

学校编码: 10384

学号: 200126027

分类号_____密级_____

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

镉盐诱导的牙鲆脑、鳃、肝差异蛋白质组研究

Differential Proteome of Brain, Gill and Liver from the

Paralichthys olivaceus induced by Cadmium Chloride

作者: 朱金勇

指导教师姓名: 黄河清 教授、博导

专业名称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2005 年 4 月 20 日

论文答辩时间: 2005 年 4 月 29 日

学位授予日期: 2005 年 6 月 日

答辩委员会主席: 陈清西 教授 博导

评 阅 人: 曾润颖 博士 副教授

2005 年 4 月

目 录

摘 要	1
Abstract	3
第一章 前 言	6
一. 环境重金属污染程度、代谢途径和危害性	6
1.1 重金属污染概述	8
1.2 重金属的生物毒性	9
1.3 重金属毒性的机理	14
1.4 镉的生物毒性	15
1.5 重金属污染的监测与生物标志物	19
二. 蛋白质组学及其进展	23
2.1 基因组学与蛋白质组学	24
2.2 蛋白质组学研究主要技术手段	26
2.3 生物信息学	31
2.4 蛋白质组学研究的新技术	32
三. 蛋白质组学技术在重金属污染毒害研究中的应用	35
四. 本论文研究内容	38
第二章 材料与amp;方法	39
一. 实验材料	39
1.1 生物材料	39
1.2 常用试剂	39
1.3 仪器设备	40
1.4 实验用试剂的配制	40

二. 实验方法	44
2.1 样品制备	44
2.2 Bradford 法测定蛋白浓度	45
2.3 第一向等电聚焦电泳	45
2.4 pH 梯度测定	46
2.5 平衡及第二向 SDS-PAGE 电泳	46
2.6 凝胶的染色	46
2.7 蛋白质的肽质量指纹鉴定	47
第三章 蛋白质组学方法的建立和优化	50
一. 蛋白质组提取方法的优化	50
二. 双向电泳技术的改进	53
三. 凝胶的染色	56
四. 蛋白质的肽质量指纹鉴定	58
第四章 结果与讨论	60
一. 等电聚焦电泳 pH 梯度的测定	60
二. 脑组织在镉暴露下的差异蛋白质组学	61
三. 鳃组织在镉暴露下的差异蛋白质组学	81
四. 肝脏在镉暴露下的差异蛋白质组学	93
五. 讨论	96
第五章 小结	104
参考文献	105
缩略语表	129
致谢	131

中文摘要

研制连续监测流动水体中重金属污染程度及其危害性等相关分析技术是当前环境科学研究中重点课题之一，其分析技术可分为两大类，即理化监测和生物监测。理化监测技术只能反映瞬时、局部的污染状况，无法真实客观地反映出污染源对人类和生物体的危害程度，因而赋予拓展生物监测技术的科学价值和重要意义。本学位论文选用了蛋白质组分析技术，以牙鲆脑、鳃和肝等组织为研究材料，旨在组织蛋白质表达差异水平的基础上建立一套简单、高效且高灵敏度，并适合于连续监测流动水体污染程度的新颖分析技术，所获得的实验结果能更加真实地反映流动水体中的重金属污染程度和危害性。

由于动物组织的高度异质性，目前没有一种广谱性蛋白质提取方法适用于各类动物组织的蛋白质组分离与提取。论文作者在完成大量辅助性实验的基础上，优化了牙鲆脑、鳃和肝等组织的蛋白质组提取与分离方法；分别采取裂解液法直接提取脑组织蛋白质组和采用 TCA/丙酮直接提取肝脏和鳃组织的蛋白质组，均获得较高的蛋白质得率，减少了干扰物对电泳分离的影响，提高了双向凝胶电泳的分辨率。另外，对染色及肽质量指纹鉴定技术也进行了大量改进，并对整个分析实验流程进行了优化，排除各种随机因素，提高重复率，最终建立了一整套成熟可靠的蛋白质组分离、纯化与鉴定的实验技术。

