

# $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 对七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)胚胎和初孵仔鱼的毒性效应\*

孔祥迪<sup>1,2</sup> 陈超<sup>2</sup> 李炎璐<sup>2</sup> 贾瑞锦<sup>1,2</sup>  
于欢欢<sup>1,2</sup> 翟介明<sup>3</sup> 刘江春<sup>3</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室  
中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 莱州明波水产有限公司 烟台 261418)

**摘要** 在(21.0±0.5)°C条件下,研究了 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 3种金属离子对七带石斑鱼胚胎和初孵仔鱼的毒性效应。结果表明:1)随着3种金属离子浓度的升高,受精卵的孵化速率和孵化率逐渐降低,畸形率逐渐增加。重金属引发胚胎发育发生各种畸形,如胚体增生异常而死亡、尾芽弯曲,仔鱼不能正常出膜而死亡,初孵仔鱼脊椎弯曲多呈L、S、V型或尾部未展开呈逗号状畸形。综合孵化速率、孵化率和畸形率等指标,可以看出,3种金属离子对胚胎发育的毒性大小依次为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ ;2)初孵仔鱼的毒性试验周期为96h,随着时间加长,仔鱼的存活率逐渐降低,且金属离子浓度越大,其下降幅度越大。此外,仔鱼出现脊椎S、V型弯曲等畸形也越来越多。通过计算各时间段的半致死浓度( $LC_{50}$ )和安全浓度得出,3种金属离子对初孵仔鱼的毒性大小依次为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ 。本研究的一系列数据可以为新渔业水质标准的制定和水环境的监测提供理论参数,为七带石斑鱼等鱼类繁育养殖中的重金属监测与治理提供重要科学依据。

**关键词** 七带石斑鱼;金属离子;胚胎;仔鱼;毒性效应

中图分类号 S965 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)05-0115-07

近年来,伴随着我国工农业生产的迅速发展,含有大量重金属的工业废水、生活污水及有害垃圾经常排入海洋、江河等水域,使水体中的重金属离子大量积累,严重影响了水生生物的生长和发育(汪远丽等,2012;孙元芹等,2013)。养殖过程中也会产生自身污染,如添加的饵料含有一定量的Cu、Fe、Zn等重金属元素,残饵会对水体造成污染;新建的育苗池中的加热管道使用Cu、Fe、Zn金属管,一般重金属含量也较高;养殖水常用硫酸铜清塘灭藻。上述因素都会导致养殖水体中的重金属浓度过高,对养殖生产产生损害。

七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)属于鲈形目(Perciformes)、鲈亚目(Percioidei)、鲈科(Serr-

anidae)、石斑鱼亚科(Epinephelinae),又名七带斑、真脂、子鱼、过鱼等,主要分布于西北太平洋区,包括韩国、日本、中国等沿岸。在我国主要分布在黄海与东海,是唯一分布在黄海的石斑鱼品种(谢菁等,2009),其生长快、耐低温、适应能力强,又因能够在9°C左右的低温冷水中生存,常被称为冷水石斑,是适合我国北方沿海及东北亚温带海域养殖的优良品种之一,具有较好的经济价值及市场前景。

20世纪90年代,日本、韩国开始对七带石斑鱼进行了一些研究,主要集中在七带石斑鱼的繁育养殖技术(Tsuchihashi *et al*, 2005)、卵巢发育及卵成熟(Nilar *et al*, 2004)、神经坏死症病毒(Tanaka *et al*, 2003)

\* 科技部国际合作项目(2012DFA30360)和国家科技支撑项目(2011BAD13B01)共同资助。孔祥迪, E-mail: xiangdikong@163.com

