

悬浮物对半滑舌鲷胚胎和初孵仔鱼的毒性效应

周勇^{1,2} 马绍赛^{2*} 曲克明² 陈聚法² 徐勇²

(¹上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

(²农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 研究了不同浓度悬浮物对半滑舌鲷 *Cynoglossus semilaevis* Günther 胚胎和初孵仔鱼的毒性效应。实验结果表明,悬浮物对半滑舌鲷胚胎的孵化时间影响不明显,悬浮物浓度 ≤ 200 mg/L 时,胚胎孵化率与对照组无明显差异 ($P > 0.05$),悬浮物浓度 ≥ 800 mg/L 时,其胚胎孵化率与对照组有极显著差异 ($P < 0.01$),悬浮物浓度 ≥ 200 mg/L 时,初孵仔鱼畸形率与对照组有极显著差异 ($P < 0.01$)。通过 Bliss 法计算,悬浮物对半滑舌鲷胚胎的起始半致死浓度(95%可信限)为 1 974.8 mg/L (1 375.4~2 835.5 mg/L),安全浓度(SC)为 197.5 mg/L;对初孵仔鱼的 48 和 96 h LC_{50} (95%可信限)分别为 226.9 mg/L (204.6~251.7 mg/L) 和 202.9 mg/L (182.3~225.9 mg/L), SC 为 20.29 mg/L。

关键词 悬浮物 半滑舌鲷 胚胎 初孵仔鱼 毒性效应

中图分类号 S931.3;Q178.1 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2009)03-032-06

Toxic effects of suspended substances (SS) on the embryos and newly-hatched larvae of *Cynoglossus semilaevis* Günther

ZHOU Yong^{1,2} MA Shao-sai^{2*} QU Ke-ming² CHEN Ju-fa² XU Yong²

(¹ College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, 201306)

(² Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT Studies on the toxic effects of suspended substances (SS) on the embryos and newly-hatched larvae of *Cynoglossus semilaevis* Günther were conducted in laboratory in October 2007. The results showed that the effect of SS on hatching time was not evident. When the SS concentration was less than 200 mg/L, there was no significantly difference in hatching rate ($P > 0.05$) between the treatment and control. When the SS concentration was more than 200 mg/L, there were significant difference between the treatment and control in embryos hatching rate and deformity rate of newly-hatched larvae ($P < 0.01$). The Incipient LC_{50} (95% confidence limits) of SS to embryo was 1 974.8 mg/L (1 375.4~2 835.5 mg/L), and the safety concentration(SC) was 197.5 mg/L. The 48 h LC_{50} and 96 h LC_{50} (95% confidence limits) of SS to newly-

国家科研院所科研专项资金项目(2060302/2)资助

* 通讯作者。E-mail: mass@ysfri.ac.cn, Tel: (0532) 85813271

收稿日期: 2008-03-19; 接受日期: 2008-05-12

作者简介: 周勇(1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事海洋生态环境研究。E-mail: zhoyong_2002@163.com

hatched larvae were 226.9 mg/L (204.6~251.7 mg/L) and 202.9 mg/L (182.3~225.9 mg/L), respectively, and the SC was 20.29 mg/L.

KEY WORDS Suspended substances (SS) *Cynoglossus semilaevis* Günther
Embryos Newly-hatched larvae Toxic effects

近些年来,随着我国经济的迅速发展,海岸和海洋工程项目越来越多,如港口码头建设、桥梁建设、填海造地及疏浚倾废等,其施工过程中不可避免地产生水体底泥悬浮,造成附近海域悬浮物浓度大幅度升高,这不仅对水域的物理、化学环境产生影响,而且对海洋动物、尤其是逃逸能力弱的动物及幼体的摄食、生长、繁殖甚至存活产生严重影响。

鱼类在早期发育阶段,即从胚胎至仔鱼孵化后 30~60 d 这一发育阶段,对毒物的反应比成鱼时期更为敏感,是整个生命周期中敏感性最强的阶段(Mckim 1977)。目前,国内外有关学者在悬浮物对水生动物的摄食(宋强等 2006;McCabe 1983)、行为反应(Bisson 1982)、生理机能(Cordone 1949)和致死效应(李纯厚等 1997;刘广远等 1998;马明辉等 2004)等方面的影响有一定研究,但大多局限于成体阶段。半滑舌鲷 *Cynoglossus semilaevis* Günther 为我国近海肉味鲜美、经济价值很高的名贵海水鱼类。本文通过研究悬浮物对半滑舌鲷胚胎和初孵仔鱼的毒性效应,旨在为其养殖生产和导致近岸海水中悬浮物浓度发生突然变化的海岸和海洋工程对海洋动物的损害评估与环境影响评价提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼

实验用半滑舌鲷受精卵、初孵仔鱼均取自于山东省海阳市黄海水产有限公司。受精卵通过 4 龄亲鱼自然产卵受精获得,采卵水温 23.4 °C,盐度 31,实验开始时受精卵处于多细胞期或桑葚期,挑选发育正常的上浮好卵用于实验。实验用初孵仔鱼取自胚胎出膜后 1 h 内,挑选健康、活泼和大小一致的个体用于实验。

1.1.2 实验泥

实验泥采集于海阳沿海滩涂,一次性采足 200 kg,带回实验室在通风处摊开晒干,再在烘箱中 60 °C 条件下烘干至恒重,冷却后研磨成粉末状,于干燥器中低温保存。泥中硫化物、重金属(Hg、Cu、Zn、Pb 和 Cd)和油类物质等主要成分含量见表 1,各要素的检测参照《海洋监测规范》(GB 17378-1998)进行。

表 1 实验泥主要成分含量 (10⁻⁶)
Table 1 The main components of the mud

样品号 No.	硫化物 Sulfide	重金属 Heavy metal					油类物质 Oil
		Hg	Cu	Zn	Pb	Cd	
1	8.4	0.08	11.7	51.0	1.4	nd	14
2	8.3	0.08	11.8	55.0	1.8	nd	13
3	8.4	0.08	12.8	47.0	1.9	nd	13
平均 Average	8.4	0.08	12.1	51.0	1.7	nd	13
标准 * Standard	300.0	0.20	35.0	150.0	60.0	0.50	500

注:nd 为未检出; * 海洋沉积物质量第一类标准(GB 18668-2002)

1.1.3 实验海水

实验海水为砂滤海水,WT 23 ± 1 °C,盐度 30~33,pH 8.0~8.2,DO(5.9 ~ 7.4) mg/L,NH₄-N(0.008 ~ 0.229) mg/L,NO₂-N(0.001 ~ 0.004)mg/L,NO₃-N(0.284~0.395) mg/L,PO₄-P(0.015 ~ 0.018) mg/L

L。

1.2 方法

1.2.1 悬浮物溶液的配制

将烘干泥样与海水按一定比例混合,充分搅拌 30 min,再让它静止沉淀 2 h,取上层悬浮物溶液过 400 目筛绢,微波重量法(林培喜等 2003)测定其浓度,将其作为母液低温保存,实验时再将其和海水按照一定体积比例配制成各浓度梯度悬浮物溶液。

1.2.2 悬浮物对半滑舌鲷胚胎的毒性实验

悬浮物浓度梯度设置为 50、100、200、400、800、1 600 和 3 200 mg/L,每个梯度均设置两个平行组,另外设置相应的对照组(为砂滤海水,不加泥样)。实验容器为 1 000 ml 烧杯,加入各浓度梯度悬浮物溶液 800 ml,水浴控温,充气泵充气,每 24 h 更换 1 次悬浮物溶液,每个烧杯加入受精卵 100 粒,观察其孵化时间、孵化率、胚胎死亡率以及初孵仔鱼畸形率,并及时清除沉卵。实验重复两次。

1.2.3 悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的毒性实验

实验参照国家标准《水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法》(GB/T 13267-91)进行,悬浮物浓度梯度的设置与胚胎的毒性实验相同,每个烧杯加入初孵仔鱼 20 尾,整个实验过程不投饵。分别在实验后 24、48、72 和 96 h 观察记录初孵仔鱼死亡情况,并及时清除死亡个体。实验重复两次。根据实验数据求出悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的 48 h LC_{50} 、96 h LC_{50} 和 SC 。

死亡判定:用玻璃棒触动身体 5s,无任何反应即视为死亡。

1.2.4 实验数据的处理

数据的分析和整理运用 SPSS 软件。悬浮物对半滑舌鲷胚胎的起始半致死浓度和初孵仔鱼的 48 和 96 h LC_{50} (95%可信限区间)运用 Bliss 法来计算,并通过公式 $SC=[96 \text{ h } LC_{50}] \times 0.1$ (雷衍之 2003) 计算悬浮物对胚胎和初孵仔鱼的安全浓度。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度悬浮物对半滑舌鲷胚胎的毒性效应