采用优化后的双向凝胶电泳分离技术分别获得了牙鲆脑、鳃组织正常和急性镉暴露后的蛋白质组的双向凝胶电泳图谱。通过 2-DE 分析软件，发现每张凝胶电泳胶片中蛋白质斑点数超过 500 个，具有较高的分辨率。通过比对正常和镉暴露条件下，牙鲆各组织表达后的差异蛋白质组，发现其中脑组织有 23 个蛋白质斑点发生迁移，其中 9 个斑点上调，8 个斑点下调，4 个斑点消失，2 个斑点增加；鳃组织有 18 个斑点发生变化，其中 2 个斑点上调，

1 个斑点下调, 9 个斑点消失, 8 个斑点增加。通过肽指纹技术鉴定了部分蛋白质组成与种类。参照已获得的实验结果, 初步阐明镉盐毒性机理和细胞抗镉毒性机制, 指出下调的脑转铁蛋白和增加的鳃 Hsc70 蛋白在细胞抗镉毒性中起着重要作用。论文作者还提出镉盐对脑组织的损伤机制可能是通过影响转铁蛋白, 改变脑内铁的分布与代谢, 进而影响脑内含铁蛋白的合成与正常生理功能的发挥, 造成脑损伤; 另外, 根据转铁蛋白转运金属离子的特性, 认为转铁蛋白可能参与机体形成抗重金属毒害的第一道防线。对鳃组织差异蛋白质组进行分析后, 发现钙结合蛋白表达量出现变化, 认为镉盐毒性作用可能直接影响到细胞内钙离子水平及钙功能的正常发挥。

本论文已所获得实验研究结果将对深入研究重金属镉盐的毒性作用机制、生物体对镉中毒的敏感反映和耐受机制提供了科学依据; 发现转铁蛋白、热激蛋白对镉污染反应呈现出高度灵敏且重复性好特征, 并可作为受镉盐毒害生物体的高灵敏度指示物, 为镉盐污染形成提供早期警报信息。此外, 所拓展的蛋白质组分析技术不仅适合于在蛋白质水平连续监测流动水体污染程度和对人类及动物的危害性, 而且也适合于开展环境污染与动物毒理的研究工作, 研究意义重大, 具有较高的科学研究价值和应用价值。

关键词: 镉盐; 污染; 牙鲆; 蛋白质组学

Abstract

One of key projects in the environmental sciences is to establish an analytical technology for monitoring contamination and endangered level of poisonous heavy metals in flowing water continuously, which is divided into two area involving in the monitoring with physical and chemical methods and with biological methods. However, the contamination status in local is only measured in front, which cannot point out the endangered level that the contamination kinds and level formed in the human and animals. It is for reason that a developed technology of biological monitoring has its science important role and significance. Here, using analytical technique of proteome, I have selected the various tissues and apparatus from the *Paralichthys olivaceus* as research materials for establishing a novel technique based on differential level of protein expression simply and effectively, which are suit for monitoring the contamination level in the flowing water continuously. Moreover, the experimental results that we have obtained are effectively employed to evaluate the contamination and endangered level of poisonous heavy metals continuously in flowing water.

A universal method for protein extraction from the animal tissues cannot be found because of its heterogeneous. To enhance productivity of protein extracting and to reduce the interference of impurity based on assistant experimental largely, we optimized the method of protein extraction from tissue of *Paralichthys olivaceus*. Taking the brain tissue and using lysis buffer, we employed the TCA/acetone buffer to extract total protein from the fresh gill and liver from the *Paralichthys olivaceus*, which the high productivity of proteome was observed. In addition to, the high resolution of proteins, the low interference in the separation

process of proteome and the high recovery ratio are also found during electrophoretic process. Besides the improvements on 2-DE, the staining and peptide mass fingerprinting (PMF) have been improved, we optimized the whole experiment produce, excluded a lot of random factors and enhanced the repeatability results, which a reliable method for proteomic analysis has been done successfully.

