

甲基汞对鲤鱼血浆渗透压及鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的影响

蔺玉华 张冰艳 卢健民

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

赵淑敏

(哈尔滨市环境监测中心站, 150076)

摘 要 以水体甲基汞不同浓度($\mu\text{g/L}$)分别染毒鲤鱼24小时和1周。实验结果表明:在浓度高于 $50\mu\text{g/L}$ 染毒24小时和浓度 $20\mu\text{g/L}$ 染毒1周时,多数染毒鱼的血浆 K^+ 和 Mg^{2+} 浓度增高, Na^+ 和 Cl^- 浓度下降, PO_4^{3-} 值变化不明显。血浆 Ca^{2+} 浓度仅在 $200\mu\text{g/L}$ 染毒24小时和高于 $40\mu\text{g/L}$ 染毒1周时,染毒鱼的血浆 Ca^{2+} 出现极显著下降。甲基汞量高于 $100\mu\text{g/L}$ 染毒24小时和 $80\mu\text{g/L}$ 染毒1周,染毒鱼的血浆渗透压呈明显下降趋势。鳃线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性仅在染毒24小时浓度为 $25\mu\text{g/L}$ 和 $50\mu\text{g/L}$ 剂量时受到抑制。甲基汞还引起了血糖含量的明显增高。

关键词 甲基汞, 鲤鱼, 渗透压, 血浆离子, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

前 言

毒物以各种方式影响水生生物的生理功能,例如在鱼类,重金属污染一般干扰体内水和离子平衡及血浆渗透压高低,这些变化牵涉到鱼鳃的结构与功能^[11]。此外,渗透过程涉及到重要的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 。

重金属对鱼类血浆渗透压、血浆电解质和 ATPase 的影响国外已有报道^[2,9,11],尚未见甲基汞对鲤鱼此方面的毒性作用报道。本实验以不同浓度甲基汞染毒鲤鱼,对血浆离子成分和渗透压,血糖浓度以及 ATPase 的活性进行了测试与分析,以探讨重金属污染对主要经济鱼类血浆生化指标的影响及渗透压、离子浓度变化的调节机理。

收稿日期: 1995-04-28。

材 料 与 方 法

(一) 采样及试剂

试验鲤鱼春片及秋片分别取自哈尔滨市郊金山堡鱼种场和黑龙江水产研究所松浦试验站。鲤鱼春片体长平均 8.84 厘米, 体重 18.95 克。鲤鱼秋片体长平均 12.67 厘米, 体重 59.45 克。实验前室内暂养两周。染毒试剂为英国进口分析纯 CH_3ClHg 。

试验水族箱体积为 40L, 每箱 4 尾鱼, 设平行组。水温 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ 。试验用水为本所曝气自来水, 其 pH 7.4, 总硬度 3.79 德国度, 溶解氧 5~6.0mg/L。24 小时染毒实验组甲基汞浓度($\mu\text{g/L}$)梯度为 1, 5, 10, 25, 50 和 50, 100, 200; 1 周染毒实验组甲基汞浓度($\mu\text{g/L}$)梯度为 1, 2.5, 5, 10, 20 和 20, 40, 80。对照组未加甲基汞。1 周染毒每天换水, 监测浓度变化范围不超过 10%。

(二) 测定方法

1. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力测定 依据 Folmar 等^[3]和 Narbonne 方法^[8]测定 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力。制线粒体过程, 将鱼鳃弓去掉, 称取鳃丝加提取液后匀浆。制备的线粒体提取液于 -20°C 保存, 按 Lowry 法测定蛋白质含量^[1]。以钼蓝法测定无机磷。酶活力用微摩尔无机磷/毫克蛋白/小时($\mu\text{molp/mgprotein/h}$)表示。

2. 血浆葡萄糖和离子的测定 于鱼尾静脉用注射器抽血, 加 1% 肝素钠, 离心后于 -20°C 冰箱保存。葡萄糖氧化酶法测定血糖浓度。血浆渗透压使用国产 LBST-873 冰点渗量计。血清无机磷比色法测磷, 硫氰酸氢比色法测氯离子, 日本日立 180-80 原子吸收分光光度仪测定 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 金属离子。