通讯作者: 陈超, 研究员, E-mail: ysfriichenchao@126.com

收稿日期: 2013-12-30, 收修改稿日期: 2014-01-17

等方面。我国对七带石斑鱼的研究起步于 2002 年, 主要对其人工繁育和养殖技术(刘新富等, 2010)、肌肉营养成分分析(程波等, 2009)、染色体核型分析(钟声平等, 2010)、“突眼”病(陈超等, 2010)等方面进行了研究。鱼类的生活早期对污染物比较敏感, 水体中的重金属离子常会对胚胎发育和仔稚鱼生长产生严重危害, 因而进行重金属离子对七带石斑鱼胚胎和初孵仔鱼的毒性效应研究具有现实意义。目前尚未见重金属对七带石斑鱼早期发育阶段毒害效应的报道。本试验研究了  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  3 种重金属离子对七带石斑鱼胚胎和初孵仔鱼的毒性效应, 并计算了这几种重金属离子对仔鱼的半数致死浓度( $LC_{50}$ )和安全浓度, 以期为新渔业水质标准的制定和水环境的监测提供理论参数, 为七带石斑鱼等鱼类繁育养殖中的重金属监测与治理提供重要科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 受精卵和仔鱼的获取

实验于 2013 年 5 月在山东省莱州明波水产有限公司进行, 使用人绒毛膜促性腺激素(HCG)对亲鱼池中的亲鱼进行催产, 剂量为 1000–2000 IU/kg, 在背部肌肉一次性注射, 雄鱼注射剂量为雌鱼的 1/2。48 h 后取成熟度较好的亲鱼, 以雌雄 3:1 的比例获得精卵, 进行人工授精。受精卵放于消过毒的塑料桶中, 加入海水, 5–10 min 后将上浮的好卵置于孵化桶中的圆柱形筛绢网中, 水温( $21.0\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、流水、微充气孵化。当胚胎发育至原肠中期时, 用手抄网将其捞出, 放入加海水晶的海水中, 盐度为 35 (孵化及试验用水为自然海水, 盐度为 32), 静置 5–10 min 后取上浮的受精卵用于重金属对胚胎的毒性试验。

用于重金属对初孵仔鱼毒性试验的材料, 取同一批受精卵, 在水温( $21.0\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、盐度 32、流水、微充气条件下, 待其正常孵化后, 取健康、活力好的初孵仔鱼待用。

### 1.2 试验药品及配制

试验用药物:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (上海科昌精细化学品公司)、 $\text{ZnSO}_4$  和  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (上海精析化工科技有限公司), 均为分析纯。实验前各称取一定量的试验药品, 用蒸馏水分别配制成母液, 浓度都为 100 mg/L (此值表示各金属离子的浓度大小), 试验时再用过滤海水稀释成各个浓度的溶液(表 1), 浓度 0 mg/L 组设为对照组。

表 1 各重金属离子浓度梯度  
Tab.1 The concentrations of the heavy metal ions

金属离子 Metal ions	浓度 Concentration(mg/L)				
$\text{Cu}^{2+}$	0	0.02	0.04	0.08	0.16
$\text{Zn}^{2+}$	0	0.2	0.4	0.8	1.6
$\text{Pb}^{2+}$	0	0.2	0.4	0.8	1.6

### 1.3 试验设计

重金属对七带石斑鱼的胚胎毒性实验在 500 ml 的烧杯中进行, 每个烧杯中放入 100 粒受精卵, 每组 3 个平行, 水浴恒温( $21.0\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ , 自然光照, 各重金属离子浓度梯度见表 1。实验采用静水法, 12 h 更换 50%同浓度的海水。试验过程中每 4 h 用显微镜观察各试验组胚胎发育情况, 并用吸管吸取发白的死卵, 观察统计受精卵的孵化时间、初孵仔鱼数、畸形数和 24、48、72 h 时的存活数等。

重金属对初孵仔鱼毒性实验在 1000 ml 的烧杯中进行, 各放入 100 尾健康、活力好的初孵仔鱼, 每组 3 个平行, 各重金属离子浓度梯度见表 1。试验过程中连续观察仔鱼的存活、生长发育及畸形情况, 及时清除沉底侧翻的死亡仔鱼。试验采用静水培育, 12 h 更换 50%同浓度的海水。试验进行 96 h, 每 24 h 统计各组存活数, 以平均致死量法(GB17378.7, 1998)求 24、48、72 h 的半数致死浓度( $LC_{50}$ ), 以  $SC=48 \text{ h } LC_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } LC_{50} / 48 \text{ h } LC_{50})^2$  作为水体中重金属离子对仔鱼的安全浓度(庄平等, 2009)。

