

研究简报

重金属对牙鲆胚胎和仔鱼的影响*

吴玉霖 赵鸿儒 侯兰英

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

鱼类早期发育阶段胚胎和仔鱼是整个生活史中对各种污染物最为敏感的阶段^[1], 因而许多学者强调在水质评价中利用鱼类早期发育阶段进行毒性试验的重要性。牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)是我国近海重要的经济鱼类, 在一些地方已开展人工养殖研究, 而且对该种鱼类的早期发育过程及形态特征已有较详细的研究报道^[1,2]。本文利用牙鲆的受精卵进行重金属 Cu, Zn, Cd, Pb 和 Cr 对胚胎和仔鱼影响的试验研究, 为海产资源的保护和环境管理提供科学依据。

材料与 方法

牙鲆的卵为圆球形, 直径约 1.0mm, 卵膜光滑透明, 内有一淡黄色的油球, 属浮性卵。收集的受精卵大部分已发育至原肠期的胚环时期(分期标准依张崇理^[1])。在解剖镜下选取卵膜完好透明并已发育至胚环时期的卵用于试验, 以玻璃碗为试验容器, 每碗加试验海水 15ml, 海水盐度为 33‰, 溶解氧为 6.5—7.0mg/L, pH 值 8.1, 水温 15—16℃, 每一玻璃碗放入受精卵 10 粒。各种重金属试验浓度设置分别是: Cu(用 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 配制): 0, 0.2, 0.4, 0.8 和 1.6mg/L; Zn(用 Zn 粒配制): 0, 2.0, 4.0, 8.0 和 16.0mg/L; Cd(用 Cd 粒配制): 0, 2.0, 4.0, 8.0 和 16.0mg/L; Cr(用 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 配制): 0, 10.0, 20.0, 40.0 和 80.0 mg/L; Pb(用 Pb 粒配制): 0, 1.0, 2.0, 4.0 和 8.0mg/L。同时设一平行组。分别于试验开始后 6, 18, 30, 42, 48, 54 和 66h 在解剖镜下详细观察胚胎发育情况、存活率, 并作记录。

在重金属对牙鲆仔鱼的毒性试验中, 仔鱼是由我们在实验室内用受精卵培养孵化出的。用于试验时约已孵化出 10h, 全长为 2.80—2.93mm, 选择在水层中游动活泼的正常仔鱼供作试验材料。仍用玻璃碗作为容器, 每碗加入试验海水 15ml, 放入仔鱼 10 尾, 各金属浓度组设置除 Cd 改为 0, 1.0, 2.0, 4.0 和 8.0mg/L 及 Pb 改为 0, 2.0, 4.0, 8.0 和 16.0mg/L 外, 其它的均与胚胎试验的相同。试验海水的水质及水温等条件亦与胚胎试验时一样。分别于试验开始后 24, 48h 详细观察仔鱼的形态、行为及存活情况, 并作记录。

结果与 讨论

1. Cu, Cd, Zn, Cr 和 Pb 对牙鲆胚胎发育的影响

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1614 号。
收稿日期: 1989 年 3 月 9 日。

各种金属对牙鲆胚胎发育毒性影响的试验结果列于表 1, 分述如下:

(1) Cu 试验开始后的 20h 内, 不同浓度组中的胚胎发育进程相同, 但在胚胎的成活率上有明显的差异(见图 1)。在 1.6mg/L Cu 浓度下 18h 内全部死亡, 死亡的卵子呈灰白色不透明, 沉在容器底部, 进而逐渐解体。在 0.8mg/L Cu 浓度下 18h 存活率为 70%, 但至 42h 时已全部死亡, 此时 0.2 和 0.4mg/L Cu 浓度下胚胎的存活率分别为 90% 和 70%, 而对照组存活率为 100%, 并有 65% 的卵子孵化, 这显示出 Cu 降低胚胎存活率及延缓发育和孵化的影响。至第 48h, 对照组的孵化率已达 90%, 0.2mg/L Cu 浓度下孵化率为 70%, 但 0.4mg/L Cu 浓度下仍未见有卵子孵化, 至第 54h 才孵出 30%, 明显地显示出不同 Cu 浓度下对卵子滞延孵化的影响。另外, 对照组已孵化的仔鱼发育正常(见图版 1:1), 游动活泼, 而 0.2 和 0.4mg/L Cu 浓度下部分仔鱼形体弯曲(见图版 1:2, 3), 不活泼, 畸形率分别达到 50% 和 33%。