3. 数据处理与分析 所获全部有效数据采用单方差分析然后进行 t 检验。

结 果

甲基汞对鲤鱼血浆离子浓度与渗透压影响见表 1 和表 2。

1. 血浆离子 当水体甲基汞浓度高于 $50\mu\text{g/L}$ 染毒 24 小时和 $20\mu\text{g/L}$ 染毒 1 周时, 大多数染毒鱼的血浆 K^+ 和 Mg^{2+} 增高, 而 Na^+ 和 Cl^- 降低, PO_4^{3-} 值虽然在个别组出现降低但变化不明显。此外, 血浆 Ca^{2+} 在汞处理(春片)中效果不明显(见表 1)。高浓度汞(剂量 $200\mu\text{g/L}$, 染毒 24 小时和高于 $40\mu\text{g/L}$ 染毒 1 周)染毒鱼(秋片)的 Ca^{2+} 与对照鱼相比出现显著下降(见表 2)。

2. 血浆渗透压 甲基汞浓度高于 $50\mu\text{g/L}$ 染毒 24 小时和 $20\mu\text{g/L}$ 染毒 1 周时, 染毒鱼(春片)血浆渗透压值出现降低趋势(见表 1)。当剂量高于 $100\mu\text{g/L}$ 染毒 24 小时和 $80\mu\text{g/L}$ 染毒 1 周时, 染毒鱼(秋片)血浆渗透压明显低于对照鱼(见表 2)。

3. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性 甲基汞染毒鲤鱼春片 24 小时和 1 周, 其鳃丝线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性变化见表 3。24 小时(A)组数据表明, 两个高剂量组鱼的酶活性受到明显抑制。

表 1 不同浓度甲基汞染毒鲤鱼(1 龄)24 小时(A)和 1 周(B)后血浆渗透压(msom/L)与离子浓度(Meq/L)
Table 1 Plasma osmolality (mosm/L) and ion concentrations (meq/L) in one-year-old common carp treated with different concentrations of methyl mercury for 24 hours (A) and for one week (B)

甲基汞 MMC ($\mu\text{g/L}$)		渗透压 Osmolality	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	Po_4^{3-}
A	0	242 $\pm$ 35	81.4 $\pm$ 12.5	4.19 $\pm$ 1.61	4.22 $\pm$ 0.70	1.80 $\pm$ 0.32	105.6 $\pm$ 14.3	6.58 $\pm$ 2.00
	1	211 $\pm$ 57	82.2 $\pm$ 16.8	5.17 $\pm$ 2.17	4.38 $\pm$ 1.20	2.04 $\pm$ 0.40	100.9 $\pm$ 17.1	4.91 $\pm$ 0.43
	5	235 $\pm$ 29	78.7 $\pm$ 7.0	5.98 $\pm$ 2.16	4.70 $\pm$ 1.16	2.24 $\pm$ 0.30*	94.5 $\pm$ 15.0	3.86 $\pm$ 0.91**
	10	238 $\pm$ 29	84.6 $\pm$ 5.7	5.18 $\pm$ 1.70	4.06 $\pm$ 0.74	2.06 $\pm$ 0.26	93.2 $\pm$ 10.7	5.63 $\pm$ 0.98
	25	222 $\pm$ 33	78.5 $\pm$ 10.8	6.36 $\pm$ 1.94*	3.96 $\pm$ 0.64	1.98 $\pm$ 0.28	94.7 $\pm$ 10.4	4.33 $\pm$ 0.94*
	50	205 $\pm$ 33	80.5 $\pm$ 15.0	6.16 $\pm$ 1.07*	3.42 $\pm$ 0.94	2.20 $\pm$ 0.24*	90.1 $\pm$ 6.2*	4.42 $\pm$ 0.85
B	0	242 $\pm$ 31	94.7 $\pm$ 13.4	3.79 $\pm$ 0.98	3.80 $\pm$ 0.70	1.78 $\pm$ 0.26	101.3 $\pm$ 6.87	5.56 $\pm$ 1.23
	1	234 $\pm$ 43	73.1 $\pm$ 21.3	5.14 $\pm$ 2.26	3.18 $\pm$ 0.96	1.62 $\pm$ 0.28	109.0 $\pm$ 18.8	6.21 $\pm$ 2.29
	2.5	283 $\pm$ 35	103.1 $\pm$ 26.1	4.16 $\pm$ 1.13	3.72 $\pm$ 0.74	1.66 $\pm$ 0.18	98.0 $\pm$ 9.4	5.19 $\pm$ 2.27
	5	249 $\pm$ 34	90.7 $\pm$ 19.6	5.49 $\pm$ 3.02	3.94 $\pm$ 0.96	1.90 $\pm$ 0.28	114.0 $\pm$ 18.8	4.79 $\pm$ 1.10
	10	239 $\pm$ 45	88.1 $\pm$ 12.2	4.78 $\pm$ 1.45	3.90 $\pm$ 0.70	2.14 $\pm$ 0.58	104.4 $\pm$ 14.6	5.56 $\pm$ 1.76
	20	229 $\pm$ 34	77.5 $\pm$ 4.4*	6.80 $\pm$ 2.96*	4.40 $\pm$ 0.96	3.24 $\pm$ 1.36*	90.4 $\pm$ 5.1**	5.83 $\pm$ 1.65

