

研究报告

氟化物对鱼类的毒性及致畸的研究

张 瑞 涛 张 曙 光

(长江水产研究所) (黄河水源保护研究所)

无机氟化物是一种持久性生物积累物,长期接触或饮水中含氟量超过一定浓度时,对人体可引起斑釉齿和弥漫性骨硬化症^[1]。骨骼含氟量达到一定值时,会引起某些动物的骨质增生,骨骼弯曲和畸形^[3]。但是,氟对于鱼类的中毒影响和致畸作用,仅 J. A. Couch 等 (1979)^[2]报道氟乐灵对杂色鲮鱼的致畸作用外,国内迄今未见报道。本文通过氟对鱼类的中毒、繁殖试验,研究氟化物对鱼类的毒性影响和致畸作用。这对水源保护,污染防治以及发展渔业生产有着一定意义。

一、试验材料和方法

(一) 鱼类急性中毒试验

试验鱼选用三种主要经济鱼类,有白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix* Cuv. et Val.), 草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus* Cuv. et Val.) 和鲤鱼 (*Cyprinus carpio* Linn.) 等,均为当年自繁的鱼苗,规格小于 1 寸。试验药物为氟化铵 (NH_4F)、氟化钾 ($\text{KF}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、氟化钠 (NaF),试剂等级为分析纯。药物配制按等对数间距配制不同浓度的试验液各 3000 毫升,每个浓度放鱼 10 尾,总计六个浓度组,另设对照组。观察指标,一是试验鱼的中毒症状和形态变化;二是观察 24、48、96 小时平均忍受限 (TLm 值),并以 96 小时的 TLm 值 $\times 0.1$ 求安全浓度。

(二) 鱼体外周血细胞产生微核的试验

试验鱼为鲤鱼,体重 300—500 克。染毒方式接触中毒,试验周期 21 天。试验容器为 1000 立升的陶瓷缸,试验液 50 立升。药物配制及试验分组见表 1。血液采集用微量注射器在尾静脉抽血少许,按常规方法做血涂片,用甲醇固定, Giemsa 染色,在高倍镜下计数,每片计数 5000 个红细胞或一定数量的淋巴细胞,并以“%”表示微核产生率。

(三) 鱼类酶活性的抑制试验

选用草鱼和鲤鱼,体重 100—400 克。染毒方式为接触中毒和腹腔两次注射形式,以 ASCH-DTNB 法测定全血胆碱酯酶。

(四) 致畸试验

选用慢性氟中毒的草亲鱼进行人工催产,观察幼鱼的致畸率以及外部形态和组织结构的变化。草鱼亲鱼的培育和孵化均在含氟量高达 15ppm 的温泉水中进行。

(五) 鱼体和饲料生物的氟残留分析

对繁殖后的幼鱼草鱼骨骼及饲料植物苦买菜,以氟离子选择电极法分析测定,并以长江、黄河和养鱼场鱼类及相应的植物作对照测定。

二、结果和分析

(一) 氟化物对鱼类的急性中毒影响

氟化物对鱼类的急性中毒,主要表现在

一定浓度的氟化物可引起鱼类的急性中毒致死、产生畸形和鳃盖缺损。氟化铵为 300ppm 时，白鲢 5 小时、草鱼 11 小时致死。而氟化钾、氟化钠在同样浓度下经 72 小时草鱼仍安然无恙。氟化钾 500ppm 时白鲢和草鱼分别在 18 和 24 小时致死，但是，氟化钠直到 604 ppm 时草鱼才致死。这说明不同氟化物对鱼类的毒性影响亦不同。以氟化铵毒性最大，其次为氟化钾，而氟化钠毒性较弱。三种氟化物对鱼类的安全浓度应分别为：氟化铵 1.6ppm，氟化钾 9.3ppm，氟化钠 11.8ppm。但需指出，试验用水的硬度是氟化物毒性的限制因素，在软水中毒性较大，硬水中毒性较小。Ellis(1927)^[6]曾以 1000ppm 的氟化钠在硬水中经 60—102 小时金鱼致死，当在软水中仅 10 小时即致死。我们所用试验水硬度(以 CaCO₃ 计) 250 毫克/升表明硬度适中，这在自然水域中具有代表性。

