

铜对鱼类慢性毒性研究进展

刘福军¹ 张饮江¹ 王明学²

(1. 农业部水产增殖生态生理重点实验室, 上海水产大学, 上海 200090)

2. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070)

CHRONIC TOXICITY OF COPPER TO FISH: A REVIEW

LIU Fur Jun¹, ZHANG Yin Jiang¹ and WANG Ming-Xue²

(1. Key Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090;

2. College of Fishery, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

关键词: 铜; 鱼类; 慢性毒性

Key words: Copper; Fish; Chronic toxicity

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)03-0302-06

重金属铜既是生物体自身所必需的元素, 也可造成污染。尽管被铜污染的水体, 很少导致鱼类急性中毒^[1]。但慢性中毒会经常发生而影响鱼类的生长、繁殖和抗病能力^[2]。铜是水产养殖中常用的药物, 可以防治鱼病, 也可作除藻剂, 杀死除去丝状藻等浮游植物^[3]。同时, 较多的鱼用药物添加了铜以增加药效, 且以硫酸铜为主要形式。研究表明溶解态铜对水生生物的毒性最强^[4]。

研究表明, 铜导致鱼类产生行为回避反应, 这主要是由于铜可损害鱼类的神经生理功能, 破坏嗅觉上皮结构, 减少嗅觉中受体数目^[5,6]。同时铜也可影响鱼类的血液生理^[7], 这进一步影响了耗氧率^[8,9]。铜在鱼体内不同组织的分布表现出了差异, 而且重点研究了鳃和肝脏及其功能的影响^[10-12]。

本文的目的是总结国内外近年来铜对鱼类慢性毒性作用期间相关生理指标所受的影响, 阐述铜对鱼类产生危害的途径和机理, 同时比较鱼类在铜毒作用后自身的应激机制, 并力图在总结铜对鱼类毒理研究现状的基础上评价并预测该方面的研究趋势。

1 实验的设计铜浓度和水体实际铜浓度

在自然水体铜多以不可利用形式存在, 而在实验水体

中, 铜主要以有效铜(Cu^{2+})形式存在, 因为有 67% 的铜是可以利用形式。这表明实验水体中实际铜浓度和设计浓度是有差别的。James 等经单点时间取样分析后, 水样中铜的实际浓度与设计浓度间的差异在 5% 以内, 即实际浓度与设计浓度基本上相同且比较稳定, 但其采取水样的时间未作交待^[13]。而在该作者的另一项研究中, 尽管实验水体除水温相差 2℃外, 其他水质条件(硬度、pH 和电导率)、实验水配制、母液流入实验水体的流速等条件均相同, 水体实际铜浓度低于设计的 4.7%—25%^[14], 且绝大部分在 10% 以上, 二者间的较大差异可能与不同的采样方式有关, 因后者采样方式为每 3 d 采一次水样。Gudrun 等在实验中发现, 实验设计铜浓度为 100 $\mu\text{g/L}$, 对照组为 22.62 $\mu\text{g/L}$, 经采样分析发现水体中的实际浓度随着时间的推移逐渐向设计浓度逼近, 在 4、24 和 96h 的铜实际浓度分别为 72.3 $\mu\text{g/L}$ 、111.2 $\mu\text{g/L}$ 和 120.5 $\mu\text{g/L}$, 即水体中实际浓度在前 24h 与设计浓度有较大的差异^[15], 因而可以认为水体实际铜浓度在 24h 以后才能基本上可近似看作设计浓度, 这说明在有关铜对鱼类影响的研究中, 前 24h 铜尚未达到设计浓度, 除非将铜在实验前 24h 即加入到水体中。

2 实验鱼的生存和生长

在铜慢性毒性实验中, 实验鱼的生长和生存是否会受到

收稿日期: 2002-11-05; 修订日期: 2002-12-03

基金项目: 上海市教委青年基金项目 01QN56 资助

作者简介: 刘福军(1972—), 男, 内蒙古包头市人; 硕士; 现于 Texas Tech University 学习

Email: fjliu74@hotmail.com

影响,不同的研究得出了不同的结论。虹鳟在暴露于 16μg/L 铜后,其生存和生长均未受到影响,未与对照组表现出差异^[16],但在基本相同的水质参数条件下,其生存却受到了影响^[17]。在 16μg Cu/L 组,实验鱼死亡率为 23%,而 26.9μg/L 组则为 37% (对照组死亡率为 13%),而且死亡的主要发生在 48h 内^[17],这可能是因为在 48h 后,鱼类通过肝部金属硫蛋白的产生和增加而提高了对铜的结合能力。