※ 与对照组比较 $P < 0.05$; ※※ $P < 0.01$; $\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 7$

values are expressed as mean $\pm$ SD of 7 observations. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

表 2 高浓度甲基汞染毒鲤鱼(6 个月幼鱼)24 小时(A)和 1 周(B)后血浆渗透压(msom/L)与离子浓度(Meq/L)

Table 2 Plasma osmolality (mosm/L) and ion concentrations (meq/L) in six-month-old common carp treated with high concentrations of methyl mercury for 24 hours (A) and for one week (B)

甲基汞 MMC ($\mu\text{g/L}$)		渗透压 Osmolality	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	Po_4^{3-}
A	0	388 ± 76	78.9 ± 11.2	2.45 ± 0.83	5.58 ± 0.29	1.04 ± 0.14	103.9 ± 3.7	3.39 ± 0.55
	50	282 ± 31	$49.7 \pm 3.3^*$	3.90 ± 1.77	5.31 ± 0.55	1.09 ± 0.17	$93.6 \pm 1.0^*$	3.84 ± 0.37
	100	$239 \pm 37^*$	$53.4 \pm 18.0^*$	$5.27 \pm 1.00^{**}$	5.20 ± 0.23	$1.21 \pm 0.14^*$	$80.8 \pm 9.0^{**}$	3.50 ± 0.54
	200	$24.5 \pm 31^*$	$47.6 \pm 13.0^*$	$4.58 \pm 1.48^*$	$4.06 \pm 0.39^{**}$	$1.80 \pm 0.63^*$	$92.6 \pm 3.3^*$	3.27 ± 0.01
B	0	324 ± 59	104.3 ± 9.4	2.17 ± 1.24	4.84 ± 0.15	0.92 ± 0.09	106.9 ± 13.8	3.95 ± 0.36
	20	288 ± 21	101.9 ± 1.8	1.72 ± 0.69	4.75 ± 0.16	$1.17 \pm 0.22^*$	105.9 ± 10.4	3.50 ± 0.65
	40	282 ± 25	$85.9 \pm 5.6^*$	2.33 ± 0.59	$4.10 \pm 0.32^{**}$	$1.16 \pm 0.14^*$	98.2 ± 4.2	3.86 ± 0.56
	80	$259 \pm 18^*$	$70.1 \pm 4.3^{**}$	2.22 ± 0.41	$3.69 \pm 0.08^{**}$	1.13 ± 0.36	95.6 ± 2.3	3.87 ± 0.41

※ 与对照组比较 $P < 0.05$; ※※ $P < 0.01$; $\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 5$

values are expressed as mean $\pm$ SD of five observations. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 不同浓度甲基汞染毒鲤鱼 24 小时(A)和 1 周(B)后鳃丝线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性
 Table 3 Activities of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in mitochondria of gill filament in common carp exposed to various concentrations of methyl mercury for 24 hours (A) and for one week (B)