氟化物对鱼类急性中毒另一种表现形式是在短期内引起草鱼幼鱼鳃盖溃烂或鳃盖骨缺损(图 4)。当氟化铵浓度为 88.8ppm 时，经 96 小时草鱼烂鳃率达 20%，氟化钾 410 ppm、氟化钠 500ppm 时，烂鳃率均为 60%。草鱼幼鱼鳃盖溃烂，开始为鳃部充血红肿，突出于鳃盖之外，逐渐向头部伸延，呈血斑状，尔后溃烂和鳃盖缺损。与此同时出现呼吸困难、游动缓慢，几小时后即死亡。其中，有部分鱼体腹鳍基部和生殖孔周围亦有明显的血

斑，甚者出现溃疡。

毒性试验和繁殖试验证明，引起草鱼烂鳃和鳃盖缺损的现象，有的发生在鱼体一侧，有的在两侧。其原因是氟及其化合物属于原生质毒物，极易通过各种组织的细胞膜与原生质结合，从而具有破坏原生质的作用，并刺激和腐蚀粘膜及皮肤。当试验鱼于高氟浓度的试验液中，其躯体防护较弱的部位，如鳃丝、鳃盖、鱼鳍基部、生殖孔等，易受到氟离子的刺激和腐蚀而发生溃烂。氟在水中大都以离子状态存在，极易被组织吸收并可能导致鱼体中毒。极少量的氟也有可能与水结合，形成氢氟酸，更具有腐蚀性。此外氟也可以与水中某些离子形成不溶性的氟盐，不被鳃吸收，沉积于鳃部，腐蚀鳃盖，造成溃烂和缺损。鳃盖骨基部还由于鳃盖提肌的收缩出现开裂状和不能伸张、闭合的现象。

(二) 氟化物对鲤鱼外周血细胞微核率的影响

试验工作在冬季(十二月份)进行，由于鱼类在低温条件下，基础代谢低，生长缓慢，试验工作的第一步应使试验鱼在 23℃ 恒温条件下饲养 10 天后，再按试验分组进行亚急性中毒。

试验结果见表 1。三种氟化物的高剂量组均能使鲤鱼红细胞和淋巴细胞产生相当于主核 1/3 至 1/20 并和主核染色性一致的微核(图 1)。以氟化钠的高剂量组微核出现率

表 1 氟化物对鲤鱼外周血细胞微核率的影响

试验组	染毒剂量及编号 (ppm)	样品数 (n)	红细胞微核出现率(‰)		P 值
			均值(\bar{x})	差值合计均方 ($S_{\bar{x}_1-\bar{x}_2}$)	
对照组 (1)		5	0.2800	—	
NH ₄ F	7.75(2)	5	0.3000	0.1685	(2) 与 (1) 比 > 0.5
	70.75(3)	6	1.3333	0.2553	(3) 与 (1) 比 < 0.005*
KF	36.5(4)	5	0.2000	0.1685	(4) 与 (1) 比 > 0.5
	360.5(5)	4	1.5000	0.2855	(5) 与 (1) 比 < 0.005*
NaF	38.8(6)	5	0.3800	0.1509	(6) 与 (1) 比 > 0.5
	380.8(7)	4	1.7500	0.2558	(7) 与 (1) 比 < 0.005*

* 表示差异非常显著

最高, 镜检值为 3.5%。氟化钾和氟化铵的高剂量除使细胞产生微核外, 并发现红细胞核的无丝分裂 (图 2), 约占红细胞的 2.5%, 而且有比率 1.5% 的嗜碱性小体。这说明试验浓度与微核产生率、红细胞的无丝分裂等有密切的关系。试验浓度不同细胞产生微核的差异性亦不同, 高剂量组与低剂量组相比有显著性差异。高剂量组与对照组相比, 差异性更趋向显著, P 值均小于 0.005, 而低剂量

