

重金属离子 Cu Zn Cd 的相互作用 对 Pb 在鲫鱼组织中积累的影响

周新文¹, 朱国念², Jilisa Mwalilino², 孙锦荷³

(1. 苏州大学核医学院, 江苏 苏州 215000; 2. 浙江大学农药研究所, 浙江 杭州 310029;
3. 浙江大学核农所, 浙江 杭州 310029)

摘 要: 采用室内暴露试验方法研究了重金属离子相互作用对其在鲫鱼组织中积累的影响。结果表明, 混合重金属离子相互作用对 Pb 在鲫鱼组织中的积累的影响与离子的种类、数量及组织的类型有关。Pb 的积累主要与 Zn、Cd 以及它们的共同作用关系密切; 随着重金属离子种类数目的增加, 相互作用对积累的影响变得显著; 重金属离子混合后使 Pb 在鱼鳃中的积累浓度降低, 肝脏中的积累浓度升高; 对 Pb 在肌肉中的积累无影响。在鳃中的积累主要受表面位点竞争作用主导, 而在肝脏中的积累主要与 MT 的诱导作用有关。重金属离子相互作用不会改变 Pb 在鲫鱼组织中的分布规律, Pb 在鲫鱼组织中的积累顺序为肝脏> 鱼鳃> 肌肉。

关键词: 重金属离子; 相互作用; 鲫鱼; 积累; Pb

中图分类号: X503. 225 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0267(2002)01-0023-03

Effects of the Interaction of Copper, Zinc and Cadmium on the Accumulation of Lead in the Tissues of the *Carassius auratus*

ZHOU Xin-wen¹, ZHU Guo-nian², Jilisa Mwalilino², SUN Jin-he³,

(1. College of Nuclear Medical Sciences, Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215000, P. R. China; 2. Institute of Pesticide Sciences, Zhejiang University Hangzhou 310029, P. R. China; 3. Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang University Hangzhou 310029, P. R. China)

Abstract: The results demonstrated that accumulation of copper was related to metallic species and concentration, and as well as fish tissues. The accumulation of lead was affected greatly by the action of the Cadmium and Zinc; the effects became more significant with the increase of the metal concentration; the accumulation of the lead decreased in gill in the mixture-metal interaction, but increased in the liver; The metal mixture could not affect the accumulation of lead in the muscle. The accumulation of lead in the tissues followed the order: liver> gill > muscle. The hypothesis was firstly proposed that combined the surface competition theory and MT induction theory, which could be used to explain perfectly the metal accumulation under the interaction of mixture-metal. The metal accumulation under the interaction of the mixture-metal was dominantly controlled by the surface competition in the gill and by the MT induction theory in the liver.

Keywords: heavy metals; interaction; *carassius auratus*; accumulation; lead

毒性重金属离子通过工业废水和生活污水的排放、非点源污染的迁移扩散、城市雨水冲刷、大气沉降等各种途径进入地表水。其中有许多的金属离子对水生生物都存在毒性, 这些金属离子的毒性和生物有效性与靶生物的种类、金属离子的行为、周围环境状况有关^[1]。

传统的生态毒理学的评价程序是在实验室内, 单一评价众多的化合物的相对毒性, 根据化合物的相对毒性进行毒性分级。而在实际上, 各种动植物不可避免地暴露在混合化学物中 (Anderson et al. 1994)^[2], 从吸收和毒性的角度看, 很少有报道在混合物中究竟那些成分在起协同、拮抗及加和作用。这就使传统的毒理学评价方法难以预测繁多的化合物以及各种化合物的混合与浓度组合对自然生态系统中生物的影响。传统的生态毒理学评价方法虽然还不能够解决这

