

# 亚致死浓度的铜对虹鳟生理指标的影响

Н. Казлаускене М.-З. Восилене

(立陶宛生态学研究所 维尔纽斯)

外部环境决定着有机体的功能状态;当有机体与外部环境之间相互关系遭到破坏时,无论机体的生理系统,还是其调节机能都会发生变化。

生理指标反映出物体内环境对外部作用作出的反应,以此可确定外部作用的强度,阐明作用机制,确定机体的适应能力,并预测其影响(Хайнд, 1975; Флеров, 1989)。

鱼类的心脏呼吸系统,由于其对电信号高度敏感,能相当迅速地反映出该系统自身及整个机体发生的各种变化。已确定,心律、呼吸系统及“咳嗽”频率既是心脏呼吸系统,也是整个机体功能状态足够敏感和富有信息的指标(Казлаускене, Восилене, 1990)。在分析受重

金属作用后心电图变化特点时确定,它们扰乱鱼类心脏呼吸系统节律性,引起各种病理学变化,造成心动过速(Карпович, Колунаев, 1979; Hughes, Tort, 1985)。有人用亚致死浓度的铜做了大量短期暴露实验(Dick, Dixon, 1985; wilson, Taylor, 1993)。

血液学指标(红细胞、血红蛋白)与有机体的呼吸和供氧状况有关。白细胞表明有机体免疫系统的特征,而实际上决定着机体的代偿能力。血糖反映能量代谢水平。

我们以虹鳟为材料,研究了在亚致死浓度铜液中暴露 10 天后,对心脏呼吸系统及血液指

---

收稿日期:1998-04-12, 修回日期:1998-06-08

标的影响,查明指标的变化范围,及在铜的作用下,鱼体的代偿能力。

实验在 1991~1992 年进行。实验期间水温变化为 9~12℃,溶氧不低于 7mg/L,水的硬度为 3.5~4.5mg/L, pH6.8~7.5。

实验中使用无触点自动系统记录心脏呼吸系统指标,该系统可在连续实验条件下,对同一尾鱼的心律周期性结构、心脏收缩和呼吸频率进行监测,并采用专门设计的程序用电子计算机对研究指标进行数理统计分析。研究了下列指标:间隔的平均时间(RR),即  $X_{RR}$  秒;心律弥散或稳定指标—— $\sigma_{RR}$  秒;心律的周期性结构:浪式呼吸或呼吸节律失常,即在 0.2~0.5Hz 范围内浪式吸呼(%),它们表明副交感神经系统及呼吸系统参与心律的调节(Жемайтите, 1970);即呼吸次数/分。

进行血液学研究的血样采自鱼尾动脉。分析指标有:红细胞含量( $10^6$  个/ $\mu$ l),淋巴细胞含量( $10^3$  个/ $\mu$ l)、血涂片、葡萄糖浓度(mol/L)。红细胞在 горяева 镜箱中计数,白血球用 Май-Грюнвалда 液染色后用血涂片计数,葡萄糖浓度用 ЭКСАН-Г 仪测定。所有研究指标的差异都按学生式概率分布标准  $P \leq 0.05$  进行评价。

实验用的铜液浓度分别为 0.1、0.2 和 0.5mg/L,贮备液用纯  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (CP)配制,换算成铜离子的浓度。

在实验条件下将鱼驯养 7~10 天,使其适应,并记录下常规的心脏呼吸及血液指标,然后在铜液中暴露 10 天。在暴露 1、5 和 10 天时,观察、记录各项研究指标。而后把鱼移入清水中,经历 1、5、10 和 20 天时再观察记录这些指标。

亚致死浓度的铜对虹鳟心脏及呼吸系统的影响。实验结果表明,对照组的  $X_{RR}$ ,  $\sigma_{RR}$  和心律周期结构(浪式呼吸),在整个实验期间保持稳定(表 1): $X_{RR}$  的变幅为  $(0.98 \pm 0.02 \sim 1.2 \pm 0.02)$  秒; $\sigma_{RR}$  为  $(0.14 \pm 0.05 \sim 0.27 \pm 0.04)$  秒;浪式呼吸为  $(55.3 \pm 7.3 \sim 66.2 \pm 3.7)\%$ 。由表 1 可见,对照组心律周期性结构中,浪式呼吸起主导作用,为整个波结构的  $(60.1 \pm 3.3)\%$ 。这说明,在心律调节中副交感神经系统起主导作

