

# Zn<sup>2+</sup> 对罗非鱼呼吸运动的影响 和解毒的初探 \*

柴敏娟 周学成 黄玉霖

(厦门大学海洋系, 361005)

## 提 要

将罗非鱼分别置于含有 1、4、8、12 ppm ZnSO<sub>4</sub> 的软、硬质水中, 研究 15d 中不同亚致死浓度 Zn<sup>2+</sup> 对鱼呼吸和咳嗽反应频率的影响; 观测比较加入 EDTA 络合剂的变化, 探索解除鱼 Zn<sup>2+</sup> 中毒的方法。结果如下: 1) 呼吸频率的变化和咳嗽反应明显受 Zn<sup>2+</sup> 浓度影响, 浓度越大, 呼吸频率曲线越偏离对照曲线, 咳嗽反应的频率亦越高, 它们可作为鱼中毒和解毒的生理学监测指标。2) 硬水组鱼受 Zn<sup>2+</sup> 毒害明显小于软水组。3) EDTA 可解除或减轻 Zn<sup>2+</sup> 对鱼的毒害, 但其在软、硬水中的解毒效应无明显差异。

**关键词** Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, 呼吸频率, 咳嗽反应, EDTA, 生理学监测指标

Zn<sup>2+</sup> 作为微量元素, 对生物体内酶的活性和蛋白质合成有关。但在自然环境中, Zn<sup>2+</sup> 属非降解性污染物, 又易被水生生物富集, 威胁着水生生物的生命。60 年代以来, 人们开始重视 Zn<sup>2+</sup> 对鱼类生命活动的影响, 曾研究了 Zn<sup>2+</sup> 对虹鳟鱼的毒性<sup>[1]</sup>, Zn<sup>2+</sup> 和 Cu<sup>2+</sup> 对鱼的换气动作、动脉血氧张力以及 pH 的影响等<sup>[2-5]</sup>, 近年来黄溢明等观测了几种重金属离子对鱼呼吸的影响<sup>[6]</sup>, 但在不同亚致死浓度 Zn<sup>2+</sup> 液中, 系统地对鱼的呼吸运动变化作较长期的连续观察, 并以此作为生理学监测指标, 探索鱼的中毒和解毒方面的报道实属鲜见。本文以罗非鱼为材料, 研究鱼在四种亚致死浓度 Zn<sup>2+</sup> 的软质、硬质水中, 15d 内呼吸和咳嗽反应频率的变化过程, 以及 EDTA 络合剂对鱼的解毒效应, 以期寻找解除或减轻鱼体 Zn<sup>2+</sup> 中毒的症状, 为淡水鱼的养殖提供参考。

## 材 料 与 方 法

实验用 52 尾罗非鱼 (*Tilapia* sp.) 捕自厦门大学芙蓉湖, 体重 100±6g, 雌雄不拘, 暂养于室内水池。实验前的准备同前文<sup>[7]</sup>。各组处理如表 1。其中 Zn<sup>2+</sup> 剂量分别是国家渔业标准 (0.1 mg/L) 的 10、40、80、120 倍。1—6 组为软水组, 7—12 组为硬水组, 软水系去除 Cl<sup>-</sup> 的自来水。EDTA 均在鱼出现中毒症状后 1d 加入。

\* 本文系福建省自然科学基金资助课题。

1989 年 10 月 3 日收到; 1992 年 3 月 14 日修回。

表 1 实验水组成

Tab. 1 The constituents of experimental water.

| 药物 Drug                 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5  | 6  | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
|-------------------------|---|---|---|---|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ZnSO <sub>4</sub> (ppm) | 0 | 1 | 4 | 8 | 12 | 12 | 0   | 1   | 4   | 8   | 12  | 12  |
| CaCO <sub>3</sub>       | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 饱和液 | 饱和液 | 饱和液 | 饱和液 | 饱和液 | 饱和液 |
| EDTA (ppm)              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 60 | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 60  |

每组 4 尾鱼, 实验期为 15d, 除加入 Zn<sup>2+</sup> 和 EDTA 的当天记录 8 次外, 每天定时观测 4 次。实验水温为 23±1.2℃, pH 为 5.7—6.5。整个实验期用养鱼打气机连续充气, 以保持水体含足够的溶解氧。