与虹鳟实验相反的是,鲤在实验结束时 (96h),即使铜为 100μg/L,其生存也未受到影响,但其体重 (49.8±4.9g) 却相对于 CK (59.1±8.2g) 减少了很多^[15]。这说明不同的鱼类对铜的耐受性是不同的,因而不能仅以这两个指标来监测铜对鱼的慢性毒性。

3 实验鱼的行为反应

3.1 行为回避反应

James 等研究了大鳞大麻哈鱼 (*Oncogynchus tshawytscha*) (简称为 CS) 和虹鳟 (简称为 RBT) 对铜的行为回避反应^[14],结果发现这两种鱼对铜的回避反应存在着较大的差异。除了 1.6μg/L 外,CS 对 0.8—22.5μg/L 组都产生了明显地回避反应,且最大的回避反应出现在 6μg/L 组,而 RBT 的相应值为 1.6—88μg/L 和 5—50μg/L,而不回避过低或过高的浓度组,即铜分别大于 44μg/L 和 180μg/L 时,CS 和 RBT 不产生回避反应。而硬头鳉^[18]和蓝太阳鱼 (*Lepomis cyanellus*)^[19]对铜回避反应的上限分别为 520 和 20—100μg/L。这说明不同种鱼对铜的行为回避反应范围是不同的,这可能与铜在水中的存在形式、实际浓度及种间差异有关。

从 CS 和 RBT 对铜的回避反应浓度阈可知,CS 比 RBT 对铜的敏感程度要高,但耐受程度却要低,显然其间的差异会影响其生态分布。鱼类回避能力的丧失对其生存是不利的,因研究表明,在铜短期暴露后,鳟的嗅觉黏膜^[5]和虹鳟的嗅觉上皮^[6]均会遭到损害,导致其不能觉察到过高的铜浓度,最后导致铜中毒直至死亡,这一点也被其他研究者所证实^[20]。

3.2 暴发性呼吸活动 (RBA)

RBA 可以作为免疫毒性的一个有效监测指标。研究表明,铜对鱼类的免疫系统产生毒性。虹鳟在暴露于 16μgCu/L 21d 期间,在 7、14、21d 时,RBA 均明显升高,且随时间的推移而渐升高,因而亚致死铜浓度可以逐渐地改变 RBA,且与时间呈正相关^[17],但这种增强并不是无限制的。Muhvich 等发现金鱼 (*Carassius auratus*) 在经 30、60 和 175×10⁻⁹铜暴露后,其 RBA 在 30—100×10⁻⁹间逐渐升高,但在 175×10⁻⁹时却出现了下降^[21],这是否是因为铜浓度过高 (可能超过了急性致死浓度) 而致鱼的其他生理机能受到损害,导致该指标失去了反应。

4 实验鱼的血液和生化生理的反应

4.1 全血红蛋白 (Hb) 和血细胞比容 (Hct)

研究表明,16μgCu/L 对于 RBT 的 Hb 和 Hct 均未产生明

显影响^[16]。同样,虹鳟在暴露于 30μg/L 3d 后,二者明显地上升,而后逐渐下降,Hb 在 14d、Hct 在 7d 后分别恢复至 CK 水平。鲤在经 100μg/L 铜暴露后,Hct 极显著地上升,但在 96h 后出现了部分的恢复^[9]。铜对血液的影响机理是铜暴露影响了鳃的吸收和鳃的离子调节,因而水从血液向周围组织扩散导致血液变稠,这可能会抑制心脏^[12]。

4.2 白细胞

白细胞主要有三种类型:淋巴细胞 (LP)、中性白细胞 (NP) 和单核细胞 (MC)。研究表明,虹鳟经 16 和 26.9μgCu/L 暴露 2、7、14 和 21d 后,LP 表现出了明显地下降,而 NP 和 MC 均明显地上升^[7]。硬头鳉在急性暴露 24h 后,LP 下降,但 NP 无变化;而在慢性暴露 16 周后,LP 下降,NP 上升^[22]。但另一个研究表明,低铜暴露后,LP 反而上升,NP 下降,只有 MC 上升^[23]。这些研究表明,低铜浓度可以影响白细胞的组成,因而影响了鱼类的免疫系统功能,影响了鱼类的抗病能力,这显然对鱼的生存和生长是不利的。