用,呼吸系统也积极参与(Казлаускене 等, 1987)。

表 1 对照组在 30 天内心输出量、其周期性结构及呼吸运动频率的动态 ( $n = 20$ )

天	指 标			呼吸频率 (次/min)
	$X_{RR}$ (秒)	$\sigma_{RR}$ (秒)	浪式呼吸(%)	
1	$0.92 \pm 0.02$	$0.16 \pm 0.01$	$59.3 \pm 7.3$	$100.2 \pm 2.4$
5	$0.93 \pm 0.02$	$0.15 \pm 0.01$	$56.7 \pm 9.9$	$102.4 \pm 3.6$
10	$1.10 \pm 0.05$	$0.17 \pm 0.03$	$56.7 \pm 5.9$	$100.4 \pm 2.6$
20	$1.10 \pm 0.09$	$0.14 \pm 0.05$	$66.2 \pm 3.7$	$98.8 \pm 3.8$
30	$1.20 \pm 0.06$	$0.17 \pm 0.04$	$61.4 \pm 5.5$	$104.2 \pm 2.4$
对照组总 平均数	$1.10 \pm 0.04$	$0.19 \pm 0.04$	$60.1 \pm 3.3$	$102.5 \pm 3.6$

当铜的浓度为 0.1mg/L,虹鳟暴露 10 天时,  $X_{RR}$  由  $(1.1 \pm 0.04)$  秒下降到  $(0.64 \pm 0.06)$  秒,  $\sigma_{RR}$  由  $(0.19 \pm 0.02)$  秒下降到  $(0.03 \pm 0.01)$  秒,浪式呼吸由  $(60.1 \pm 3.3)\%$  提高到  $(87.5 \pm 6.1)\%$ (表 2)。把鱼放入清水后,心律和周期结构的各项研究指标 10 天内完全恢复正常(见表 2)。

表 2 铜对心律及其周期性结构的影响

阶段	铜浓度 (mg/L)	天	$X_{RR}$ (秒)	$\sigma_{RR}$ (秒)	浪式呼吸 (%)
暴露期	0.1	1	$1.10 \pm 0.10$	$0.09 \pm 0.02^*$	$72.3 \pm 8.6$
		5	$0.89 \pm 0.13$	$0.06 \pm 0.02^*$	$53.9 \pm 8.9$
		10	$0.64 \pm 0.06^*$	$0.03 \pm 0.01^*$	$87.5 \pm 6.1^*$
恢复期	-	1	$0.65 \pm 0.02^*$	$0.02 \pm 0.01^*$	$69.9 \pm 5.9$
		5	$0.76 \pm 0.01^*$	$0.06 \pm 0.04^*$	$33.9 \pm 1.1^*$
		10	$1.10 \pm 0.06$	$0.17 \pm 0.14$	$66.7 \pm 4.3$
暴露期	0.5	1	$0.79 \pm 0.03^*$	$0.11 \pm 0.03^*$	$38.4 \pm 7.9^*$
		5	$0.70 \pm 0.01^*$	$0.04 \pm 0.01^*$	$64.5 \pm 8.9$
		10	$0.59 \pm 0.03^*$	$0.03 \pm 0.01^*$	$94.0 \pm 5.6^*$
恢复期	-	1	$0.83 \pm 0.05^*$	$0.04 \pm 0.02^*$	$48.9 \pm 1.5^*$
		5	$0.68 \pm 0.03^*$	$0.02 \pm 0.003^*$	$38.2 \pm 1.2^*$
		10	$0.70 \pm 0.02^*$	$0.02 \pm 0.002^*$	$75.4 \pm 5.9^*$
对 照	-	总平均数	$1.10 \pm 0.04$	$0.19 \pm 0.02$	$60.1 \pm 3.3$

\* 与对照组差异在  $P \leq 0.05$  水平上可信。

当暴露浓度为 0.5mg/L 时,各项研究指标变化极大,甚至把鱼移入清水 20 天后也没有完全复原(见表 2);鱼放入清水中直至第 20 天  $X_{RR}$  提高到  $(1.3 \pm 0.04)$  秒,  $\sigma_{RR}$  没变化,为  $(0.02 \pm 0.06)$  秒。

