

重金属在鲫鱼幼鱼组织中的积累与分布

方展强,杨丽华

(华南师范大学生命科学学院,广东广州 510631)

摘要:研究了安全浓度的混合重金属铜(Cu)、锌(Zn)、铬(Cr)和镉(Cd)污染物在鲫鱼幼鱼组织中短期的积累和分布。实验结果表明:Cu、Zn、Cd和Cr 4种重金属之间的联合作用为毒性剧增的协同作用。Cd和Cr在鲫鱼的鳃和肝脏中有极明显的积累($P < 0.01$),在肌肉中的积累并不明显。除在暴露的12 h和24 h时观察到Zn在肝脏中有较明显的积累($P < 0.05$)外,Cu和Zn暴露期间在鱼体各组织中无明显的积累。观察到Cd、Cr和Zn 3种重金属的暴露初期,在肝脏中都可见到一个积累高峰,而后又有所下降,推断这与混合重金属间的相互作用有关,也可能与肝脏中金属硫蛋白(MT)的解毒功能有关。Cd和Cr在鳃和肝脏中分别属中度和轻度富集重金属,而Zn在肝脏中属中度富集重金属。

关键词: 鲫; 镉; 铬; 铜; 锌; 组织; 积累; 分布

中图分类号: S931.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-1278(2004)06-0023-04

水生生物可通过吸收、吸附和摄食等途径,从周围环境中积累、浓缩化学物,目前普遍认为鱼类主要是通过鳃直接从水中吸收和积累污染物^[1],水中的重金属被鱼类所摄取而蓄积,在鱼体中的浓度不断增加,其排出又相对缓慢,因而造成鱼类的积累性中毒。目前国内外对重金属在生物体中积累的研究报道较多,如已报道Cd在底鱼中的积累^[2],Cu在银大马哈鱼中的积累和分布^[3]等,这些研究主要集中在海洋鱼类对单一重金属的富集规律及影响因素的研究,而对于数种混合重金属元素在淡水鱼类中的富集情况差异尚少报道。本文研究了安全浓度的混合重金属Cu、Zn、Cr、Cd在鲫鱼幼鱼组织中的积累和分布,可为渔业环境监测、污染物排放及人工育苗水质管理等提供有益的参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

丰产鲫[*Carassius auratus* of Penze () × *Cyprinus acutidorsalis* ()]幼鱼,平均体长为6.9 ± 0.5 cm,体重为8.9 ± 0.6 g,购自广州市白云区神山镇东明鱼苗场。实验鱼先在水族箱中驯养7 d以上,暂养期间均活动正常,无伤病,死亡率低于5%;试验前1 d停止投饵,随机取鱼分组,选择身体健康、反应灵敏、大小基本一致的幼鱼随机分组。

1.2 实验毒物和条件

CdCl₂ · 2.5H₂O、CuSO₄ · 5H₂O、ZnSO₄ · 7H₂O、K₂CrO₄均为广州化学试剂厂生产的A.R.各自配制成实验浓度

均为3 000 mg/L的母液,再根据需要稀释成各级浓度。用44.5 cm × 55.5 cm × 34.0 cm的聚乙烯塑料水族箱装水60L,曝气3 d的自来水。水质标准:pH为7.2~7.4;DO为6 mg/L;总硬度(均值)3.0 me/L;总碱度(均值)2.5 me/L;水温20 ± 3。

1.3 实验方法

毒物在鲫鱼体内的富集试验采用静态染毒法^[4],Cu、Zn、Cd和Cr对鲫鱼的安全浓度值^[5,6]分别为0.01 mg/L、2.23 mg/L、0.59 mg/L、24.41 mg/L。取各重金属的安全浓度混合染毒,每一浓度分别设平行组,实测得Cu、Zn、Cd和Cr浓度分别为0.01 ± 0.00 mg/L、2.24 ± 0.02 mg/L、0.59 ± 0.01 mg/L、24.34 ± 0.24 mg/L。分别将80尾鱼置于两水族箱饲养,在0、12 h、24 h、48 h和72 h各取15尾鱼,用清洁水及蒸馏水冲洗净鱼的体表,并用吸水滤纸吸干体表的水,解剖,取其肝脏、肌肉和鳃等组织分别称重。

