

## Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>抑制罗非鱼 EOG 反应的研究\*

柴敏娟 陈学雷

(厦门大学海洋系, 361005)

**摘要** 将不同浓度 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>液分别灌注罗非鱼嗅觉器官,研究其对 EOG 反应的影响。结果表明,这3种离子对 EOG 反应均呈抑制效应,抑制作用的大小与金属离子的种类及浓度有关,Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>有效 IC<sub>50</sub>分别为 33.91、67.73、191.44 μg/L;毒性顺序为: Cd<sup>2+</sup> > Hg<sup>2+</sup> > Pb<sup>2+</sup>。

**关键词** Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、EOG、抑制

自50年代“水俣病”、“骨痛病”在日本出现后,重金属污染的危害引起人们的高度重视,有关的研究报道较多。近10年来,研究 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>对鱼类的影响,已从急性实验的定性观察发展到多方面的定量研究,如对鱼卵、稚鱼、仔鱼和成鱼存活率,对仔鱼、成鱼生长发育及对血液功能、激素分泌等的影响;重金属离子在鱼体内的蓄积和分布等<sup>[1-8]</sup>,但对嗅觉影响的研究鲜见。本文以嗅电图(Electro-olfactogram,简称 EOG)为指标,观测 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>对罗非鱼嗅觉反应的影响,研究 EOG 作为渔业水域水质重金属污染的灵敏生物学指标的可行性,探讨鱼类重金属中毒的可能机理。

### 1 材料与方 法

实验罗非鱼(*Tilapia* sp.)60尾捕自厦门大学芙蓉湖,体重65~72g,体长16~18cm,暂养于室内水槽,饲养水系含饱和溶解氧的去 Cl<sup>-</sup>自来水,水温为(27±0.5)℃,驯养10d后使用。

分别将 CdCl<sub>2</sub>、HgCl<sub>2</sub>、Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>溶于蒸馏水配制成浓度分别为10、10、100 mg/L(以金属离子计)的污染物母液。实验前,按表1用蒸馏水稀释母液至所需浓度作污染灌注液。标准刺激液及其配制、实验方法和装置均同文献[9]。

收稿日期:1998-03-23

\*福建省自然科学基金资助项目(第C96005号),国家自然科学基金资助项目(第39770102号)。

### 2 结 果

#### 2.1 Cd<sup>2+</sup>对 EOG 反应的抑制效应

EOG是从嗅粘膜上记录到的一种感受器电位,它是由叠加电流通过嗅上皮细胞外阻抗而形成的。以10<sup>-5</sup> mol/L甲硫氨酸为标准刺激,引起正常鱼 EOG 振幅视作100%。分别用5、10、50、100 μg/L Cd<sup>2+</sup>液连续灌注嗅囊180 min,观测由标准刺激产生的 EOG 反应变化。图1为不同浓度 Cd<sup>2+</sup>对 EOG 反应的抑制。由图1可见,不同浓度 Cd<sup>2+</sup>均使 EOG 反应变小,浓度越高,反应越小,曲线下降越明显,抑制作用越大。如100 μg/L组在染毒的最初30 min,EOG 反应迅速下降约50%,之后几乎呈直线下降,反映该浓度 Cd<sup>2+</sup>对 EOG 反应有强烈的抑制效应;5 μg/L组的影响最小,也可使 EOG 反应比正常值低10%~20%,提示 Cd<sup>2+</sup>对 EOG 反应有明显的抑制效应。

表1 各种金属污染物的浓度

Table 1 Concentrations of various metal pollutants μg/L

浓度 concentration	组别 group			
	1	2	3	4
Cd <sup>2+</sup>	5	10	50	100
Hg <sup>2+</sup>	10	50	100	500
Pb <sup>2+</sup>	50	100	500	1 000

## 2.2 $Hg^{2+}$ 对 EOG 反应的抑制效应

4种浓度  $Hg^{2+}$  对 EOG 反应的影响如图2, 曲线下下降趋势与离子浓度相关。在染毒的最初 60 min 内, 曲线下下降趋势均随离子浓度增加而明显, 其中 500  $\mu g/L$  组曲线降至约 10%, 50、100  $\mu g/L$  组分别下降 44%、53% 左右, 之后这 3 组曲线依次分别在 15%、35% 和 50% 上下波动。10  $\mu g/L$  组的状况不同, 从染毒初始降至 80% 后, 基本保持不变。可见,  $Hg^{2+}$  浓度越大, 曲线下下降的速度和幅度越显著。说明  $Hg^{2+}$  对 EOG 反应也呈明显的抑制作用。