4.3 血浆葡萄糖、乳酸盐和皮质醇

同 Hb 和 Hct 的变化规律相似,当铜浓度在 30μg/L 以下时,虹鳟^[16,17]的血浆葡萄糖未发生明显的变化,尽管较高浓度组会有一定的上升,但当铜高于 30μg/L 时,华生小鲤 (*Cyprinion watsoni*)^[24]和莫桑比克罗非鱼^[25]的血浆葡萄糖在短时间 (2—3d) 常以剂量-效应模式升高,而后下降至 CK 水平。但鲤却表现出了不同的特点,即使铜达到 100μg/L,在 96h 暴露期间,该指标也未升高,这表明鱼类间的差异较大。

同血浆葡萄糖稍有不同的是乳酸盐,虹鳟在 5、15、16、30μgCu/L 时,该指标均未出现明显的上升,只是 30μg/L 组在 4h 后出现不显著的升高,鳟^[8]也有相似的特点。但当铜为 100μg/L 时,鲤的该指标在 4h 后出现了明显的升高达 48%,之后渐下降,到 96h 时恢复到 CK 水平,这可能是厌氧代谢的结果^[15]。

血浆皮质醇表现出了不同的特点。虹鳟在铜为 15μg/L 以上时,该指标会有较大且较长时间的上升,但其不显著^[16,17],而当铜达到 100μg/L 时,鲤的该指标则在 4h 后即出现极显著地持续上升,一直到 96h 下降,但仍与 CK 有极显著差异^[15]。鲤的血浆皮质醇基本值为 10±9ng/mL,在捕捞或受到惊扰后,该值会上升到 200ng/mL^[26]。之所以该指标会先升高后降低,是因为皮质醇的分泌会在内分泌或经下丘脑-脑垂体控制而直接产生负反馈,从而诱导产生自我抑制作用,同时鱼逐渐适应、铜的清除率的提高和鳃的修复等因素使得血浆皮质醇逐渐下降^[15]。

4.4 Na⁺ / K⁺-ATPase 活性、氯细胞、血浆 Na⁺、K⁺ 和 Ca²⁺ 血浆渗透性

鲤在 100μg/L 铜暴露后,血浆 Na⁺、K⁺ 和渗透性的变化规律相同,96h 后发生了极显著的下降。Na⁺ / K⁺-ATPase 活性从 4h 开始即发生显著下降,而且一直下降到实验结束 (96h),幅度达 65% 以上^[15]。Pelgrom 等也证实了这一点。而氯细胞在铜暴露后 96h 发生了显著的下降^[15]。对于铜抑制 Na⁺ / K⁺-ATPase 活性的机制目前有两种观点,一种认为

Cu^{2+} 可共价结合蛋白质的巯基部分, 从而干扰了其构形的改变^[27]; 另一种认为 Cu^{2+} 与 Mg^{2+} 结合位点具有特别的相互作用, 因而抑制了该泵的作用^[28]。在这些机制的作用下, 铜较易富集于血浆和鳃上, 这一点也被 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性与鳃中铜浓度存在着负相关的事实所证实^[29]。

血浆中 Ca^{2+} 在 24h 和 96h 时均呈现出极显著下降, 这与 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性的下降是相关的, 因为 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性和鳃上 Na^+ 的吸收也影响着 Ca^{2+} 在体内平衡中起关键作用的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换器^[30]。

铜对鱼类毒害作用的一个重要途径即为影响鳃上离子交换作用最终对渗透调节功能产生干扰破坏, 进而使其功能紊乱。

4.5 肝金属硫蛋白 (MT)

鱼类在铜暴露后, 肝 MT 往往要升高, 但要达到显著的水平, 要有较高的铜浓度。Dethloff 等发现, 铜在达到 $26.9\mu\text{g/L}$ (实际浓度) 时, 肝 MT 的 mRNA 水平在实验期间(21d)一直显著地升高, 而且在 3d 和 21d 达到峰值, 而 $16\mu\text{g/L}$ 无明显影响^[16], 因而在此实验条件下显著升高肝 MT 的 mRNA 水平的铜下限应在 $16-26.9\mu\text{g/L}$ 间, 而且肝 MT 的 mRNA 水平与实验中鱼死亡规律一致。

另外, 研究表明肝 MT 与肝中的铜浓度间存在着正相关^[31], 但这种相关性需铜浓度至少在 $16\mu\text{g/L}$ 以上。因为虹鳟在铜浓度为 16 和 $26.9\mu\text{g/L}$ 暴露后, 肝中铜浓度与肝 MT 的 mRNA 呈正相关^[17], 但在另一实验中, $16\mu\text{g/L}$ 的铜暴露后, 二者相关性较小 ($R^2=0.385$)^[16]。

