能力

中图分类号: Q355; R135.1

0 引 言

铅是有毒重金属,也是一种广泛存在的环境污染物,污染范围已由职业环境扩大到生活环境,对人体健康造成较大危害[1],近年来大量研究表明,慢性铅中毒对神经系统、免疫系统、生殖系统、肝、肾、脾等全身各系统和器官均有毒性作用,导致如心肌炎、心脏传导功能障碍、改变心肌细胞膜通透性等疾病也越来越多[2-3]. 铅对动物及人群毒理作用常表现为减少精液量,降低精子活力和密度,增加畸形率[4],血清中睾酮黄体生成素、卵泡刺激素和雌二醇水平波动较大,使内分泌功能紊乱[5-7],刺激月经周期和经期异常,引起不良妊娠和子代生长发育缺陷[8-9];铅还能聚积在细胞核内,干扰细胞增殖和 DNA 的合成,影响 DNA 复制的精确性而导致染色体丢失[10]. 果蝇具有生存期短、繁殖量大、饲养简便和反应灵敏等优点,因其代谢系统、生理功能、性别决定和生长发育等方面同哺乳动物基本相似,故较多地将其应用于衰老或寿命等方面的研究[11-12],同时果蝇是真核生物,具有与人类相似的生长、发育、繁殖、衰老等阶段. 果蝇的应用相当广泛,在药物和功能食品研究中,果蝇常用作延缓衰老实验模型,特别是在遗传生物学和毒理学评价方法中应用较多[13].

动物体内铅的积累会影响其正常生长、发育、生殖及衰老,甚至会发生病变和死亡. 因此,本文以模式动物黑腹果蝇(*drosophila melanogaste*)为研究对象,采用生存实验及统计分析方法研究不同浓度铅处理对果蝇的毒理作用,分析探讨铅对果蝇寿命和生育力及抗氧化能力的影响,以期为环境中重金属元素铅对果蝇生长发育影响的研究提供证据.

1 材料与方法

1.1 实验试剂及仪器

恒温生化培养箱(宁波东南仪有限公司). 高温灭菌锅(上海三申医疗器械有限公司). 超净工作台(山东博客科学仪器有限公司). 电子天平(福州华志科学有限公司). 组织匀浆器(上海垒固仪器有限公司). L5 紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司). 高速冷冻离心机(北京时代北利离心机有限公司). 电炉(上海圣科仪器设备有限公司). 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号 20160822)、过氧化氢酶(CAT)试剂盒(批号 20170509)、MDA 试剂盒(批号 20170729)均由南京

收稿日期: 2018-07-11

* 甘肃省自然科学基金项目(1107RJZK243);甘肃省委组织部陇原青年创新人才扶持计划项目(2015-13);甘肃省高等学校科研项目(2017A-257);陇南市科技计划项目(2016-09)

** 通信作者: yewenbinbest@sohu.com

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

建成生物工程研究所提供. 乙醚、乙醇、丙酸、硝酸铅均为分析纯(西安天茂化工有限公司). 蔗糖、琼脂、酵母膏[卡迈舒(上海)生物科技有限]. 玉米粉(购自陇南成县五洲超市).

1.2　研究对象

野生型黑腹果蝇(*drosophila melanogaster*)由西北师范大学遗传学实验室提供,培养于温度为25℃,相对湿度为65%的恒温恒湿培养箱.

1.3　实验方法

基本培养基用250 mL蒸馏水,28 g玉米粉,22 g蔗糖,2.5 g琼脂,2 mL丙酸和2.5 g鲜酵母加热配制[11]. 在基本培养基中加入 $Pb(NO_3)_2$ 溶液,浓度分别为 1.0×10^{-2}、1.0×10^{-3}、1.0×10^{-4} 和 1.0×10^{-5} g/mL,设基本培养基为对照组.