甲基汞浓度 MMC ($\mu\text{g/L}$)		酶活性(微摩尔磷/毫克蛋白质/小时) Enzymes activity ($\mu\text{mol P/mgprotein/h}$)
A	0	17.05 ± 6.67
	1	13.56 ± 3.72
	5	11.30 ± 5.24
	10	14.90 ± 3.60
	25	$8.81 \pm 2.97^*$
	50	$10.04 \pm 3.87^*$
B	0	12.74 ± 4.30
	1	11.80 ± 1.68
	2.5	15.81 ± 2.66
	5	14.36 ± 2.09
	10	13.15 ± 1.36
	20	14.80 ± 3.43

* 与对照组比较 $P < 0.05$; $\bar{X} \pm \text{SD}$, $n = 7$

Data are expressed as mean $\pm$ SD of 7 observations. * $P < 0.05$

4. 血浆葡萄糖含量 甲基汞对鲤鱼春片染毒 24 小时和 1 周血糖含量的影响见图 1 和图 2。数据表明,大多数汞染毒鱼血糖高于对照鱼。例如 24 小时和 1 周染毒鱼的两个高剂量组鱼的血糖含量明显高于对照鱼(染毒组 $124.40 \pm 40.36\text{mg}\%$, 对照组 $81.55 \pm 26.51\text{mg}\%$; 染毒组 $86.06 \pm 14.49\text{mg}\%$, 对照组 $64.83 \pm 14.40\text{mg}\%$, $P < 0.05$)。

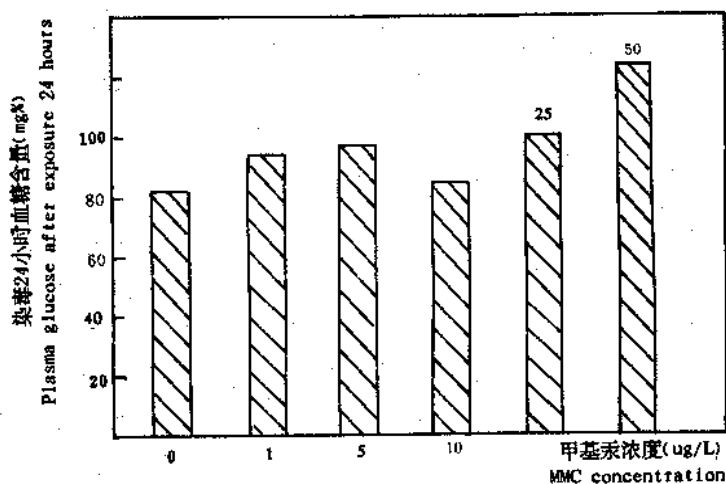


图 1 不同浓度甲基汞对鲤鱼染毒 24 小时血糖含量的影响

Fig. 1 Effect of exposure to various concentrations of methyl mercury for 24 hours on plasma glucose levels in common carp

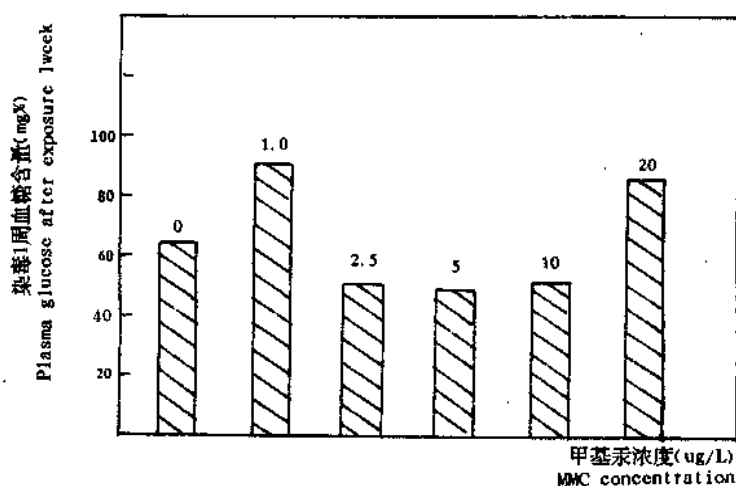


图 2 不同浓度甲基汞对鲤鱼染毒 1 周血糖含量的影响

Fig. 2 Effect of exposure to various concentrations of methyl mercury for one week on plasma glucose levels in common carp

