

# 重金属对鱼类毒性效应及其分子机理的研究概况

## Current research on toxicity effect and molecular mechanism of heavy metals on fish

徐永江<sup>1,2</sup>, 柳学周<sup>2</sup>, 马爱军<sup>2</sup>

(1. 中国海洋大学 化学化工学院, 山东 青岛, 266003; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛, 266071)

中图分类号: X503. 225

文献标识码: A

文章编号: 1000- 3096( 2004) 10- 0067- 04

重金属污染是近年渔业环境污染的公害之一, 随着工农业的发展, 大量的重金属污染物通过多种途径释放进入水体而造成污染, 浓度严重超标的一些重金属离子对鱼类有毒害作用, 常常扰乱鱼类的正常生命活动, 引起鱼类的中毒和死亡。由于重金属在水生生态系统中呈现较为复杂的形态和相对较高的活性, 以及对鱼类较强的毒性和鱼类承受重金属毒害的机理复杂性, 有关重金属在水生生态系统中的形态、分布、转化和毒害机理等还未真正弄清, 多数重金属对鱼类生长发育影响的研究集中在毒性研究方面。作者扼要综述重金属对鱼类毒性效应及其分子机理的研究概况。

### 1 水体中的重金属及鱼类对重金属的吸收途径、机理

#### 1.1 水体中的重金属

水体中的重金属可以是离子态、可交换态、吸附态、化学沉淀态和难溶络合态等形态。它们随环境条件的变动而相互转化。目前水体中的重金属主要有 Cd, Cu, Hg, Pb, Cr, Zn, Mn, Ni, Fe, As 等, 其中 Fe, Cu, Zn, Mn 为必需金属, 在水生生态系统中起着重要作用, 而 Cd, Hg, Cr, Pb, Ni, As 为非必需金属, 有较强的毒性。其中, Cd, Hg 对鱼类具有很强的毒性效应<sup>[1-3]</sup>。重金属对鱼类的毒性, 不是与水域中金属总浓度相关, 而是主要取决于游离(水合)的金属离子, 如对于 Cd 则主要取决于游离 Cd<sup>2+</sup> 浓度, Cu 取决于游离 Cu<sup>2+</sup> 及其氢氧化物。

#### 1.2 鱼类对重金属的吸收途径、机理

以往的研究指出, 鱼类对重金属的吸收主要是经过鱼鳃、体表、进食及高亲和力的重金属与蛋白质的

结合等途径, 重金属以溶解态和颗粒态方式被鱼类摄入。早期毒性实验表明, 重金属是以被动输送方式沿水到鱼体内的浓度梯度进入鱼体的, 鱼类从水体中摄入重金属的速率随溶液中重金属浓度的增加而提高。目前关于重金属离子的透膜机理尚未完全查明。

### 2 鱼类对重金属的蓄积

鱼类因种类、规格、重金属形态及来源及生存水体质量等条件相异, 其对重金属的蓄积情况也不同。不同形态的 Cu 在鱼体和鱼鳃中的积累量均随水相游离 Cu 浓度增高、暴露时间增长而增加<sup>[4]</sup>。对于浮游鱼类, Cd, Cu, Zn 和 Hg 在其肌肉中的蓄积量较低; 对于底栖鱼类, Cd, Cu, Zn 等在肌肉中的蓄积量较低, 但 Cd, Cu 在肝脏中的蓄积量较高, Zn 在鳃中蓄积量较高; Hg 在浮游鱼类肌肉和鳃中的蓄积量较低, 但是在底栖鱼类肝脏中的含量较高<sup>[5,6]</sup>。这可能是由于陆地径流排入海洋的重金属在河口浅海区大量沉积于淤泥中, 底栖动物选择性的摄取重金属, 重金属通过复杂的食物链再被鱼类富集。

由于鱼体内各组织器官生理功能、代谢水平的差异, 重金属在鱼类体内各组织的分布和积累也随之差异。鲫鱼的鱼鳞、肌肉和内脏中的 Hg, Pb, As, Cu, Cr 和

收稿日期: 2003- 09- 30 修回日期: 2004- 08- 05

基金项目: 国家 863 高技术研究发展规划项目 (2002AA603011)

作者简介: 徐永江(1981- ), 男, 山东济南人, 硕士研究生, 研究方向为发育生物学, 电话: 0532- 5811982, E-mail: xuyongjiang1981@163.com; 柳学周, 通讯作者, 电话: 0532- 5811982, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