### 1.4 数据统计

实验结果取各平行组的平均值。采用 SPSS 17.0 统计软件对孵化率、畸形率和存活率等实验数据进行 ANOVA 分析和 Duncan 多重比较, 描述性统计值用平均值 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SE)表示, 并用字母标记法来表示差异显著, 相同字母间表示差异不显著, 不同字母间表示差异显著( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 重金属对胚胎和仔鱼的致畸表现

在重金属对七带石斑鱼胚胎和仔鱼的毒害试验中, 对其胚胎发育和仔鱼生长状况进行观察比较, 通过各处理组与对照组的对比分析, 发现 3 种重金属离子均会对胚胎和仔鱼产生一系列的毒害效应, 且离子浓度越高, 毒害表现越明显。

重金属对胚胎发育的致畸表现为: 心腔肿大、尾芽弯曲、仔鱼不能出膜而死亡等, 死亡受精卵呈白色

不透明状,沉在烧杯底部渐渐解体糜烂。能够破膜而出的仔鱼,大多数活力较差,畸形鱼所占比例较高,主要有卵黄囊肿大、脊椎呈 L、V 和 S 型弯曲、尾部畸形或断裂等,在短时间内会大量死亡,而且重金属离子浓度越高,胚胎和仔鱼的畸形程度越严重,仔鱼的死亡率也越高(图 1)。

把正常的初孵仔鱼放入重金属离子溶液中,仔鱼倒悬浮于水中,运动能力较差。随着时间延续,高浓度溶液中的仔鱼出现运动剧烈,在容器内无方向性窜动,而后活力下降,运动失调,大多做向上或向下旋转运动。一段时间后,仔鱼渐渐沉降于烧杯的底部,身体蜷缩弯曲畸形明显,直至仔鱼出现大量死亡。低浓度试液组的仔鱼也会出现类似的受毒害表现,但出现时间较晚,症状也较轻。

## 2.2 重金属对胚胎发育的影响

$\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  3 种重金属离子对七带石斑鱼胚胎发育阶段的毒性影响见表 2。从表 2 可以看出,在(21.0±0.5)°C 条件下,对照组的胚胎经 36 h 后完全孵化出膜,孵化率为(85.22±1.93)%,仔鱼健康、活力

好,畸形率很低,仅为(3.33±3.36)%。

$\text{Cu}^{2+}$  试验组与对照组相比较,仔鱼的出膜时间明显延长。0.02 mg/L 处理组的孵化时间为 41 h,浓度 0.16 mg/L 时为 64 h,比对照组推迟了近 20 h;  $\text{Cu}^{2+}$  对胚胎孵化率和初孵仔鱼畸形率的影响非常明显,除 0.02 mg/L 组的孵化率与对照组间差异不显著外,其余各组的孵化率和畸形率与对照组间差异显著,0.02 mg/L 时的孵化率和畸形率分别为(71.03±7.04)%和(25.56±1.93)%,当浓度升至 0.16 mg/L 时,二者分别为(7.84±4.18)%和(55.56±9.62)%,孵化效果非常差;与对照组相比,仔鱼的活力差、畸形严重,随后仔鱼会出现大量死亡,且离子浓度越高,这种现象越明显,0.16 mg/L 处理组,48 h 后初孵仔鱼完全死亡。

不同浓度的  $\text{Zn}^{2+}$  处理胚胎,仔鱼的出膜时间也出现不同程度的延长。浓度为 1.6 mg/L 时,孵化时间为 60 h;孵化率和畸形率除 0.2 mg/L 组与对照组无差异外,其他各组均与对照组差异显著。1.6 mg/L 时,孵化率和畸形率分别为(17.21±9.76)%和(40.95±2.07)%,孵化效果非常差,初孵仔鱼活力也很弱,24 h 时的存