Using optimized two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), the 2-DE maps from the tissues of brain and gill in *Paralichthys olivaceus* have been obtained under the normal and urgent conditions with cadmium exposing treatment, respectively. With 2-DE software analysis, we find that the total protein numbers approximately 500 spots are observed on the individual gel. With reference to urgent treatment condition of cadmium, we find that significant changes of 23 spots in the expression level were detected in brain tissue, which indicate that the 9 and 8 spots were up- and down-regulated respectively; the 2 spots were increment, and the 4 spots disappear in the gel respectively. In addition, total 18 protein spots change in gill tissue, which shows the 2 and 1 spots were up- and down-regulated, the 8 spots increment, and the 9 spots disappear in the gel respectively. Moreover, these differential proteins are identified by PMF further. Based on experimental results, we suggest that the proteins both transferrin and Hsp70 in the cellular play an important role in resisting the cadmium toxicity. The mechanism of cadmium toxicity and the pathway of resisting that in the cellular have been primarily described. In addition, we suggest a damnification mechanism of the brain, indicating that the transferrin affects the distribution and metabolism of iron in the brain, which results in the normal physiological function in the fish brain cannot be carried out because of its damnification. It is for reason that the transferrin is suggested to form first barrier for resisting

attraction with the heavy metals. The differential proteins in the gill tissue are found to be variable calcium-binding protein concentration, suggesting that the cadmium toxicity in cell affects the level of calcium ions and its function.

Here, the experimental results help to understand the mechanism of the cadmium toxicity, the reflection in ammonal behavior, and its resisting capacity. Moreover, both transferrin and Hsp70 protein show high sensitive to the level of cadmium contamination, having characteristics of high repetition and sensitivity in analysis, which are suggested to be effective biomarkers for monitoring the contamination level as an early alarm signal. Analytical technique of proteome is suit for monitoring the contamination level in the flowing water continuously and researching on pollution and toxicology, which shows is highly significance and worth for research.

Keywords: Cadmium; pollution; *Paralichthys olivaceus*; proteomics;

第一章 . 前言

第一节 . 环境重金属污染程度、代谢途径和危害性

近 20 年来,我国各省市和各部门政府已经投入大量人力与财力,环境科学研究工作者对各类典型地区环境质量评价、环境容量研究、环境背景调查、污染源普查、工业“三废”污染、大气、水体、土壤中环境污染物表征、迁移转化规律、生物效应及污染物控制等方面进行了大量的研究,并有详细的研究报道和调查报告。近年来,对酸雨的形成、温室气体的来源、水体富营养化以及微量元素、有毒有害有机物对人体与生态环境的影响也进行大量的研究,并获得大量具有科学价值的研究进展和成果。尽管如此,近十几年来,随着我国现代工业和科学技术的快速发展,生产力突飞猛进,地方利益保护主义的影响,使我国控制环境的问题越来越复杂,逐步形成了环境问题已经严重阻碍社会经济发展和人类及生物生存的危险局面。环境污染大致可分为三个方面的原因:即化学的、物理的和生物的污染物,其形态可分为固体、液体和气体。“水污染”、“大气污染”、“热污染”、“环境污染”、“生态学”、“长江受污染”、“太湖水呈深绿色”和“黄河也受污染”等术语和严重污染事件早已家喻户晓。由此看来,我国环境污染已是一个很严峻的大问题,污染源形成和污染程度不仅仅是跨越某一区域的问题,而是涉及到跨区域、跨省市,甚至跨国的大问题。通过检索大量文献与调研报告后,发现目前影响我国社会发展和人类健康与生存的环境污染源主要来自于水源和大气源,其中水源污染所产生的危害性最大、尤其严重威胁到人类及动植物的生存和发展,是目前全球各国治理环境污染工程中重中之重之艰巨任务。

大量研究报道和评价报告已表明,目前各种污染源直接危害我国经济发展,并造成不可估量的经济损失已成为事实。但如果想实施在短时间内强制性关闭多数不符合国家环境保护排污标准的工厂和企业的法规,必定给各省