Zn等的分布和积累规律表明: Hg, Zn在鲫鱼体内的分布为鱼鳞> 内脏> 鱼肉; As的分布为鱼鳞> 鱼肉> 内脏; Cu在内脏中含量较高; Pb和Cr的分布为内脏> 鱼鳞> 肌肉,不同质量级间及各组织间的含量差异显著<sup>[7]</sup>。罗非鱼、淡水白鲳及鲤鱼的鳃、肝、肾、肌肉等部位中Fe, Cu, Zn, Pb, Cd, Cr, Ni, As等重金属主要蓄积于3种鱼的鳃、肝、肾等器官组织,肌肉中重金属蓄积量明显低于鳃、肝、肾部位的蓄积量,其中鲤鱼肌肉中的重金属蓄积明显高于其它鱼种<sup>[8]</sup>。

### 3 重金属对鱼类的毒害作用

#### 3.1 对鱼类早期生长发育的影响

随着工业生产的迅速发展,大量含有重金属的废水废物不断地排入海,对海水鱼类的生存和繁衍构成了严重威胁。在鱼的整个生活周期中,胚胎期和仔稚幼鱼早期发育阶段对重金属污染最为敏感。

吴玉霖等1990年依据不同金属对褐牙鲈胚胎的滞育、致畸、成活率及孵化率的综合影响指标,得出5种金属对褐牙鲈胚胎的毒性大小顺序为: Cu> Zn> Cd> Pb> Cr,对仔鱼的毒性大小顺序为: Cu> Cd> Zn> Pb> Cr,另有研究表明: Hg, Cu, Zn和Cr 4种重金属离子对黄姑鱼胚胎发育和仔鱼存活有影响,试验组鱼的胚胎发育受阻,受精卵孵化率显著低于对照组,初孵仔鱼出现不同程度的畸形,这些重金属对黄姑鱼仔鱼的毒性强弱依次为Hg> Cu> Zn> Cr<sup>[9]</sup>。不同浓度Hg和Co溶液对草鱼受精卵孵化存在影响: Hg和Co的浓度分别低于0.03 mg/L和0.10 mg/L时,草鱼卵子的孵化率与对照组无显著差异;当Hg的浓度在0.06~0.15 mg/L时,孵化率随Hg浓度的升高而递减,在0.15 mg/L时,孵化率为0。Co的浓度达0.10~0.26 mg/L时,孵化率随Co的浓度上升而降低,达0.26 mg/L时,孵化率为0<sup>[10]</sup>。

#### 3.2 重金属对鱼类生理指标的影响

重金属离子进入鱼体组织后,一部分可随血液循环到各组织器官,引起组织细胞的机能变化;另一部分则可与血浆中的蛋白质和红血球等结合,妨碍血液机能,造成贫血或者与酶结合,造成酶的失活而毒害鱼类。

目前研究有毒金属可能通过两种方式,一是置换酶活性中心的必需金属,二是结合到酶分子中的咪唑基、巯基、羧基、氨基、肽基等功能基团而导致酶失活。Pb<sup>2+</sup>对胰蛋白酶活性影响实验表明:低浓度的Pb<sup>2+</sup>对酶有激活作用,高浓度则严重抑制酶活性。在高浓度下,Pb<sup>2+</sup>能与多肽链氨基酸残基上的氨基或羧基发生配位而竞争出胰蛋白酶中的Ca<sup>2+</sup>而结合到胰蛋白

酶上;高浓度的Pb<sup>2+</sup>结合使胰蛋白酶的二级结构被破坏, $\alpha$ -螺旋含量、 $\beta$ -转角及无规则卷曲下降, $\beta$ -折叠增加,因而使酶失去活性<sup>[11]</sup>。在实验条件下研究Cu, Cd中毒鲫鱼组织Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase酶活性的变化,结果表明:受水中Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>的影响,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase酶活性呈下降趋势;当水中Cu<sup>2+</sup>浓度为2, 4 mg/L时,脑、肝胰脏和鳃的酶活性显著降低,在4 mg/L浓度时肾脏的酶活性显著降低;当水中Cd<sup>2+</sup>浓度为1, 2 mg/L时,酶活性均显著下降,以肝胰脏、肾脏下降最为明显<sup>[12]</sup>。

Cu<sup>2+</sup>对鲫鱼红细胞、白细胞和血红蛋白量的影响实验显示:白细胞数为增加,红细胞数和血红蛋白量也发生了较大变化,这说明Cu<sup>2+</sup>确实对鲫鱼的代谢过程产生一定的毒性<sup>[13]</sup>。在虹鳟鱼的发育过程中200 ng/L Cd<sup>2+</sup>会阻碍其生长激素的表达<sup>[3]</sup>。Cu<sup>2+</sup>对鳟鱼呼吸强度和呼吸速率影响不大<sup>[14]</sup>。