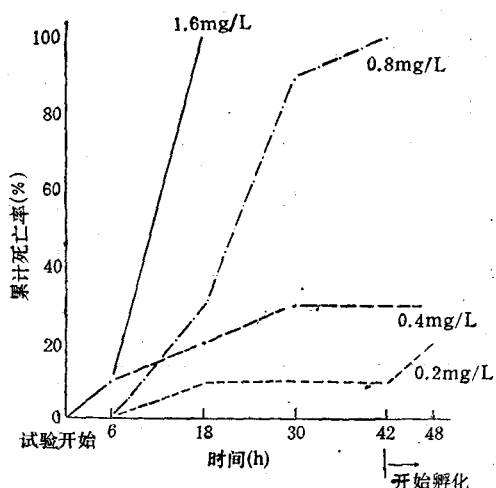


图 1 连续暴露于不同 Cu 浓度中牙鲆胚胎的累计死亡率

Fig. 1 Percent cumulative mortality of *P. olivaceus* embryos continuously exposed to different Cu concentration

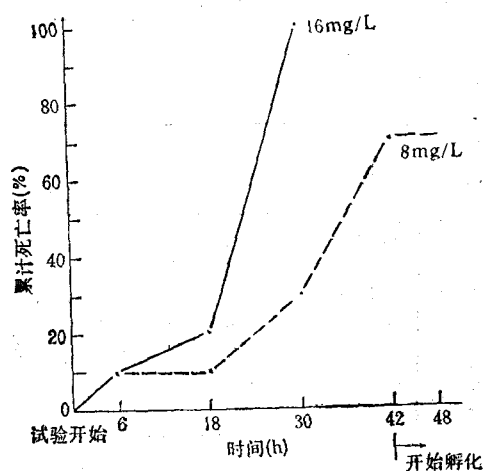


图 2 连续暴露于不同 Zn 浓度中牙鲆胚胎的累计死亡率

Fig. 2 Percent cumulative mortality of *P. olivaceus* embryos continuously exposed to different Zn concentration

(2) Zn 和 Cu 的试验一样, 在试验开始后的前 30h, 2, 4 和 8mg/L Zn 浓度下胚胎发育进程和对照组没有明显差异; 但在 16 mg/L Zn 浓度下卵子已全部死亡, 8 mg/L Zn 浓度下存活率为 70%。至第 42h, 2 mg/L Zn 浓度下已有部分卵子孵化, 孵化率为 20%, 远不如对照组; 而在 4mg/L Zn 浓度下, 胚胎仍处于尾芽期; 此时在 8 mg/L Zn 浓度下胚胎的存活率已降至 30% (见图 2)。试验至第 48h, 2, 4, 8mg/L Zn 浓度下卵子的孵化率分别为 90%, 60% 和 10%。结果表明, 在存活率和孵化率上, 2mg/L Zn 浓度组与对照组并无明显差异, 仅发现在孵化时间上有延缓作用。随着 Zn 浓度的增高, 卵子的存活率和孵化率下降, 滞延作用越加明显。和 Cu 的毒性试验结果成鲜明对比的是, 在不同 Zn 浓度下孵化出的仔鱼, 形体均正常, 游动活泼, 未见畸形个体。

(3) Cd 在 16mg/L Cd 浓度下 6h 内胚胎全部死亡(见图 3), 其它 3 种浓度下存

表 1 5 种重金属对牙鲆胚胎发育的影响

Tab. 1 Effects of five heavy metals on developmental stages of *P. olivaceus* embryos