市经济建设和发展带来了不可估量的巨大损失。显然这一做法不符合我国国情，将产生弊大于利的局面。尽管如此，关闭或治理所有污染源和控制污染排放标准仍然一直是我国治理污染和恢复大自然工程的主要奋斗目标之一，但在尽可能减少经济损失和有限经费条件下，首先关闭或治理哪些污染源才是即科学又符合国情的做法，意义更为重要，更为现实。寻找和发展即有科学合理性又有权威性，并能连续监测跨区域污染物形成和综合评价污染特点的分析技术具有重大科学意义和价值，它能为各省市及地方政府之间提供目前哪些金属污染源表现出最大危害性和必须优先治理的科学证据和真实的评价结论，并为政府部门制定和实施既合理又科学地保护环境和恢复工程起到积极地引导作用，避免盲目发展和造成恶性循环的局面。因此，寻找有毒重金属严重危害人类及动物生存与发展的实验证据，不仅可以作为监测环境污染程度的指示物，而且其科学意义在于能为政府部门和环境保护机构拟定有效治理环境污染的政策和法规提供科学依据，通过政府部门实施治理法规的做法已是目前治理我国严重污染源形成速率和尽可能减少危害程度的最有效措施，它可以弥补目前诸多环境污染治理工程中呈现“拆东墙补西墙”和“不知如何开展治理工作”的尴尬局面，避免造成恶性循环和弊大于利的“劳民伤财”的恶性事件。

20 世纪，通过对日本发现的“水俣病”和“痛痛病”的研究，人们确认了水中的重金属污染物可通过食物链传递而进入人体并对人类造成严重危害。近年来在环境科学中，重金属对于生物的影响已成为重要的研究课题。这里几乎毫无例外的均以重金属含量相对过量而引发对环境、人类和生物危害性为研究课题。国内外科研工作者对水生生态系统中的重金属污染程度和危害性已经进行了广泛而深入的研究，并获得可喜的研究成果和进展。鱼类是水生生态系统主要的物种，在水生生物食物链中占据重要位置，鱼类对水环境变化反应十分灵敏，当水体中的污染物达到一定浓度时，就会引起一系列中毒反应，例如行为异常、生理功能紊乱、组织细胞病变，直至死亡。

鱼类的毒性实验是研究水体中有毒物质对鱼类不良影响的重要实验，通过鱼类毒性实验能在一定程度上反映水体污染状况，为环境保护提供有价值信息，在毒理学和生态风险评估中具有重要实用价值，因而被选择作为研究水体污染程度的实验对象。鱼类急性毒性实验是用来判断污染物毒性的简便而快速的方法，不仅可用于测定化学物质毒性强度、测试水体污染程度、检查废水处理的有效程度，也为制定水质标准、评价环境质量和管理工作排放提供环境依据。

了解陆地与海洋环境中的重金属组成与分布、污染程度、迁移规律、代谢途径和危害性是开展有效治理环境重金属污染工程的基础和依据。本节将重点描述近几十年来，国内外环境重金属污染程度、代谢途径和危害性典型特性与特点

1.1 重金属污染概述

在金属元素中，把比重小于 4.0 的称为轻金属，大于 4.0 的称为重金属。多数重金属是一类典型的环境污染物，主要是指汞(mercury, Hg)、镉(cadmium, Cd)、铅(lead, Pb)、铬(chromium, Cr)和类金属砷(arsenic, As)等对生物毒性较高的重金属。毒性较低的重金属有锌(Zinc, Zn)、铜(copper, Cu)、钴(cobalt, Co)、镍(nickel, Ni)、锡(tin, Sn)等。在诸多有毒重金属类中，一般认为 Hg 毒性最大，Cd 次之，Pb, Cr, As 也有相当毒性。

重金属普遍存在于岩石、土壤、大气、水体和生物体内，并不断在自然环境中迁移循环，其含量虽然平均低于 0.1%或属于痕量，但污染危害在局部地区却相当明显。水体中的重金属污染主要来源于冶金、金属加工、机器制造、有机合成及其它工业排放含重金属废水。存在于岩石以及矿物中的重金属，也可通过风化等自然作用进入土壤、大气、水体中。另外，大气锡尘、铬尘的沉降和雨水对地面的冲刷，都可以使重金属进入江河湖泊水体，使水体受到污染。重金属在水体中不能被微生物降解，只能发生各种形态之间的相互转化及分散和富集过程而进行重金属迁移。水体对重金属离子及其化合