由表 3 可见,当铜的浓度为 0.1mg/L,虹鳟暴露 10 天时,呼吸频率由 $(102.5 \pm 3.6)$ 降到 $(68.8 \pm 7.2)$ 次/分。然而,把鱼移入清水后,呼吸频率在 10 天后完全恢复到对照组水平 $(98.0 \pm 2.5)$ 次/分。当铜的浓度为 0.5mg/L 时,呼吸频率的变化与之相似,但鱼移放到清水中 10 天后没有完全恢复,为 $(88.4 \pm 4.5)$ 次/分,仅在第 20 天前记录到呼吸频率完全复原 $(98.5 \pm 2.9)$ 次/分(见表 3)。

表 3 铜对虹鳟呼吸频率的影响(次数/min)

阶段	铜浓度 (mg/L)	天	次数/min
暴露期	0.1	1	$102.0 \pm 4.1$
		5	$97.4 \pm 3.8$
		10	$68.8 \pm 7.2^*$
恢复期	-	1	$96.2 \pm 3.7$
		5	$100.2 \pm 3.9$
		10	$98.0 \pm 2.5$
暴露期	0.5	1	$116.7 \pm 4.7^*$
		5	$117.6 \pm 5.5^*$
		10	$63.8 \pm 7.2^*$
恢复期	-	1	$99.7 \pm 2.7$
		5	$110.8 \pm 2.7$
		10	$88.4 \pm 4.5^*$
		20	$98.5 \pm 2.9$
对照		20	$102.5 \pm 3.6$

\* 与对照组差异在  $P \leq 0.05$  水平上可信。

因此,可以认为,在 0.1mg/L 铜液中经 10 天的暴露后,心脏呼吸指标的变化没有超出机体的代偿能力,所以把鱼放入清水后,这些指标就完全消失了。在我们以前的实验中也表明,心脏呼吸指标(心脏收缩频率、呼吸和“咳嗽”频率)相当敏感,当水加入铜 30 分钟后就发生变化;根据这一指标正确确定出铜的阈值浓度为 $(0.005 \sim 0.01)$ mg/L。此外,在这些实验中所记录到的上述指标的变化在 6 小时内消失,证明所研究的呼吸和心脏系统对低浓度铜的适应力(Казлаускене, Восилене, 1990; Восилене, Казлаускене, 1991)。

当浓度为 0.5mg/L 的铜作用于鱼体时,记录到心脏呼吸指标发生重大变化。甚至当鱼回到清水中 20 天后,  $X_{RR}$  和  $\sigma_{RR}$  也未恢复到对照

组水平。观察到鱼稳定的心搏徐缓,这意味着窦房结功能弱变,并可预测到个体可能死亡(Жемайтите, 1970)。这进一步证实,在我们的实验条件下,0.5mg/L 浓度的铜对虹鳟应属致死浓度。

在分析亚致死浓度的铜对鱼的心脏呼吸系统作用时已确定,该浓度引起呼吸变缓及心搏过速(Wilson, Taylor, 1993)。我们的实验也表明,在暴露 10 天情况下,亚致死浓度铜的作用引起虹鳟呼吸频率下降及心搏过速。众所周知,副交感神经系统调节鱼体的心脏呼吸系统功能(Корнева, 1965; удельнов, 1975)。呼吸频率缓慢及心搏过缓是迷走神经中枢活性增强的结果,而心搏过速,则是迷走神经中枢活性降低的结果。已确定,铜首先损害鱼的呼吸功能,破坏鳃中离子调节(Harlow, Hodson, 1988)。

副交感神经活性的变化及呼吸对心律调节的影响表明,在心律周期性结构中浪式呼吸增强。呼吸节律失常是呼吸相对间隔时间(RR)影响的结果,这与呼吸循环中副交感神经活性的变化有关(Ъаевский 等, 1984)。呼吸变缓会并发血压下降,鳃中血液循环变慢,血中含氧量下降等症(Жемайтите, 1970)。这些过程刺激了心脏的活动,心脏收缩频率加快,这是迷走神经中枢活性反射能力下降的结果(удельнов, 1975)。

亚致死浓度的铜对虹鳟血液指标短期影响的研究。对照组鱼的血液中红细胞含量的变幅为 $(0.95 \pm 0.04 \sim 1.06 \pm 0.05) \times 10^6$  个/ $\mu$ l(表 4)。实验鱼在浓度为 0.1 和 0.5mg/L 的铜液中暴露 1 和 5 天后,红细胞数未变;10 天后,只有暴露在 0.5mg/L 铜液中的鱼的红细胞数有所下降。实验鱼放入清水中 10 天后,其血液中红细胞水平与对照组没有差异。