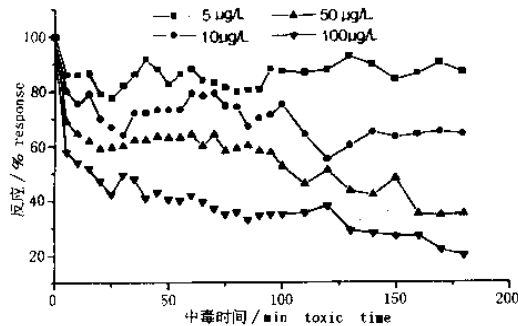


图1 不同浓度  $Cd^{2+}$  对罗非鱼 EOG 反应的影响

Fig.1 Effect of fish's EOG in different  $Cd^{2+}$  concentrations

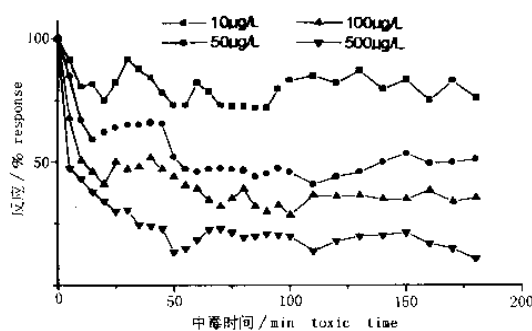


图2 不同浓度  $Hg^{2+}$  对罗非鱼 EOG 反应的影响

Fig.2 Effect of fish's EOG in different  $Hg^{2+}$  concentrations

## 2.3 $Pb^{2+}$ 对 EOG 反应的抑制效应

$Pb^{2+}$  也能抑制 EOG 反应, 由图3可见,  $Pb^{2+}$  对 EOG 反应的影响较前二者稍有规律。在染毒的前

20 min 内, 4种浓度  $Pb^{2+}$  均使 EOG 振幅分别下降 22%、50%、62% 和 75%; 50 min 后, 又分别稳定在约 70%、58%、45%、20%。说明  $Pb^{2+}$  抑制效应的大小也随离子浓度而异, 浓度高抑制作用大, 浓度低作用小。曲线在 60 min 后能稳定在某一水平波动, 说明嗅感受器对  $Pb^{2+}$  比前 2 种离子较为适应, 提示  $Pb^{2+}$  毒性比  $Cd^{2+}$  和  $Hg^{2+}$  小些。

用相关和回归分析上述 3 组第 180 min EOG 反应下降的实验数据和  $Cd^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$  浓度, 拟合的线性方程为:

$$Cd^{2+}: \log R = 0.543 \log C + 0.868$$

$$(r = 0.95^{**}, n = 4)$$

$$Hg^{2+}: \log R = 0.337 \log C + 1.082$$

$$(r = 0.98^{**}, n = 4)$$

$$Pb^{2+}: \log R = 0.358 \log C + 0.882$$

$$(r = 0.98^{**}, n = 4)$$

从上述方程式得  $Cd^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$  的有效抑制  $IC_{50}$  值(抑制效应达 50% 时的浓度)分别为: 33.91、67.73、191.44  $\mu g/L$ 。可见,  $Cd^{2+}$  的抑制作用大,  $Pb^{2+}$  最小。所作相应拟合方程图(图4)中, 直线上的点为各种浓度第 180 min 时 EOG 幅度下降的平均实验数据。由图4可见,  $Cd^{2+}$  在最左侧,  $Pb^{2+}$  在最右侧, 也反映这 3 种离子抑制作用的顺序为:  $Cd^{2+} > Hg^{2+} > Pb^{2+}$ 。