不同浓度悬浮物中,半滑舌鲷胚胎的孵化时间、孵化率、胚胎死亡率以及初孵仔鱼畸形率如表 2 所示。孵化时间各浓度组与对照组没有明显差别,主要集中在 33~36 h 之间;孵化率随着悬浮物浓度的增加而降低(图 1),而胚胎死亡率和初孵仔鱼畸形率(图 2)则随着悬浮物浓度的增加而升高。当悬浮物浓度 ≤ 200 mg/L 时,其胚胎孵化率和死亡率与对照组无明显差异($P>0.05$);当悬浮物浓度为 400 mg/L 时,其胚胎孵化率和死亡率与对照组有显著差异($P<0.05$);当悬浮物浓度 ≥ 800 mg/L 时,胚胎孵化率和死亡率与对照组有极显著差异($P<0.01$)。初孵仔鱼身体平衡性差,反应迟钝,畸形率高,有的甚至未完全孵出就解体死亡。悬浮物对半

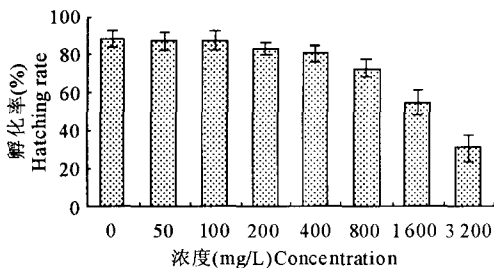


图 1 悬浮物对半滑舌鲷胚胎孵化率的影响
Fig. 1 Effects of suspended substances on embryo hatching rate

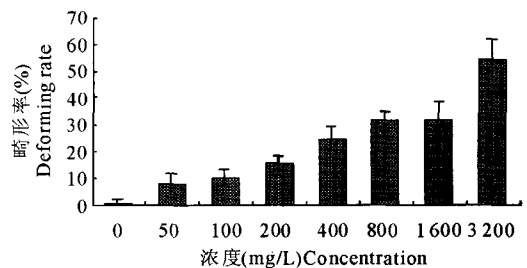


图 2 悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼畸形率的影响
Fig. 2 Effects of suspended substances on newly-hatched larvae deformity rate

滑舌鲷初孵仔鱼的致畸效应主要表现在鱼体躯干、尾部弯曲,呈L,S,V等形状。当悬浮物浓度为50 mg/L时,初孵仔鱼畸形率与对照组无明显差异($P>0.05$);当悬浮物浓度为100 mg/L时,其畸形率显著高于对照组($P<0.05$);当悬浮物浓度 ≥ 200 mg/L时,其畸形率与对照组有极显著差异($P<0.01$)。

通过 Bliss 法计算得到,悬浮物对半滑舌鲷胚胎的起始半致死浓度(95%可信限)为 1 974.8 mg/L (1 375.4~2 835.5 mg/L),安全浓度(SC)为 197.5 mg/L(表 3)。

表 2 悬浮物对半滑舌鲷胚胎孵化的毒性影响

Table 2 Toxic effects of suspended substances on embryos hatching

浓度 (mg/L) Concentration	孵化时间(h) Hatching time	孵化率(%) Hatching rate	胚胎死亡率(%) Mortality rate	初孵仔鱼畸形率 Deformity rate
对照组(Control)	33~35	88.67	11.33	0.82
50	33~35	87.33	12.67	7.32
100	33~35	88	12	9.93*
200	33~35	83.5	16.5	15.54**
400	33~35	80.83*	19.17*	24.77**
800	33~36	73.3**	26.67**	31.5**
1 600	34~36	55**	45**	31.39**
3 200	34~36	31**	69**	54.5**

注: * 表示差异显著; ** 表示差异极显著

表 3 悬浮物对半滑舌鲷胚胎和初孵仔鱼急性毒性效应结果

Table 3 The acute toxic effects of suspended substances on embryo and newly-hatched larvae

试验鱼苗阶段 Development stage	48 h LC ₅₀ (mg/L)	96 h LC ₅₀ (mg/L)	起始 LC ₅₀ (mg/L) Incipient LC ₅₀	SC (mg/L)	剂量-反应相关曲线 Regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient
胚胎 Embryo	—	—	1 974.8 (1 375.4~2 835.5)	197.5	$Y=0.9245X+1.9532$	0.916
初孵仔鱼 Newly-hatched larvae	226.9 (204.6~251.7)	202.9 (182.3~225.9)	—	20.29	$Y=3.0091X-1.9429$	0.983