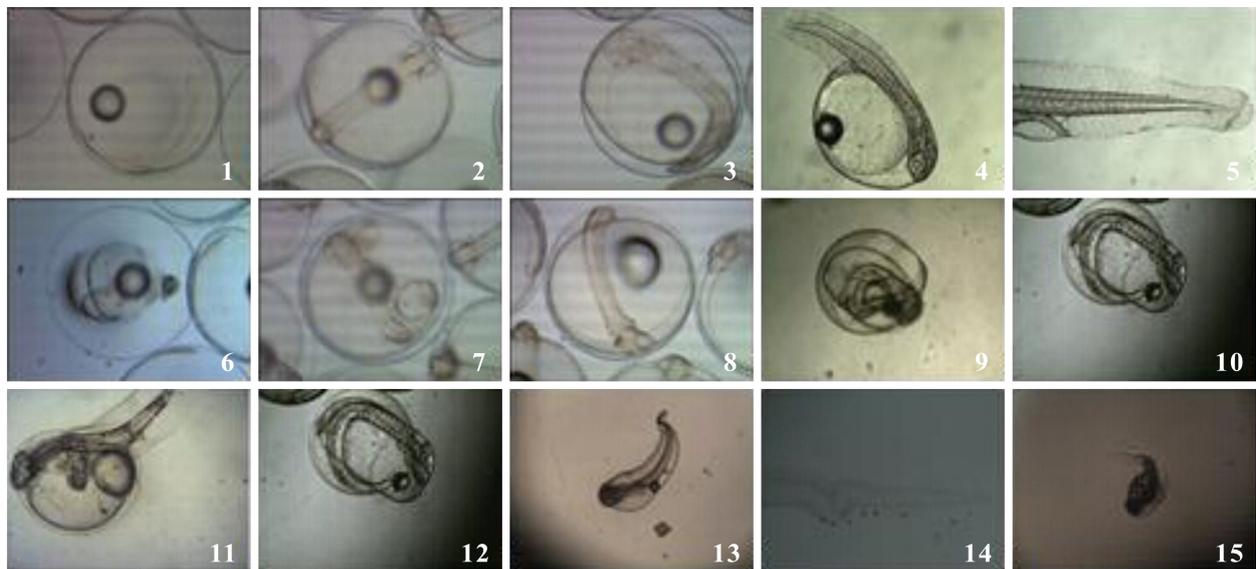


图 1 七带石斑鱼正常与畸形的早期发育形态

Fig.1 The early normal and abnormal development of *Epinephelus septemfasciatus*

正常胚体; 2. 视囊、脑泡正常; 3. 正常出膜前胚胎; 4. 正常仔鱼; 5. 正常仔鱼脊椎; 6. 胚体增生; 7. 胚体畸形; 8. 视囊残缺; 9. 身体扭曲,不能出膜; 10. 脊椎 L 型,未正常出膜; 11. 卵黄囊肿大、脊椎弯曲; 12. 尾椎弯曲; 13. 身体呈 S 型弯曲; 14. 脊椎 V 型畸形; 15. 死亡仔鱼身体 L 形,体色发黑

1. Normal embryo body; 2. Optic capsule, brain vesicle is normal; 3. Normal hatching embryo; 4. Normal larvae; 5. Normal spine; 6. The embryonic body hyperplasia; 7. The embryonic body deformity; 8. Optic capsule deformity; 9. Body twisted, couldn't be hatched; 10. L-spine, the film is abnormal; 11. Yolk sac enlargement; 12. Caudal bending; 13. Body S-bended; 14. V-shaped spine; 15. Dead larvae, L-shaped, black body

表 2  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  对七带石斑鱼胚胎发育的影响  
Tab.2 Effects of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{Pb}^{2+}$  on the embryos of *E. septemfasciatus*