1.3.1　生育力测定

在无菌状态下,每瓶各接种10对未交配的雄果蝇和处女蝇放入上述培养基中,7 d后移去亲本,待出现子一代(F_1)果蝇时,按性别分别统计数量和性别比,在观察记载的同时,随机取出10对未交配的 F_1 代雌、雄果蝇重新放入新培养基中作继代培养,繁殖子二代(F_2),F_2 代再继代培养至子三代(F_3),F_3 代再继代培养至子四代(F_4),每处理设10个重复,分别统计其数量和性别比[11].

1.3.2　寿命测定

收集未交配的雌、雄果蝇隔离培养,每瓶各接入50只,两种培养基各接10瓶(5♀,5♂),每天观察,记录死亡个体数,直到最后一只果蝇死亡[11]. 对统计的结果进行整理,计算出平均寿命和最高寿命,平均寿命 = 每组所有果蝇寿命之和 ÷ 果蝇总数; 最高寿命 = 每组最后4只果蝇生存时间的总和 ÷4; 从生育力实验中取 F_2 至 F_4 代进行寿命实验,方法同前,以比较其与前者死亡率的差异.

1.3.3　果蝇抗氧化活性测定

将培养30 d的果蝇50只,移入含有湿润滤纸的空白管中,用乙醚使其麻醉、称重后放入4 ℃预冷的研钵中,按49∶1(μL/mg)的比例加入预冷的生理盐水,充分研磨后,经冷冻离心机3 500 转/min离心15 min,离心半径3cm,取上清液进行抗氧化能力的测定. 超氧化物歧化酶(SOD)活力、过氧化氢酶(CAT)活力、丙二醛(MDA)含量及测试液中蛋白质含量均采用对应试剂盒进行测定. 所需试剂均严格按照试剂盒说明书配制,测定方法严格遵循试剂说明书的操作进行.

1.4　数据统计与分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示. 所有实验数据SPSS17.0软件统计分析,用单因素方差分析进行对照与各处理的显著性检验. $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2　结　果

2.1　Pb^{2+} 对果蝇生育力的影响

不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇世代生育力、世代生育总量和性别比的统计结果列于表1~3. 随着 Pb^{2+} 浓度的升高,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇数量均呈现出降低的趋势. 在 Pb^{2+} 浓度为 1×10^{-5} g/mL 时,雌、雄果蝇数量和果蝇世代总量均低于对照组,与对照组相比存在统计学差异($t=0.006\ 5$,$P<0.01$); 当 Pb^{2+} 浓度为 1×10^{-2} g/mL 时,雌、雄果蝇数量和果蝇世代总量是对照的50%左右; 在 Pb^{2+} 浓度为 1×10^{-5} 和 1×10^{-4} g/mL 时,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值变化不大,总体接近于1∶1; Pb^{2+} 浓度为 1×10^{-3} g/mL 时,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值发生了明显的变化,F_1 至 F_2 代雌、雄果蝇数量的比值变化不大,总体接近于1∶1,F_3 至 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值为1.116∶1 和 1.143∶1; 随着 Pb^{2+} 浓度升高为1×

表1　不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇世代生育力统计($\bar{x}\pm s$,只)

浓度/(g·mL^{-1})	只数	子一代		子二代		子三代		子四代	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	372±4	366±3	365±3	360±2	382±3	376±2	359±4	362±3
1×10^{-5}	50	222±2[a]	225±2[a]	216±1[a]	203±1[a]	192±2[a]	177±0[a]	194±2[a]	182±2[a]
1×10^{-4}	50	216±2[a]	219±2[a]	209±1[a]	197±1[a]	187±1[a]	171±1[a]	181±2[a]	168±2[a]
1×10^{-3}	50	194±2[a]	201±3[a]	180±1[a]	173±2[a]	154±2[a]	138±1[a]	136±2[a]	119±3[a]
1×10^{-2}	50	183±3[a]	184±2[a]	159±1[a]	145±1[a]	129±2[a]	98±0[a]	120±3[a]	103±2[a]