### 4 重金属对鱼类的中毒剂量及影响因素

重金属对鱼类的毒性受许多物理、化学及生物因素影响,包括pH、无机阴离子、水硬度、其他金属离子、络合物及鱼类自身特点等。各种金属元素在鱼类体内都有一定的限量,在生理浓度范围内的金属离子可加速新陈代谢,促进其生殖、生长,但过量时则会对鱼类产生毒性效应。中国渔业水质标准(GB11607-89)对Hg, Cd, Zn, Pb的最高允许浓度分别规定为:0.0005, 0.005, 0.1, 0.05 mg/L。以重金属的总投放量为依据,根据其剂量大小和暴露时间长短,划分不同重金属对鱼类的半致死时间(LT<sub>50</sub>),半致死浓度(LC<sub>50</sub>)、不同时间的平均忍受限(TLm)以及安全浓度等等。

研究表明:在对鱼类的慢性实验中,重金属对早期发育阶段的影响,预测到的最大允许有毒物质浓度(MATC)与实际求得的最大允许有毒物质浓度基本上是一致的。霓虹鱼对Cu和Pb的吸收与环境暴露浓度呈线性关系,环境暴露浓度越高,进入鱼鳃、肌肉、肝脏中的重金属离子量越多<sup>[15]</sup>。还有研究证明,鱼类会因亚致死浓度金属的长期暴露而提高其耐受性。这可能与金属硫蛋白的去毒作用及鳃上皮的生理或生化改变有关。经不同浓度Cu驯化后再暴露于相同浓度Pb体系中的彩虹方头鱼鳃和鱼体Pb累积量随着Cu驯化暴露浓度增加而增加<sup>[16]</sup>。

采用混合体系暴露和顺次暴露方法研究Pb和Cd在被金鱼吸收过程中的相互作用时发现,混合暴露条件下,保持Cd暴露量不变,增加Pb的投放量,鳃Cd与肝Cd含量与单独暴露的结果无显著性差异,肾Cd含量则随Pb暴露浓度增加而减少;保持Pb浓度

不变, 增加 Cd 的投放量则可导致鳃和肾 Pb 含量下降; 在 Cd, Pb 顺序暴露后则没有观测到鳃、肝和肾 Pb 含量的规律性变化<sup>[17]</sup>。重金属离子相互作用对鲫鱼组织中积累的影响实验表明: 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, 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<sup>[18]</sup>。因此, 人们对重金属对鱼类的毒性, 若仅以金属的总量作为依据指标(如半致死量等)是不准确的, 还应考虑到水体中重金属的有机络合态、无机络合态、悬浮态、溶解态、吸附、聚沉等作用。

## 5 重金属对鱼类毒性效应的分子机理

### 5.1 重金属与生物大分子的作用

关于重金属鱼类中毒的分子机理, 从大量的对鱼类的毒性试验结果可以推测, 毒性是由于重金属与鱼体内生物大分子作用造成的。金属离子既可取代生物大分子活性点位上原有的金属, 也可以结合在该分子的其他位置。一般在生物大分子中的活性点位(生物大分子中具有生物活性的基因和物质)有: 羧肽酶、碱性磷酸酶、碳酸酐酶、细胞色素 c、血红蛋白以及 Fe 氧还原蛋白等<sup>[19]</sup>。当重金属进入鱼体后, 可以和生物大分子上的活性点位结合, 也可以和其他非活性点位结合, 在一定的情况下对鱼类产生毒性。对于含有金属的酶, 低浓度金属离子可能增加酶的活性, 高浓度的金属离子会严重抑制酶的活性, 进而可以改变生物大分子正常的生理和代谢功能, 使鱼类表现为中毒现象甚至死亡。

### 5.2 重金属对核酸影响机理

核酸(DNA 和 RNA)是生物的遗传物质, 它含有很多可结合金属离子的活性点位和非活性点位。在 DNA 碱基中, 当非互补的碱基配对结合时, 就会在遗传密码的传递中出现错误<sup>[20]</sup>。当重金属离子浓度较低时, 只有互补的碱基才能发生配对作用, 使两条链牢固地结合在一起; 当重金属离子浓度较高时, 由于重金属离子的稳定作用使两条链稳定结合在一起, 此时, 除了互补的碱基能配对外, 非互补的碱基也能配对, 从而导致碱基的错配, 使遗传信息的传递发生错误, 使生物体产生病变<sup>[19]</sup>。重金属离子能使核酸解

