

## 铜对黑鲷早期发育的影响

孙耀 陈超

(中国水产科学院黄海水产研究所)

张友麋

(国家海洋局北海分局)

**提要** 本文讨论了铜对黑鲷的卵、前期后期仔鱼和幼鱼四个阶段的影响。认为黑鲷的卵阶段对铜最为敏感,随其年龄的增长,黑鲷对铜的敏感性不断降低;通过对卵(4—16细胞)至前期仔鱼(卵黄完全吸收)的连续观察发现:胚孔封闭前的胚胎发育阶段对铜敏感性高于胚孔封闭后的各胚胎发育阶段;与其它某些受试鱼类不同,铜对黑鲷胚胎发育的迟滞效应不明显,并且在孵化前的各胚胎发育阶段均未发现明显的畸形现象,仅部分初孵化仔鱼的脊椎和尾骨有畸形弯曲。本文还提出:在建立水质标准时,对实验中给出的铜对黑鲷受精卵48小时的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)应予以重视。

鱼类的早期发育阶段(尤其是胚胎期和仔鱼期)是对各种污染物质最敏感的阶段<sup>[3,5,6]</sup>。Hyne强调了在生物一生中最敏感的时期进行毒性实验的必要性<sup>[4]</sup>;而Birge等人则建议把脊椎动物的胚胎对重金属的敏感性作为建立水质标准的依据<sup>[2]</sup>。

黑鲷是一种常见的沿岸底层经济鱼类,一般不做长距离迴游,主要分布于我国及朝鲜、日本沿海;生殖季节在5月上旬至6月上旬,成体体重一般为1—2kg,最大可达4kg左右;黑鲷的卵属浮性的,卵径约为0.83—0.93cm,卵膜透明无粘性,卵从受精至孵化约需54小时(17±1℃)<sup>[1]</sup>,在近岸性鱼类中有一定的代表性。

### 一、材料和方法

1986年5月中旬,在青岛地区沿海用定置网捕获性成熟亲鱼,雌雄比(尾数)按1:2放入约6m<sup>3</sup>的室内水泥池中,在室温(14—18℃)流水的条件下,自然排卵受精。实验分受精卵、前期后期仔鱼和幼鱼4个阶段进行。待所获受精卵发育至4—16细胞时,用解剖镜选择

发育正常、整齐的卵进行胚胎期的实际毒性实验和胚胎期至前期仔鱼的连续观察实验。其内容有:受精卵的48小时(4—16细胞至破膜前)急性致毒实验;连续观察在不同浓度的铜溶液中胚胎前期仔鱼的发育情况,包括铜对黑鲷胚胎发育的迟滞效应和畸变情况,统计胚胎期的几个主要发育阶段和前期仔鱼的存活率及其卵的孵化率。用人工育出的鱼苗进行前期仔鱼(全长0.21cm)、后期仔鱼(全长0.40—0.60cm)、幼鱼(全长2.0—2.4cm)的24小时和48小时急性致毒实验;对于幼鱼,实验时每天早晚两次投喂饵料,饵料种类是卤虫(*Artemia Salina*)幼体,投喂密度约为5—8个/cm<sup>3</sup>。

将硫酸铜(A.R)溶解在用玻璃器皿蒸出的蒸馏水中,配制成铜贮存液(1.00×10<sup>-2</sup>g/L),用经沉淀过滤过的海水稀释铜贮存液为铜中间使用液(1.00×10<sup>-4</sup>g/L),然后用经沉淀过滤过的海水稀释铜中间使用液至不同浓度的实验用含铜海水;铜中间使用液和试验用含铜海水均在使用时配制,所用海水中铜的本底含量低于5.0×10<sup>-9</sup>ppm。

各期实验在50—6000mL的容器中进行。胚胎期和仔鱼期的实验设对照组和平行样, 每组实验个体均为30个(或尾); 幼鱼期实验无平行组, 每组实验个体20尾。采用静水实验法, 每12小时换水9/10以上。实验中, 及时清除死亡卵和鱼。实验用海水经砂滤, 沉淀后, 用N-103号筛绢过滤。实验在自然水温下进行, 用大水体水浴以减小实验水体的温差变化, 其中胚胎期和前期仔鱼的实验水温为 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ , 后期仔鱼为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 幼鱼为 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 。实验用海水盐度为31‰, 实验水体中溶解氧量高于4.5ppm。