注: [a] 与0浓度组相比,$t=0.006\ 5\sim0.008\ 1$,$P<0.01$

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 2 不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇世代生育总量统计($\bar{x} \pm s$,只)

浓度/($g \cdot mL^{-1}$)	只数	子一代	子二代	子三代	子四代	合计		
						♀	♂	♀ + ♂
0	50	738 ± 3	725 ± 3	758 ± 2	721 ± 3	1 478 ± 2	1 464 ± 3	2 942 ± 7[a]
1×10^{-5}	50	447 ± 2[a]	419 ± 2[a]	369 ± 3[a]	376 ± 3[a]	824 ± 3[a]	787 ± 4[a]	1 611 ± 7[a]
1×10^{-4}	50	435 ± 3[a]	406 ± 2[a]	358 ± 3[a]	349 ± 3[a]	793 ± 4[a]	755 ± 4[a]	1 548 ± 7[a]
1×10^{-3}	50	395 ± 2[a]	353 ± 2[a]	292 ± 3[a]	255 ± 3[a]	664 ± 4[a]	631 ± 4[a]	1 295 ± 8[a]
1×10^{-2}	50	367 ± 2[a]	304 ± 2[a]	227 ± 2[a]	223 ± 2[a]	591 ± 2[a]	530 ± 4[a]	1 121 ± 7[a]

注:[a] 与 0 浓度组相比,$t = 0.007\ 1 \sim 0.008\ 9$,$P < 0.01$

表 3 不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇世代性别比统计结果(♀:♂)

浓度/($g \cdot mL^{-1}$)	子一代	子二代	子三代	子四代	合计
0	1.016:1	1.014:1	1.016:1	0.992:1	1.010:1
1×10^{-5}	0.987:1	1.064:1	1.085:1	1.066:1	1.047:1
1×10^{-4}	0.986:1	1.061:1	1.094:1	1.077:1	1.050:1
1×10^{-3}	0.965:1	1.040:1	1.116:1	1.143:1	1.052:1
1×10^{-2}	0.995:1	1.097:1	1.316:1	1.165:1	1.115:1

10^{-2} g/mL 时,F_3 至 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值为 1.316:1 和 1.165:1,果蝇世代总量雌、雄果性别比为 1.115:1,结果表明 Pb^{2+} 对果蝇生育力的影响雄性大于雌性.

2.2 Pb^{2+} 对果蝇寿命的影响

不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇世代寿命和累积世代寿命的统计结果列于表 4 和表 5. 随着 Pb^{2+} 浓度的升高,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇的寿命均呈出降低的趋势. 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-2} g/mL 时,与其他组相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇的寿命,雌、雄果蝇的总寿命和雌、雄果蝇的最长寿命都最低,雌、雄果蝇的寿命分别为(41.92 ± 0.16)和(36.88 ± 0.35) d,对照组的寿命分别为(59.59 ± 0.58)和(58.68 ± 0.51) d;雌、雄果蝇的最长寿命分别为(56.68 ± 0.41)和

表 4 不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇不同世代寿命统计($\bar{x} \pm s$,d)

浓度/($g \cdot mL^{-1}$)	只数	子一代		子二代		子三代		子四代	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	58.36 ± 0.65	57.61 ± 0.45	59.64 ± 0.25	60.51 ± 0.99	61.54 ± 0.23	57.74 ± 0.25	58.81 ± 0.36	58.87 ± 0.56
1×10^{-5}	50	53.26 ± 0.33[a]	51.67 ± 0.41[a]	56.64 ± 0.65[a]	57.48 ± 0.63[a]	52.57 ± 0.12[a]	49.58 ± 0.25[a]	52.47 ± 0.34[a]	47.59 ± 0.25[b]
1×10^{-4}	50	52.54 ± 0.25[a]	46.39 ± 0.21[b]	54.44 ± 0.36[a]	55.52 ± 0.25[a]	49.57 ± 0.19[b]	42.48 ± 0.35[b]	44.54 ± 0.27[b]	42.51 ± 0.27[b]
1×10^{-3}	50	46.51 ± 0.51[b]	42.55 ± 0.23[b]	46.25 ± 0.65[b]	43.17 ± 0.21[b]	45.44 ± 0.28[b]	40.73 ± 0.27[b]	42.27 ± 0.25[b]	38.53 ± 0.36[b]
1×10^{-2}	50	39.52 ± 0.29[b]	40.27 ± 0.39[b]	45.57 ± 0.37[a]	40.45 ± 0.19[a]	43.42 ± 0.19[b]	33.53 ± 0.63[b]	39.17 ± 0.57[b]	33.28 ± 0.87[b]