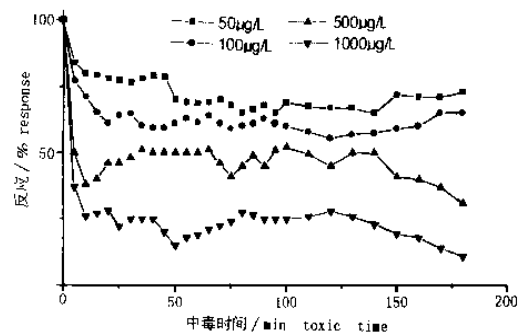


图3 不同浓度  $Pb^{2+}$  对罗非鱼 EOG 反应的影响

Fig.3 Effect of fish's EOG in different  $Pb^{2+}$  concentrations

## 3 讨论

在鱼类的摄食、防御、生殖、集群、迁移和定向等行为中, 嗅觉比视觉和听觉作用更大, 是一种重要的

远距感受器。由于鱼类嗅觉器官的结构特点,使嗅觉感受器直接浸浴在水环境中,外无保护装置,内无解毒系统,因而成为环境诸因子刺激的目标之一;感受器膜又具有重要的生理性、化学活性及结构的复杂性<sup>[10]</sup>,因而既能灵敏地感受外环境变化,又极易受到有害因子的损伤,这可从 EOG 上反映出来。EOG 是一种较容易记录、灵敏的生物电现象<sup>[9,11]</sup>,本实验以此作观测指标,也发现它极易受 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 3 种离子的影响,并随离子浓度的增加和中毒的加深而灵敏变化,这与笔者曾经观察的 EOG 随 Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup> 浓度的敏锐变化的实验结果一致<sup>[9]</sup>,这充分证明 EOG 是一个很好的渔业水域水质重金属监测指标。

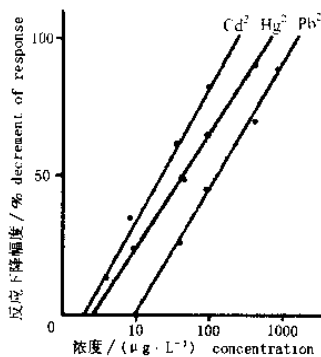


图 4 EOG 下降幅度与 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 浓度间的关系

Fig. 4 Relation between response decline and concentration of Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>

一般说有效抑制 IC<sub>50</sub> 值可衡量某物的毒性大小。IC<sub>50</sub> 值大,表示该物的抑制作用小,反映其毒性小;反之抑制作用大,毒性亦大。阈值是另一个衡量毒性的指标。通常某物的阈值小,表示引起抑制作用的浓度低,反映该物的毒性大;反之毒性小。从图 4 曲线得出 3 种离子的阈值: Cd<sup>2+</sup> 1.9 μg/L, Hg<sup>2+</sup> 2.5 μg/L, Pb<sup>2+</sup> 10.0 μg/L; 其顺序为: Pb<sup>2+</sup> > Hg<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup>, 进一步证明 Cd<sup>2+</sup> 的毒性最大, Pb<sup>2+</sup> 的毒性最小。将此值与我国渔业水质标准相比, Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的阈值均小于标准值 (Cd<sup>2+</sup> < 0.005 mg/L; Pb<sup>2+</sup> < 0.1 mg/L), 提示该标准值已对罗非鱼嗅觉有影响。

