

铜对大鱗泥鰌幼鱼的毒性

周永欣 周仁珍 徐立红

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

本文用流水和换水式试验, 在水硬度为 115mg/L(以 CaCO_3 计)条件下研究了铜对大鱗泥鰌幼鱼生长和存活的影响。试验从刚孵出的幼鱼开始, 流水式试验持续 30d, 换水式试验历时 16d。结果表明, 在流水条件下铜对泥鰌幼鱼存活有明显影响的可观察效应浓度最低是 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$, 而无可观察效应浓度则为 25.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。根据对现存量的影响, 用换水式试验测得铜的最低可观察效应浓度为 38 $\mu\text{g}/\text{L}$, 无可观察效应浓度是 19 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

关键词 大鱗泥鰌, 最低可观察效应浓度, 无可观察效应浓度, 铜

铜对淡水鱼类的慢性毒性, 国外已进行了很多研究^[1-4]。这类试验从胚胎或幼鱼开始, 持续到子一代幼鱼结束, 试验周期为一年左右。鱼类慢性毒性试验虽然是评价有毒化学品对水生生物潜在危害的重要手段, 但由于试验周期长和耗资大, 因而它的应用也就受到了限制。McKimm(1977)^[5], Macek 和 Sleight(1977)^[6]总结了有关鱼类慢性毒性试验和早期生活阶段试验的资料, 对绝大多数被试验过的有毒化学物质来说, 由早期生活阶段试验求得的最大允许毒物浓度(MATC)与慢性试验的结果相等或相接近, 认为胚胎和幼鱼阶段是对毒物最敏感的阶段。但是, 完成一次鱼类早期生活阶段试验也仍需 30—90d 时间。Norberh 和 Mount(1985)^[7]用黑头软口鱼的幼鱼为材料, 以死亡和生长作为观察指标, 采用换水式进行 7d 试验, 所得结果就能很好地对有毒化学品和工业废水的潜在危害作出评价, 从而进一步缩短了试验持续时间。

在我们的工作中发现, 泥鰌幼鱼对有毒化学物质的敏感性与草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)和鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)的幼鱼相近^[8], 泥鰌幼鱼在实验室条件下比较容易饲养, 而且生长快, 采用人工受精方法几乎全年都可以获得受精率很高的胚胎。因此, 本文采用大鱗泥鰌幼鱼作为试验材料, 观察了铜对泥鰌幼鱼的亚慢性毒性, 期望能发展成为一种快速评价有毒化学品对水生生物影响的试验方法。

材料和方法

试验用的大鱗泥鰌(*Misgurnus mizolepis*)幼鱼由本实验室提供, 人工受精方法获得胚胎, 用刚孵化的幼鱼开始试验。试验采用流水式和换水式两种方式进行, 流水式试验用

• 国家自然科学基金资助项目。
1990 年 5 月 4 日收到。

的容器为 $18 \times 6.5 \times 8.5$ cm 的玻璃容器, 保持 750ml 试验溶液, 换水式试验的容器为 12×7 cm 的玻璃结晶皿, 盛 500ml 试验溶液。流水式试验和换水式试验, 每个试验容器放 20 尾试验鱼。流水式试验采用 Benoit (1982)^[9]设计的按比例稀释装置, 稀释系数为 0.5, 每个试验容器的流量 52ml/min。

流水式试验的试验浓度是 150、75、38、19、9.5 $\mu\text{g Cu}^{2+}/\text{L}$ 及对照组, 每个浓度组和对照组均设四个平行。换水式试验的浓度为 150、75、38、19、9.5、4.8 $\mu\text{g Cu}^{2+}/\text{L}$ 和对照, 每个试验组设两个平行。铜的贮备液用硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 加蒸馏水配制, 配好后加几滴 6mol/L 盐酸, 防止出现沉淀。换水式试验用的贮备液的浓度为 15 $\text{mg Cu}^{2+}/\text{L}$, 实测浓度过 5.8 $\text{mg Cu}^{2+}/\text{L}$ 。流水式试验用的贮备液浓度根据试验设置的最高浓度及稀释水和贮备液进入稀释系统的流量来确定, 本试验贮备液的浓度是 33.92 $\text{mg Cu}^{2+}/\text{L}$ 。