再将同类的解剖部分聚于一起,不加水,用匀浆机匀浆。匀浆样品保存在-20℃冰柜24 h。然后置冰冻干燥机(FD-1冷冻干燥机,北京博医康技术公司)冰冻干燥72 h,再将干燥样品准确称重,计算干湿重比例。干燥样品置于密封瓶中,于0℃下保存。准确称量干燥样品0.5 g,然后置于消化管中,加10 mL浓HNO₃(广东省廉江安铺化工厂,分析纯试剂)和1 mL HClO₄(上海桃浦化工厂,优级纯)混匀。置于电热板(湖南长沙市华光电炉厂SB-316-4电热板)上,控温约110℃使样品颗粒溶化消解约6 h,至棕色气体消失,得到透明溶液。如果酸消化过程中发现样品炭化,则需再补加浓HNO₃。消化后的透明溶液用双圈牌定量滤纸过滤,再用蒸馏水稀释定容至50 mL。

1.4 样品测定及数据统计

测定工作在华南师范大学测试中心进行,参照吴邦灿等^[7]的方法,使用WFX-IF2型原子分光光度计(北京

收稿日期:2004-02-17

基金项目:广东省科委科技攻关项目(编号:2KB05402N)资助。

作者简介:方展强,1953年生,男,广东普宁人,教授,主要从事动物学研究。

市第二光学仪器厂)直接测定和分析了样品中的 Cd、Cr、Cu 和 Zn 含量。其数据在 95%置信度的水平下,用 Student's test 检验法分析,比较各数据之间的差异。

1.5 质量控制

使用标准物 (Standard Oyster Tissue 1566a, U S Department of Commerce, National Bureau of Standards, Gaithersburg) 在与样品分析流程相同条件下作了对照分析,标准物中的镉、铜、锌和铬的平均回收率达 86%以上,表明本实验对样品的分析方法是可靠的。

2 结果与分析

2.1 实验鱼活动状况

在预备实验中,当用各重金属的 96 h LC₅₀ 的 1/2、1/4 和 1/8 的混合液对鲫鱼染毒时,在 48 h 之前全部死亡;另用安全浓度染毒时,在 72 h 之前无个体死亡,在 72~96 h 时发现有部分个体死亡,表明此 4 种重金属之间的联合作用为毒性剧增的协同作用。关于重金属 Cu、Zn、Cd 和

Cr 对水生生物的联合毒性作用,国内外学者已作过大量的研究,如 Cd - Zn 对斑马鱼^[8]、Cu - Zn 对 Clarias lazera^[9] 等的联合毒性均表现为毒性剧增的协同作用。

2.2 不同重金属元素在鱼体内的积累和分布状况

实验测定了不同时间内,暴露于安全浓度的 Cu、Zn、Cr、Cd 混合液中鲫幼鱼鳃、肌肉、肝脏组织中重金属的含量见表 1。结果发现,Cd 和 Cr 在鲫鱼的鳃和肝脏中有明显的积累,其处理组与对照组之间的含量有极显著的差异 ($P < 0.01$),但在肌肉中的积累并不明显。除在暴露的 12 h 和 24 h 时观察到 Zn 在肝脏中有较明显的积累,与对照组相比较有显著差异 ($P < 0.05$) 外,Cu 和 Zn 在暴露期间在鱼各器官组织中无明显的积累。可见尽管相同部位在不同鱼体内的生理功能相同,但不同重金属诱导的代谢速度或者器官、组织内金属硫蛋白 (MT) 的合成速度可能不同,导致同一器官、组织中不同重金属的蓄积量存在着明显差异。