5 神经生理、组织学的反应及铜在体内生物积累

5.1 乙酰胆碱脂酶 (AChE)

铜对鱼类毒理研究的结果表明, 铜对 AChE 表现出组织和种类的特异性。虹鳟在暴露于 $16\mu\text{g/L}$ 的铜后 14d 内, 脑 AChE 呈现出上升的趋势, 而在 21d 后, 却与 CK 基本相同^[16]。而血浆 AChE 在暴露于 2mg/L 铜后, 24h 下降, 48h 上升; 而在 0.2mg/L 浓度下, 24h 无变化, 48h 下降^[32]。另外, 囊鳃鲇 (*Saccobranchus fossilis*) 在亚致死铜暴露 40d 后, 包括脑和多种组织 AChE 均表现出下降趋势^[33]。

5.2 脑电图 (EEG) 反应

研究表明, RBT 和 CS 在经不同浓度铜暴露后, 由 L- 丝氨酸诱导的 EEG 反应很快地下降到 60% 以下。两种鱼的反应表现出了差异, RBT 在 25、50 和 $100\mu\text{g/L}$ 组, EEG 反应迅速下降到 50%—60% 之间, 然后保持至铜暴露结束, 在清水中恢复; 而在 200 和 $300\mu\text{g/L}$ 浓度组, 下降的幅度较大, 以至于在实验结束时 (1h), EEG 几乎不存在, 而后的恢复也慢得多。而 CS 则只有 $25\mu\text{g/L}$ 的 EEG 下降到 50%, 然后维持不变, 在恢复期的恢复较快; 而在 $50-300\mu\text{g/L}$ 各浓度组, 则与 RBT 在 $200-300\mu\text{g/L}$ 的 EEG 变化特点相同^[16]。这表明, CS 比 RBT 对铜在 EEG 反应上要灵敏得多, 与行为回避反应的结论相一致^[13]。但 Hara 等的实验却表明 EEG 反应下降较慢, 在 1h 后才达 50%^[34], 不过后者之所以得出如此结论, 是因

为实验水体的硬度要高得多, 因硬度、碱度、铜的存在形式及生物利用性与其他水质条件也影响铜的毒性^[35]。该指标的另一个特点是铜浓度的高低导致 EEG 反应刚开始迅速下降的幅度相差不大^[13]。同时, 在铜暴露结束后, EEG 的恢复表现出原铜浓度越低恢复得越快的特点, 暴露于 $25\mu\text{g/L}$ 的 CS 和 $25-100\mu\text{g/L}$ 的 RBT 在恢复期迅速恢复, 并达到了铜暴露前的水平, 但高浓度鱼的恢复却不明显, 这与 Hara 等^[34, 36] 的结果相符。

对于行为回避反应的机制, 研究者是从铜对嗅觉系统的损害角度给予解释的, 但对此现有两种观点。一种认为铜损害了嗅觉系统而致使鱼类丧失了回避能力, 同时嗅觉的刺激导致鱼类趋向于铜^[36]; 而 James 等认为铜刺激了嗅觉系统, 导致了行为回避反应, 而较高浓度的铜会过强烈刺激甚至损害嗅觉系统, 从而失去了回避反应能力。这也可从 EEG 反应的下降规律中看出, 在低铜浓度暴露后, EEG 反应可以恢复, 而在高铜浓度却恢复极慢甚至消失。在比较 James 等的行为回避实验和 EEG 反应实验之后, 可以发现, 凡是使 RBT 和 CS 失去了回避反应能力的铜浓度, 其 EEG 反应恢复也极慢, 相反, 未失去回避能力的铜浓度, 其 EEG 反应恢复得较快。

5.3 嗅觉上皮受体和杯状细胞

大多数真骨鱼的嗅觉上皮上有两类受体, I 型受体和 II 型受体。

RBT 和 CS 经铜暴露后, I 型受体发生了下降, 但下降的程度不同, 在 1h 后, CS 和 RBT 分别暴露于 $50\mu\text{g/L}$ 和 $200\mu\text{g/L}$ 以上时, I 型受体的数量显著下降, 而在 4h 后, 二者在 $25\mu\text{g/L}$ 即表现出显著下降^[13]。RBT^[6]、鳟^[5] 分别经 20 和 $18\mu\text{g/L}$ 铜暴露 1d 后, 凋亡细胞数量显著升高和受体数量显著下降。在这些实验中未发现 II 型受体数量发生明显变化。产生这种差异的原因是 II 型受体对铜的抗性更大, 或者二者有不同的受体蛋白, 因而结合不同的化学物质, 而 II 型受体对铜的结合能力较低。