## 二、结 果

在各浓度组含铜海水和对照组中, 从胚胎期的4—16细胞至前期仔鱼卵黄完全消失之间的几个主要发育阶段, 其成活率见图1。对照组的卵100%发育至孵化, 仅当孵化后的仔鱼发育至卵黄消失时, 存活率有微小的下降; 在各浓度组的海水中, 随铜浓度的增大, 同一阶段存活率下降, 其中0.05ppm组在各期发育中都有较小幅度的下降; 0.1、0.3ppm组在胚孔封闭以前, 存活率大幅度下降, 此后直至仔鱼卵黄消失, 存活率虽然也有下降, 但是下降幅度较平缓; 0.5、1.0、3.0ppm组则在发育至原肠期以前完全死亡。卵死亡后, 其卵黄、胚盘或胚体严重收缩, 卵色逐渐混浊变白。在0.05、0.1、0.3ppm的含铜海水中, 有少数卵发育至破膜前期, 可始终未能孵化, 镜检发现: 该胚胎的发育和心率正常, 只是胚体的心搏和胚体在膜内的扭动强度较弱。孵化后的仔鱼, 随铜浓度增加, 沉在底部游动能力差的比率增大。铜对黑鲷胚胎发育的迟滞作用不明显, 对各浓度组含铜海水和对照组中胚胎发育的连续观察表明: 在相同时间内, 各组(包括对照组)胚胎发育近乎同步, 仅在确定50%孵化率的时间时, 可以看出铜对黑鲷的胚胎发育有较小的迟滞效应。凡是能够在含铜海水中继续发育的卵, 其卵膜较对照组者透明程度未见变化, 在破膜前的各胚胎发育期均未发现有较

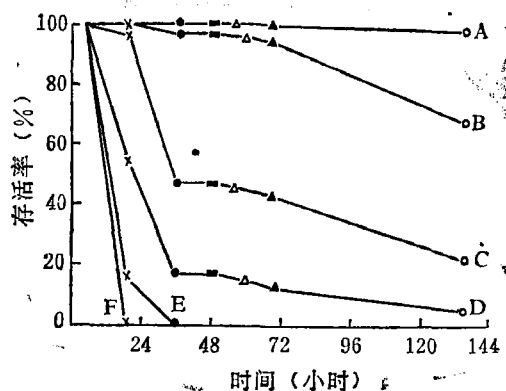


图1 不同铜溶液中, 胚胎前期仔鱼发育的连续观察及其几个主要发育阶段的存活率

×原肠中期; ●晶体出现期; ■破膜前期; ▲初孵化仔鱼; △孵化50%; ○卵黄消失仔鱼

A. 0.00ppm; B. 0.05ppm; C. 0.10ppm; D. 0.30ppm; E. 0.50ppm; F. 1.0、3.0、5.0ppm

Fig.1 Effect of different concentration of Cu(II) in seawater on embryo, early stage larvae and its survival rate in developmental stages

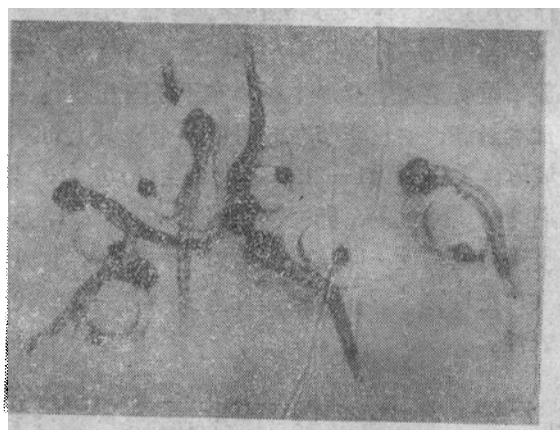


图2 初孵化的正常仔鱼和畸形仔鱼 (图中箭头所指为正常仔鱼)

Fig.2 Normal and malformed early stage larvae

明显的畸变, 只有部分当天孵化的仔鱼的脊椎和尾骨畸形弯曲(见图2)。

随海水中铜浓度的增加, 初孵化仔鱼的畸

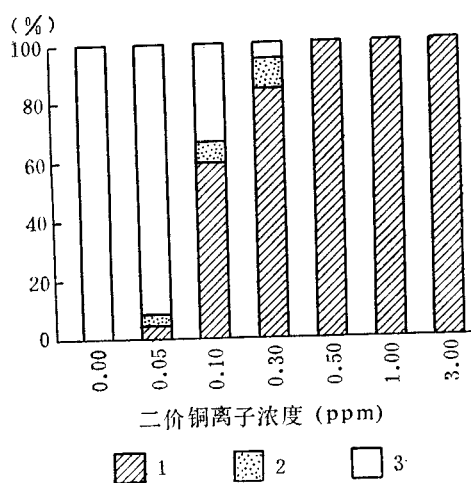


图3 不同浓度的含铜海水中, 初孵化的正常仔鱼、畸形仔鱼和未孵化卵的比率(%)