重金属 Heavy metals	浓度 Concentration (mg/L)	孵化时间 Hatching time (h)	孵化率 Hatching rate (%)	畸形率 Abnormality rate (%)	存活率 Survival rate (%)	
					24 h	48 h
对照组 Control	0	36	85.22±1.93 <sup>a</sup>	3.33±3.36 <sup>a</sup>	91.01±2.95 <sup>a</sup>	88.94±3.22 <sup>a</sup>
$\text{Cu}^{2+}$	0.02	41	71.03±7.04 <sup>a</sup>	25.56±1.93 <sup>b</sup>	83.48±2.62 <sup>a</sup>	65.78±2.15 <sup>b</sup>
	0.04	46	53.72±3.62 <sup>b</sup>	40.00±6.67 <sup>c</sup>	50.54±4.10 <sup>b</sup>	34.10±3.80 <sup>c</sup>
	0.08	58	29.16±8.67 <sup>c</sup>	64.44±1.19 <sup>d</sup>	18.72±2.37 <sup>c</sup>	8.15±0.69 <sup>d</sup>
	0.16	64	7.84±4.18 <sup>d</sup>	55.56±9.62 <sup>d</sup>	7.68±1.29 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>e</sup>
	0.2	41	74.26±2.13 <sup>a</sup>	17.78±1.92 <sup>a</sup>	85.70±0.82 <sup>a</sup>	74.22±3.10 <sup>b</sup>
$\text{Zn}^{2+}$	0.4	46	59.97±3.07 <sup>b</sup>	25.55±5.09 <sup>b</sup>	63.98±2.66 <sup>b</sup>	51.64±7.29 <sup>c</sup>
	0.8	54	43.84±3.62 <sup>c</sup>	39.28±2.34 <sup>c</sup>	19.16±3.05 <sup>c</sup>	10.76±1.41 <sup>d</sup>
	1.6	60	17.21±9.76 <sup>d</sup>	40.95±2.07 <sup>c</sup>	7.99±1.10 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>e</sup>
	0.2	38	77.42±5.84 <sup>a</sup>	11.11±1.92 <sup>a</sup>	88.67±2.50 <sup>a</sup>	80.22±1.32 <sup>a</sup>
$\text{Pb}^{2+}$	0.4	41	65.46±6.63 <sup>b</sup>	15.56±1.93 <sup>ab</sup>	74.49±5.31 <sup>b</sup>	58.57±7.28 <sup>b</sup>
	0.8	44	49.83±2.78 <sup>c</sup>	26.67±6.67 <sup>b</sup>	48.06±2.44 <sup>c</sup>	33.27±3.51 <sup>c</sup>
	1.6	46	30.70±2.31 <sup>d</sup>	43.33±5.06 <sup>c</sup>	26.36±1.82 <sup>d</sup>	20.95±4.84 <sup>d</sup>

注：不同浓度的各处理组与对照组多重比较，差异性用字母表示 ( $P < 0.05$ )

Note: Cross-group comparisons; the significant difference is represented by the different letters ( $P < 0.05$ )

表 3  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 对七带石斑鱼仔鱼的影响  
Tab.3 Effects of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , and  $\text{Pb}^{2+}$  on the larvae of *E. septemfasciatus*

重金属 Heavy metals	浓度 Concentration (mg/L)	存活率 Survival rate (%)			畸形率 Abnormality rate (%)
		24 h	48 h	72 h	
对照组 Control	0	99.00±1.00 <sup>a</sup>	98.33±1.53 <sup>a</sup>	97.66±1.15 <sup>a</sup>	2.22±1.92 <sup>a</sup>
$\text{Cu}^{2+}$	0.02	86.67±2.31 <sup>b</sup>	78.67±4.04 <sup>b</sup>	75.67±4.04 <sup>b</sup>	23.20±8.97 <sup>b</sup>
	0.04	76.33±1.53 <sup>c</sup>	69.67±1.53 <sup>b</sup>	60.33±5.51 <sup>c</sup>	30.00±8.82 <sup>b</sup>
	0.08	59.67±4.04 <sup>d</sup>	47.00±5.57 <sup>c</sup>	33.67±3.21 <sup>d</sup>	40.00±8.82 <sup>bc</sup>
	0.16	40.00±5.29 <sup>e</sup>	30.67±4.16 <sup>d</sup>	23.00±3.61 <sup>e</sup>	55.33±1.77 <sup>c</sup>
	0.2	94.33±0.58 <sup>ab</sup>	91.33±0.58 <sup>ab</sup>	88.33±1.15 <sup>b</sup>	21.11±5.09 <sup>b</sup>
$\text{Zn}^{2+}$	0.4	90.33±0.58 <sup>b</sup>	83.67±2.89 <sup>b</sup>	75.00±1.00 <sup>c</sup>	32.22±7.70 <sup>bc</sup>
	0.8	80.33±0.58 <sup>c</sup>	68.33±3.21 <sup>c</sup>	54.00±4.00 <sup>d</sup>	38.89±5.09 <sup>c</sup>
	1.6	66.00±5.20 <sup>d</sup>	54.00±4.58 <sup>d</sup>	44.00±2.00 <sup>e</sup>	43.33±6.67 <sup>c</sup>
	0.2	92.33±2.08 <sup>b</sup>	89.00±1.00 <sup>b</sup>	88.33±1.15 <sup>b</sup>	22.44±5.09 <sup>b</sup>
$\text{Pb}^{2+}$	0.4	88.67±1.53 <sup>b</sup>	79.00±1.73 <sup>c</sup>	75.00±1.00 <sup>c</sup>	31.11±1.92 <sup>bc</sup>
	0.8	76.67±0.58 <sup>c</sup>	64.67±3.51 <sup>d</sup>	54.00±4.00 <sup>d</sup>	37.78±1.92 <sup>c</sup>
	1.6	58.33±1.53 <sup>d</sup>	43.33±3.21 <sup>e</sup>	44.00±2.00 <sup>e</sup>	48.89±1.92 <sup>d</sup>