有关 3 种离子抑制 EOG 反应的机制, 鉴于当前对鱼类嗅觉感受器膜上存在几种氨基酸作用位点及

其特异性尚不清楚, 本文初步推测如下: ①由于这 3 种离子与感受器膜上作用位点的硫氢基、氨基键合或耦合<sup>[10,11]</sup>, 影响 Met 分子与作用位点的结合, 致使膜上离子通道开放的数量低于正常, 流入嗅纤毛的电流减小, 故 EOG 振幅减小; ②与嗅上皮结构的完整性有关。若金属离子与膜上硫氢基、氨基键合或耦合持久, 可能使细胞不可逆地受到损伤<sup>[10,11]</sup>。Brown 等也观察到 Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 可使嗅上皮感受细胞的数量减少<sup>[10]</sup>, 嗅上皮结构的损伤引起功能的衰竭, 这是重金属离子抑制 EOG 反应的又一原因。至于 Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup> 的毒性大于 Pb<sup>2+</sup>, 可能与它们的生物亲和力 f 值有关, 它们的 f 值均小于 5 (f<sub>Hg</sub> 为 1.6; f<sub>Cd</sub> 为 2.2; f<sub>Pb</sub> 为 3.4<sup>[13]</sup>), 属于亲疏离子, 根据 f 值小毒性大的原则, Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup> 的毒性大于 Pb<sup>2+</sup>; 另外也与重金属离子对组织的损伤程度有关。有实验证明, Cd<sup>2+</sup> 在 24 h 内很易在嗅上皮累积<sup>[10]</sup>, 而浸浴在 50~100 μmol/L Pb<sup>2+</sup> 液 6 个月, 鱼须和唇才受到损伤<sup>[12]</sup>, 提示 Cd<sup>2+</sup> 对嗅感受器的影响会更早、更严重, Pb<sup>2+</sup> 的损伤程度可能较小, 这是 Cd<sup>2+</sup> 毒性大, Pb<sup>2+</sup> 毒性小的另一原因。

## 参 考 文 献

- 席玉琴, 等. 几种重金属离子毒性对黑鲷卵子和稚鱼的影响. 河北渔业, 1995, 3: 3~5
- Baatrup E, et al. Differential effects of mercurial compounds on the electroolfactogram (EOG) of salmon (*Salmosalar* L). *Ecot Environ Saf*, 1990, 20(3): 269~273
- Kham T, J S Wais. Bioaccumulation of metal in two populations of mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Bull Environ Contam Toxicol*, 1993, 51(1): 1~5
- Kuroshima R, S Kimura. Changes in toxicity of Cd and its accumulation in grilla and goby with their growth. *日水志*, 1992, 56(3): 431~435
- Mieklund Glynn A, et al. Chronic toxicity and metabolism of Cd and Zn in juvenile minnows (*Phoxinus phoxinus*) exposed to a Cu and Zn mixture. *Can J Fish Aquac Sci*, 1992, 49(10): 2070~2079
- Ruparelins G, et al. Lead-induced changes in fresh water fish oreochromis mossambicus. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1989, 43(2): 310~314
- Thuvander A. Cadmium exposure of rainbow trout, *Salmo gairdneri richardsoni*: effects on immune functions. *J Fish Biol*, 1989, 35(4): 521~529
- 中川久机, 石尾直弥. 重金属イオンに対するソダカの卵、仔魚および成魚の感受性比較. 水产増殖, 1991, 39(4): 435~440
- 柴敏娟, 等. 重金属 (Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) 对罗非鱼嗅电反应的影响. 厦

- 门大学学报(自然科学版), 1996, 35(1):94~99
- 10 Brown S. et al. Chemoreception and aquatic pollutants. In: Hara T J. Chemoreception in Fishes. Amsterdam Oxford New York: Elsevier Sci Pub, 1982, 263~293
- 11 Hara T J. et al. Effects of mercury and copper on the olfactory response in rainbow trout, *Salmo gairdnei*. J Fish Res Board Can, 1976, 33:1568~1573
- 12 Haider G. Die wirkung subletaler bleikonzentrationen auf chemorezeptoren zweier süsswasser fischerarten. *Hydrobiologia*, 1975, 47:291~300
- 13 吴瑜端, 等. 厦门港湾重金属污染与海域生产力关系. *海洋与湖沼*, 1989, 17(3):173~184

## Inhibition of $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Hg}^{2+}$ and $\text{Pb}^{2+}$ on EOG responses of *Tilapia* sp.

Chai Minjuan Chen Xuelei

(Department of Oceanography, Xamen University, 361005)

**Abstract** Solutions of  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  with different concentrations were poured into olfactory organs of *Tilapia* sp. Their electro-olfactogram (EOG) responses to the 3 ions were recorded. The EOG responses declined during the fish's exposure to  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  solutions. The inhibitory degree was relative to the kind of metal and its concentration. The effective  $\text{IC}_{50}$  of the 3 kinds of ions were 33.9, 67.73 and 191.44  $\mu\text{g/L}$ , respectively. The sequence of toxicity was  $\text{Cd}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ .

**Key words**  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , EOG, inhibition