对于 I 型受体的减少途径, 主要为坏死和凋亡两种。Julliard 等认为较低铜浓度 (但需产生毒作用) 可诱导受体凋亡, 而较高的铜浓度可诱导受体坏死, 而使细胞死亡^[6]。James 等在 RBT 和 CS 的研究中, 推测主要是受体坏死的原因导致 I 型受体减少。受体的坏死可能是由于肝过氧化和细胞离子调节能力的丧失导致的, 因研究表明, 经肝过氧化途径, 铜氧化了浆膜, 导致其破裂^[37]。铜也通过阻碍几个离子泵和其通道而抑制离子调节。总体来讲, 是因为嗅觉受体上皮上有大量的膜结合受体蛋白^[38], 铜对这些蛋白有较高的亲合力, 因而高浓度地富集于细胞膜上而产生危害。

新产生的受体可以替代补充坏死的受体, 但在替代的时间上却不同。Moran 等、Zelinski 等^[39] 和 James 等认为替代时间分别为 8d、42d 等时间。

铜对于受体结构的损害, 主要表现在破裂的浆膜、线粒体肿大和树突上没有突出的纤毛和微绒毛。另有一些受体上其纤毛被受体吸收到内部, 这种结构破坏也只发生在 I 型受体上, 由此可见, 高浓度的铜 ($\geq 50\mu\text{g/L}$) 显然会损害并使

受体膜破裂,这可能是由肝的过氧化导致的。

RBT 经铜暴露时发现,杯状细胞在较高浓度组均升高,只不过前者并不显著^[40,41]。因为杯状细胞分泌的黏液可能会结合金属,从而减慢了金属到达上皮组织的速度,因而也是鱼类的自我保护的应激反应之一。

5.4 鳃的结构

铜对于鱼类的鳃结构具有破坏作用。鲤经 100μg/L 暴露后,鳃结构表现为上皮细胞肿大、鳃瓣的融合、鳃上皮上升偏离于柱细胞。这种破坏一直持续 24h,但在 96h 后,极快地恢复正常,即肿胀的程度减小、表皮的上升几乎消失和鳃瓣的融合已很少。鳃瓣的融合指数的测定也与此相符。除此以外,黏液的分泌增加,鳃周围黏液层的加厚,从而增加了氧气的扩散距离。鳃结构的变化与血浆乳酸盐的变化情况相符,因而铜的暴露导致了鱼类鳃结构的破坏,发生了缺氧的症状。

5.5 铜在体内的分布

研究者们重点研究了铜在鳃和肝内的分布和积累。RBT 在暴露于 16μg/L 铜后,2d 开始直到实验结束(21d),鳃中铜浓度一直呈上升趋势,且与 CK 差异极显著。分析表明:2—7d 鳃对铜的吸收呈明显的增加趋势,7—14d 呈增加趋势,而 14—21d 则表现出稳定的吸收,这与其他研究的结论基本相同。而在高铜浓度(100μg/L),鲤鳃中的铜浓度在暴露后 4h 和 96h 分别增加了 62% 和 104%,这些实验表明铜在鳃中的积累是很快的,同时,血浆中的铜浓度在 24h 和 96h 较 CK 分别升高了 64% 和 109%。

RBT 经 16μg/L 铜暴露后,其肝中的铜浓度没有发生变化,但 26.9μg/L 却可使肝中铜浓度显著上升,而且在 3—14d 期间较稳定,在 21d 时上升了 99%。当铜为 55μg/L 时,RBT 也表现出了如此的变化规律,即 2—21d 相对稳定,而 21—28d 期间有较大的增加^[42]。即使 RBT 鱼苗在铜暴露后,整体的铜浓度在 40—60d 达到稳定^[43],据此推测,至少对于 RBT 而言,其肝中铜浓度在 1—21d 呈显著增加,但数量较早地达到了稳定,而之后又经历一个较大的增加,最后增加率逐渐减小,直到最终的稳定状态。因而认为使鱼类肝中铜浓度显著上升的铜浓度应为 30μg/L (实际浓度 27μg/L 左右)以上。其他的研究表明,肝和性腺中的铜浓度最高,而肌肉和皮肤中积累的较少,另鳃中铜的分布也较多^[44]。