1. 未孵化卵; 2. 畸形仔鱼; 3. 正常仔鱼

Fig.3 The rate(%) of normal, malformed early stage larvae and eggs which can't hatch in different concentration of Cu(II) in seawater

变百分率增大, 前期仔鱼的死亡常常伴随着这种脊椎严重畸变。各组卵的孵化率亦如图3所示。

表1列出了受精卵(4—16细胞至破膜前期)和前期仔鱼在不同浓度的含铜海水和对照组中48小时的存活率, 以及后期仔鱼和幼鱼24

小时、48小时的存活率; 用机率目测法分别算出它们的半致死浓度(LC<sub>50</sub>), 其中受精卵的48小时LC<sub>50</sub>是0.098ppm, 前期仔鱼的48小时LC<sub>50</sub>是0.13ppm, 后期仔鱼24小时和48小时LC<sub>50</sub>分别是0.78ppm和0.57ppm, 幼鱼的24小时和48小时LC<sub>50</sub>分别是0.97ppm和0.57ppm。

前期仔鱼极易受铜的影响沉底侧倒, 而这种沉底侧倒的仔鱼有可能继续生长发育, 因此规定: 前期仔鱼的心血管跳动出现间歇或停止跳动时, 以及后期仔鱼和幼鱼侧倒并受外来刺激不能直立游动时确认为死亡。当将幼鱼移入含铜海水中时, 高浓度组的幼鱼立即表现出强烈的骚动不安, 随浓度的降低, 这种骚动减弱或不出现; 含铜海水中将要侧倒死亡的幼鱼不断的痉挛性侧向弯曲; 上述现象按幼鱼、后期仔鱼、前期仔鱼的次序趋向不明显。由于黑鲷属肉食性鱼类, 发育至幼鱼后游动迅速, 饥饿时相互残食而造成不应有的伤残和死亡(据观察, 在实验时间内个别幼鱼约占全长1/4的尾部被同组其它鱼吃掉), 所以本实验中采取每天早晚两次投喂的方式。

### 三、讨 论

黑鲷早期发育阶段对铜的毒性反应与其它已研究过的鱼类有一定的共性, 也有其特性。

表1 受精卵、仔鱼和幼鱼在含有不同铜浓度的海水中的存活率和半致死浓度  
Tab.1 Survival and LC<sub>50</sub> of eggs, larvae and juveniles in different concentration of Cu(II) in seawater

| 存活率<br>(%)<br>时 间 | 铜浓度 <sup>1)</sup><br>(ppm) | 0.00 | 0.05<br>(0.10) | 0.10<br>(0.20) | 0.30<br>(0.40)   | 0.50<br>(0.80) | 1.00<br>(1.60) | 3.00<br>(3.20) | LC <sub>50</sub> |
|-------------------|----------------------------|------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| 受 精 卵48小时         |                            | 100  | 98             | 47             | 13 <sup>2)</sup> | 0              | 0              | 0              | 0.098            |
| 前期仔鱼48小时          |                            | 100  | 72             | 50             | 37               | 24             | 0              | 0              | 0.13             |
| 后期仔鱼24小时          |                            | 97   | 100            | 93             | 80               | 47             | 0              | 0              | 0.78             |
| 后期仔鱼48小时          |                            | 97   | 97             | 93             | 73               | 30             | 0              | 0              | 0.57             |
| 幼 鱼24小时           |                            | 100  | 100            | 95             | 80               | 59             | 30             | 0              | 0.97             |
| 幼 鱼48小时           |                            | 100  | 100            | 95             | 70               | 20             | 10             | 0              | 0.57             |

1) 表内铜浓度栏的括号中数字表示后期仔鱼和幼鱼的实验浓度; 2) 数值是用非同批受精卵补做的, 用内插法求算该组LC<sub>50</sub>值

一些早期研究结果表明: 蓝鳃太阳鱼(*Lepomis macrochirus*)、鲈鱼(*Serranidae*)、美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)及河口硬骨鱼等鱼类的早期发育各阶段中, 仔鱼阶段对铜最为敏感; 而Rice (1978)、Cosson (1981) 等人对太平洋鲱和双刺隆头鱼的实验结果则表明, 卵阶段对铜最为敏感。Rice等人认为, 之所以出现上述不同结果, 是因为早期受试鱼属于淡水或半咸水鱼类, 而太平洋鲱却是真正的海水鱼类。通过研究我们发现, 黑鲷的实验结果与Rice等人的结果相同, 亦是卵阶段对铜最敏感, 且随其生长发育, 对铜的敏感性逐渐降低; 在胚胎发育的各阶段中, 似乎胚孔封闭以前较以后的发育阶段对铜更为敏感。