组与对照组相比, 虽然也稍有差异, 但 P 值均大于 0.5。因此, 这在数理统计学上是没有意义的。由上述结果不难说明, 高剂量氟对鲤鱼已具有一定的诱变活力和潜在性危害, 所以, 氟对鱼类可能是一种弱诱变剂。

(三) 氟化物对鱼类酶活性的影响

氟化物对草鱼、鲤鱼的胆碱酯酶有明显的抑制作用。从试验结果 (见表 2) 可以看出, 氟化铵对试验鱼酶活性的抑制率都比较

表 2 氟化物对试验鱼胆碱酯酶的影响

试验鱼类	染毒方式	氟化物	染毒剂量 (ppm)	酶活性值 (酶活力单位)	酶活性抑制率 (%)
草 鱼	接触染毒	对照	0	10	0
		氟化铵	100	3	70
			50	5.5	45
			10	8	20
			400	5.6	44
		氟化钠	100	9.6	4
鲤鱼	注射染毒		氟化铵	4.72	5.5

高, 当浓度为 100 ppm 时, 草鱼 24 小时后, 酶活性抑制率为 70%, 鲤鱼腹腔注射 4.72ppm 时在同样时间内抑制率为 35%, 而氟化钠对草鱼酶活性只是在高浓度 400ppm 时, 抑制作用才比较明显。氟化物达到一定浓度时也会使鱼类产生神经性中毒。如以试验鱼的体色变化鉴别中毒影响^[9], 则发现试验鱼有明显的体色变化, 尤其草鱼在浓度为 60、105 ppm 情况下 24 小时后, 体色明显变黑, 而且,

随着浓度的增加, 体色越加重。这是因为水中氟离子进入鱼体后, 通过血液到脑部, 使胆碱酯酶受到抑制, 进而抑制延脑中枢, 同时脑调节中枢兴奋, 使细胞内色素移动, 黑色素颗粒分散, 因此体色变黑。但是, 氟离子并没有破坏延脑中枢, 所以体色的变化是可逆的。当氟化物减少到一定浓度时, 神经活性恢复, 色素集中质体色变淡, 体色复原。

(四) 鱼体氟化物的残留测定

表 3 鱼体骨骼氟残留量

采样地点	鱼类	鱼龄和体重 (+) (克)	样品数	波动范围 (ppm)	均值 (ppm)	备 注
温泉渔场	草鱼	¹⁺ 30—50	11	4410—9608	6448.5	高氟地区畸形鱼
黄河银川段	草鱼	²⁺ 2100—4000	4	41—57	48	对照
黄河玛曲段	裸鲤	³⁺ 400—500	4	20—26	24	对照
黄河郑州段	鲤鱼	²⁺ 150—400	4	25.5—45	37	对照
湖北沙市	白鲢	²⁺ 300—450	4	18—24	20	对照

鱼体发生氟中毒并由此产生的畸变,往往是通过食物链的关系,毒物被逐渐吸收、积累、转移、浓缩而最后富集于鱼体,主要积累于骨骼中。因此,测定鱼体骨骼内氟化物的残留值以及饵料生物的残留量,是鉴别鱼体是否发生氟中毒和致畸的重要标准。为此,我们对畸形鱼骨骼及饵料植物苦买菜进行了氟残留的分析测定。从分析结果(表3)可以看出,畸形的草鱼骨骼含氟量平均为6448.5ppm,其中含氟量超过6000ppm的样品占81%,最高检出值达9608ppm。而对照地区的鱼类,不但二龄草鱼骨含氟量低,仅为48ppm。而且其他鱼类含氟量亦很低,检出值均在57ppm以下。显然,畸形鱼的含氟量是很高的,约相当于对照地区鱼类含氟量的112.5—322.4倍。因此,畸形鱼对氟的高残留,是构成畸形的重要原因。