6 研究展望

由于水体中实际铜浓度和设计浓度间存在着差异,而且其浓度是随着时间的变化而逐渐接近设计浓度,因而设计浓度和实际浓度间的相关性如何变化,不同的铜来源(如 Cu(NO₃)₂·2H₂O、CuSO₄ 等)是否会影响二者间的差异范围,而水质参数对这种差异是否有影响,值得研究。

铜对不同种鱼类的生存和生长影响是不同的,而且在相同的实验条件下,对同种鱼类的影响也是有差别的,这可能与不同批次的实验鱼体质有关,同时不同鱼类对同浓度的铜反应之所以不同,可能与其对铜适应的内在机制是不同的有

关,这需进行进一步比较研究。另外,虹鳟在 6.4 和 16μg/L 两个浓度组在 14—21d 期间死亡率有小幅上升^[45],即死亡发生了延迟,这是否与早期肝 MT 的升高和铜的螯合的缺乏有关,因而还需进一步延长实验时间进行研究。

行为回避反应尽管是一种较好的方法,但不同的研究者对同一种鱼类的铜回避阈浓度却有着较大的差异,这给实际的应用带来不便。Giattina 等在虹鳟的行为回避反应实验中该值为 4.4—7.3μg/L^[45],与 James 等的结果(1.6μg/L)相差甚远,这似乎与实验的重复数有关,后者的重复数为 20,而前者无重复组,因而行为回避反应实验中重复组数以多少为宜,需进行研究。

对于铜对 Hct、Hb 的影响研究较多,而对白细胞的研究要少得多,但遗憾的是这些研究主要是就表征变化的研究,至于铜如何作用于这些细胞产生毒害作用的机制却研究得很少,另外如将这些指标与生产结合起来,以指导实践显得更有意义,如 Hb 与耗氧率间存在着密切关系,而耗氧率又与水体的溶氧有一定关系,因而将二者联系起来更有应用价值。尽管已有研究表明,使鱼类产生肝 MT 显著升高的铜浓度下限应在 16.0—26.9μg/L 间,但也有研究者认为,该下限应为 50μg/L^[46],这也可能是鱼种间的差异所致。该下限浓度显然与鱼类的生态分布有着密切的关系,因而应对更多的鱼类进行广泛而深入的研究。

AChE 是有机磷农药的特异性指标,而重金属对于该指标的影响却有着差别,且对于同种间的反应不同的研究有不同的结果,因而还需作更深入更全面的研究,这样才能确定其是否可作为重金属的有效监测指标。

鱼类的行为回避反应、神经生理及神经组织学的研究结果基本上是一致的。CS 和 RBT 的受体数量在铜暴露 1h 后,产生显著下降的铜浓度分别为 50 和 200μg/L,而其丧失回避反应和 EEG 反应恢复很慢的铜浓度也分别是 50 和 200μg/L,这告诉两点,CS 比 RBT 对铜的敏感性要大得多,这决定了两个物种在自然界的分布及生存能力;同时,铜使 CS 进入抑制期的浓度为 50μg/L,RBT 为 200μg/L,即一旦铜大于此浓度,鱼的各种指标可能受到较大较长期的影响,其恢复也较慢,但不致鱼发生死亡。在此期间,鱼会通过各种应激机制减少铜对其的毒害,然后产生适应,这可能是慢性毒性作用期的特点之一。若鱼体的应激机制超过了铜的毒害作用,鱼即生存下来,并且各项指标得以恢复,若相反,则可能造成鱼的死亡。不同的鱼的应激能力有所不同,恢复期不同,同种鱼的不同阶段也可能不同,因而应进一步研究不同鱼类的恢复期问题,这样既可了解鱼类的生存能力和生态分布,而对于人工养殖则可针对不同水体的特点,对鱼的养殖种类进行调整,以提高效益。

铜在鲤 96h 暴露过程中,鳃中铜浓度不断地增加,这与破坏的鳃结构在 96h 时大部分恢复似有矛盾,因而必定存在着其他的生理机制,使得尽管鳃中铜浓度较高,但不破坏鳃产生破坏,即降低了有效铜浓度,从而才使得在鳃中铜浓度不断升高的情况下,破坏的鳃结构却得以恢复,至于什么机制,

值得探讨。

血液Hb和Hct、血浆葡萄糖、乳酸盐、肝MT和肝中铜间的相关性以及嗅觉上皮I型受体和肝铜等指标间均表现出了如下特点,当铜浓度在30μg/L以下时,未出现显著的上升,而在30μg/L(设计浓度)以上时,则均表现出了至少是上升甚至显著上升的趋势,因而认为要想使这些常规的监测指标产生反应,铜浓度必须要在30μg/L以上,这一点至少在鲑科鱼类是如此,至于对其他鱼类能否适用,仍需作大量的工作。