注:[a] 与 0 浓度组相比,$t = 0.006\ 7 \sim 0.008\ 4$,$P < 0.01$;[b] 与 0 浓度组相比,$t = 0.038\ 2 \sim 0.045\ 3$,$P < 0.05$

表 5 不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇累积世代寿命统计($\bar{x} \pm s$,d)

浓度/($g \cdot mL^{-1}$)	只数	累积寿命		累积平均		累积最高寿命	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	238.35 ± 3.96	234.73 ± 4.65	59.59 ± 0.58	58.68 ± 0.51	84.39 ± 0.69	83.25 ± 0.75
1×10^{-5}	50	214.94 ± 3.65[a]	206.32 ± 2.16[a]	53.74 ± 0.54[b]	51.58 ± 0.25[b]	74.59 ± 0.62[b]	76.26 ± 0.33[b]
1×10^{-4}	50	201.09 ± 2.95[a]	186.90 ± 2.68[a]	50.27 ± 0.77[b]	46.73 ± 0.65[a]	69.67 ± 0.35[a]	71.60 ± 0.29[b]
1×10^{-3}	50	180.47 ± 2.31[a]	164.98 ± 0.61[a]	45.12 ± 0.53[a]	41.25 ± 0.43[a]	63.27 ± 0.31[a]	65.63 ± 0.14[a]
1×10^{-2}	50	168.68 ± 2.49[a]	147.53 ± 0.22[a]	41.92 ± 0.16[b]	36.88 ± 0.35[a]	56.68 ± 0.41[a]	57.61 ± 0.25[a]

注:[a] 与 0 浓度组相比,$t = 0.004\ 9 \sim 0.009\ 0$,$P < 0.01$;[b] 与 0 浓度组相比,$t = 0.036\ 7 \sim 0.048\ 4$,$P < 0.05$

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(57.61 ± 0.25) d,对照组的最长寿命分别为(84.39 ± 0.69)和(83.25 ± 0.75) d. Pb^{2+} 浓度在 1.0×10^{-3} ~ 1.0×10^{-5} g/mL 时,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇的寿命逐渐升高. 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-5} g/mL 时,与其他浓度相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇寿命,雌、雄果蝇的总寿命和雌、雄果蝇的最长寿命都最高,但仍低于对照,与对照组相比存在显著性差异($t=0.008\ 4$,$P<0.01$).

2.3 Pb^{2+} 对果蝇抗氧化酶的影响

不同浓度 Pb^{2+} 对雌、雄果蝇体内 SOD、CAT 活性和 MDA 含量的统计结果列于表 6 ~ 8. 随着 Pb^{2+} 浓度的升高,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内 SOD 和 CAT 活性均呈现出降低的趋势. 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-2} g/mL 时,与其他浓度相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内 SOD 和 CAT 活性都最低,与对照相比存在极显著差异($t=0.009\ 2$,$P<0.01$). 当 Pb^{2+} 浓度在 1.0×10^{-5} ~ 1.0×10^{-3} g/mL 时 F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内的 SOD 和 CAT 活性逐渐升高. 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-5} g/mL 时,与其他浓度相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内的 SOD 和 CAT 活性都最高,但仍极显著高于对照($t=0.005\ 2$,$P<0.01$). 随着 Pb^{2+} 浓度的升高,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内 MDA 含量均呈现明显的升高趋势,与果蝇体内 SOD 和 CAT 活性呈相反趋势. 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-2} g/mL 时,与其他浓度相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇体内 MDA 含量是最高的,与其他浓度相比存在极显著的差异($t=0.007\ 3$,$P<0.01$). 当 Pb^{2+} 浓度为 1.0×10^{-5} g/mL 时,与其他浓度相比,F_1 至 F_4 代雌、雄果