换水式试验历时 16d, 流水式试验持续 30d。流水式和换水式试验隔天测量一次 pH 和溶解氧, 试验期间的溶解氧在 5—5.7mg/L 之间, pH 为 7.2—7.6。此外, 流水式试验定期取水样, 用原子吸收分光光度仪测定铜的浓度(回收率为 96%)。流水式试验铜的设置和实测浓度见表 1。换水式试验每天更换一次试验溶液。试验幼鱼卵黄囊吸收后每天上午、下午各投喂一次蛋黄粉, 3d 后改喂刚孵化出的丰年虫 (*Artemia salina*)。试验溶液温度保持 20—21°C, 光暗比为 12:12。每天观察记录各试验容器鱼的死亡数和畸形数。稀释水采用经存放 5d 以上的脱氯自来水, 硬度为 115mg/L(以 CaCO_3 计)。

表 1 铜的设置和实测浓度

Tab. 1 Nominal and measured concentrations of copper

设置浓度($\mu\text{g/L}$) Nominal concentration	实测浓度($\mu\text{g/L}$) Measured concentration		
	平均值 Mean	范围 Range	标准差 SD
150	174.7	154—188	16.8
75	101.0	79.6—122.1	15.1
38	41.2	35.1—45.4	4.4
18	25.2	17.8—28.4	4.7
9.5	13.7	10.3—14.8	1.8
对照 Control	2.8	2.0—4.1	0.8

试验结束前 1d 停止投饵, 试验结束时各容器的试验鱼先用乙醇固定, 再用蒸馏水清洗后放入已称恒重的铝纸小碟内, 在 104°C 条件下烘干, 分析天平称恒重。所得死亡和生长数据用方差分析和 Dunnett 检验进行统计处理^[10], 图解法计算 LC_{50} ^[11]。

结 果

1. 流水式试验

最高浓度组(174.7 $\mu\text{g/L}$)试验开始的第 1d 就出现死鱼, 到第 4d 全部死亡。101 $\mu\text{g/L}$ 浓度组第 3d 出现死鱼, 试验第 14d 各浓度组平均死亡率从最高浓度组开始, 依次分别是: 100, 69.5, 19.2, 11.25 和 3.75%, 由此而计算出铜的 14d LC_{50} 是 69 $\mu\text{g/L}$, 95% 置信限为

57—89.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

试验结束时,各浓度组试验鱼的累计死亡数列入表2。方差分析表明,随着浓度的增加死亡率上升的差异非常显著($F = 98.27$, $F_{0.01} = 5.00$)。Dunnett 检验看到 25.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度组的死亡率与对照组无显著性差异($Lsd_{0.05} = 0.054$),而 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度组的死亡率则与对照组的差异非常显著($Lsd_{0.05} = 0.086$)。因此,以死亡率作为效应指标,铜对大鳞泥鳅幼鱼的最低可观察效应浓度(NOEC)为 25.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

表 2 试验结束时泥鳅幼鱼的累计死亡率

Tab. 2 Mortality of juvenile loach after thirty days of exposure to copper

平行 Replicates	铜的实测浓度($\mu\text{g}/\text{L}$) Measured concentration of copper					
	174.7	101	41.2	25.2	13.7	对照 Control
A	100	66.6*	52.6**	5	5	15
B	100	76.2*	35	20	10	5
C	100	75	25	15	15	10
D	100	75	15	10	10	10
平均 Mean	100	72.2	31.9	12.5	10	10
SD	0	3.96	16.03	6.4	4.08	4.08

* 试验鱼 18 尾; ** 试验鱼 19 尾。

铜对泥鳅幼鱼生长的影响,各试验组每尾幼鱼的平均干重及平均现存量(以干重表示)数据分别列于表 3 和表 4。

表 3 经铜暴露 30d 时泥鳅幼鱼的平均体重

Tab. 3 Dry weight of juvenile loach after 30 days of exposure to copper

平均铜浓度($\mu\text{g}/\text{L}$) Mean copper concentration	泥鳅幼鱼干重(mg)				平均 Mean	
	Dry weight of the larvae					
	A	B	C	D		
101	7.96	9.26	8.91	6.72	8.21	
41.2	10.58	7.60	8.62	7.07	8.47	
25.2	5.07	7.22	7.12	7.25	6.67	
13.7	6.72	6.04	7.42	7.48	6.92	
对照 Control	6.51	6.61	7.10	7.24	6.87	

表 4 铜对泥鳅幼鱼 30d 的现存量的影响

Tab. 4 Effect of copper on the standing crop of juvenile loach at the end of 30 days exposure