聚, 结合在磷酸酯基上的重金属离子可从 RNA 和核酸的磷酸二酯键上夺取电子, 从而使得成键不稳定和易水解, 这样生物大分子可降解成小的碎片, 也使鱼类机体发生病变。重金属离子还可使得 DNA 复制及转录、蛋白质的翻译出现差错, 在细胞水平上表现出染色体畸变, 姊妹染色体交换。混合重金属对鲫鱼 DNA 合成作用的影响实验表明: 鱼体各组织对混合重金属的毒性反应呈现双向效应, 即低浓度时, 表现出损伤、修复作用; 高浓度时, DNA 合成受到抑制; 鱼卵、鱼鳃对重金属最敏感, 损伤浓度为 0.0773 mg/L; 而大脑对混合重金属耐受性最强。DNA 损伤修复作用和 DNA 合成作用都存在剂量效应, 随着暴露时间的延长, 毒性作用增大<sup>[21]</sup>。

### 5.3 重金属对大脑影响机理

Clarkson 1987 年认为  $Hg^{2+}$  可以损坏和穿透大脑血液屏障而引起神经系统受损。重金属对大脑的影响主要在于神经元的损伤, 引起神经细胞皱缩。其机理可能是重金属离子与质膜某些阴离子结合造成质膜裂解, 原生质外溢, 也可能是重金属离子进入原生质与蛋白质的-SH 结合引起变性凝集, 从而神经元变瘪。

### 5.4 重金属在细胞水平影响机理

微核实验是染色体损伤短期突变性试验方法之一, 于 20 世纪 70 年代初由 Matter 和 Schimide 建立。现在微核检测技术是检测有毒物质(如重金属、放射性物质等)对生物细胞遗传损伤的一个非常有用的指标, 微核率可以迅速、可靠地反映机体染色体损伤及 DNA 复制紊乱等异常状况。张曙光 1996 年研究重金属污染物对鱼类的致突变性研究, 结果表明: As, Pb, Cr, Cd 可诱发鱼类红细胞微核、具有明显的剂量-效应关系; Hg, Cr, Pb 在鱼体内残留量与微核具有一定的相关关系。相关系数( $r$ )分别为 0.69, 0.84, 0.74; Cu, Pb, Zn, Cr, As 和较高剂量的 Hg, Cd 对鱼类微核的诱导作用基本上不存在时间-效应关系, 即鱼类微核率并不依鱼类接触重金属的时间延长而增加, Pb, Hg, Cr 在鱼体的残留量与红细胞微核率具有比较密切的正相关关系, 而 As, Cd 在鱼体残留量与微核率不存在相关关系<sup>[22]</sup>。以草鱼 ZC7901 细胞为研究模型, 用 6 种重金属离子进行胁迫诱导鱼类细胞凋亡试验显示: 在 Cd, Cr, Hg, Cu, As 和 Pb 的胁迫作用下, ZC7901 细胞均出现了明显的染色质凝集、趋边化、形成凋亡小体等凋亡形态特征<sup>[23]</sup>。

## 6 鱼类对重金属的排除及解毒机理

鱼体可以发挥自体的解毒功能, 将毒物向体外释放, 以求保持内环境的稳定, 从而使得体内的重金属

积累和去除达到平衡状态。金属硫蛋白是一类低分子质量、富含半胱氨酸的蛋白质，它们通过半胱氨酸残基上的巯基与重金属结合形成无毒或低毒的络合物，类金属硫蛋白是指分子量和一些主要性质都与金属硫蛋白类似的金属结合蛋白。在鱼类体内，重金属以金属硫蛋白或类金属硫蛋白的形式蓄积，这种形式结合的重金属有较小的毒性，因而对重金属具有一定的解毒作用。另一机制称为“包围隔离机制”，即在鱼体的组织细胞内，特别是在肝脏和肾脏的细胞中，发现有许多含有很高浓度的重金属的颗粒，这些颗粒的外面是由膜包裹着的，使得其中的金属与其他细胞组分相隔离，因而起到一定解毒作用。重金属和生物体内小分子质量的配体形成毒性较小的络合物也是解毒的一种途径。

## 7 今后的研究方向

如前所述，目前重金属对鱼类的影响的研究多还集中在毒性研究方面。对于本领域的发展，作者认为今后的研究重点：重金属对鱼类毒害作用分子机理的深入研究；重金属对鱼类毒性的生物形态有效性研究；重金属进入鱼体透膜机理的研究；鱼类对重金属毒害的解毒机理的深入研究；通过当前生物工程技术，提高鱼类对重金属毒性的耐受性及增强解毒能力的研究。