对照组血液中淋巴细胞的数量变动为 $(18.2 \pm 1.05 \sim 21.6 \pm 3.3) \times 10^3$  个/ $\mu$ l(见表 4)。在 0.5mg/L 铜液中暴露 5 天后,淋巴细胞数量确信降到 $(13.9 \pm 1.4) \times 10^3$  个/ $\mu$ l,而且鱼放入清水 20 天后仍未恢复到对照水平。

表4 虹鳟血液中红细胞( $10^6$ 个/ $\mu\text{L}$ )、淋巴细胞( $10^3$ 个/ $\mu\text{L}$ )及葡萄糖(mol/L)的水平

	铜浓度 (mg/L)	暴露期(天)			恢复期(天)	
		1	5	10	10	20
红 细 胞	0.1	0.96 ± 0.07	0.90 ± 0.04	0.97 ± 0.07	0.89 ± 0.08	-
	0.5	1.17 ± 0.02	0.92 ± 0.01	0.84 ± 0.01*	0.93 ± 0.02	-
	对 照	1.01 ± 0.04	0.99 ± 0.06	1.06 ± 0.05	0.99 ± 0.06	-
淋 巴 细 胞	0.1	18.8 ± 2.20	18.3 ± 1.56	21.1 ± 1.30	19.7 ± 1.40	-
	0.5	18.3 ± 0.90	13.9 ± 1.10*	16.2 ± 1.40*	15.0 ± 0.10*	15.6 ± 1.45*
	对 照	18.2 ± 1.05	21.6 ± 3.30	18.5 ± 1.02	19.4 ± 0.30	19.9 ± 1.02
葡 萄 糖	0.1	3.5 ± 0.23	2.2 ± 0.08	2.2 ± 0.19	2.0 ± 0.42	-
	0.5	3.8 ± 0.16*	3.7 ± 0.10*	1.7 ± 0.08*	1.8 ± 0.08*	1.9 ± 0.10*
	对 照	2.3 ± 0.15	2.5 ± 0.17	2.5 ± 0.09	2.2 ± 0.51	2.4 ± 0.30

\* 与对照组的差异在  $P \leq 0.05$  水平上可信。

对照鱼血中葡萄糖浓度的变幅为(2.2 ± 0.5 ~ 2.5 ± 0.17) mg/L。实验鱼在 0.1 mg/L 及 0.5 mg/L 铜液中暴露 1 天后, 血糖浓度开始升高。然而 5 天后经确定, 葡萄糖浓度升高仅见于暴露在 0.5 mg/L 铜液的实验鱼中。有关虹鳟血糖浓度的数据, 进一步证实了上述关于铜的浓度为 0.1 mg/L 时的作用没超出鱼体代偿能力的提法。然而当铜的浓度为 0.5 mg/L 时, 无论对实验鱼的淋巴细胞水平, 还是对血糖浓度都具有重大影响。

在铜的作用下, 淋巴细胞水平的下降可能引起血液中氢化可的松浓度升高。氢化可的松影响白细胞合成, 干扰或阻碍淋巴细胞组织中脱氧核糖核酸的形成。在给鳗鱼添加氢化可的松时确定, 鱼血液中淋巴细胞减少 (Johansson-sjobeck 等, 1978)。然而这些作者认为, 淋巴细胞水平的下降, 可能不仅是由其合成受到抑制

引起, 而且还与其加速降解并从血管中分泌出去有关。

鱼体血液中葡萄糖水平不仅调节激素浓度, 也调节儿茶酚胺的浓度; 而激素反过来又通过多种生理机制调节血中葡萄糖的水平 (Schreck, 1988)。在我们的实验中, 鱼在铜液中暴露前 5 天血糖浓度升高可解释为: 葡萄糖从醣类贮存中排出量增加与机体耗能增强有关。实验后期糖的浓度下降显然由于体内贮能消耗殆尽, 机体不能迅速使其恢复造成的。

已确定的研究指标的变化, 反映出生理系统及其调节机制中障碍较深, 这可能预示着整个机体对外部环境变化适应能力的下降。实验中所使用的铜的浓度, 较长时间的作用会导致鱼死亡。

(张玉杰 译自《Вопросы Ихтиологии》  
1995, 35(3): 412~416。周永欣、陶大立校。  
辽宁省淡水水产研究所)