作为畸形草鱼饵料的苦买菜,含氟量已达74.8ppm,这相当于对照地区同种植物含氟量的2—3倍。因此,不难说明,食物链浓缩也是鱼类产生氟中毒致畸的主要原因之一。

(五) 氟化物对鱼类的致畸影响

通过繁殖试验表明,氟中毒的草亲鱼经人工催产,不但受精率、孵化率、成活率较低,而且催产后有30%以上鱼苗畸形。畸形鱼苗的外部形态及骨骼结构,比对照组均有显著的变化。最为突出的是幼鱼脊椎骨呈“弓”字形弯曲(见图3、5)椎体肥大,髓骨棘扭曲等。但其他鱼类并无畸形发生。草鱼之所以畸形是因为饲料植物苦买菜中有较高的含氟量。氟化物对所有植物致毒的浓度阈值,从许多资料看,大都小于150ppm,而对大多数植物,应小于100ppm。致畸试验水质为高氟泉水,在此条件下生长的植物苦买菜含氟量达74.8ppm。对草亲鱼和幼鱼,长期投喂含氟量高的苦买菜,是构成鱼体有较高残留值的主要原因。这比江、河和池塘鱼类,其残留量超出300倍。另有报道,骨骼中的氟残留量达

6000ppm时^[3],可引起骨硬化症,而繁殖的后代草鱼,体重仅为30—50克,其平均残留量已达6448.5ppm。因此,氟化物能引起鱼类畸形是无疑的。

三、小结与讨论

(1) 鱼类急性中毒试验表明,氟化物不同,对鱼类的毒性亦不同,以氟化铵的毒性最强,其次为氟化钾和氟化钠,若以96小时的TLm值求安全浓度,则氟化铵为1.6ppm,氟化钾9.3ppm,氟化钠11.8ppm。

(2) 三种氟化物的高剂量组可使鲤鱼红细胞和淋巴细胞产生微核和嗜碱性小体,而且高剂量组与低剂量组或对照组相比有显著性差异,P值均小于0.005。其中氟化铵和氟化钾的高剂量还可以诱发红细胞核的无丝分裂。说明高剂量氟对鲤鱼具有一定的诱变活力和潜在性危害。

(3) 氟化物能抑制鱼类的胆碱酯酶和草鱼的体色变化。当氟化铵为100ppm时抑制率达70%,10ppm时抑制率为20%,说明氟化物达到一定浓度时可使鱼类丧失水解乙酰胆碱的能力,对神经末梢释放出的乙酰胆碱不能迅速水解产生蓄积,引起组织的功能改变,出现神经性中毒和其症状。

(4) 氟化物残留分析结果证明,畸形草鱼含氟量较高,骨骼氟残留量平均为6448.5ppm。最高检出值达9608ppm,相当于对照鱼的100—300倍。据报道,骨骼含氟量超过6000ppm时,可引起骨硬化症,因此,草鱼幼鱼骨骼的高残毒,是骨质硬化、鱼体畸形的重要原因。

植物苦买菜是畸形草鱼的主要饲料,含氟量高。通过食物链而导致鱼体骨骼的高残留并产生畸形。

(5) 致畸试验说明,畸形草鱼的外部形态和解剖观察的骨骼结构,比对照组均有明显的变化。其特征为脊椎骨呈“弓”字形弯曲,椎体肥大,背椎骨愈合,因而导致骨骼变形。

关于氟对骨骼影响的机理,国内外有不少文章论述,大多数认为氟影响钙、磷的正常代谢所致。氟与钙有特殊的亲合力,过量的氟进入机体后一方面与血钙结合为氟化钙,使机体内钙得不到补充而导致缺钙症。另一方面,所形成的氟化钙,90%沉积于骨骼组织中,使骨质密度增加,进而骨质增生产生畸形。

(6) 我国北方一些高氟地区,有不少的渔业水域被含氟量高的地下水和含氟工业废水、废气所污染,并发现以含氟泉水养殖的渔场出现数量可观的畸形鱼。因此,进一步研究氟污染对渔业生产的影响以及氟的各种不同形态,在鱼体内的积累和转化规律,这对保护人体健康发展渔业生产,有着一定的意义。

