

DOI :10.3969/j.issn.1004-6933.2012.04.014

Pb²⁺、Cu²⁺ 在黄颡鱼性腺中的富集及其 对性腺发育的胁迫

唐建勋¹, 唐奕扬², 程樟顺³, 徐玉花¹, 刘忠良¹

(1. 金华职业技术学院农业与生物工程学院, 浙江 金华 321007; 2. 金华市海月传媒技术有限公司, 浙江 金华 321000;
3. 金华职业技术学院制药与材料工程学院, 浙江 金华 321007)

摘要 研究 Pb²⁺、Cu²⁺ 在其不同质量浓度(0.10 mg/L, 0.25 mg/L, 0.50 mg/L) 情况下在黄颡鱼性腺中的富集特性以及对性腺发育的影响。结果表明, 黄颡鱼性腺(卵巢)对 Pb²⁺、Cu²⁺ 有较强的富集能力, 在暴露期间的 20—30 d 内, Pb²⁺、Cu²⁺ 在性腺内的富集量分别与时间呈线性关系, 之后呈对数关系。其中, Cu²⁺ 的富集显著大于 Pb²⁺ ($P < 0.01$); 性腺中的重金属富集与水溶液中 Pb²⁺、Cu²⁺ 的浓度相关 ($P < 0.01$), 具有明显的时间效应和剂量效应。黄颡鱼性腺细胞的发育水平, 亦与溶液 Pb²⁺、Cu²⁺ 的浓度与暴露时间相关。

关键词 :Cu²⁺; Pb²⁺; 黄颡鱼; 卵巢; 卵细胞; 富集

中图分类号 :X171.5, Q178

文献标识码 :A

文章编号 :1004-6933(2012)04-0061-03

Accumulation of heavy metals Pb²⁺ and Cu²⁺ in ovary of *Pelteobagrus fulvidraco* and effects on ovum development

TANG Jian-xun¹, TANG Yi-yang², CHENG Zhang-shun³, XU Yu-hua¹, LIU Zhong-liang¹

(1. Department of Agriculture and Bio-engineering, Jinhua College of
Profession and Technology, Jinhua 321007, China;

2. Jinhua Sea Moon Media Technique Co., Ltd., Jinhua 321000, China;

3. Department of Pharmacy and Materials Engineering, Jinhua College of Profession and
Technology, Jinhua 321007, China)

Abstract :The accumulation characteristics of Pb²⁺ and Cu²⁺ with concentrations of 0.10, 0.25, and 0.50 mg/L in the ovary of *Pelteobagrus fulvidraco*, as well as the subsequent effects on ovum development, were studied. It was found that the ovary of *Pelteobagrus fulvidraco* showed a high capacity for accumulation of Cu²⁺ and Pb²⁺, and the correlation between the accumulation level and the exposure time was linear for the initial 20 to 30 days, but became exponential afterwards. In addition, the accumulation of Cu²⁺ was significantly higher than that of Pb²⁺ ($P < 0.01$). The ovarian accumulation of heavy metals was time- and dose-dependent, related to the concentrations of Cu²⁺ and Pb²⁺ ($P < 0.01$). The development of the ova was affected by the concentrations of Cu²⁺ and Pb²⁺ and exposure duration.

Key words :Cu²⁺; Pb²⁺; *Pelteobagrus fulvidraco*; ovary; ovum; accumulation

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)是一种小型淡水经济鱼类,隶属于鲇形目(Siluriformes)鲿科(Bagridae)黄颡鱼属(*Pelteobagrus*),在我国各大水

系特别是在长江中下游的湖泊、池塘、溪流中广泛分布。然而,随着水环境污染程度的不断加大,黄颡鱼等水生动物的生存受到了严重威胁。水体中的重金

属不仅在各种水生动物的组织器官富集^[1],与此同时也对其赖以增殖及种族延续的生殖腺构成威胁^[2-4]。因此,研究重金属对鱼类性腺的影响,对于水产动物的繁殖保护、增殖以及生物多样性的维系等都具有较为重大的价值。笔者采用黄颡鱼为试验动物,探索黄颡鱼卵巢中重金属 Pb²⁺、Cu²⁺ 富集及其不良影响,旨在为渔业资源保护、制定废水排放浓度标准和控制水环境污染等提供相关参考依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

PbCl₂(分析纯),*w*(PbCl₂)≥98.0%);CuCl₂(优质纯);各自先配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的母液,然后根据需要稀释成各相应的浓度。HNO₃(优质纯) HClO₄(优质纯)使用前以 4:1 比例混合。