### 参考文献:

- [1] Megeer J, Szebedinszky C, McDonald D, *et al.* Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd, or Zn in rainbow trout. I: Ionoregulatory disturbance and metabolic costs[J]. *Aquatic Toxicol*, 2000, **50**(3): 231- 243.
- [2] Almeida J, Diniz Y, Marques S, *et al.* The use of oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination [J]. *Environment International*, 2002, **27**: 673- 679.
- [3] Jones I, Kille P, Sweeney G. Cadmium delays growth hormone expression during rainbow trout development[J]. *Journey of Fish Biology*, 2001, **59**: 1 015- 1 022.
- [4] 梁涛, 陶澍, 林健枝. 鱼体(去鳃)和鱼鳃对不同形态Cu的积累特征 [J]. *生态学报*, 1999, **19**(5): 763- 766.
- [5] Zauke G, Savinow V, Ritterhoff J, *et al.* Heavy metals in fish from the Barents Sea ( summer 1994)[J]. *The Science of the Total Environment*, 1999, **227**: 161- 173.
- [6] Mich le R, Yves S, Zednabou S, *et al.* Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast [J]. *The Science of the Total Environment*, 1999, **232**: 169- 175.
- [7] 罗国钧. 鲫鱼体内重金属的分布和积累规律研究[J]. *渝州大学学报*, 2000, **17**(1): 56- 61.
- [8] 阮晓, 郑春霞. 重金属在罗非鱼、淡水白鲢和鲤鱼体内的蓄积[J]. *农业环境保护*, 2001, **20**(5): 357- 359.
- [9] 吴鼎勋, 洪万树. 四种重金属对 状黄姑鱼胚胎和仔鱼的毒性[J]. *台湾海峡*, 1999, **18**(2): 186- 190.
- [10] 杨再福, 印惠君. 重金属Hg和Co对草鱼卵子孵化的影响[J]. *农业环境保护*, 2002, **21**(1): 79- 80.
- [11] 洪法水, 王玲, 吴康等. Pb<sup>2+</sup>对胰蛋白酶活性影响的作用机理研究[J]. *无机化学学报*, 2003, **19**(2): 129- 132.
- [12] 贾秀英, 陈志伟. Cu, Cd对鲫鱼组织 Na<sup>+</sup>- K<sup>+</sup>- ATPase酶活性的影响[J]. *科技通报*, 2003, **19**(1): 50- 53.
- [13] 南旭阳. Cu离子对鲫鱼红细胞、白细胞和血红蛋白量的影响[J]. *江西科学*, 2002, **20**(1): 38- 41.
- [14] Granmo Å, Ekelund R, Sneli J, *et al.* Effects of antifouling paint components (TBTO, copper and triazine) on the early development of embryos in cod(*Gadus morhua* L.) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, **44**: 1142- 1148.
- [15] Tao S, Liang T, Cao J, *et al.* Synergistic effect of copper and lead uptake by fish[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, **44**: 190- 195.
- [16] Tao S, Liang T, Liu C, *et al.* Uptake of copper by neon tetras(*Paracheirodon innesi*) in the presence and absence of particulate and humic matter[J]. *Ecotoxicology*, 1999(8): 269- 275.
- [17] 刘长发, 陶澍, 尤爱民, 等. Pb与Cd在被金鱼吸收积累过程中的相互作用 [J]. *生态学报*, 2001, **21**(11): 1 863- 1 868.
- [18] 周新文, 朱匡念. 重金属离子相互作用对Cu在鲫鱼组织中积累的影响[J]. *浙江大学学报*, 2002, **28**(4): 427- 430.
- [19] McIntyre A. *Ecological Toxicology Research—Effects of Heavy Metal and Organohalogen Compounds*[M]. New York: Plenum Press, 1975. 235- 259.
- [20] 沈同, 王镜岩. *生物化学(第二版)*[M]. 北京: 高等教育出版社, 1991. 346- 350.
- [21] 周新文, 孙锦荷. 用<sup>3</sup>H-TdR研究混合重金属对鲫鱼DNA合成的影响[J]. *核农学报*, 2001, **15**(2): 115- 120.
- [22] Chinni S, YallaPragada P. Lead toxicity on growth and biochemical constituents in postlarvae of *Penaeus indicus*[J]. *Marine Environment Research*, 2000, **50**: 103- 106.
- [23] 项黎新, 邵健忠, 孟真. 六种重金属离子胁迫诱导鱼类细胞凋亡的研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, **28**(6): 866- 869.

(本文编辑:刘珊珊)