注：同一时间不同浓度的各处理组与对照组多重比较，差异性用字母表示 ( $P < 0.05$ )

Note: Cross-group comparisons at the same time point; the significant difference is represented by the different letters ( $P < 0.05$ )

活率仅为(7.99±1.10)%，48 h 时全部死亡。

$\text{Pb}^{2+}$ 对仔鱼出膜时间的影响没有  $\text{Cu}^{2+}$ 和  $\text{Zn}^{2+}$ 明显。最高浓度为 1.6 mg/L 时，经 46 h 完全出膜，孵化率、畸形率和仔鱼的活力情况也相对较好；浓度为 0.2 mg/L 时，孵化率、畸形率和 24、48 h 仔鱼的存活

率均与对照组无差异，浓度为 1.6 mg/L 组仔鱼 48 h 的存活率为(20.95±4.84)%，明显高于  $\text{Cu}^{2+}$ 和  $\text{Zn}^{2+}$ 处理组。综合孵化速率、孵化率、畸形程度和畸形率等指标，3 种金属离子对胚胎发育的毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。

### 2.3 重金属对仔鱼的毒害效应

$\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  3 种金属离子对七带石斑鱼初孵仔鱼的毒性影响见表 3。从表 3 可看出,金属离子浓度和培育时间与仔鱼存活率呈负相关,与畸形率呈正相关。72 h 时,3 种金属离子各浓度组与对照组之间的存活率、畸形率均差异显著( $P < 0.05$ ),其中各离子的最高浓度组的存活率分别为(23.00±3.61)%、

(44.00±2.00)%和(44.00±2.00)%,畸形率分别为(55.33±1.77)%、(43.33±6.67)%和(48.89±1.92)%,与对照组的(97.66±1.15)%和(2.22±1.92)%差异显著( $P < 0.05$ )。

3 种金属离子对初孵仔鱼的半致死浓度( $LC_{50}$ )和安全浓度见表 4。从表 4 可看出, $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  的安全浓度分别为 0.009、0.288 和 0.192 mg/L,结合存活率和畸形率,3 种金属离子对初孵仔鱼的毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ 。

表 4 初孵仔鱼的  $LC_{50}$  值和安全浓度  
Tab.4 The  $LC_{50}$  and safety concentration of newly-hatched larvae

重金属 Heavy metals	$LC_{50}$ (mg/L)			安全浓度 Safe concentration (mg/L)	渔业标准 <sup>1)</sup> Fishery standard (mg/L)
	24 h	48 h	72 h		
$\text{Cu}^{2+}$	0.119	0.075	0.055	0.009	0.01
$\text{Zn}^{2+}$	2.493	1.814	1.120	0.288	0.10
$\text{Pb}^{2+}$	1.963	1.350	0.760	0.192	0.05

## 3 讨论

### 3.1 金属离子对胚胎和仔鱼的毒害机理

养殖水体中重金属离子浓度过高,不仅造成幼鱼及成鱼的急、慢性中毒,而且对鱼类的胚胎发育也有一定影响。在鱼类的生殖繁育时期,如果水中含有较多的重金属,就会影响鱼卵、鱼苗的正常发育,导致胚胎、鱼苗畸形或死亡等。