鱼鳃盖运动的变化经半导体应变片构成的水下传感器, 将机械运动转为相应的电讯号输出, 再经模数转换线路转换成数字量, 供 LASER-310 型微机直接绘出鳃盖运动波形图。由此测得的呼吸和咳嗽反应频率数据送计算机, 按勒让特正交多项式

$$Y = \sum_{p=0}^5 \alpha_p P_p(x)$$

作一光滑曲线, 它能如实反映鱼在 Zn<sup>2+</sup> 中毒时呼吸运动的变化<sup>[3]</sup>。

## 结 果

### 1. Zn<sup>2+</sup> 对罗非鱼呼吸运动的影响

罗非鱼正常呼吸频率约为 77 次/min, 系 52 尾 228 次正常呼吸频率的均值, 以此值作标准(100%), 求出各实验组 15d 呼吸运动频率的变化(图 1a)。从图 1a 可示, 除对照

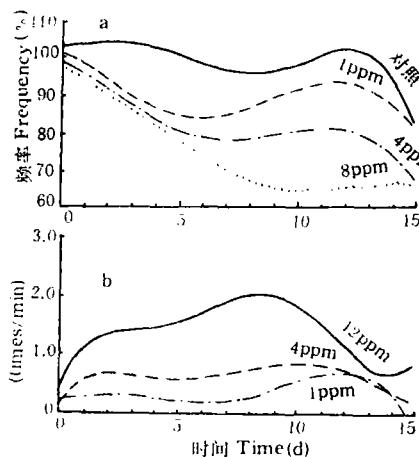


图 1 软水组中毒鱼 15d 呼吸运动的变化

Fig. 1 Respiratory changes in fish exposed to toxic soft water for 15 days.

a. 呼吸频率曲线 Respiratory frequency; b. 咳嗽反应频率曲线 Cough frequency

组的频率变化在均值上下波动外,其余各组鱼触毒后呼吸频率都下降,下降趋势随  $Zn^{2+}$  浓度的增加而加剧,这与亚致死浓度  $Cu^{2+}$  中毒的状况雷同。

咳嗽反应是  $Zn^{2+}$  中毒鱼的主要指标,是鱼置于不利环境的保护性反射,它常在多次正常鳃盖运动后出现。咳嗽反应的出现和频率变化与毒物浓度关系密切,从图 1b 可见,1 ppm 组鱼咳嗽频率始终较低,4 ppm 组是前者的 1 倍左右,12 ppm 组曲线高耸,是前两组的 1—2 倍,由此可见咳嗽频率是随  $Zn^{2+}$  浓度的增加而递增,且曲线峰值也随之前移。

## 2. 解毒的探索

硬水效应将鱼移入硬水(饱和  $CaCO_3$  溶液)适应 1—2d 后,加入与软水组同剂量的  $Zn^{2+}$ ,发现鱼中毒的程度虽亦随  $Zn^{2+}$  浓度的增加而加深,但与软水组相比仍有明显差

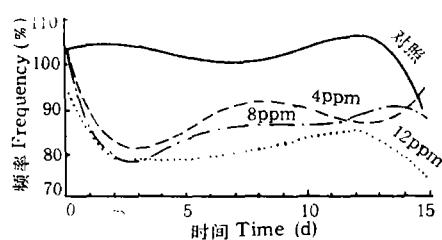


图 2 硬水组中毒鱼 15d 呼吸频率的变化

Fig. 2 Respiratory changes in fish exposed to toxic hard water for 15 days.

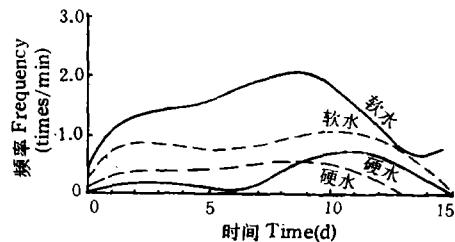


图 3 软、硬水组中毒鱼咳嗽频率比较

Fig. 3 Comparison of cough frequency between intoxicated fish reared in soft and hard water for 15 days.

—— 12 ppm  $Zn^{2+}$     - - - 4 ppm  $Zn^{2+}$

别。鱼触毒后呼吸频率曲线下降,但 3d 后各曲线均回升(图 2),说明鱼的呼吸频率逐渐在恢复。而软水组除 4 ppm 曲线第 6d 后有回升趋势外,其他组均无此现象(图 1a)。

图 3 为软、硬水组鱼在相同剂量  $Zn^{2+}$  液中咳嗽频率的比较。从图可知,  $Zn^{2+}$  浓度无论是 4 ppm 还是 12 ppm, 软水组鱼的咳嗽频率都高于硬水组, 频率曲线峰值可为硬水组鱼的 1 倍以上。有力地说明硬水中  $Zn^{2+}$  可对淡水鱼的毒性降低。