1.2 仪器

美国 Thermo Elemental 公司生产的 IRIS Intrepid ER/S 型 ICP 原子发射光谱仪;日本 Olympus 公司生产的 IRIS Intrepid ER/S 型 ICP 原子发射光谱仪;日本 Olympus 公司生产的 CKX41 型荧光倒置显微镜(HQ2592×1944);LWY-8413 型远红外消煮炉;LC-213 型电热恒温鼓风干燥箱。

1.3 试验动物

试验用 2 龄黄颡鱼(水库养殖);平均体长(15±2.4)cm;平均体质量(28±0.53)g。试验时间自 2010 年 11 月 30 日至 2010 年 12 月 29 日。

1.4 试验设计

聚乙烯塑料水族箱为 37 cm×27 cm×40 cm,注入曝气 3 d 的自来水 20 L;试验水质参数为:pH 值 6.3~6.5,*r*(DO)=5.4~7.6 mg/L,水温 8~16℃,硬度(均值)2.85 mmol/L,碱度(均值)2.25 mmol/L。黄颡鱼无病无伤,活动正常,于试验前暂养 5 d,暂养期间未见死亡;采用静水法生物测试^[5],进行联合攻毒,试验期间仅在水族箱中酌情添加相等浓度的重金属溶液,试验设 1 个对照组,3 个试验组;试验期间不投饲料并用充气泵全天候增氧。

重金属离子质量浓度分别以 GB 11607—89《渔业水质标准》的 10、25、50 倍(Pb²⁺),以及 2、5、10 倍(Cu²⁺)设定,Pb²⁺、Cu²⁺ 质量浓度各为 0.00 mg/L、0.10 mg/L、0.25 mg/L、0.50 mg/L。挑选个体大小趋于相近的黄颡鱼进行随机分组,每只水族箱各放养黄颡鱼 12 尾并设一平行样,试验暴露时间为 30 d。同时,分别于试验前及第 10 d、20 d、30 d 取各组卵巢切片观察并称取样品,消煮、烘干、检测。

1.5 统计分析

试验结果统计的处理方法参照文献^[6]。全部数

据采用 SPSS11.0 数据处理系统进行方差分析。

2 结果

2.1 Pb²⁺、Cu²⁺ 在卵巢中的富集

检测显示,黄颡鱼卵巢中 Pb²⁺、Cu²⁺ 的富集具有时间效应与剂量效应的特征(表 1)。卵巢中的重金属离子在试验前未被检出;在联合攻毒 10 d 内,试验组(*r*(Pb²⁺),*r*(Cu²⁺))分别为 0.10 mg/L、0.25 mg/L、0.50 mg/L 时,黄颡鱼卵巢 Pb²⁺、Cu²⁺ 质量浓度快速增加,20 d 内,试验组卵巢中的 Pb²⁺、Cu²⁺ 质量浓度均呈现急剧上升趋势。当攻毒 20 d 后,其卵巢中的 Pb²⁺ 的富集速度较以前显著变缓(*P*<0.05),而 Cu²⁺ 的富集仍呈急剧上升趋势。试验表明,Pb²⁺、Cu²⁺ 在卵巢中的富集水平与溶液中重金属浓度有关,浓度越高其富集量越大(*P*<0.01)。卵巢中的 Pb²⁺、Cu²⁺ 的富集在攻毒 30 d 后均呈现迅速减缓的趋势。试验还表明,无论是 Pb²⁺、Cu²⁺ 的高浓度组还是低浓度组,卵巢对 Cu²⁺ 的富集能力远大于 Pb²⁺(*P*<0.01),类似于以往研究者的相关研究^[7-8]。而对照组卵巢中的 Pb²⁺、Cu²⁺(质量浓度分别为零)则未被检出。

表 1 不同时间 Pb²⁺、Cu²⁺ 在黄颡鱼卵巢中的富集

时间/d	组别	每克干质量中的 Pb ²⁺ /μg	每克干质量中的 Cu ²⁺ /μg
10	对照组	—	—
	试验组 1	2.13±0.5 ^e	0.56±0.1 ^e
	试验组 2	3.52±0.4 ^e	1.56±0.1 ^{fg}
	试验组 3	6.46±0.5 ^e	1.73±0.3 ^{def}
20	对照组	—	—
	试验组 1	31.74±3.7 ^f	1.25±0.2 ^{ef}
	试验组 2	48.56±5.5 ^e	2.25±0.1 ^d
	试验组 3	75.98.31±27.3 ^b	12.72±1.1 ^b
30	对照组	—	—
	试验组 1	62.30±8.9 ^d	1.96±0.1 ^{de}
	试验组 2	72.57±3.5 ^e	3.21±0.2 ^c
	试验组 3	189.29±15.1 ^a	17.1±0.7 ^a