表 1 重金属在鲫幼鱼组织中的积累

重金属	组织器官	对照组	12 h	24 h	48 h	72 h
镉(Cd)	鳃	0.19 ±0.03	0.65 ±0.05 **	0.72 ±0.03 **	1.55 ±0.25 **	1.79 ±0.07 **
	肝	0.08 ±0.01	1.30 ±0.21 **	0.76 ±0.04 **	0.79 ±0.23 **	1.42 ±0.39 **
	肌肉	0.18 ±0.11	0.06 ±0.01	0.13 ±0.03	0.21 ±0.02	0.15 ±0.01
铬(Cr)	鳃	1.03 ±0.08	2.16 ±0.13 *	3.41 ±0.01 **	7.34 ±1.00 **	8.93 ±0.49 **
	肝	1.47 ±0.16	2.83 ±0.31 *	7.20 ±1.22 **	18.00 ±3.46 **	15.29 ±3.32 **
	肌肉	0.56 ±0.02	0.94 ±0.16	1.24 ±0.01	1.30 ±0.03	1.47 ±0.02
铜(Cu)	鳃	1.50 ±0.01	1.09 ±0.08	1.02 ±0.05	0.94 ±0.02	0.89 ±0.00
	肝	2.53 ±0.30	2.71 ±0.35	2.71 ±0.56	2.08 ±0.07	2.02 ±0.47
	肌肉	0.84 ±0.15	0.68 ±0.05	0.68 ±0.17	0.73 ±0.09P	0.62 ±0.02
锌(Zn)	鳃	30.34 ±2.18	27.07 ±0.87	28.72 ±0.45	31.98 ±5.32	33.51 ±3.71
	肝	15.80 ±2.11	25.95 ±6.24 *	25.80 ±4.91 *	16.97 ±3.11	18.33 ±2.84
	肌肉	8.34 ±0.79	8.90 ±0.49	11.17 ±0.53	9.36 ±0.28	10.18 ±0.35

*与对照组相比较 $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm SD, n = 3$ 。

污染物在脊椎动物体内的分布,主要是通过与其血液中的有关成分相联系的循环而完成,因此各种污染物在生物体内的分布并不一样。即使同是重金属,由于生物体内器官的特点及代谢的变化,其在生物体内的分布也不一样。如 Cd、Cu 在鱼体中的分布以内脏中的含量最高,而在内脏中又主要储存在肝脏和肾脏中。这是因为生物体内有金属硫蛋白或类金属硫蛋白和含氮杂环水分子量的化合物,硫蛋白的巯基和小分子量化合物的配位体对 Cd、Cu 等重金属有很高的亲和力和络合能力,因而能够牢固地结合一定量的金属,而这些化合物在肝脏、肾脏等软组织中较多^[1]。

2.2.1 Cd 镉在鲫鱼体内的积累曲线如图 1。肌肉中的 Cd 含量始终较低,在实验期间不表现出明显的积累;肝脏中 Cd 的积累形成波形曲线,暴露初期 12h 时,肝脏中积累浓度明显大于鳃 ($P < 0.01$),而后又有所下降,在暴露后期 72 h 时又急剧上升;鳃中的 Cd 积累一直呈上升趋势

势,初期 12h 时鳃中 Cd 含量明显低于肝脏 ($P < 0.01$),在 48 h 鳃中 Cd 浓度明显高于肝脏 ($P < 0.01$)。

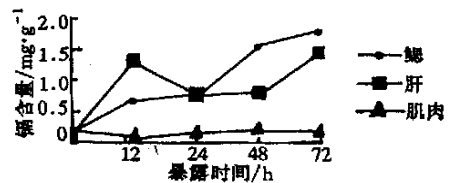


图 1 镉在鲫鱼体内的积累曲线

结果表明:暴露初期鱼可能主要通过消化道吸收重金属,而后期鱼鳃吸收在重金属积累中占据主导地位,这可能是由于鳃的特殊结构有利于水中离子穿过。一些研究表明,鱼体对重金属的吸收途径包括消化道的进食摄取、呼吸道吸收和皮肤的体表吸收 3 种,作为鱼体呼吸器官的鳃,其由磷脂组成的鳃膜能提供一个带静负电荷的表面,对游离的金属离子产生直接的吸附^[10],因而鳃成为