讨 论

鳃、肾、肠是淡水鱼类三种起渗透作用的器官,而鳃是最为重要的器官。为维持鱼体的离子平衡,鳃与 Na^+ 的主动吸收以及 Cl^- 对泌尿盐的损失补偿相关连。Mallatt^[6]和 Wendelaar Bonga^[11]指出:鳃结构的改变与血浆 Na^+ 、 Cl^- 浓度下降往往相伴随。这与我们实验结果相一致。即汞处理鱼在高剂量组中出现了 Na^+ 、 Cl^- 下降以及鳃丝组织受到损伤。光镜下观察到甲基汞 200 $\mu\text{g/L}$ 染毒 24 小时和 80 $\mu\text{g/L}$ 染毒 1 周鱼的鳃丝卷曲,外表皮细胞从基膜分离。电镜观察鳃细胞内管状膜系统有空泡出现,线粒体肿胀解体(文章待发)。

Wendelaar Bonga^[11]还指出:鳃结构损伤通常归结于通透性的增强。然而光镜下发现鳃结构发生变化时,鱼已经遭受了较严重的感染且渗透压调节发生紊乱和减弱了氧吸收能力。我们的实验结果与 Spry 和 Wood^[10]以及 McDonald 等^[5]的结论相符,即重金属引起鳃损伤的浓度与引起血浆电解质改变的染毒浓度相比要高且染毒时间要长。

鳃通过氯细胞主动吸收离子。氯细胞具有几种离子运输和交换的 ATPase 的管状膜系统^[2,7]。ATPase 作用是在 Na^+ 的主动转移, K^+ 穿过细胞膜活动中,使 K^+ 泵入细胞内和 Na^+ 运出细胞。这种观点早已被广泛接受^[9]。本实验中仅 24 小时甲基汞浓度 25 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ 染毒鱼的鳃线粒体 ATPase 活性降低($P < 0.05$)。1 周染毒后引起血浆渗透压和离子变化的浓度并未使 ATPase 活性受影响。由此可见,鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性受到抑制而直接引起汞染毒鱼鳃渗透压下降是不可能的。实验结果说明细胞膜对水和离子的通透性改变,主要原因来源于外表皮细胞的膨胀和血浆中离子浓度的降低,而不是 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的抑制。

淡水生活的鱼类,水以渗透形式不断进入鳃,并通过生物转运而失去盐分。渗透能力受脑垂体激素——催乳素控制^[4]。我们认为甲基汞可能首先引起鳃的通透性增强,进而导致

血浆渗透压下降,并促进催乳素的合成和释放。鳃的通透性的变化同时还可能以其它方式影响催乳素细胞的活性。关于细胞膜渗透调节机理将有待深入探讨。

参 考 文 献

- [1] T.G. 库珀著,徐晓利主译,1977.生物化学工具,51-54.人民卫生出版社。
- [2] Flik, G.J. H van Rijs and S.E. Wendelaar Bonga, 1985. Evidence for highaffinity Ca^{2+} - ATPase activity and ATP - driven Ca^{2+} - transport in membrane preparations of the gill epithelium of the cichlid fish *Oreochromis mossabicus*. *J. Exp. Biol.* 119:335-347.
- [3] Folmar, L. C., et al., 1978. In vitro inhibition of brain ATPase PNPPase, and ATP - 32P exchange by chlorinated - diphenyl ethanes cyclodine insecticides, *Bul. Environm. Contam. Toxicol.* 4:481-486.
- [4] Maetz, J. 1974. Aspects of adaptation to hypo - osmotic and hypers - motic environments. In: *Biochemical and biophysical and biophysical perspectives in marine biology vol. 1.* (D. C. Malins and J. R. Sargent, eds.), pp. 1-167. Acad. Press, New York.
- [5] McDonald, D. G., et al. 1991. Interspecific differences in gill morphology of freshwater fish in relation to tolerance of low - pH environments. *Physiol. Zool.* 64:125-144.
- [6] Mallatt, J. and C. Stinson. 1990. Toxicant extraction efficiency and branchial NaCl fluxes in lampreys exposed to Kepone. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19:307-313.
- [7] Mayer - Gostan, N., et al. 1987. Mechanisms of hormone actions on gill transport. In: P. K. T. Pang and MP. Schreiban (Eds.): *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and biomedical Implications*. Vol. II: 211-238. Academic Press, San Diego.
- [8] Narbonne, J. F., et al., 1978. Polychlorinated biophenyls; Effect of diet level on ATPase activity in rats. *Bul. Environm. Contam. Toxicol.* 20, 2, pp. 184-190.
- [9] Skou, J. C. 1975. The $(\text{Na}^{+} - \text{K}^{+})$ activated enzyme system and its relationship to transport of sodium and potassium. *Quart. Rev. Biophys.* 7, 401-434.
- [10] Spry, D. J. and C. N. wood. 1985. Ion flux rates, acid - base status, and blood gases in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, exposed to toxic zinc in natural soft water. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42:1332-1341.
- [11] Wendelaar Bonga, S. E. and R. A. C. Lock. 1992. Toxicants and osmoregulation in fish. *Netherlands Journal of Zoology.* 42(2-3):478-493.