注: Y 为概率单位; X 为浓度对数

2.2 不同浓度悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的急性毒性

不同浓度悬浮物的毒性效应程度有所不同,浓度越高,毒性效应越强。各浓度组中初孵仔鱼的中毒症状基本相似,开始体表黏液分泌增多,出现急躁不安,沿烧杯侧壁忽上忽下狂游或在水面原地转圈,并不时与烧杯侧壁发生碰撞,一段时间后游动趋于缓慢,身体失去平衡,逐渐麻痹昏迷致死。高浓度组中初孵仔鱼的中毒反应较为明显且迅速,短时间内就出现死亡;低浓度组中毒反应则比较缓慢,要经过较长时间才会出现死亡。悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的致死效应主要发生在 24 h 内,24 h 后死亡率有大幅度下降,说明初孵仔鱼在悬浮物溶液中生活一段时间后,对该环境产生了一定的适应性。

悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼致死效应的影响见表 4。随着悬浮物浓度和时间的增加,初孵仔鱼死亡率明显增高。悬浮物浓度为 50 mg/L 时,其 96 h 死亡率与对照组有显著差异($P<0.05$);悬浮物浓度 ≥ 100 mg/L 时,其 96 h 死亡率与对照组有极显著差异($P<0.01$)。通过 Bliss 法计算得到,悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的 48 和 96 h LC₅₀ (95%可信限)分别为 226.9 mg/L (204.6~251.7 mg/L) 和 202.9 mg/L (182.3~225.9 mg/L),SC 为 20.29 mg/L (表 3)。其 48 和 96 h LC₅₀ 比较接近,说明实验后期初孵仔鱼对悬浮物表现出了一定的

适应性,其死亡率显著下降。

表4 悬浮物对半滑舌鲷初孵仔鱼的致死效应

Table 4 Lethal effects of suspended substances on newly-hatched larvae

浓度 (mg/L) Concentration	死亡率 (%) Mortality rate			
	24 h	48 h	72 h	96 h
对照组 (Control)	4.34	6.00	7.88	9.36
50	4.37	8.63	11.44	13.74
100	10.75	15.16	17.43	19.89
200	27.87	52.04	58.89	63.61
400	67.71	86.87	95.61	98.76
800	91.22	99.57	100.00	100.00
1 600	100.00	100.00	100.00	100.00
3 200	100.00	100.00	100.00	100.00

2.3 毒性效应机理分析

鱼类等水生动物对水环境的变化十分敏感,当水体中有毒物质达到一定质量浓度时,就会引起一系列中毒反应,因而被广泛用于毒物和废水的生物监测、评价,进而据此进行质量标准和排放标准的制定以及工业废水的管理等(王晓辉等 2007)。悬浮物作为近海水体一种常见的污染物,不仅对水体的理化环境产生影响,而且对水生动植物的生存也会产生影响。李纯厚等(1997)研究了南海海港疏浚淤泥悬浮物对海洋动物的急性毒性效应,WT为22.0~24.0时,悬浮物对卤虫无节幼体的96 h LC₅₀和浮游桡足类的48 h LC₅₀分别为72 mg/L和62 mg/L,对前鳞鲷幼鱼的48和96 h LC₅₀分别为769.9和556.3 mg/L;刘广远等(1998)研究了疏浚物对二龄栉孔扇贝的96 h致死效应,其半致死浓度达到了100 000 mg/L;王广军等(2007)研究了不同浓度的底泥悬浮物(100、200、300和400 mg/L)对杂色鲍的急性毒性效应,结果杂色鲍均无死亡,300和400 mg/L试验组杂色鲍的活性明显下降。从本实验结果可以看出,悬浮物对半滑舌鲷胚胎和初孵仔鱼的毒性效应明显,当悬浮物浓度为400 mg/L时,其胚胎孵化率和死亡率显著受到影响;当悬浮物浓度为100 mg/L时,初孵仔鱼畸形率显著受到影响;大多数半滑舌鲷胚胎虽然能在一定浓度的悬浮物溶液中继续发育,并破膜而出,但初孵仔鱼活力很差;高浓度组(1 600 mg/L以上)中的初孵仔鱼24 h内就全部死亡。