EDTA 效应第 6、12 两组分别加入 5 倍  $Zn^{2+}$  浓度的 EDTA 络合剂, 鱼呼吸频率于次日(第 3d)都开始增加,不过硬水组鱼曲线回升趋势较稳定,频率更接近正常值(100%)(图 4a)。从图 4a 还可明显见到加入 EDTA 的两组鱼呼吸频率都远高于 8 ppm  $Zn^{2+}$  组,说明 EDTA 可能具

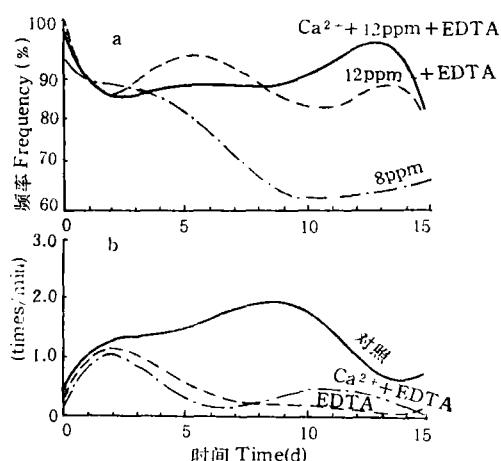


图 4 EDTA 的解毒效应

Fig. 4 The detoxicating effects of EDTA.

- a. 呼吸频率变化 Changes in respiratory frequency;
- b. 咳嗽反应频率变化 Changes in cough frequency

有解毒作用。

图 4b 为加入 EDTA 后中毒鱼 14d 内咳嗽反应的变化。加入 EDTA 的次日(第 3 d), 两组鱼咳嗽频率比同剂量中毒鱼明显减少, 强烈提示 EDTA 具一定的解毒作用。

## 讨 论

呼吸运动是鱼体代谢的一种综合指标。当水环境因子变化时, 呼吸介质通道上的感受器接受这种刺激<sup>[9]</sup>, 使呼吸频率迅速变化, 减少摄入鱼体的  $Zn^{2+}$  量。随着鳃组织表面  $Zn^{2+}$  的累积,  $Zn^{2+}$  与鳃上皮分泌的粘液构成一种不溶解的蛋白质化合物, 该物沉淀于鳃表面, 刺激鳃上 J-感受器<sup>[10]</sup>, 反射性不断引起咳嗽反应, 以清除鳃上异物, 这是鱼处于不利环境得以生存的保护性措施。由于呼吸和咳嗽频率都随着  $Zn^{2+}$  浓度和中毒深度迅速地变化, 因此本文将其作为鱼中毒和解毒的生理学监测指标。

$Zn^{2+}$  对硬水组鱼呼吸运动的影响比同剂量的软水组小, 说明硬水中  $Zn^{2+}$  对鱼的毒害小些。这可能与鱼受污染前先在硬水中适应 1—2d 有关。因为鱼置于  $CaCO_3$  饱和液中, 外环境  $Ca^{2+}$  浓度远比体内组织细胞大,  $Ca^{2+}$  便会顺着离子浓差从外渗透入内, 鱼体组织细胞内就先含有较多的  $Ca^{2+}$ 。 $Ca^{2+}$  的存在减少了表面膜对  $Zn^{2+}$  的通透性, 或者阻挡了  $Zn^{2+}$  的进入<sup>[11]</sup>, 由于这种拮抗作用主要发生于表面膜, 因此  $Zn^{2+}$  进入体内的速度减慢, 使鱼遭受  $Zn^{2+}$  毒害的机率减少。吴瑜端等曾指出, 在复合体中多种金属的交互效应主要取决于金属离子的生物亲和力  $f$ , 且  $f$  值大可取代  $f$  值小的, 已知  $Ca^{2+}$  的  $f$  为 14,  $Zn^{2+}$  的  $f$  为 5.7,  $Ca^{2+}$  就能取代  $Zn^{2+}$ , 致使鱼体内富集的  $Zn^{2+}$  会随着介质中  $Ca^{2+}$  活度的增大而减少,  $Zn^{2+}$  对鱼的毒性就会降低。再者本文采用的是硫酸锌盐, 不排除  $ZnCO_3$  沉淀的产生, 笔者也曾见到硬水组箱底沉淀物一般都比软水组多, 在一定程度上, 也降低了水中  $Zn^{2+}$  浓度。由此可推测硬水组鱼体内  $Zn^{2+}$  含量会少些。用双硫胺分光光度法分析各实验组鱼的鳃、肌肉和肝中  $Zn^{2+}$  的含量, 发现硬水组标本均明显低于同剂量软水组<sup>1)</sup>, 证明硬水对  $Zn^{2+}$  有拮抗作用, 与本文结果吻合。根据 Skidmore 提出  $Ca^{2+}$  能拮抗大部分重金属离子毒性的观点和本实验结果, 硬质水养殖淡水鱼是有利于鱼类防治和减轻重金属中毒现象的。