物有一定的净化作用，这种作用是水体、淤泥及生物群落等物理、化学、生物诸多因素共同作用的结果。

重金属污染的特点是来源广、长蓄积性、残毒时间长、能沿食物链转移，污染后不易发现及难于恢复等特点。水中的重金属可以是离子态、可交换态、吸附态、沉淀态等形式存在，而起毒性作用的主要是离子态的游离金属离子。由于重金属在水生生态系统中呈现复杂的形态，重金属对水生生物毒害机理的复杂性，有关重金属在水生生态系统中的形态、分布、转化和毒害机理尚未完全阐明。

1.2 重金属的生物毒性

1.2.1 重金属的代谢与分布

重金属的吸收可分为消化道吸收、皮肤吸收和呼吸道吸收。一般认为，从肺部摄入的重金属比从消化道摄入的毒性为大，这是由于肺部不像消化道那样具有阻挡重金属摄入的机能。有机金属化合物大多有挥发性特点，因此通过呼吸吸收的情况很多。重金属的排泄也有几种途径，主要是粪便排泄、尿排泄、皮肤排泄和呼吸道排泄。

当急性中毒时大量金属在短期内侵入体内，金属与生物体内离子、蛋白质反应，生成不溶性的沉淀。这种情况下，金属滞留时间较长，它的移动与通常的输送方式不完全相同。这样生成的沉淀往往被巨噬细胞吞噬，在到达肝脏、肾脏后，多数沉淀就附着在此部位。因而人体及各类动物的肝脏、肾脏、骨骼等部位是重金属极易沉积的部位。这种蓄积部位因金属化合物的化学状态、投给途径、动物种类、投给后的时间不同而有所不同。例如，无机汞容易蓄积在肾脏和肝脏，而甲基汞则容易蓄积在肝脏和脑。

鱼类通过吸收、吸附和摄食等途径，能从周围环境中积累、浓缩化学物。目前普遍认为，鱼类主要是通过鳃从水中吸收积累污染物质，也可通过食物链的生物放大作用在鱼体中蓄积，还可通过皮肤渗入等次要方式进入体内。

一方面鱼体摄取重金属污染物，在鱼体内蓄积；另一方面当重金属离子进入鱼体后，鱼体发挥自体的解毒功能，将毒物向体外释放，以求保持内环境的稳定。鱼类对重金属离子都有较强的吸收和蓄积能力，开始接触时蓄积速度较快，以后速度减慢，最终达到动态平衡。

不同的重金属在同种动物类群中的含量存在差异，同种重金属在不同动物类群体内的含量亦存在差异。由于鱼体内各组织器官生理功能、代谢水平存在差异，一般认为肾脏、肝脏和消化系统是重金属污染物主要蓄积场所，肌肉积存的含量最少。孟晓红等人对铅、镉、汞以及镧、铈等重金属在鲤鱼体内的积累与分布进行了研究。结果表明，重金属及稀土元素在鱼体各部位均有较强的富集作用，鱼体各部位对重金属及稀土元素的生物富集作用存在较大差异，其中肌肉部分富集能力较弱，内脏富集能力最强。鱼体各部位对重金属及稀土元素的富集作用随时间的增加而增加，在一定的时间后趋于平衡。M.H.Al-Yousuf^[1]研究了阿拉伯湾广泛分布的硬骨鱼*Lethrinus lentjan*体内重金属累积分布情况，发现Zn、Cu和Mn富集量为肝脏>皮肤>肌肉，而Cd则为肝脏>肌肉>皮肤。Mazon和Fernandes等人^[2]研究发现，鲫鱼暴露于Cu溶液96h后累积情况，发现在肝脏、小肠、肾脏和鳃有Cu累积，而肌肉未见积累。其中，肝脏积累最多，其次肾脏和小肠。此外，Paulami-maiti等人^[3]研究了Cu、Zn、Cd、Pb、Cr在尼罗罗非鱼（*Oreochromis mossabious*）中肌肉、卵、肾、肝、鳃和鱼鳍中的积累，结果表明Pb和Cd在所有组织器官中积累都无显著差异，Cu在肝和卵中积累较多，在组织器官中积累顺序为卵>肝>鳃>肌肉>肾，Zn在鱼鳍、鳃、卵、肝脏中积累较多，在肾积累较少，顺序为：卵>鳍>鳃>肝>肌肉>肾脏，Cr在所有组织中积累不显著。Balasubramanian^[4]报道鱼类重金属积累能力为：杂食性>食浮游植物的>食浮游动物的>肉食性的>食大型植物。Romeo^[5]和Zauke^[6]系统研究了各种鱼类体内各种重金属的蓄积分布情况。对于浮游鱼类，镉、铜、锌和汞在其肌肉中的蓄积量较低；对于底栖鱼类，镉、铜、锌等在肌肉中的蓄积量较低，但镉、铜在肝脏中的蓄积