参考文献:

[1] McCormick F H, Hill B H, Parrish L P, *et al.* Mining impacts on fish assemblages in the Eagle and Arkansas rivers, Colorado [J]. *J. Freshwater Ecol.*, 1994, **9**: 175—179

[2] Baatrup E. Structural and function effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs of fish [J]. *Comp Biochem Physiol.*, 1999, **100C**: 253—257

[3] Chen J C, Lin C H. Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2001, **192**: 55—65

[4] Deaver E and Rodgers J H Jr. Measuring bioavailable copper using anodic stripping voltammetry [J]. *Environ Toxicol Chem.*, 1996, **15**: 1925—1930

[5] Moran D T, Rowley J C, Aiken G R *et al.* Ultrastructural neurobiology of the olfactory mucosa on the brown trout, *Salmo trutta* [J]. *Micromscopy Res. Tech.*, 1992, **23**: 28—48

[6] Julliard A K, Saucier D, Astic L. Time course of apoptosis in the olfactory epithelium of rainbow trout exposed to a low copper level [J]. *Tissue Cell.*, 1996, **28**: 367—377

[7] Bastin E W. The recovery of a stream macroinvertebrate community from long term contamination by mine drainage [C]. Master's thesis, University of California, Davis, 1992

[8] Beaumont M W, Bulter P J, Taylor E W. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to sub lethal copper concentration in soft acidic water and its effect upon sustained swimming performance [J]. *Aquat Toxicol.*, 1995, **33**: 45—63

[9] De Boeck G, De Smet H, Blust R. The effect of sublethal levels of copper on oxygen consumption and ammonia excretion in the common carp, *Cyprinus carpio* [J]. *Aquat Toxicol.*, 1995, **32**: 127—141

[10] Grosell M H, Hogstrand C, Wood C M. Cu uptake and turnover in both Cu acclimated and non acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquat Toxicol.*, 1997, **38**: 257—276

[11] Pegnom S M G J, Lock R A C, Balm P H M, *et al.* Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sub lethal copper exposure [J]. *Aquat Toxicol.*, 1995, **32**: 303—320

[12] Wilson R W, Taylor W W. The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure [J]. *J Comp physiol.*, 1993, **163B**: 38—47

[13] James A H, James D R, Robert A J, *et al.* Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to copper: neurophysiological and histological effects on the

olfactory system [J]. *Environ Toxicol Chem.*, 1999, **18**: 1979—1991

[14] James A H, John C A M, Joshua L, *et al.* Differences in neurobehavioral responses of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to copper and cobalt: behavioral avoidance [J]. *Environ Toxicol Chem.*, 1999, **18**: 1972—1978

[15] Gudrun De Boeck, Andrea Vlaeminck Paul HMB, Robert ACL *et al.* Morphological and metabolic changes in common carp during short-term copper exposure: interactions between Cu²⁺ and plasma cortisol elevation [J]. *Environ Toxicol Chem.*, 2001, **20**: 374—381

[16] Dethloff G M, Schlenk D, Hamm J T *et al.* Alterations in physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/zinc mixtures [J]. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 1999, **42**: 253—264

[17] Dethloff S D, Khan S, Bailey H C. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 1999, **36**: 415—423

[18] Pedder S C J, Maly E J. The effect of lethal copper solutions on the behavior of rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 1985, **14**: 501—507

[19] Summerfelt R C, Lewis W M. Repulsion of green sunfish by certain chemicals [J]. *J Water Pollut Control Fed.*, 1967, **39**: 2030—2037

[20] Renner R. Calculating the cost of natural resource damage [J]. *Environ Sci Technol.*, 1998, **32**: 86—90

[21] Muhvich A G, Jones R T, Kane A S, *et al.* Effects of chronic copper exposure on the macrophage chemiluminescent response and gill histology in goldfish (*Carassius auratus* L.) [J]. *Fish shellfish Immunol.*, 1995, **5**: 251—264

[22] Dethloff G M, Bailey H C. The effects of copper on immune system parameters of rainbow trout [J]. *Environ Toxicol Chem.*, 1998, **17**: 1807—1814

[23] Nussey G, van Vuren J H J, du Preez H H. Effect of copper on the differential white blood cell counts of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Comp Biochem Physiol C.*, 1995, **111**: 381—388