鱼体直接从水中吸收重金属的主要部位^[11]。肝脏也是重金属 Cd 蓄积的主要部位,这可能与肝脏的解毒功能有关,Cd 在组织内可诱导产生大量束缚重金属的金属硫蛋白^[12]。而相比之下,肌肉对金属的亲性和比较弱。Cd 对生物有害影响首先是使一定的活性传递机制受阻,肾受损伤,酶活性受抑制以及内分泌系统受影响,使生物机能失调^[13]。

2.2.2 Cr 铬在鲫鱼体内的积累曲线如图 2。鱼体对 Cr 的积累,鳃中 Cr 含量一直呈缓慢上升趋势,与对照组相比有极显著的差异 ($P < 0.01$),而肝脏中 Cr 含量也一直呈上升趋势,在 48 h 出现一个峰值,相对于 Cd 的积累峰值出现稍延迟,然后又有所下降,但其含量始终高于鳃 ($P < 0.01$),而肌肉中的 Cr 含量始终较低,在实验期间不表现出明显的积累。这表明 Cr 的积累主要通过消化道吸收。一些研究表明:微量的 Cr^{6+} 金属离子对生物无毒害作用,并能促进其生长发育^[14],但 Cr 过量可影响体内氧化、还原、水解过程,并可使蛋白质变性,使核酸、核蛋白沉淀,干扰酶系统而引起生物中毒^[15]。

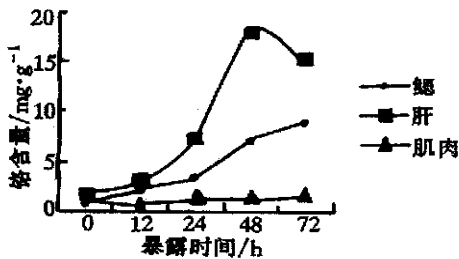


图 2 铬在鲫鱼体内的积累曲线

2.2.3 Cu 铜在鲫鱼体内的积累曲线如图 3。在暴露期间并不表现出积累,这可能与暴露浓度相对较低有关,但同时也表明 Cu 可能并不是一种积累性中毒重金属,其致死机理仍有待作进一步研究。Cu 在肝脏中的含量显著高于鳃和肌肉 ($P < 0.05$),这可能与其生理作用有关。Cu 是动物和人体必需的微量元素。Cu 是血、肝、脑等铜蛋白的组成成分,有 30 种以上的蛋白和酶中含有 Cu, Cu 也是几种胺氧化酶的必需成分。它们起着维持生命正常发育和新陈代谢的作用^[15]。Cu²⁺ 可使肝溶酶体膜磷脂发生氧化反应,导致溶酶体膜的破裂,水解酶大量释放,从而引起肝组织坏死^[16]。

2.2.4 Zn 锌在鲫鱼体内的积累曲线如图 4。在暴露的 12h 和 24h 时观察到 Zn 在肝脏中有较明显的积累 ($P < 0.05$),而后又有所下降,48 h 恢复到正常水平,Zn 在鲫鱼的鳃和肌肉中无明显积累。但 Zn 含量始终表现为:鳃 > 肝脏 > 肌肉 ($P < 0.05$),这可能与 Zn 的生理作用有关。Zn 是动物和人体的必需微量元素。在生物体内,Zn 既是许多酶的组成成分,也可以影响某些非酶的有机分子配位基的结构构型^[15]。

在上述 Cd、Cr 和 Zn 3 种重金属的暴露初期,在肝脏

中都可见到一个积累高峰,而后又有所下降,短时间保持在一个动态平衡状态,重金属的这种积累曲线与郎佩珍等^[17]曾观察到的硝基苯在鲤鱼中的积累曲线有相似之处,该文献认为其原因是硝基苯在其富集过程中发生了代谢转化,推测其机制为:在摄取开始阶段鱼体中化学物浓度很快增加,并趋于峰值,此过程主要由摄取和消除(母体物的排除)双过程所控制,两种速率几乎相等时达到峰值;经此阶段化学物在鱼体内积累,鱼体内某一种或几种能降解硝基苯的酶适应能力增强,发生了具有延迟期的酶促代谢反应,快速发生的此酶反应,破坏了原有的平衡,使鱼体中母体物以高倍数减少。随之,鱼体摄取速度又逐渐增加而趋于低水平稳态,摄取、消除(包括母体物的排除和代谢)两过程渐趋平衡。本实验发现重金属短期积累过程中,肝脏中重金属的积累与硝基苯的积累情况相似,有一明显波形,而且还观察到不同金属出现积累高峰的时间也不一致,其机制有待作进一步的研究,作者认为这可能与混合重金属间的相互作用有关,也可能与肝脏中金属硫蛋白(MT)的解毒功能有关。