表 6　不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇超氧化物歧化酶活性的影响结果($\bar{x}\pm s$, U/mg·pro)

浓度/(g·mL^{-1})	只数	子一代		子二代		子三代		子四代	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	27.23 ± 0.21	30.73 ± 0.28	28.21 ± 0.25	31.71 ± 0.32	26.72 ± 0.57	31.12 ± 0.54	27.01 ± 0.67	30.56 ± 0.61
1×10^{-5}	50	42.02 ± 0.74[a]	45.67 ± 0.85[a]	44.34 ± 0.28[a]	47.49 ± 0.9[a]	44.24 ± 0.68[a]	47.86 ± 0.57[a]	44.25 ± 0.32[a]	46.20 ± 0.47[a]
1×10^{-4}	50	37.09 ± 0.79[a]	40.59 ± 0.68[a]	39.01 ± 0.27[a]	43.54 ± 0.45[a]	39.12 ± 0.67[a]	43.59 ± 0.73[a]	41.06 ± 0.25[a]	44.28 ± 0.78[a]
1×10^{-3}	50	32.32 ± 0.34[a]	35.82 ± 0.41[b]	34.54 ± 0.38[a]	38.04 ± 0.49[b]	33.22 ± 0.45[a]	36.74 ± 0.37[b]	33.11 ± 0.43[a]	36.44 ± 0.31[b]
1×10^{-2}	50	21.01 ± 0.15[a]	24.51 ± 0.41[a]	23.24 ± 0.28[a]	26.74 ± 0.78[a]	23.18 ± 0.47[a]	26.74 ± 0.54[a]	23.15 ± 0.35[a]	26.39 ± 0.34[a]

注: [a] 与 0 浓度组相比,$t=0.005\ 2$ ~ $0.009\ 2$,$P<0.01$; [b] 与 0 浓度组相比,$t=0.034\ 1$ ~ $0.047\ 6$,$P<0.05$

表 7　不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇过氧化物酶活性的影响结果($\bar{x}\pm s$, U/mg·pro)

浓度/(g·mL^{-1})	只数	子一代		子二代		子三代		子四代	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	7.51 ± 0.24	8.75 ± 0.23	7.68 ± 0.35	8.92 ± 0.56	7.34 ± 0.66	8.64 ± 0.72	7.01 ± 0.61	8.74 ± 0.47
1×10^{-5}	50	11.24 ± 0.61[a]	12.47 ± 0.72[a]	12.12 ± 0.78[a]	13.36 ± 0.56[a]	12.31 ± 0.71[a]	13.42 ± 0.88[a]	12.15 ± 0.43[a]	13.35 ± 0.64[a]
1×10^{-4}	50	9.14 ± 0.38[a]	10.38 ± 0.42[a]	9.24 ± 0.69[a]	10.46 ± 0.77[a]	9.25 ± 0.68[a]	10.49 ± 0.71[a]	9.03 ± 0.23[a]	10.43 ± 0.55[a]
1×10^{-3}	50	8.04 ± 0.24[a]	9.28 ± 0.17[b]	8.54 ± 0.34[a]	9.78 ± 0.48[b]	8.02 ± 0.37[a]	9.32 ± 0.99[b]	8.41 ± 0.68[a]	9.77 ± 0.83[b]
1×10^{-2}	50	5.24 ± 0.14[a]	6.48 ± 0.71[a]	5.48 ± 0.29[a]	1.70 ± 0.50[a]	5.52 ± 0.57[a]	6.75 ± 0.73[a]	6.57 ± 0.78[a]	7.87 ± 0.94[b]