量较高，锌在鳃中蓄积量较高；汞在浮游鱼类肌肉和鳃中的蓄积量较低，但是在底栖鱼类肝脏中的含量较高。国内对Hg、Ag、Ni等重金属离子在鱼体内的蓄积、清除规律做过不少研究^[7,8,9]，总体上，重金属污染物的清除以鳃的清除速度较快，肌肉和骨骼较慢。从不同的重金属清除的趋势看，Ni和Cd较快，Cu和Pb较慢。

性别、季节、温度等因素均能影响机体的重金属蓄积。因此单一的生物体内重金属含量并不足以说明重金属的污染状况。如M.H. Al-Yousuf^[11]研究发现鱼体的性别和体长对重金属蓄积有影响，雌性鱼体的平均金属含量要高于雄鱼。但D.Gay等人^[10]详细研究了Cu、Zn、Cd和Se在软体动物*Bembicium nanum*体内蓄积情况和性别、体重、温度、季节以及采集地点之间的关系后，认为性别和体重不影响蓄积，Cu和Cd没有明显季节差异。

1.2.2 重金属的毒性

1.2.2.1 急性中毒与慢性中毒

重金属中毒大体可分为急性中毒和慢性中毒。在同一时间大量金属侵入体内而造成的毒性作用为急性中毒；与此相反，少量金属摄入体内，虽然其毒性作用当时还表现不出来，但是金属在体内蓄积，或者说毒性作用一点点蓄积，经过较长时间后发生的毒性作用叫慢性中毒。

一般说来，金属越重毒性越强，重金属的急性毒性一般在几个 mg/kg 到几百个 mg/kg 之间。急性中毒是侵入大量金属引起的，因而沿金属侵入途径引起组织损伤，接着在其他内脏、神经系统引起损害。与急性中毒相比，慢性中毒症状则比较稳静且多样。每天摄入的少量金属在体内移动时，在各种脏器间不断进行再分布，可使抵抗力弱的脏器受损害。

金属毒性强弱表现与投给方式不同而不同。一般认为有经口投给<腹腔注射<皮下注射<静脉注射这样趋势。金属毒性也因其化学状态不同而异。而且有机金属化合物更容易吸收，容易通过细胞膜，因而容易通过屏障而到达脑部。无机金属化合物与蛋白质结合力较强，细胞毒性也较强。金属的毒性

也因动物的不同而异，如即使同是大白鼠，其危害性也与品种不同有关。

重金属的急性毒性实验已涉及了多种鱼类和多种重金属污染物。有大马哈鱼^[11]、斑马鱼^[12,13,14]、金鱼^[15]、草鱼^[16,17]、黄姑鱼^[18]、牙鲆^[19]等，研究涉及的重金属有Hg, Pb, Cu, Zn, Cr和Cd等。

1.2.2.2 重金属相互作用对毒性的影响

当摄入两种以上重金属时，有时表现明显的相互作用，大体可分为协同作用(synergism: 两种化合物联合作用的毒性大于各单个化合物毒性的总和)和拮抗作用(antagonism: 指两种化合物联合作用的毒性小于单个化合物毒性总和)。Spechar 和 Fiandt 发现根据美国环保局的水质标准配制的金属混和液对鱼类和无脊椎动物均有毒性。Van Leeument 等发现荷兰的水质标准(含8种金属)对生物仍有不利影响，不足以保护水生生物。因此对环境样品进行生物毒性分析必须考虑元素间的相互影响。研究已发现，如果预先投给锌、铜、铁，则镉的急性毒性变弱；铅可使镉的致畸性减轻；对于汞，如果添加硒，有机汞和无机汞的毒性都减弱；硒也可抑制砷毒性作用。