收稿日期: 2001-07-04

作者简介: 周新文 (1968—), 男, 湖北人, 博士, 讲师, 主要从事环境生物毒理学研究。

个难题,但至少可以针对性地对主要混合重金属离子相互作用在吸收、积累与毒性作用方面予以研究,尽可能真实地反映污染物对环境生物的毒性效应。

研究发现,重金属离子之间的确存在着相互作用,这种作用会影响其在鱼体内的吸收和毒性作用^[3-5]。然而,研究都是在相对较高的浓度下进行的,其结果能否外推到低剂量不得而知。因而本文进行了如下研究:亚致死浓度 Cu、Zn、Cd 离子对 Pb 离子在鲫鱼组织中积累的影响;鲫鱼长期暴露于亚致死浓度混合重金属离子溶液后,Pb 离子在其组织中的积累、分布规律。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器设备

浓 HNO₃ 与 HClO₄ 均为优级纯。CuCl₂、ZnSO₄、CdCl₂ 及 Pb(NO₃)₂ 均为分析纯。原子吸收分光光度计(型号为 Spectra AA220)。

1.2 供试鱼的驯养及暴露环境

鲫鱼(*Carassius auratus*)从当地花鸟市场购得,体重 20—25 g, 身长 (8.5 ± 1.89) cm。在暴过气的自来水中驯养 1 周后,供试验用。

暴露水体的 pH 为 6.95—7.2,总硬度(以 CaCO₃ 计)为 440 mg · L⁻¹,水中溶解氧(DO)为 6.9—7.5 mg · L⁻¹。在驯养和试验期内的室温控制在 (25 ± 1)℃,同时保持 12 h 的光照与 12 h 的黑暗。

1.3 暴露试验

1.3.1 重金属离子相互作用对 Pb 在鱼体中积累的影响

实验室条件下,在 20 L 的水族箱中放养 3 尾鱼,Pb 的积累试验按照表 1 中处理方式进行,每处理有 3 个重复,每一重复中取两个平行样。重金属离子相互作用试验的暴露期为 7 d。为避免鱼饲料中重金属离子成分的干扰,试验期内禁食。

1.3.2 Pb 在鱼体组织中的长期积累

鲫鱼暴露于不同亚致死浓度的混合重金属溶液中,暴露浓度为 0.00、0.03、0.06、0.12 mg · L⁻¹,每一暴露浓度设置 3 个重复,每一重复中取两个平行样品。暴露期为 28 d。在试验期内按 1% 体重喂养鱼。整个试验期内未见鱼死亡。

有关混合重金属离子的浓度问题,本试验采用了混合成分按比例同时增加和减小的策略。按照 Cu、Zn、Pb、Cd 为 10:5:2:1 比例混合,单位为 mg · L⁻¹。其次,避免因鱼体吸收导致水体重金属离子浓度的下

表 1 不同重金属暴露方案				
Table 1 Protocol of exposure various heavy metals				
处理 × 3	Pb 0.02mg · kg ⁻¹	Zn 0.05mg · kg ⁻¹	Cu 0.1mg · kg ⁻¹	Cd 0.01mg · kg ⁻¹
1	+	-	-	-
2	+	+	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	-	+
5	+	+	+	-
6	+	-	+	+
7	+	+	-	+
8	+	+	+	+

注: + 表示存在, - 表示缺乏。

降,保持外部暴露环境的一致性,处理试验均采用半静态法,每天更换三分之一的重金属离子溶液,在试验过程中每天泵气 3 次,每次 2 h,以保持水体中的溶解氧不低于鱼正常生理所需要的浓度。

1.4 鱼样品中的 Pb 分析

取样后,用去离子水清洗鱼样,分别解剖鱼鳃、鱼脑、肝脏、肌肉组织,在 60℃ 下烘 48 h,至样品干燥。准确称量 0.5 g 烘干样品,置于 50 mL 烧杯中,加入 10 mL 混合酸(浓 HNO₃: 浓 HClO₄ 为 1:1)放置过夜,然后在 120℃ 下消解 3 h,至溶液澄清为止。冷却后定量转移试液至 25 mL 容量瓶中,用去离子水稀释至刻度并摇匀。过滤至聚乙烯瓶中,用原子吸收分光光度计测定样品中的 Pb 离子含量^[4,6]。

数据处理采用 Excell 7.0 版中的数据分析工具库软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 Cu、Zn、Cd 对 Pb 在鲫鱼组织器官中积累的影响