注:上标字母不同者表示差异显著(*P*<0.05),相同者表示差异不显著(*P*>0.05)。其中 2 个字母不相同为显著差异,3 个字母不相同为极显著差异。

表 2 黄颡鱼卵巢中 Pb²⁺、Cu²⁺ 的富集量(*y*)与暴露时间(*t*)的回归方程及相关系数

组别	重金属离子	回归方程	相关系数/ <i>R</i> ²
试验组 1	Pb ²⁺	<i>y</i> = 0.0586 <i>t</i> - 0.1106	0.7572
	Cu ²⁺	<i>y</i> = 0.2163 <i>t</i> - 0.2917	0.9066
试验组 2	Pb ²⁺	<i>y</i> = 0.5733 <i>t</i> - 6.0639	0.8040
	Cu ²⁺	<i>y</i> = 7.6213 <i>t</i> - 58.471	0.9406
试验组 3	Pb ²⁺	<i>y</i> = 0.7535 <i>t</i> - 7.6417	0.8069
	Cu ²⁺	<i>y</i> = 6.3499 <i>t</i> - 18.945	0.7892

2.2 Pb²⁺、Cu²⁺ 对卵巢发育的影响

黄颡鱼卵巢在 Pb²⁺、Cu²⁺ 质量浓度分别为 0.10

mg/L, 0.25 mg/L, 0.50 mg/L 联合攻毒后,其富集趋势十分明显,各个发育阶段的卵细胞在染毒第10 d内即出现细胞受损,卵巢正常发育受阻。在染毒10—20 d内,部分卵细胞出现卵膜脱落和萎缩的现象,组织学损伤明显。在染毒20—30 d内,卵细胞严重萎缩并相互黏结。据此,可认定卵细胞生物学衰竭和卵巢生理功能终结(对照组卵巢及不同时相的卵细胞则发育正常)。

3 讨论

有关研究表明,重金属对鱼类的毒害作用主要是在鱼体内富集,重金属富集到一定的程度后,将影响鱼体内的抗氧化系统,从而引起鱼类中毒^[9]。当重金属离子在体内的富集达到某种水平,多余的重金属就会转移到鱼的肝肾等器官中,与体内其他生物分子,包括酶和核酸相互作用,造成致命的创伤^[10]。黄颡鱼的组织器官虽然可抵抗较低浓度的重金属离子,但其抵抗作用将随着攻毒时间的延续而逐渐丧失。一旦组织器官中的重金属毒性增强,将引起动物体器官受损及代谢紊乱等。试验表明,黄颡鱼卵巢中 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 的富集能力随溶液重金属浓度的增加而提高,且随时间的延长而增强。当黄颡鱼卵巢持续富集 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 之后,其解毒能力渐渐消退,最终将导致卵巢功能的丧失(图1)。

对鱼类的危害更大,以前的研究者在草、鲢鱼的试验中曾获得过此结论^[11]。

与 Pb^{2+} 不同, Cu^{2+} 作为鱼类生长所必需的微量元素之一,是构成酶的组成成分或活性基团的一种物质。一定量的 Cu^{2+} 浓度可增强水产动物的免疫力,有利于机体的生理活动。可见,微量的 Cu^{2+} 等重金属离子有益于黄颡鱼等的生长^[12],但重金属浓度若超出生理阈值时,则会对它们产生极大的危害^[13]。试验也表明,当溶液中 Cu^{2+} 离子处于相对低的质量浓度(0.10 mg/L)时,鱼的生长在较短时期内不会受到威胁,但随着时间的延长、浓度的加大, Cu^{2+} 将不仅危害鱼的性腺,造成组织学方面的损伤,还将影响其生存。

水产动物受到环境刺激后发生非特异性防御,引发一系列代谢变化,动员机体的代谢功能以抵抗和适应各种刺激,产生应激适应。若应激超过一定强度且机体无法适应时,则会对机体组织结构造成伤害,导致应激损伤^[14]。试验中黄颡鱼卵巢在攻毒后出现的组织学损伤,极有可能是因重金属刺激强度较大而导致的应激损伤。在水环境中,各种重金属离子共存时还可能存在着某种协同或拮抗作用^[15],本次试验的结果属于何种作用尚有待继续研究。

参考文献:

[1] AL-WEHER S M. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the North Jordan Valley, Jordan [J]. Jordan Journal of Biological Sciences, 2008, 1(1): 41-46.