注: [a] 与 0 浓度组相比,$t=0.006\ 4$ ~ $0.008\ 6$,$P<0.01$; [b] 与 0 浓度组相比,$t=0.046\ 5$ ~ $0.048\ 9$,$P<0.05$

表 8　不同浓度 Pb^{2+} 对果蝇丙二醛含量的影响结果($\bar{x}\pm s$, nmol/mg)

浓度/(g·mL^{-1})	只数	子一代		子二代		子三代		子四代	
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0	50	0.95 ± 0.02	1.13 ± 0.02	0.92 ± 0.07	1.10 ± 0.06	0.94 ± 0.05	1.12 ± 0.03	0.91 ± 0.06	1.09 ± 0.05
1×10^{-5}	50	0.78 ± 0.06[a]	0.84 ± 0.08[b]	0.81 ± 0.03[a]	0.91 ± 0.03[b]	0.75 ± 0.03[a]	0.85 ± 0.05[a]	0.69 ± 0.02[a]	0.85 ± 0.06[b]
1×10^{-4}	50	0.82 ± 0.06[a]	1.00 ± 0.04[b]	0.91 ± 0.04[a]	0.99 ± 0.04[b]	0.83 ± 0.05[a]	1.03 ± 0.08[b]	0.76 ± 0.04[a]	0.94 ± 0.06[b]
1×10^{-3}	50	0.96 ± 0.07[a]	1.04 ± 0.05[b]	0.93 ± 0.06[a]	1.01 ± 0.04[b]	0.89 ± 0.04[a]	1.07 ± 0.03[b]	0.81 ± 0.04[a]	0.99 ± 0.06[b]
1×10^{-2}	50	2.12 ± 0.05[a]	2.30 ± 0.02[b]	2.11 ± 0.04[a]	2.29 ± 0.03[a]	2.14 ± 0.03[a]	2.39 ± 0.03[a]	2.38 ± 0.02[a]	2.65 ± 0.05[a]

注: [a] 与 0 浓度组相比,$t=0.005\ 6$ ~ $0.007\ 7$,$P<0.01$; [b] 与 0 浓度组相比,$t=0.041\ 7$ ~ $0.047\ 3$,$P<0.05$

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

蝇体内的 MDA 含量都是最低的,与对照组相比存在极显著的差异($t=0.006\ 8$,$P<0.01$),这也说明,随着 Pb^{2+} 浓度的降低,Pb^{2+} 对果蝇的毒害作用在逐渐减弱,果蝇的抗氧化作用也在逐渐增强. 在不同 Pb^{2+} 浓度处理下雌性果蝇体内 SOD、CAT 活性和 MDA 含量均低于雄性果蝇体内的含量,这也说明,雄性果蝇的抗氧化作用强于雄性果蝇.

3 讨 论

铅是一种用途广泛的重金属,可经呼吸道、消化道等不同途径进入人体并产生较强的毒性,可影响大脑皮层兴奋与抑制的平衡,以及对周围神经产生直接损伤,也会与巯基蛋白结合并抑制酶的活力和氧化磷酸化,干扰人体的正常代谢,同时还会损害小动脉和毛细血管,导致血管痉挛,将明显增加心血管疾病患者的死亡风险[14-16]. 果蝇因为具有生存期短、繁殖快、反应灵敏、培养和管理方便,且代谢途径、生理功能和发育阶段同哺乳动物基本类似等特性常被用作动物模型来研究抗衰老活性及动物抗衰老机制[17]. 本研究以果蝇为研究对象,探讨了不同浓度的 Pb^{2+} 对果蝇生育力和寿命的影响,并以抗氧化酶活性 SOD 和 CAT 活以及脂质过氧化酶产物 MDA 含量为指标评价了的抗氧化活性. 结果表明,添加不同 Pb^{2+} 浓度使 F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇世代生育力减弱,寿命降低,当 Pb^{2+} 浓度达 1.0×10^{-2} g/mL 时效果最为明显,这时果蝇体内 MDA 含量大量积累,SOD 和 CAT 活性急剧降低,使果蝇提前衰老、死亡并且降低或丧失生殖能力,F_3 和 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值为 1∶1.316 和 1∶1.165,果蝇世代总量雌、雄果性别比为 1∶1.113,这种结果表明 Pb^{2+} 对果蝇生育力的影响雄性大于雌性. 而在 Pb^{2+} 浓度较低时(1.0×10^{-5} g/mL) F_1 至 F_4 代雌、雄果蝇数量的比值变化不大,总体接近于 1∶1.