Cu、Zn、Cd 对 Pb 在鲫鱼组织中积累的影响结果见表 2 和表 3。在 Pb、Pb + Cu、Pb + Zn + Cu、Pb + Cu + Cd 四组处理时,Pb 在鱼鳃中的积累无明显差异,这表明混合重金属中的 Cu 离子、Cu + Zn 及 Cu + Cd 都对 Pb 在鱼鳃中的积累无影响;Pb + Zn、Pb + Cd、Pb + Cd + Zn、Pb + Cu + Zn + Cd 这四组处理与 Pb 处理存在显著差异,Pb 在鱼鳃中的积累浓度显著低于单独 Pb 的处理,表明 Zn、Cd 离子、Cd + Zn、Cu + Zn + Cd 都能够减少 Pb 在鱼鳃中的积累;在肝脏中,同样,在 Pb、Pb + Cu、Pb + Zn + Cu、Pb + Cu + Cd 这四组处理中 Pb 的积累浓度与 Pb 的处理无差异,但在 Zn + Pb、Pb + Cd、Pb + Cd + Zn、Pb + Cu + Zn + Cd 四组处理中,Pb 的积累浓度高于单独的 Pb 处理,说明 Zn 和 Cd 及它们的共同作用能够增加 Pb 在肝脏中的积

表 2 Cu、Zn、Cd 影响下 Pb 在鲫鱼(*Carassius auratus*)组织中的积累(mg · kg⁻¹)

Table 2 Influence of copper, zinc and cadmium on lead accumulation in fish (<i>Carassius auratus</i>)tissues (mg · kg ⁻¹)								
处理		Pb + Cu	Pb + Zn	Pb + Cd	Pb + Cu + Zn	Pb + Cu + Cd	Pb + Zn + Cd	Pb + Cu + Zn + Cd
鱼鳃	43. 99 ^a ± 6. 88	45. 60 ^a ± 8. 64	32. 94 ^b ± 3. 47	30. 16 ^b ± 3. 11	42. 42 ^a ± 6. 42	38. 58 ^a ± 9. 44	28. 37 ^b ± 6. 20	31. 94 ^b ± 4. 54
肝脏	39. 44 ^a ± 6. 84	36. 58 ^c ± 7. 71	52. 81 ^d ± 5. 81	53. 72 ^d ± 5. 64	37. 28 ^a ± 4. 94	38. 04 ^e ± 11. 01	53. 53 ^d ± 6. 23	55. 35 ^d ± 7. 60
肌肉	9. 74 ^e ± 2. 35	8. 63 ^e ± 1. 91	10. 15 ^e ± 2. 82	8. 18 ^e ± 1. 00	9. 12 ^e ± 2. 75	12. 90 ^e ± 2. 23	8. 81 ^e ± 1. 78	11. 33 ^e ± 2. 48

注:相同的字母表示处理间无显著差异,字母不同者相互间存在显著差异。

表 3 Pb 在鲫鱼组织中的积累方差分析

Table 3 ANOVA table for the lead accumulation in the fish (<i>Carassius auratus</i>)tissues						
变异来源	鱼鳃		肝脏		肌肉	
	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
Cu	0. 064	0. 81	0. 23	0. 65	0. 40	0. 55
Zn	6. 17	0. 048	6. 66	0. 042	0. 037	0. 85
Cd	10. 07	0. 019	7. 79	0. 032	1. 12	0. 33
Cu + Zn	0. 084	0. 78	0. 20	0. 67	0. 09	0. 77
Cu + Cd	0. 64	0. 45	0. 035	0. 86	2. 86	0. 14
Zn + Cd	8. 54	0. 027	6. 96	0. 039	0. 30	0. 61
Cu + Zn + Cd	6. 41	0. 045	7. 26	0. 036	0. 65	0. 45