重金属离子对七带石斑鱼胚胎和仔鱼产生的毒害效应明显,主要是因为鱼类胚胎和早期仔鱼是其整个生活周期的最敏感阶段,重金属可通过卵膜或体表进入胚胎和仔鱼体内,造成直接的损害。如仔鱼运动异常、活力弱到最后大量死亡,可能是由于外来重金属与鱼体内许多具有重要生物活性的酶、核酸等生物分子的某些部位结合或与分子上的金属离子置换,造成原有的生物活性缺失、紊乱(柳学周等,2006);此外,许多金属会产生活性氧,对一些组织产生氧化损伤、引起钙平衡失调,同时还可干扰细胞中离子通道、细胞第二信使系统等信号途径,从而严重影响胚胎发育和器官分化,因此胚胎发育中发生的胚体增生、心腔肿大、尾芽和脊椎畸形等情况十分明显。

### 3.2 重金属离子对胚胎发育的影响

综合孵化速率、孵化率、畸形程度和畸形率等指标,3 种金属离子对七带石斑鱼胚胎发育的毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。近年来的一些研究,如柳学

周等(2006)研究的重金属对半滑舌鳎胚胎毒性大小为  $\text{Cu} > \text{Hg} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Pb}$ ;柳敏海等(2007)报道五重金属对早繁鳊鱼胚胎的毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cr}^{6+}$ ;庄平等(2009)研究的 3 种重金属对胚胎及初孵仔鱼毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ ,这些都与本文研究的结果一致。

3 种重金属离子对胚胎发育的毒害效应表现为:仔鱼的孵化时间延长,孵化率降低,仔鱼的活力差、畸形严重,一段时间后仔鱼出现大量死亡,且离子浓度越高,这种现象越明显,其结果与柳敏海等(2007)对早繁鳊鱼胚胎毒性的研究相一致。不过,在重金属对孵化时间的影响方面还存在一些差异,如有的研究发现,低浓度  $\text{Cd}^{2+}$  能促进半滑舌鳎的胚胎发育,缩短孵化时间(柳学周等,2006); $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  4 种重金属均不同程度加快了褐点石斑鱼胚胎的发育速率(白丽蓉等,2008)。经分析发现,促进胚胎发育的重金属离子浓度较之延缓胚胎发育的要低,因此,重金属离子浓度不同,鱼类胚胎的孵化酶是被激活还是被破坏,会存在很大的差异,但其具体机理有待于进一步研究。

### 3.3 重金属离子对初孵仔鱼的毒害效应

通过对半致死浓度( $LC_{50}$ )和安全浓度的计算得出,3 种重金属离子对初孵仔鱼的毒性大小依次为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ ,其中, $\text{Cu}^{2+}$ 对七带石斑鱼仔鱼的安全浓度比国家渔业水质标准中的最大允许浓度要低

1) GB/T 11607-89, 中华人民共和国国家渔业水质标准

(0.01 mg/L), 而  $Pb^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  的相对较高些, 这些都与柳学周等(2006)报道的重金属对半滑舌鲷初孵仔鱼的毒性和柳敏海等(2007)报道的5种金属对鲢鱼初孵仔鱼的毒性结果相一致, 这就提醒无论是在海洋环境保护, 还是鱼类养殖中要重视铜污染的危害性和做好相应的防治工作, 同时也能为我国对渔业水质标的修订完善提供一定的数据参考。

值得注意的是, 有些研究在重金属对胚胎和仔鱼的毒性大小上存在一定差异, 如3种重金属对纹缟虾虎鱼胚胎和初孵仔鱼毒性大小都为  $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Pb^{2+}$  (庄平等, 2009); 重金属对泥鳅的胚胎发育和初孵仔鱼的毒性大小为  $Cu^{2+} > Hg^{2+} > Zn^{2+} > Pb^{2+}$  (周立红等, 1994), 而本研究结果显示, 3种重金属对七带石斑鱼胚胎和初孵仔鱼的毒害大小不一致, 分别为  $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Pb^{2+}$  和  $Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$ , 与吴鼎勋等(1999)和柳敏海等(2007)的研究结果相同。这些都进一步说明鱼的种类不同、发育阶段不同, 重金属产生的毒害效应是有差异的(段彪等, 2008)。另外, 包括本研究在内的所有研究均显示重金属对胚胎的毒害影响要大于对初孵仔鱼的, 其原因可能是胚胎发育是组织器官的重要形成阶段, 各生理代谢、免疫等方面都还十分脆弱, 重金属离子进入胚胎后易对其产生直接损害, 而初孵仔鱼由于机体的组织器官趋于完善, 对外界重金属离子有了一定的抵抗和耐受能力。