[2] VAN AARDT W J, ERDMAN R. Heavy metals (Cd, Pb, Cu, Zn) in mudfish and sediments from three hard-water dams of the Mooi river catchment, South Africa [J]. Water, 2004, 30: 211-218.

[3] EBRAHIMI M. Effects of in vivo and in vitro zinc and cadmium treatment on sperm steroidogenesis of the African catfish *Clarias fairreana* [J]. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2007, 10(17): 2862-2867.

[4] 唐建勋, 邢承华, 刘忠良, 等. 重金属 Cu、Pb 在泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 卵巢的富集特性及其对卵细胞发育的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3): 386-390.

[5] 吴邦灿, 费龙. 现代环境监测技术 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1999: 252-254.

[6] 熊治延. 环境生物学 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2000: 134-137.

[7] 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]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2003(2): 101-106.

[8] 徐永江, 柳学周, 马爱军. 重金属对鱼类毒性效应及其分子机理的研究概况 [J]. 海洋科学, 2004, 28(10): 67-70.

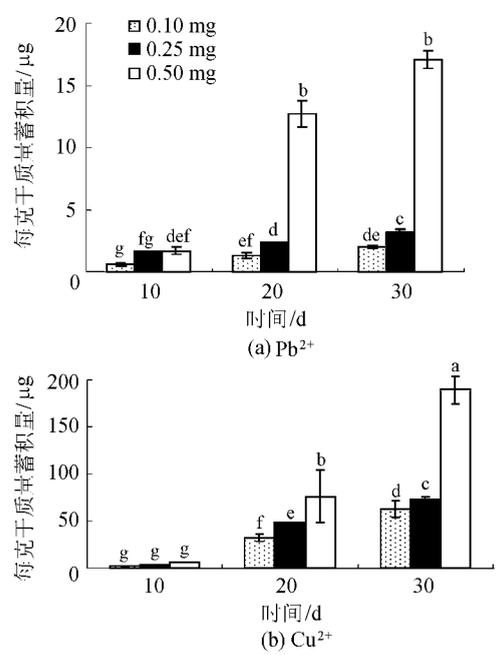


图1 重金属在卵巢中的富集随时间变化关系
 作为鱼类等水产动物非必需的微量元素, Pb^{2+} 是毒性较强的重金属之一。通常, Pb^{2+} 在水产动物脏器的富集能力小于 Cu^{2+} , 试验结果对这一结论提供了佐证。虽然, Pb^{2+} 为非鱼类所需且毒性较强, 但相对而言, 水环境中较高质量浓度的 Cu^{2+} 却比 Pb^{2+}

(下转第77页)

从图 4(a)(b)可知,实验菌株对采自青化砭选油站的含油污水中的原油降解效果并不明显,经过 8 d 的降解,实验 I 组的和实验 II 组的石油类物质质量浓度分别为 678.35 mg/L、802.13 mg/L,实验菌株对原油的降解率分别为 6.8% 和 2.4%。这可能是由于原油质量浓度过高,处理效果比较差,其原因可能是:①经事后了解,在采样之前,水样 C 进行了酸化处理,过高的酸度可能导致了实验菌株的死亡,所以,处理效果比较差;②可能与水样 C 中的原油本身的理化性质有关,因为在不同地区所产石油的组分和理化性质有一定差异,这对微生物的降解也存在影响。有研究报道^[14],用同一种微生物降解不同地区产的石油,有不同的降解效果,这说明石油本身的性质对微生物的降解有一定的影响。

3 结 论

a. 利用陕北石油高效降解菌分别对采自靖边天赐湾注水井、子长余家坪选油站、青化砭选油站的含油污水进行了净化处理,结果为:靖边天赐湾注水井水样在处理 2 d 后,达到国家石油类物质排放二级标准,8 d 后达到一级排放标准;子长余家坪选油站水样处理 8 d 后,达到国家石油类物质排放三级标准,青化砭选油站水样处理效果并不明显。

b. 3 个水样的初始石油类物质质量浓度排序是水样 A < 水样 B < 水样 C,从整体处理效果来看,水样 A 优于水样 B,水样 B 优于水样 C。其原因可能是和各个水样中的初始石油类物质质量浓度有关,初始石油类物质质量浓度越大,处理效果越差。这是因为石油类物质浓度对降解有很大影响,油量越大,覆盖于水样表面的油膜越厚、面积越大,使得氧气难以进入,从而影响实验菌株对氧的利用,抑制其生长^[15],在石油类物质浓度过高时,也会对实验菌株利用其他的营养盐产生一定的阻碍,这一结果也和 Arco 等^[16]提出的“随石油浓度的升高,最终降解率逐渐降低,降解率与石油浓度成负相关关系”观点相吻合。

c. 从每一水样的两组实验来看,结果并不完全相同,水样 A 和水样 B 的处理结果说明,实验 II 组比实验 I 组处理效果好,由于实验 II 组不用加营养物质,因此,对这两个水样,采用直接给水样中投加菌体的方法较好一些。