[24] Shah S L, Hafeez M A, Shaikh S A. Changes in haematological parameters and plasma glucose in the fish, *Cyprinion watsoni*, in response to zinc and copper treatment [J]. *Pak J Zool.*, 1995, **27**: 249—253

[25] Cyniac P J, Antony A, Nambisan P N K. Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) after short term exposure to copper and mercury [J]. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 1989, **43**: 315—320

[26] Pottinger T G. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets [J]. *J Fish Biol.*, 1998, **53**: 728—742

[27] Kone B C, Brenner R M, Gullams S R. Sulfhydryl reactive heavy metals increase cell membrane K⁺ and Ca²⁺ transport in renal proximal tubule [J]. *J Membr Biol.*, 1990, **113**: 1—12

[28] Li J, Lock R A C, Klaren P H M, *et al.* Kinetics of Cu⁺ inhibition of Na⁺ / K⁺-ATPase [J]. *Toxicol Lett.*, 1996, **67**: 31—38

[29] Li J, Quabius E S, Wendelaar Bonga S E, *et al.* Effects of water borne copper on branchial chloride cells and Na⁺ / K⁺-ATPase activi

ties in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Aquat Toxicol*, 1998, **43**: 1—11

[30] Benders A A G M, Li J, Lock R A C, *et al.* Copper toxicity in cultured human skeletal muscle cells: The involvement of Na⁺ /K⁺-AT-Pase and the Na⁺ /Ca²⁺ exchanger [J]. *Flueg Arch Eur J Physiol*, 1994, **428**: 461—467

[31] Marr J C A, Bergman H L, Lipton J, *et al.* Differences in relative sensitivity of naive and metals acclimated brown and rainbow trout exposed to metals representative of the Clark Fork River, Montana [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1995, **52**: 2016—2030

[32] Nemcsók J G, Hughes G M. The effect of copper sulphate on some biochemical parameters of rainbow trout [J]. *Environ Pollut*, 1988, **49**: 77—85

[33] Vema S R, Tonk I P, Gupta A K *et al.* *In vivo* enzymatic alterations in certain tissues of *Saccharinichthys fimbriatus* following exposure to four toxic substances [J]. *Environ Pollut*, 1981, **26**: 121—127

[34] Hara T J, Law Y M C, Macdonald S. Effects of mercury and copper on the olfactory response in rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. *J Fish Res Board Can*, 1976, **33**: 1568—1573

[35] Welsh P G, Skidmore J F, Spry D J, *et al.* Effect of pH and dissolved organic carbon on the toxicity of copper to larval fathead minnow (*Pimephales promelas*) in natural lake waters of low alkalinity [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1993, **50**: 1356—1362

[36] Hara T J. Behavioral and electrophysiological studies of chemosensory reactions in fish. In Laning P R, ed. *Brain Mechanisms of Behaviour in Lower Vertebrates* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1981, 123—136

[37] Reddy P S, Bhagyalakshmi A. Lipid peroxidation in the gill and hep-atopancreas of *Osteolephusa senex senex* Fabricius during cadmium and copper exposure [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1994, **53**: 704—710

[38] Hara T J. Olfaction and gustation in fish: An overview [J]. *Acta Physiol Scand*, 1994, **152**: 207—217

[39] Zielinski B S, Hara T J. Ciliated and microvillar receptor cells de-generate and then differentiate in the olfactory epithelium of rainbow trout following olfactory nerve section [J]. *Microscopy Res Tech*, 1992, **23**: 22—27

[40] Julliard A K, Saucier D, Astic L. Effects of chronic low-level copper exposure on ultrastructure of the olfactory system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Histol Histopathol*, 1993, **8**: 655—672

[41] Saucier D, Astic L. Morphofunctional alterations in the olfactory sys-tem of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and possible acclimation in response to long-lasting exposure to low copper levels [J]. *Comp Biochem Physiol A*, 1995, **112**: 273—284

[42] Marr J C A, Lipton J, Cacela D, *et al.* Relationship between copper exposure duration, tissue copper concentration, and rainbow trout growth [J]. *Aquat Toxicol*, 1996, **36**: 17—30

[43] Wong C K, Wong P P D, Chu L M. Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2001, **40**: 60—69

[44] Giattina J D, Garton R R, Stevens D G. Avoidance of copper and nickel by rainbow trout as monitored by a computer based data acquir-sition system [J]. *Trans Am Fish Soc*, 1982, **111**: 491—504

[45] McCarter J A, Roch M. Hepatic metallothionein and resistance to copper in juvenile coho salmon [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1983, **74C**: 133—137