EFFECTS OF METHYLMERCURIC CHLORIDE ON PLASMA OSMOLALITY AND ACTIVITY OF $\text{Na}^{+} - \text{K}^{+} - \text{ATPase}$ OF GILL FILAMENTS OF COMMON CARP

Lin Yuhua Zhang Bingyan Lu Jianmin

(Heilongjiang Fishery Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin, 150070)

Zhao Shumin

(Environmental Monitoring Center of Harbin, 150076)

ABSTRACT The carps were exposed to various concentrations ($\mu\text{g/L}$) of methyl mercury chloride (MMC) for 24 hours or for one week (50 $\mu\text{g/L}$ for 24 hs and 20 $\mu\text{g/L}$ for 1 week). Plasma concentration of potassium and magnesium were significantly increased, but sodium and

chloride decreased in high concentration of MMC. The phosphate levels did not indicate clear change. However, the decrease of calcium was significant only when they were exposed to the highest concentrations (200 $\mu\text{g/L}$ for 24 hours and 40 $\mu\text{g/L}$ for 1 week). The decline tendency of the plasma osmolality appeared in the methyl mercury treated fish at the highest dosages of using MMC. Methyl mercury also caused concentration of the plasma glucose to increase. The blood glucose content of the carps was significantly higher than that of the control group, when dosage was used at concentrations of 50 $\mu\text{g/L}$ for 24 hours or 20 $\mu\text{g/L}$ for 1 week. The activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in the gill filaments mitochondria was inhibited by mercury treated fish at concentrations 25 $\mu\text{g/L}$ and 50 $\mu\text{g/L}$ for using only 24 hours.

KEYWORDS Methylmercury, Common carps, Osmolality, Plasma ions, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

1997 年度《中国水产文摘》征订启事

本刊系我国水产系统唯一的一本全面报道国内水产科技文献的综合性检索期刊,由中国水产科学研究院渔业综合信息研究中心主办。其宗旨是全面、及时地报道全国以各种形式出版的水产科技文献,为读者快速、方便地检索国内水产科技文献服务。本刊为全国优秀水产刊物,并获得全国科技文献检索期刊二等奖一次,全国科技文献检索期刊三等奖两次。

本刊所收录的文献类型有期刊、专著、汇编、会议记录、技术报告、技术标准等。按以下类目编排:(1)水产总论;(2)水产基础科学;(3)水产资源和环境保护;(4)水产捕捞;(5)海水养殖;(6)淡水养殖;(7)水产生物病害及防治;(8)饲料和肥料;(9)水产品保鲜及加工;(10)渔业机械仪器和渔船;(11)渔业经济。年报道量约 3000 条。每年第一期刊登本刊引用主要期刊一览表,年终编辑出版本年度主题索引、著者索引。

本刊为双月刊,逢双月底出版,国内外公开发行。每期定价 8.00 元,全年 6 期共 48.00 元,邮发代号:18-126。请广大老订户和新读者及时到当地邮局办理订阅手续。如在当地邮局订阅不方便,也可向本刊办理邮购。

编辑部地址:北京市永定路南青塔村 150 号,邮编:100039,联系电话:68214442 转 260。