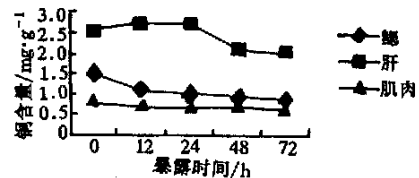


图 3 铜在鲫鱼体内的积累曲线

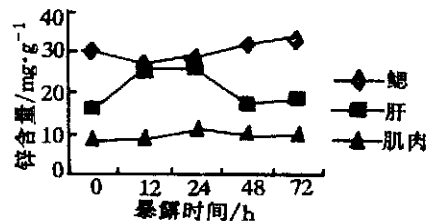


图 4 锌在鲫鱼体内的积累曲线

2.3 不同重金属元素的富集能力差异

生物浓缩系数是用来反映生物浓缩化学物质的能力,它不仅是指水生生物从水中直接吸收化学物质,也可指通过食物进行间接吸收。其计算的公式为:富集倍数 = 鱼体内的含量 (mg/kg) / 水中该毒物的浓度 (mg/L)。由于环境因素,鱼体本身有一定量的 Cd 元素,所以鱼体对 Cd 的富集值应为实验中鱼体的各部分 Cd 值减去未经实验的鱼体中相应部位的本底值^[18],计算结果如表 2。据毒物在鱼体内的富集分级标准可判断,Cd 在鲫鱼鳃和肝脏中属中度富集重金属;Cr 在鲫鱼鳃和肝脏中属轻度富集重金属;而 Zn 在鲫鱼肝脏中属中度富集重金属。

3 结论

实验结果表明:Cu、Zn、Cd 和 Cr 4 种重金属之间的联合作用为毒性剧增的协同作用。Cd 和 Cr 在鲫鱼的鳃和

表 2 重金属在鲫鱼体内的生物浓缩系数

重 金属	暴露浓度/ mg L ⁻¹	器 官	本底值/ mg g ⁻¹	最高含量/ mg g ⁻¹	生物浓 缩系数	富集 分级
镉	0.59 ±0.01	鳃	0.19 ±0.03	1.79 ±0.07	2 726	中度
		肝	0.08 ±0.01	1.42 ±0.39	2 283	
铬	24.34 ±0.24	鳃	1.03 ±0.08	8.93 ±0.49	325	轻度
		肝	1.47 ±0.16	18.00 ±3.46	679	
锌	2.24 ±0.02	肝	15.8 ±2.11	25.95 ±6.24	4 529	中度

肝脏中有极明显的积累 ($P < 0.01$), 在肌肉中的积累并不明显。除在暴露的 12 h 和 24 h 时观察到 Zn 在肝脏中有较明显的积累外 ($P < 0.05$), 重金属 Cu 和 Zn 在暴露期间在鱼体各器官组织中无明显的积累。本文首次观察到, Cd、Cr 和 Zn 3 种重金属在暴露初期中, 在肝脏中都可见到一个积累高峰, 而后又有所下降, 这可能与混合重金属间的相互作用有关, 也可能与肝脏中金属硫蛋白 (MT) 的解毒功能有关。据生物浓缩系数可判断: Cd 在鲫鱼鳃和肝脏中属中度富集重金属; Cr 在鲫鱼鳃和肝脏中属轻度富集重金属; 而 Zn 在鲫鱼肝脏中属中度富集重金属。

参考文献:

[1] 衣铭明, 陈民山, 郝林华, 等. 鲈鱼对浮游配合饵料中镉的积累[J]. 海洋水产研究, 1998, (6): 74 ~ 80.