果蝇的衰老与体内自由基的水平、抗氧化能力及甲基化水平密切相关,过多的自由基与细胞膜中不饱和脂肪酸发生反应,可破坏 DNA 及蛋白质等生物大分子的结构,进而导致疾病的产生甚至死亡[18]. 铅是一种全身性毒物,机体不同系统和器官对铅的毒性效应的敏感性不同,血液中铅质量浓度超过 100 μg/L 时,即可人体智力发育造成严重影响[19],5×10^5 μg/L 铅水平可导致大鼠海马细胞凋亡[20],Southard 等[21] 研究发现,血铅质量浓度 > 331 μg/L 时人体发生肾细胞癌的危险性增加. 所以当重金属铅的存在时,对果蝇体内 SOD、CAT 活力以及 MDA 含量产生了较为明显的影响,这种胁迫结果已经表明 Pb^{2+} 与果蝇的衰老之间存在特定的关系,MDA 是在高浓度 Pb^{2+} 处理下,果蝇体内细胞膜多不饱和脂肪酸受自由基作用产生的过氧化脂质的分解产物,当与蛋白质、肽类等大分子聚合后会引起机体的衰老[1-3],从而影响果蝇的寿命. SOD 和 CAT 都具有一定的抗氧化活性,能够清除生物体内自由基并通过减少脂质过氧化过程而延缓衰老,当 Pb^{2+} 浓度较高时,MDA 含量急剧升高,SOD 和 CAT 的抗氧化活性降到了最低,可能是,大量积累的 MDA 刺激果蝇主动启动 SOD 和 CAT 清除体内产生的自由基而消耗了两者的量,来主动增强果蝇的抗性,同时间接促进生育能力. 影响果蝇的生育力的因素是多方面的,也是一个非常复杂的研究课题,而 Pb^{2+} 是如何在分子水平参与生殖破坏的,还需进一步研究与探索.

参 考 文 献

[1] 王昱. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠心肌乳酸脱氢酶活性和抗氧化能力的影响[J]. 首都师范大学学报(自然科学版),2013,34(3):34-36+42.

[2] 何巾毅,刘慧玲,程志玲. 职业性慢性铅接触对心脏传导功能影响[J]. 中国职业医学,2011,38(1):42-44.

[3] 李金有,刘世杰. 铅致心肌细胞膜通透性改变的研究[J]. 中国公共卫生学报,1996,15(4):223-224.

[4] APOSTOLI P, BELLINI A, PORRU S, et al. The effect of lead on male fertility: a time to pregnancy (TTP) study[J]. Am J Ind Med, 2000, 38(3): 310-315.

[5] TELISMAN S, CVITKOVIĆ P, JURASOVIĆ J, et al. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men[J]. Environ Health Perspect, 2000, 108(1): 45-53.

[6] MAHMOUD A, KISS P, VANHOORNE M, et al. Is inhibin B involved in the toxic effect of lead on male reproduction[J]. Int J Androl, 2005, 28(3): 150-155.