重金属	试液浓度 (mg/L)	试验开始 发育情况	6h		18h		30h		42h		48h	
			发育情况	成活率 (%)	发育情况	成活率 (%)	发育情况	成活率 (%)	发育情况	成活率 (%)	发育情况	成活率 (%)
对 照	I	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	100	部分孵化	100	大部分孵化	100
	II		胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	100	部分孵化	100	大部分孵化	100
Cu	0.2	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	90	尾芽期	90	全部死亡	0	部分孵化	80
	0.4			90		80		70		0		70
	0.8			100		70		10		0		0
	1.6			90		0		—		—		—
Zn	2	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	100	部分孵化	20	大部分孵化	100
	4			100		100		100		0		100
	8			90		70		30		0		30
	16			90		0		—		—		—
Cd	2	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	90	部分孵化	40	部分孵化	90
	4			100		100		100		30		100
	8			100		80		70		0		60
	16			0		—		—		—		—
Cr	10	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	100	部分孵化	0	大部分孵化	90
	20			100		100		100		10		90
	40			100		100		100		40		100
	80			100		100		100		0		100
Pb	1	胚环期	胚盾期	100	胚芽期	100	尾芽期	100	部分孵化	30	大部分孵化	90
	2			100		100		100		30		90
	4			100		100		100		0		90
	8			100		100		100		0		90

活的胚胎在 30h 时均发育至尾芽期,与对照组无明显差异。至第 42h, 2 和 4mg/L Cd 浓度下分别有 40% 和 30% 的卵子孵出, 但 8mg/L Cd 浓度下存活的胚胎仍处于尾芽期。至第 48h, 2 和 4mg/L Cd 浓度下牙鲆胚胎的存活率分别为 90% 和 100%, 孵化率分别为 70% 和 80%, 均略低于对照组, 然而此时在 8mg/L Cd 浓度下存活的 60% 胚胎仍停滞在尾芽期, 胚体间断性颤动挣扎, 心跳每分钟 58 次左右, 这种状态一直延至第 72h, 始终未能孵化而全部死亡, 这种现象在其它金属的试验中均未出现过。总之, 试验结果清楚地表明, 在 2 至 16Cd mg/L 浓度范围内, Cd 对牙鲆胚胎的存活率、孵化时间及孵化率均有明显的影响, 至第 48h, 4Cd mg/L 浓度下虽能孵出 80%, 但体呈弯曲形的畸形仔鱼达 63%。

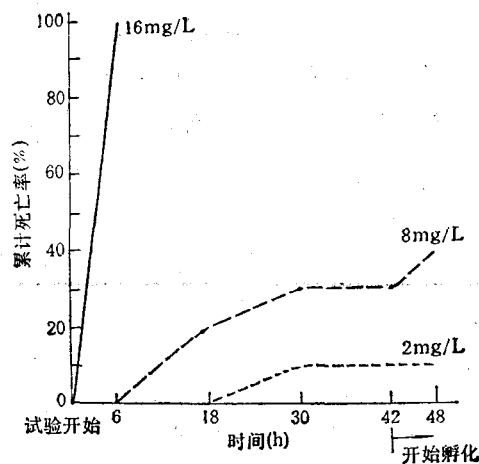


图3 连续暴露于不同 Cd 浓度中牙鲆胚胎的累计死亡率

Fig. 3 Percent cumulative mortality of *P. olivaceus* embryos continuously exposed to different Cd concentration

(4) Pb 和 Cr 同上述 3 种金属相比, Pb 和 Cr 对牙鲆胚胎的毒性要低些, 尤其是 Cr。在试验的前 30h, 在两种金属不同浓度下胚胎发育情况和成活率与对照组相同。到第 42h, 1.0 和 2.0mg/L Pb 浓度中和 20 与 40mg/L Cr 浓度下分别有部分卵子孵化, 但与对照组相比孵化率要低许多 (见表 1)。其它各浓度组中胚胎仍处于尾芽期。至第 48h, 几乎全部孵出, 孵化率和存活率均与对照组相近。试验结果说明, Pb 和 Cr 除延缓卵子孵化时间的影响外, 对胚胎的存活率并未有明显的作用。但是在 80mg/L Cr 和 8mg/L Pb 浓度下孵化的仔鱼有部分体呈弯曲, 畸形率分别为 11% 和 66.7%。由于两种金属试验浓度范围相差 1 个数量级, 所以 Cr 对牙鲆胚胎的毒性比起 Pb 的要低得多。