## 参 考 文 献

- 孙元芹, 吴志宏, 孙福新, 等. 2013. 文蛤对重金属 Cu 的富集与排出特征. 渔业科学进展, 34(1): 126-132
- 庄平, 赵优, 章龙珍, 等. 三种重金属对长江口纹缟虾虎鱼早期发育的毒性作用. 长江流域资源与环境, 2009, 18(8): 719-724
- 刘新富, 庄志猛, 孟振, 等. 七带石斑鱼人工繁育技术研究进展. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1128-1136
- 吴鼎勋, 洪万树. 四种重金属对鲢状黄姑鱼胚胎和仔鱼的毒性. 台湾海峡, 1999, 18(2): 186-190, T001
- 陈超, 程波, 于宏, 等. 七带石斑鱼繁殖群体“突眼”病原菌的分离与鉴定. 渔业科学进展, 2010, 31(1): 25-33
- 汪远丽, 曲克明, 单宝田, 等. 重金属在小球藻-菲律宾蛤仔食物链上的传递与累积. 渔业科学进展, 2012, 33(1): 79-85
- 周立红, 陈学豪, 秦德忠. 四种重金属对泥鳅胚胎和仔鱼毒性的研究. 厦门水产学院学报, 1994, 16(1): 11-19
- 柳学周, 徐永江, 兰功刚. 几种重金属离子对半滑舌鲷胚胎发育和仔稚鱼的毒性效应. 海洋水产研究, 2006, 27(2): 33-42
- 柳敏海, 陈波, 罗海忠, 等. 五种重金属对早繁鲢鱼胚胎和仔鱼的毒性效应. 海洋渔业, 2007, 29(1): 57-62
- 钟声平, 陈超, 王军, 等. 七带石斑鱼染色体核型研究. 中国水产科学, 2010, 17(1): 150-155
- 段彪, 黄文清. 4种重金属离子对淡水石斑胚胎及仔鱼的毒性试验. 南方农业, 2008, 2(4): 19-20
- 程波, 陈超, 王印庚, 等. 七带石斑鱼肌肉营养成分分析与品质评价. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 51-57
- 谢菁, 区又君, 李加儿, 等. 七带石斑鱼胚体和卵黄囊期仔鱼的发育. 海洋通报, 2009, 28(2): 41-49

(编辑 冯小花)

## The toxic effects of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Pb<sup>2+</sup> on the embryos and larvae of *Epinephelus septemfasciatus*

KONG Xiangdi<sup>1,2</sup>, CHEN Chao<sup>2</sup>, LI Yanlu<sup>2</sup>, JIA Ruijin<sup>1,2</sup>, YU Huanhuan<sup>1,2</sup>,  
ZHAI Jieming<sup>3</sup>, LIU Jiangchun<sup>3</sup>

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laizhou Mingbo Fisheries Limited Company, Yantai 261418)

**Abstract** The current study investigated the toxic effects of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Pb<sup>2+</sup> on the embryos and larvae of *Epinephelus septemfasciatus*. The results indicated that as the three heavy metals ion levels increased the fertilized egg hatching speed and the hatching rate gradually declined while the malformation rate gradually increased. The malformation of the embryos and larvae included bended tail sprouts, incomplete hatching, the “L”, “S” and “V”-shaped vertebrate of newly-hatched larvae and comma-shaped un-expanded tail deformity. Based on the comprehensive hatching rate, hatching rate and malformation rate, the toxicity to the embryonic development of these heavy metal ions were: Cu<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Pb<sup>2+</sup>. The newly-hatched larvae toxicity test cycle was 96 h. The survival rate of the larvae gradually reduced with the increased time. The increased concentrations of these heavy metal ions dramatically decreased the survival rate while increased the number of deformity. Based on the time period of the half lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and the safety concentration, the toxicity of three heavy metal ions on the newly-hatched larvae were: Cu<sup>2+</sup> > Pb<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup>. These results may contribute to the formulation of new fishery water quality standard and parameters of water environment monitoring and provide important scientific basis for *E. septemfasciatus* breeding of heavy metal monitoring and management.

**Key words** *Epinephelus septemfasciatus*; Metal ions; Embryos; Larvae; Toxic effects