[7] 鱼涛,李忠,王笑笑,等. 男性铅作业工人生殖内分泌变化的研究[J]. 卫生研究,2010,39(4):413-415.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[8] 许发茂，杨杏芬，何云，等. 铅对作业女工子代健康的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志，2000，18(2)：75－77.
[9] 周华. 铅对作业女工生殖机能及其子代健康的影响[J]. 职业卫生与应急救援，2001，19(2)：75－76.
[10] 徐金生，夏杰，王玉芝，等. 铅对果蝇生殖细胞显性致突变性的研究[J]. 癌变·畸变·突变，1990，3(1)：41－42.
[11] 叶文斌，王昱，何九军，等. Hg^{2+} 对果蝇寿命和生育力及酯酶同工酶的影响[J]. 甘肃高师学报，2012，17(5)：24－28.
[12] 厉曙光，张欣文，徐思红，等. 果蝇生存试验中有关果蝇蝇龄的研究[J]. 卫生毒理学杂志，2001，15(4)：45－47.
[13] 陈壁锋，黄俊明，杨杏芬，等. 铅对果蝇性活力及寿命影响的实验研究[J]. 中国职业医学，2004，31(3)：15－17.
[14] GIDLOW D A. Lead toxicity[J]. Occup Med(Lond)，2015，65(5)：348－356.
[15] ARNEMO J M，ANDERSON O，STOKKE S，et al. Health and environmental risks from lead-based ammunition: science versus socio-politics[J]. Ecohealth，2016，13(4)：618－622.
[16] LAMAS G A，NAVAS-ACIEN A，MARK D B，et al. Heavy metals，cardiovascular disease，and the unexpected benefits of chelation therapy[J]. J Am Coll Cardiol，2016，67(20)：2411－2418.
[17] 王菊凤，李鹃鸣. 蛹虫草虫草对果蝇种群期望寿命的影响[J]. 湖南农业科学，2010(9)：133－135.
[18] HARMAN D. Theaging proces[J]. Proc Natl Acad Sci USA，1981，78(11)：7124－7128.
[19] 刘康生，郝加虎. 低水平铅暴露对儿童智力发育影响[J]. 预防医学情报杂志，2011，27(8)：618－621.
[20] 谢秉言，何胜男，李赵聪，等. 铅神经毒作用研究[J]. 铁路节能环保与安全卫生，2017，7(4)：210－214.
[21] SOUTHARD E B，ROFF A，FORTUGNO T，et al. Lead，alcium uptake，and related genetic variants in association with renal cell carcinomarisk in a cohort of male finnish smokers[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev，2012，21(1)：191－201.

Effects of Pb^{2+} on Fertility and Life Span and Antioxidant Capacity of Fruit Flies

YE Wenbin[1,2,3] HE Yupeng[1,2] WEN Xiaoxiao[1] YOU Danwa[1] ZHAO Li[1] YANG Yan[1]

(1. School of Agriculture and Forestry Technology of Longnan Teachers College，Chenxian Gansu 742500;
2. Center for Research & Development of Longnan Characteristic Agro-bioresources，Chenxian Gansu 742500;
3. Gansu Key Laboratory for Utilization of Agricultural Solid Waste Resources，Tianshui Gansu 741000)

Abstract: This paper was engaged in the study of Pb^{2+} effects on the reproduction capability and life span and antioxidant capacity influence of *drosophila melanogaster*. Survival experiments were conducted to examine different concentrations of Pb^{2+} for fruit flies. The the reproduction capability and life span of first to fourth generation (F_1 to F_4) generation，the number of female and male，the activity of antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD)，catalase (CAT) and malondialdehyde(MDA) content were investigated. The results showed that adding different concentrations of Pb^{2+} could reduced the reproduction capability and decreased the life span of F_1 to F_4 female and male fruit flies. And the content of MDA in the fruit flies was accumulated，and the activity of SOD and CAT or the antioxidant capacity decreased rapidly. The fruit flies was senescent，reduced or lost and dead. When the high concentration of Pb^{2+} had effects on sex differentiation of male and female *drosophila melanogaster*，1.316∶1 and 1.165∶1 respectively，and the sex ratio of female and male fruit was 1.115∶1.

Keywords: Pb^{2+}; *drosophila melanogaster*; reproductive capacity; life span; antioxidant capacity

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net