J.C.A.Marr等人^[20]研究Co、Cu、Co和Cu混合物对虹鳟鱼的毒性时发现，Co毒性作用较慢，而且毒性比Cu弱很多。而Co对Cu毒性影响较为复杂，在早期(48h-96h)是拮抗作用，再后反而加强Cu的毒性起到弱协同作用。这一结果使得要预报Co/Cu对鱼类的致死率十分困难。修瑞琴等人^[21]以斑马鱼为材料，研究了As, Cd, Zn对斑马鱼的混合毒性。结果表明As和Cd与Zn共存时的联合毒性均为拮抗作用，而Cd与Zn的联合毒性主要为毒性剧增的协同作用。As、Cd、Zn三种离子联合时其毒性表现为拮抗作用。侯丽萍等人^[22]以草鱼为实验材料，研究了重金属镉与锌对草鱼种的急性毒性和联合毒性效应。结果表明，镉和锌对草鱼种的联合毒性在24h、48h,为拮抗作用，但这种作用随时间延长而减弱，在96h则表现为协同作用。

1.2.2.3 重金属的组织病理学

重金属能对肾上腺、甲状腺、胃、心脏、脑、脊椎、皮肤、嗅觉器官、

味觉器官、眼等组织器官产生广泛伤害。许多研究都发现，Cu中毒鱼体出现体表和鳃粘液增多，鳃上附有淡蓝色絮状物，同时鱼体在水中翻转、冲撞，呼吸困难，严重者窒息死亡。Cu可引起蛇头鱼肝细胞超微结构变化，包括内质网增生和扩张，线粒体退化，溶酶体增加^[23]。肝、肾是重金属中毒主要靶器官^[24]。重金属中毒后，肝细胞出现明显脂滴，肝细胞团状或生长过度，肝窦质变型，肝糖原缺乏，肝细胞凝固性坏死，血管堵塞，正常壁状结构消失，血管区和门区纤维化，细胞膜通透性增大；肾组织发生肿胀、萎缩，上皮细胞空泡化，核解体，出现广泛性组织坏死等^[25]。重金属对鱼鳃也有损伤，表现鳃上皮增生，融合，过度生长，毛细血管扩张，水肿，出现广泛性坏死等。E.F.Pane等^[26]研究Ni研究虹鳟鱼急性毒性机制，认为Ni导致鳃破坏，严重削弱气体交换，最终窒息死亡。鱼鳃是鱼呼吸、接触和吸收水体中重金属离子的重要器官，肝脏是鱼代谢和积累重金属离子的主要器官，肾脏则是排泄重金属离子的重要器官，重金属对这些器官细胞结构的破坏无疑将影响了鱼的正常呼吸、代谢、排泄和繁殖功能，从而导致鱼类的病变甚至死亡。

1.2.2.4 重金属对生物神经系统的毒性

重金属离子如 Cd^{2+} 可直接进入脑组织而发生影响，使中毒鱼失去平衡，引起侧翻沉入水底^[27]。不仅如此，镉对学习记忆等高级活动的中枢神经系统功能亦有损害^[28,29]。铅可取代 Ca^{2+} ，进而影响各种 Ca^{2+} 参与的功能发挥，特别是细胞间信号传递。如干扰突触部位神经冲动传递、钙离子通道等。汞有很强的神经毒性，即使是低水平的暴露也会损害神经系统，表现为精神和行为障碍，感觉异常、智能发育迟缓、语言和听觉障碍等。如Myers等人^[30]曾报道，日本汞污染严重的水浯地区学生发生智能发育迟缓、感觉异常、语言障碍的几率较其它地区高。

1.2.2.5 对生理生化指标的影响

任文华等人^[31]研究了Cd对大鼠肝脏乳酸脱氢酶(LDH)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)及碱性磷酸酶(AKP)的影响，发现镉暴露大鼠肝LDH、GGT 和AKP

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库