利用 Cu, Zn 和 Cd 对牙鲆胚胎毒性试验数据在半对数坐标纸上, 用直线内插法求得 3 种金属对牙鲆胚胎 48h LC_{50} 值分别为 0.48、6.55 和 9.01mg/L。

综上所述, 依据不同金属对牙鲆胚胎发育的滞延、致畸、成活率及孵化率的影响情况, 可以得出, 5 种金属对牙鲆胚胎的毒性大小顺序应依次是 $Cu > Zn > Cd > Pb > Cr$ 。

2. 重金属 Cu, Zn, Cd, Pb 和 Cr 对牙鲆仔鱼的毒性影响

初孵出的牙鲆仔鱼不吃食, 靠卵黄供给营养, 卵黄囊呈卵圆形, 约为体长的 1/2, 油球

位于卵黄囊的后下缘。鱼体透明,在解剖镜下可以清楚地观察到许多器官。心脏每分钟搏动 80 次左右。仔鱼只能作间断性的游动,静止时漂浮于水面。在严重中毒时,仔鱼起初表现是侧卧于容器底部,不大游动,部分个体身体弯曲,进而仅见心脏搏动,不久即死亡。

5 种金属对牙鲆仔鱼 48h 毒性试验结果列于表 2。结果表明,Cu 对仔鱼的毒性最大,试验开始后 24h, 0.8mg/L Cu 浓度下有 80% 个体沉在容器底部,濒于死亡,而 1.6mg/L Cu 浓度下存活率仅 20%。Cu 对牙鲆仔鱼 48h LC_{50} 值为 0.36mg/L。Cd 对牙鲆仔鱼亦有较高的毒性,在 8mg/L Cd 浓度下,24h 内有 40% 个体死亡,余者均侧卧于容器底部,其中 2 尾仔鱼体呈弯曲状。Cd 对牙鲆仔鱼 48h LC_{50} 值为 2.0mg/L。仔鱼在 16mg/L Zn 浓度下 24h 内死亡 40%,另外还有 5 尾侧卧于容器底部,其中 1 尾体呈弯曲。Zn 对仔鱼 48h LC_{50} 值为 6.7mg/L。试验开始后 48h 内在 8mg/L Pb 浓度下死亡率达 40%,还有 1 尾仔鱼已侧卧于容器底部,不大活动;在 16mg/L Pb 浓度下仔鱼已全部死亡。相对地说,Cr 对牙鲆仔鱼的毒性最低,48h 内,40mg/L Cr 浓度下仔鱼死亡率仅为 20%,另有 5 尾仔鱼侧卧于水底。而在 80mg/L Cr 浓度下死亡率达 70%。Cr 对仔鱼 48h LC_{50} 值为 62.3mg/L。

表 2 牙鲆仔鱼 48h 毒性试验结果

Tab. 2 Results of 48h toxic test of *P. olivaceus* larvae

Cu	浓度 (mg/L)	对照	0.2	0.4	0.8	1.6
	死亡率(%)	0	20	60	90	100
Zn	浓度 (mg/L)	对照	2	4	8	16
	死亡率(%)	0	0	20	60	100
Cd	浓度 (mg/L)	对照	1	2	4	8
	死亡率(%)	0	0	50	70	100
Cr	浓度 (mg/L)	对照	10	20	40	80
	死亡率(%)	0	0	0	20	70
Pb	浓度 (mg/L)	对照	2	4	8	16
	死亡率(%)	0	10	20	50	100

综上所述,5 种重金属对牙鲆仔鱼毒性大小顺序为: $Cu > Cd > Zn > Pb > Cr$ 。和前述的重金属对牙鲆受精卵的毒性试验结果相比,发现除 Zn 外,Cu 和 Cd 对仔鱼 48h LC_{50} 值比对卵子的要低许多,换句话说,即仔鱼对 Cu 和 Cd 的敏感性要比卵子高。经计算得 Cu,Zn,Cd 和 Pb 对仔鱼的安全浓度值列于表 3。值得指出的是,试验所得的 Cu 安全浓度值比我国渔业水质标准中 Cu 的最高允许浓度 (0.01mg/L) 要低些。