浸浴于含铜海水中的河口硬骨鱼类的卵(O'Rear, 1972)和太平洋鲱的卵(Rice, 1978)在浸浴期间卵膜逐渐转变成不透明状态; 同时, 太平洋鲱的胚体和仔、幼鱼在死亡前也显现痉挛性收缩和颤抖现象。在本实验中, 持续浸浴于含铜海水中能够存活的卵, 其卵膜的透明程度始终未见变化; 幼鱼在死亡前显现痉挛性侧向收缩, 而胚体、仔鱼则不明显。铜和其它重金属对青鳉(*Fundulus heteroclitus*)和鳕鱼(*Gadus morhua*)的胚胎发育有非常明显的迟滞效应, 造成胚体的脑、脊椎和尾骨畸形, 并且随毒性物质浓度的增加, 胚胎的畸形率增大。本项实验结果则表明: 铜对黑鲷胚胎发育的迟滞效应不明显; 在孵化前的整个胚胎发育阶段, 没有观察到畸形现象, 仅在初孵化的仔鱼中发现有脊椎和尾骨畸形现象, 畸形率也随铜浓度的增大有所增加。由于前面提到的太平洋鲱、青鳉和鳕鱼等的胚胎发育时间较长, 可以推断铜对黑鲷的影响出现上述异常可能与黑鲷的胚胎发育时间较短有关。

铜是一种普遍性的污染物质。据对大西洋沿岸108个排污点的调查表明: 50%的污水含

铜量 $>100\mu\text{g/L}$ , 其中有一些高达 $5900\mu\text{g/L}$ (Mytelka, 1973); 而对加利福尼亚沿海南岸6处排污废水的调查则发现其含铜量为 $174-13900\mu\text{g/L}$ , 在1971—1974年之间, 铜的年排放量是 $532000\text{kg}$ (Mitchell等, 1975)。我国黄渤海沿岸如锦州湾、海州湾、渤海湾和胶州湾等, 每年也有大量含铜废水排入湾内, 造成沿海内湾的严重污染。因此, 在建立水质标准时, 铜是一个重要指标, 而本实验中给出的铜对黑鲷受精卵的48小时 $\text{LC}_{50}$ ( $0.098\text{ppm}$ ), 在建立水质标准时应予以考虑。

### 主要参考文献

- [1] 张孝威、何桂芬、沙学坤, 1980. 黑鲷卵及仔、稚、幼鱼的形态观察. 动物学报 26(4): 331—336.
- [2] Birge, W.I., and J. J. Just, 1973. Sensitivity of vertebrate embryo to heavy metals as a criterion of water quality, Ky. water Resour. Res. Rep. 61, p.20.
- [3] Christensen, G.M., 1975. Biochemical effects of methylmercuric chloride, cadmium chloride and lead nitrate on embryo and alevins of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 32: 191—197.
- [4] Hynes, H.B.N., 1970. The biology of polluted waters, Univ. Toronto press, Toronto, Can. p. 502.
- [5] Pickering, Q.H. and M.H. Gast, 1972. Acute and chronic toxicity of cadmium to fathead minnow (*Pimephales promelas*), J. Fish. Res. Board Can. 29: 1099—1106.
- [6] Skidmore, J.F., 1965. Resistance to zinc sulphate of the zebrafish (*Brachydanio rerio*) at different phases of its life history. Ann. Appl. Biol. 56: 47—53.

**EFFECTS OF COPPER ON THE EARLY LIFE HISTORY OF  
THE BLACK PORGY, *SPARUS MACROCEPHALUS* (BASILEWSKY)**

Sun Yao, Chen Chao

(*Huanghai Sea Fisheries Research Institute*)

Zhang Youchi

(*Beihai Division, SOA*)

**Abstract**

The effects of copper on the eggs, larvae and juveniles of black porgy, *Sparus macrocephalus* (Basilewsky) were analysed. The results showed that the eggs were most sensitive to copper and the capability of resisting copper increases with age. By observing continually the embryos and pre-larvae, it's found that copper sensitivity of embryos in development before the closure of the blastophore seems higher than that after the closure. And retard effect of copper on embryo development isn't significant. No malformation was found during the whole embryo development. Only the vertebra and caud of part larvae, which had just been hatched, were bent.

---