累。肌肉组织中 Pb 的积累浓度在各种处理中均无显著性差异。

目前,有两种代表性的假说常被用来解释重金属离子相互作用对重金属离子在生物体内的积累。一种是竞争位点理论,另一种是金属硫蛋白的诱导结合作用。以往的研究中,即使相同的两种金属离子相互作用对其中的重金属离子的吸收和积累在不同的生物体中的作用也是不一样的,在解释其作用机制时存在着许多自相矛盾的地方。而我们考虑了生物体本身器官的功能和作用,细致地研究了混合重金属离子相互作用对重金属离子在这些器官和组织中的积累,首次把这纷乱的理论解释统一了起来。

混合重金属离子相互作用对 Cu、Pb 这两种金属离子在鲫鱼体内的积累,在鱼鳃组织中,主要与吸收进入的位点竞争有关,即受竞争位点理论主导。该理论认为金属离子进入细胞前先与细胞表面的接受点结合,其结合能力大小会直接影响到进入细胞的速率和量。因此,离子在组织中的积累与重金属离子的种类、外界环境的浓度有关。本试验中,单一的 Cu 对 Pb 的积累无作用,Pb 的积累主要与 Zn、Cd 离子相关,当 Zn、Cd 共同作用或与 Cu 共同作用时,改变了 Pb 在鱼鳃中的积累。离子种类增加时,这种作用变得更加明显。各种离子相互竞争性地与接受位点结合,使得每一组分的结合量减少,因而进入量都降低。在联合毒性的作用研究中,也发现随着组分的增加,化学物的毒性趋向于加和作用^[7]。

混合重金属离子相互作用对 Cu、Pb 这两种金属离子在鲫鱼肝脏中的积累,主要与金属硫蛋白(MT)的诱导作用有关。MT 主要的生物学功能是调节鱼体内自由金属离子的浓度,是减少重金属离子特别是 Pb、Cd 这种非生物必需元素的毒害作用。Cd、Cu、Zn 等金属离子能激活肝脏中 MT 基因的转录,MT 基因得到大量的表达,使鱼的肝脏和肾脏等部位的 MT 含量较高^[8],进入鱼体内多余的重金属离子将和 MT 结合,在体内被储存起来。由于重金属离子的诱导作用,使 Cu、Pb 两种离子在鲫鱼肝脏中的积累增加。

2.2 亚致死浓度的混合重金属溶液中的 Pb 在鲫鱼组织器官中的长期积累

鲫鱼在 3 种浓度混合重金属离子(0. 03 mg · L⁻¹, 0. 06 mg · L⁻¹, 0. 12 mg · L⁻¹)溶液中暴露 28 d,分析 Pb 在鱼鳃、肝脏和肌肉中的积累,结果如表 4。从表中可见对照中检测不到 Pb 的存在,而在 3 种浓度处理中,鱼鳃、肝脏和肌肉 3 种组织中 Pb 的积累非常明显。在该 3 种组织中的积累均与混合重金属离子的浓度相关,随着混合重金属暴露浓度的增大,组织中的积累浓度也升高。在鱼鳃和肝脏中积累的浓度都比较高,但无明显区别,肌肉中积累的量较低。混合重金属也同样没有改变对 Pb 的积累模式,在多种处理中,Pb 都主要分布在鱼鳃和肝脏中。

表 4 混合重金属溶液中的 Pb 在鲫鱼组织中的积累(mg · kg⁻¹)

Table 4 Accumulation of lead in fish tissues exposed to five metal - mixture solution (mg · kg ⁻¹)				
组织	暴露浓度 /mg · L ⁻¹			
	0. 00	0. 03	0. 06	0. 12
鱼鳃	ND	25. 09 ± 2. 06	32. 98 ± 4. 63	51. 13 ± 6. 03
肝脏	ND	22. 44 ± 4. 21	30. 72 ± 6. 01	61. 81 ± 4. 98
肌肉	ND	16. 23 ± 4. 05	27. 32 ± 3. 45	31. 59 ± 2. 70

注:各种浓度暴露积累显著 P <0. 01, ND 表示未检测到。

3 结论

(1)混合重金属离子相互作用对 Pb 在鲫鱼组织
(下转第 36 页)