鱼类胚胎的孵化出膜主要靠两方面的作用,即胚体运动和孵化酶的作用(楼允东 1965),实验中胚胎的致死效应可能是由于悬浮物的存在直接或间接地破坏了孵化酶的作用机制或抑制了胚体的运动机制而造成。而初孵仔鱼的致死效应可能由以下两方面原因引起:一方面悬浮物颗粒的存在改变了水体的光照条件,从而引起某些水质环境条件的变化,而仔鱼的组织器官和生理机能此时正处于发育和完善阶段,由于水质环境条件的改变极易造成其新陈代谢的紊乱而导致其死亡;另一方面很有可能由于缺氧窒息导致死亡,虽然充气泵的连接充气使得水体中的溶解氧处于较高而稳定的水平,但水体中微细悬浮物颗粒(粒径 $\leq 38 \mu\text{m}$)的存在阻碍了初孵仔鱼的呼吸器官,通过镜检发现,死亡个体的鳃部不同程度地分布有悬浮物颗粒,而悬浮物中的主要有毒成分含量(表1)远低于海洋沉积物质量第一类标准,基本不会对受试动物产生毒害作用,这也就排除了其他毒物作用的可能性。

从表4可以看出,胚胎的起始半致死浓度远大于初孵仔鱼的96 h半致死浓度。这很可能与卵膜的保护作用有关。虽然初孵仔鱼内部组织器官和功能要较胚胎时期完善,但在短时间内,卵膜的存在一定程度上阻止和减缓了悬浮物颗粒通过绒毛膜进入胚胎的内部,从而减少了毒物的效应时间而减轻了毒害作用。这与Erichsen(1964)研究苯酚对鱼类早期发育阶段毒性时发现的卵子对毒物的抗性超过胚后阶段相一致。

3 结语

在自然水域环境中,悬浮物颗粒的来源和种类复杂多变,而且它还是许多污染物(重金属、农药等)的载体,

其各成分之间可能存在拮抗、叠加或协同作用,故悬浮物对水生生物的影响尤其是对处于敏感阶段的胚胎及仔稚幼鱼的影响非常复杂。本研究为单因素实验,因此,悬浮物多种成分对半滑舌鳎胚胎、仔稚幼鱼的联合毒性效应以及毒性表现的生理生态的毒理还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 马明辉,宫强,刘述锡,陈红星,宋云香. 2004. 悬浮物对虾夷扇贝致死效应的研究. 海洋环境科学, 23(3): 46~48
- 王广军,谢骏,余德光,乌兰,胡朝莹. 2007. 杂色鲍对底泥悬浮物胁迫的生理响应. 大连水产学院学报, 22(5): 352~356
- 王晓辉,金静,任洪强,杜利平. 2007. 水质生物毒性检测方法研究进展. 河北工业科技, 24(1): 58~62
- 刘广远,贺伟,邵秘华,张德福,宋云香. 1998. 疏浚物对栉孔扇贝急性致死量的实验研究. 海洋环境科学, 17(3): 19~23
- 李纯厚,林燕棠,杨美兰,全桂英. 1997. 南海海港疏浚淤泥悬浮物对海洋动物的急性毒性效应. 中国环境科学, 17(6): 550~553
- 宋强,方建光,刘慧,张继红,王玲玲,王巍. 2006. 沉积再悬浮颗粒物对3种滤食性贝类摄食生理的影响. 海洋水产研究, 27(4): 21~28
- 林培喜,柯德富. 2003. 微波干燥重量法测定环境水样中悬浮物的含量. 化学分析计量, 12(3): 37~38
- 雷衍之. 2003. 养殖水环境化学. 北京: 中国农业出版社, 191~203
- 楼允东. 1965. 鱼类孵化酶. 动物学杂志, 7(3): 97~101
- GB 17378-1998. 海洋监测规范
- GB 18668-2002. 海洋沉积物质量
- GB/T 13267-91. 《水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法》
- Bisson, P. A. 1982. Avoidance of suspended sediment by juvenile Coho Salmon. *Nor. Am. J. Fish Manag.* 2: 371~374
- Cordone, A. J. 1949. The influences of inorganic sediment on the aquatic life of streams. *Cal. Fish Game.* 47: 189~228
- Erichsen, J. R. 1964. The effects of pollution on fish eggs. In: *Fish and River Pollution*. London Butterworths, 186~193
- McCabe, G. D. 1983. The effects of suspended silt on feeding and reproduction of *Daphnia pulex*. *Am. Mid. Nat.* 110: 324~337
- Mckim, J. M. 1977. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. *Fish. Res. Board. Can.* 35: 112~118