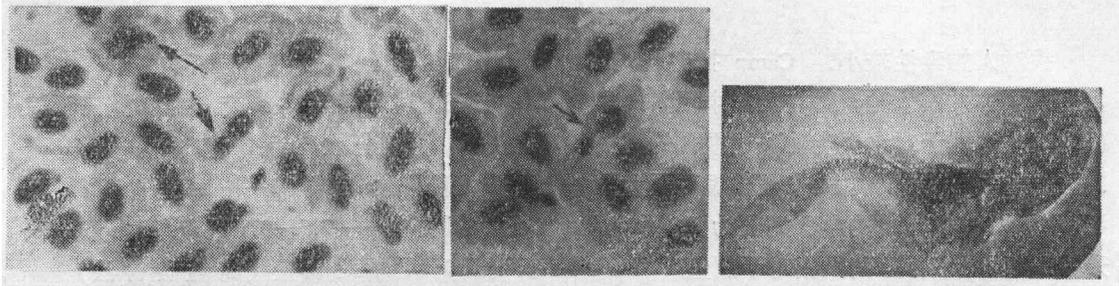


图1 鲤鱼红细胞和淋巴细胞产生的微核

图2 鲤鱼红细胞无丝分裂

图3 鲤鱼骨骼畸形图

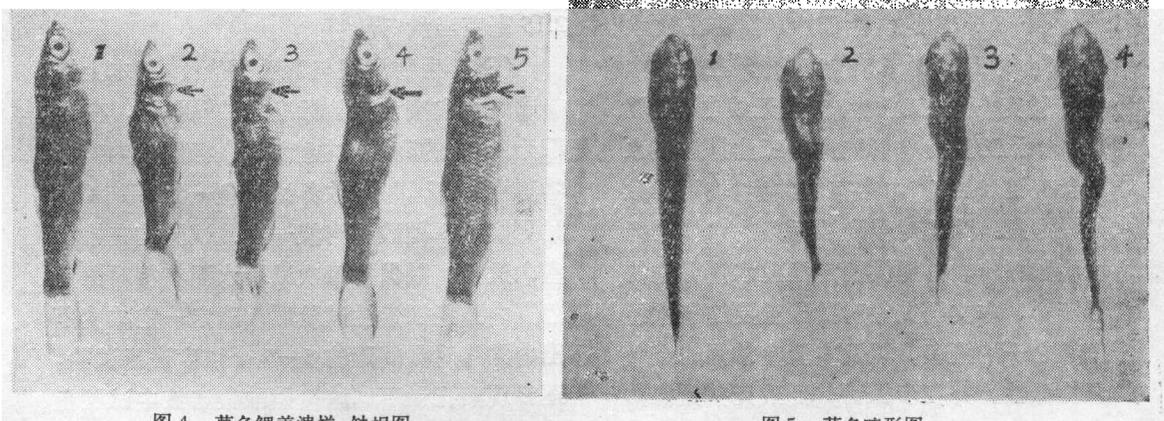


图4 草鱼鳃盖溃烂、缺损图

1. 对照鱼,鳃盖完整正常 2—5 试验鱼

图5 草鱼畸形图

1. 对照组 2—4. 试验组

参 考 文 献

- [1] 曹来宾等,中华医学杂志,48(11),720(1962).
 [2] 吴正铨译,淡水渔业,11—12,57(1979).
 [3] 宁夏回族自治区卫生防疫站编,地方性氟中毒资料汇编,1975年.
 [4] 塚本利之,日本公衞誌,第23卷,第4号,1976.
 [5] 吉村英敏编,毒理学,第9章,320—326页,1979年.
 [6] 五十岚 彦仁著,污水化学总论,上卷—生物鉴定(43).
 [7] Singh, A., Medicine, 42, 3, 1963.
 [8] Marirov, J. R. Science of Total Environment, 8, 253—265 (1977).
 [9] Турковский, А. Л., Кулькин, С. Т., Гидробиологический Журнал, 17(5), (1981).