McKim, J. M.^[4] 评述了不同作者用 34 种毒物和 4 种鱼进行 56 次生活周期毒性试验资料,认为胚胎—仔鱼和早期幼鱼生活阶段在生活周期试验中是最敏感的阶段之一。由胚胎—仔鱼或早期幼鱼试验估计的最大允许毒物浓度与通过更多发育阶段或全生活周期的毒性试验所获得的结果一致。许多学者如 Rice, D. W. J. 等也强调了在水质评价中利用鱼类胚胎—仔鱼阶段进行毒性试验的重要性。

表 3 5 种重金属对牙鲆仔鱼的半数致死浓度和安全浓度

Tab. 3 LC₅₀ and safety concentration of 5 heavy metal for *P. olivaceus*

金 属	24hLC ₅₀ (mg/L)	48hLC ₅₀ (mg/L)	安全浓度 ^① (mg/L)
Cu	1.4	0.36	0.007
Zn	21.0	6.7	0.205
Cd	8.0	2.0	0.038
Cr		62.3	
Pb	11.3	8.0	1.203

① 依下式推导:
$$\text{安全浓度} = \frac{48\text{hLC}_{50} \times 0.3}{(24\text{hLC}_{50}/48\text{hLC}_{50})^2}$$

我们的试验结果表明,牙鲆的受精卵和仔鱼对毒物反应敏感,具有良好的剂量与效应关系,考虑到牙鲆在我国沿海均有分布,并已开展人工养殖,取材较易,我们认为可以利用牙鲆的受精卵和仔鱼作为毒性试验的一种较理想材料。

参 考 文 献

- [1] 张崇理, 1959. 比目鱼——牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 的早期发育史. 中国科学院海洋研究所丛刊 1(4): 71—89.
- [2] 张孝威、何桂芬、沙学绅, 1965. 牙鲆和条鳎卵子及仔、稚鱼的形态观察. 海洋与湖沼 7(2): 158—180.
- [3] Hansen, D. J., 1984. Utility of toxicity tests to measure effects of substances on marine organisms. In: Concepts in marine pollution measurements. Ed. by Harris H. White. A Maryland Sea Grant Publication. pp. 33—56.
- [4] McKim, J. M., 1977. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. J. Fish. Res. Board Can. 34: 1148—1154.
- [5] Rice, D. W. Jr and F. L. Harrison, 1978. Copper sensitivity of pacific herring, *Clupea harengus*, during its early life history. Fishery Bulletin 76(2): 347—356.
- [6] Rosenthal, H., 1976. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. J. Fish Res. Board Can. 33(9): 2047—2065.

EFFECTS OF HEAVY METALS ON EMBRYOS AND LARVAE OF FLAT FISH *PARALICHTHYS OLIVACEUS**

Wu Yulin, Zhao Hongru and Hou Lanying

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

ABSTRACT

This paper deals with the effects of heavy metals on early life stages of flat fish. *P. olivaceus* embryos were exposed to seawater containing the different metal concentrations (Cu, 0.2—1.6 mg/L; Zn, 2—16 mg/L; Cd, 2—16 mg/L; Pb, 1—8 mg/L and Cr, 10—80 mg/L) 12 h after fertilization (Germ ring stage) till hatching. Larvae were exposed to different metal concentrations (Cu, 0.2—1.6 mg/L; Cd, 1—8 mg/L; Zn, 2—16 mg/L; Pb, 2—16 mg/L and Cr, 10—80 mg/L) for 48 h.

Development retardation of embryos exposed to different heavy metal occurred. Embryos exposed to Cu, Zn and Cd showed significant decrease in hatchability and survival. Deformations observed for larvae exposed to Cu, Cd, Cr and Pb. The 48 h LC_{50} of heavy metals for embryos were Cu, 0.48; Zn, 6.55 and Cd, 9.01 mg/L, respectively. The results showed that fish embryos exhibited sensitivity to five metals in the following order: Cu > Zn > Cd > Pb > Cr.

The 48 h LC_{50} of heavy metals for larvae were Cu, 0.36; Cd, 2.0; Zn, 6.7; Pb, 8.0 and Cr, 62.3 mg/L, respectively.

*Contribution No.1614 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.



1. 正常的牙鲆仔鱼；2. 畸形的牙鲆仔鱼；3. 畸形的牙鲆仔鱼