参考文献:

[1] 许瑾. 陕西省将对陕北石油开发中的环境污染问题进行专项整治[N]. 华商报, 2005-02-26(04).
 [2] 孙宇生, 周军. 延安市石油开采污染治理调查及其防治对策[J]. 陕西环境, 2001, 8(1): 11-12.
 [3] 史红星, 黄廷林. 石油类污染物在黄土高原地区环境中

迁移转化规律的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2001.

[4] 曹娟, 徐志辉, 李凌之, 等. 产生物表面活性剂的石油降解菌 *Acinetobacter* BHSN 的研究[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(1): 73-78.
 [5] 宋志文, 夏文香, 曹军. 海洋石油污染物的微生物降解与生物修复[J]. 生态学杂志, 2004, 23(3): 99-102.
 [6] 郝洪强, 孙玮敏, 陈洪利. 石油烃类的微生物降解研究进展[J]. 河北化工, 2008, 31(12): 4-6.
 [7] 顾贵洲, 王战勇, 于泳, 等. 石油降解菌株的筛选及鉴定[J]. 辽宁石油化工大学学报, 2007(1): 26-28.
 [8] 王哲, 王丽娟, 刘少玉, 等. 黄土地区石油污染土壤生物修复的强化技术初探[J]. 现代地质, 2009(1): 116-121.
 [9] 李春荣, 文科, 曹玉清, 等. 石油污染物的微生物降解研究[J]. 生态环境, 2008, 17(1): 113-116.
 [10] 奚旦立, 孙裕生, 刘秀英. 环境监测[M]. 北京: 高等教育出版社, 1995: 389-407.
 [11] 高小朋, 王跃, 边志波, 等. 一株石油降解菌培养基的优化[J]. 生物技术, 2010(6): 12-13.
 [12] 高小朋, 徐盈, 边志波, 等. 一株石油降解菌降解条件的优化[J]. 食品发酵工业, 2009, 35(6): 75-78.
 [13] 谢丹平. 石油污染生物修复技术研究[J]. 四川环境, 2006, 25(4): 109-112.
 [14] DELILLE D, DELILLE B. Field observations on the variability of crude oil impact on indigenous hydrocarbon - degrading bacteria from sub - Antarctic intertidal sediment[J]. Marine Environmental Research, 2000, 49: 403-417.
 [15] 苏莹, 陈莉, 刘兆普. 一株海洋石油降解菌的特性研究[J]. 环境科学研究, 2008, 21(5): 32-36.
 [16] ARCO J P, FRANCA F P. Influence of oil contamination levels on hydrocarbon biodegradation in sandy sediment[J]. Environmental Pollution, 2001, 110: 515-519.

(收稿日期 2011-03-16 编辑: 高渭文)

(上接第 63 页)

[9] 孙翰昌, 丁诗华, 代梅, 等. Cu^{2+} 对中华倒刺 超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(5): 709-712.
 [10] 蓝伟光, 杨孙楷. 海水污染物对对虾毒性研究的进展[J]. 福建水产, 1990(1): 41-45.
 [11] 姜礼燊, 黄穆桂. 重金属对草鱼 + 鲢鱼胚胎发育的影响[J]. 环境科学, 1979(1): 6-11.
 [12] 韩庆, 李丽立, 黄春红, 等. 不同剂型的微量元素及不同水平的氨基酸螯合物对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*) 生长及体组成的影响[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(5): 482-487.
 [13] 沈 徐, 彭立功, 等. 铜对鲫鱼血清生化成分的影响[J]. 海洋湖沼通报, 1994(1): 55-61.
 [14] 方允中, 郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 122-212.
 [15] 张迎梅, 王叶菁, 虞闰六, 等. 重金属胁迫对黄颡鱼肝胰脏 ATPase 和 SOD 活性的影响[J]. 甘肃科学学报, 2008, 20(3): 55-59.

(收稿日期 2011-07-16 编辑: 高渭文)