[2] Kuroshima R. Cadmium accumulation in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*, adapted to various salinities [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1992, 49(5): 680 ~ 685.

[3] Buckley J T, Roch M, McCarter J A, et al. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper. I. Effect on growth, on accumulation and distribution of copper, and on copper tolerance [J]. Comp Biochem Physiol C, 1982, 72(1): 15 ~ 19.

[4] 邱郁春, 主编. 水污染鱼类毒性实验方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992. 77 ~ 79.

[5] 杨丽华, 方展强, 郑文彪. 重金属对鲫鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 华南师大学报(自然科学版), 2003, (2): 101 ~ 106.

[6] 杨丽华, 方展强, 郑文彪, 等. 镉对鲫鱼鳃和肝脏超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 安全与环境学报,

2003, 3(3): 13 ~ 16.

[7] 吴邦灿, 费龙, 编著. 现代环境监测技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1998.

[8] 修瑞琴, 许永香, 高世荣, 等. 砷与镉、锌离子对斑马鱼的联合毒性实验[J]. 中国环境科学, 1998, 18(4): 349 ~ 352.

[9] Tort L, Torres P, Flos R. The toxicity to *Clarias lazera* of copper and zinc applied jointly [J]. Comp Biochem Physiol C, 1987, 87(2): 309 ~ 14.

[10] Gordon KP. Gill surface interaction model for trace metal toxicity to fish: Role of complexation, PH and water hardness [J]. Environ Sci Technol, 1983, 17: 342 ~ 347.

[11] Reid S D, McDonald D G. Metal binding activity of gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Can J fish Aquat Sci, 1991, 48: 1064 ~ 1068.

[12] Allen P. Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury [J]. Biological Trace Element research, 1995, 50(3): 193 ~ 208.

[13] 王俊, 张义生. 化学污染物与生态效应[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1993. 156 ~ 225.

[14] 吴贤汉, 江新霁, 张宝录, 等. 几种重金属对青岛文昌鱼的毒性及生长的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(6): 604 ~ 608.

[15] 廖自基, 编著. 微量元素的环境化学及生物效应[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992.

[16] 戴家银, 郑微云, 王淑红. 重金属和有机磷农药对真鲷和平鲷幼体的联合毒性研究[J]. 环境科学, 1997, 18(9): 44 ~ 46, 54.

[17] 郎佩珍, 王敏, 杨波, 等. 鲤鱼对硝基苯的生物积累、消除与代谢研究[J]. 环境科学学报, 1997, 17(2): 213 ~ 219.

[17] 孟晓红. 金属镉在鱼体内的生物富集作用[J]. 广东微量元素科学, 1997, 3(1): 8 ~ 11.

(责任编辑 万月华)

欧盟解除我虾出口禁令

欧盟委员会 2004 年 10 月 18 日在北京宣布, 解除对中国的虾、养殖鱼类、蜂蜜、蜂王浆、兔肉等部分动物源性食品向欧盟出口的禁令, 中国从即日起可以向欧盟出口上述产品。根据中欧双方达成的协议, 出口商的产品将由中国相关食品安全机构检验, 符合欧盟食品安全标准的每批次交验货物都需持有中国相关部门核发的卫生许可证明。这是 2002 年 1 月欧盟开始限制中国食品出口以来第 2 次部分解除禁令。此前在 2002 年 12 月, 欧盟食物

和动物健康常设委员会已投票通过欧盟委员会的提议, 恢复了中国绝大多数野生鱼类产品, 包括模拟蟹肉、肠衣、海鱼、小龙虾等向欧盟的出口。

预计到年底, 部分中国海捕虾可能通过检测出口欧盟, 而养殖虾要出口欧盟还有很长的路要走。专家分析, 虽然还能争取欧盟、美国以外的市场, 但在近期中国的虾出口量仍然上不去, 同时由于天气逐渐转冷, 到了本地虾和江浙虾集体出货的时间, 年内虾价不会有大的反弹。

(张 辑)