EDTA 是一种有效络合剂, 几乎能与所有重金属离子络合; 且反应迅速, 形成的络合物稳定。由于 EDTA 与  $Zn^{2+}$  形成稳定络合物, 使致毒的  $Zn^{2+}$  成为无毒性作用的金属螯合物, 解除了  $Zn^{2+}$  对鱼的毒性, 鱼的呼吸就逐渐恢复正常。在硬水条件下, 可能由于 EDTA 本身和  $Ca^{2+}$  两者的解毒效应, 故 EDTA 的解毒效应更为明显。至于 EDTA 是否也与  $Ca^{2+}$  络合, 削弱其解毒作用? 笔者认为因  $Zn^{2+}$  与 EDTA 络合的稳定系数  $LogK$  稳大于  $Ca^{2+}$ , 且本实验 pH(5.7—6.5) 条件下,  $Zn^{2+}$  的条件生成常数明显大于  $Ca^{2+}$ , 所以 EDTA 更易与  $Zn^{2+}$  形成金属螯合物, 起到解毒效应, 但不排除少量  $Ca^{2+}$ -EDTA 融合物的形成, 这也许就是硬水中 EDTA 解毒效应不如预期那么佳的缘故。

1) 柴敏娟等手稿(1989 年)。

## 参 考 文 献

- [1] Lloyd R. The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout. *Ann. Appl. Biol.*, 1960, 48: 84—94.
- [2] Crespo S, Soriano E, Sampera C, et al. Zinc and copper distribution in excretory organs of the dogfish *Scyliorhinus canicula* and chloride cell response following treatment with zinc sulphate. *Marine Biol.*, 1981, 65: 117—123.
- [3] Satchell G H. Respiratory toxicology of fishes. In: *Aquatic toxicology*. New York: Ed. Weber L J., Raven Press, 1982: 19—23.
- [4] Sellers C N Jr, Heath A G, Bass M L. The effect of sublethal concentration of copper and zinc on ventilatory activity, blood oxygen and pH in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Water Res.*, 1975, 9: 401—408.
- [5] Skidmore J F. Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate. *J. Exp. Biol.*, 1970, 52: 481—494.
- [6] 黄益明等。重金属( $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ag^{2+}$ )对鲮鱼咳嗽反应的影响。环境科学学报, 1988, 8(2): 216—222。
- [7] 柴敏娟等。次致死浓度  $Cu^{2+}$  对罗非鱼呼吸生理的影响。水产学报, 1990, 14(1): 50—54。
- [8] 黄玉霖。勒让特正交多项式与鱼类生理的研究, 见: 中国农林生物数学学术大会论文集(渔业部)。杭州: 浙江农业大学出版社, 1987。
- [9] Rehwoldt R, Gerald B, Nerrie B. Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson River fish species. *Bull. Envir. Contam. Toxic.*, 1971, 5: 445—448.
- [10] Satchell G H. Type J receptors in the gills of fish. In: *Studies in Neurophysiology*. New York: Ed. Weber L J., Raven press, 1982: 131—142.
- [11] Skidmore J F. Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. *The Quarterly Review of Biol.*, 1964, 39(3): 227—245.

## EFFECT OF $Zn^{2+}$ ON THE RESPIRATORY ACTIVITY OF TILAPIA SP. WITH REFERENCE TO DETOXICATION METHODS

Chai Minjuan Zhou Xuecheng and Huang Yulin

*(Department of Biology, Xiamen University, 361005)*

### Abstract

Fish were exposed to either soft water or hard water containing 1, 4, 8 and 12 ppm  $ZnSO_4$ . The sublethal effects of  $Zn^{2+}$  on respiration and cough frequencies were studied over a period of 15 days. Changes in the respiratory activities were recorded after the addition of EDTA. Methods for detoxication were explored. The results are as follows. (1) Respiratory frequency and cough response were apparently affected by  $Zn^{2+}$  concentration. The higher the  $Zn^{2+}$  concentration, the further the respiratory frequency curve deviated from the control, and the higher the cough frequency. These responses can be used as indices for the physiological monitoring of toxication and detoxication in fish. (2)  $Zn^{2+}$  toxicity was apparently lower in hard water than in soft water. (3) EDTA can eliminate or lessen the toxic effect of  $Zn^{2+}$ ; its detoxication effects were similar in soft and hard water.

**Key words**       $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , EDTA, Respiratory frequency, Cough response, Physiological monitoring indicator