铜浓度($\mu\text{g}/\text{L}$) Copper concentration	现存量(mg) Standing crop				平均 Mean	标准差 SD
	A	B	C	D		
101	47.76	46.28	44.57	33.58	43.05	6.44
41.2	95.26	98.78	129.26	129.29	113.14	18.67
25.2	96.42	115.56	121.07	130.43	115.87	14.35
13.7	127.66	108.76	126.13	116.60	119.79	8.83
对照 Control	110.59	125.62	127.83	130.24	123.57	8.86

101 和 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度组每尾幼鱼的平均干重是 8.21 和 8.47 mg, 对照组的鱼平均体重 6.87 mg, 其它两个较低浓度组幼鱼的体重与对照组相接近(表 3), 因此无法由平均体

重指标求出 NOEC 和 LOEC。

表 4 的现存量数据经方差分析($F=31.13, F_{0.01}=5.65$)和 Dunnett 检验看到, 对照组的现存量与 41.2(Lsd_{0.05}=22.59)、25.2(Lsd_{0.05}=20.88)和 13.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Lsd_{0.05}=18.22)浓度组的现存量均无显著性差异, 而与 101 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Lsd_{0.01}=30.72)浓度组的现存量则差异非常显著。因此, 根据现存量求得铜对大鳞泥鳅幼鱼生长影响的无可观察效应浓度为 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$, 而最低可观察效应浓度则是 101 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。由现存量求得的 NOEC 和 LOEC 显然大于根据死亡率计算所得的值, 因此铜对大鳞泥鳅的 NOEC 和 LOEC 分别是 25.2 和 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

2 换水式试验

各浓度组泥鳅幼鱼的死亡率, 现存量(干重)以及每尾幼鱼的平均体重见表 5。

表 5 铜对泥鳅幼鱼存活及生长的影响

Tab. 5 Effect of copper on survival and growth of juvenile loach

项 目 Item	铜浓度($\mu\text{g}/\text{L}$) Concentration of copper						
	150	75	38	19	9.5	4.75	对照 Control
死亡率(%) Mortality	100	92.5	7.5	2.5	2.5	2.5	5
现存量(mg) Standing crop		1.74	53.09	60.84	63.57	65.52	62.32
平均体重(mg) Mean body weight		0.58	1.44	1.56	1.63	1.68	1.64

表 5 的死亡率数据表明, 150 $\mu\text{g}/\text{L}$ (100%)和 75 $\mu\text{g}/\text{L}$ (92.5%)两个浓度组的死亡率与对照组(5%)相比有很大的差异, 而其它浓度组的死亡率有的比对照组略高(38 $\mu\text{g}/\text{L}$ 组), 有的低于对照组, 但差别不大。从现存量和平均体重看, 38 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度组分别是 53.09 和 1.44mg, 显然要低于对照组。19 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度组的现存量(60.84mg)和平均体重(1.56mg)与对照组的现存量(62.32mg)和平均体重(1.64mg)相比虽然存在着一定的差异, 但差异不大。因此, 由 16d 换水式试验求得的铜对大鳞泥鳅幼鱼的无可观察效应浓度是 19 $\mu\text{g}/\text{L}$, 最低可观察效应浓度为 38 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

讨 论

1. 由早期生活阶段试验和部分生活阶段试验测定铜对鱼类的无可观察效应浓度和最低可观察效应浓度, 文献上已有不少报道, 有关数据摘录在表 6。从表 6 的数据看, 在稀释水的硬度大致相同条件下, 蓝鳃太阳鱼和白斑狗鱼对铜的敏感性显然比黑头软口鱼、溪红点鲑和虹鳟低。由于大鳞泥鳅试验所用稀释水的硬度为 115mg/L(以 CaCO_3 计), 因此也就无法与黑头软口鱼、溪红点鲑和虹鳟的敏感性进行比较。但是, 本试验求得的铜对大鳞泥鳅的 NOEC 和 LOEC 与蓝鳃太阳鱼的值接近, 低于白斑狗鱼的 NOEC 和 LOEC, 而且本试验稀释水的硬度高, 因此大鳞泥鳅对铜显然要比蓝鳃太阳鱼和白斑狗鱼敏感。

由 32d 早期生活阶段试验求得的铜对黑头软口鱼的 NOEC 和 LOEC 分别是 13 和

26 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Lind 等,1978)^[12],norberg 和 Mount(1985)用 7d 换水式试验所得的结果分别为 9.9 和 26 $\mu\text{g}/\text{L}$,两者十分接近。本试验由 16d 换水式试验求得铜对大鳞泥鳅的 NOEC 是 19 $\mu\text{g}/\text{L}$,LOEC 为 38 $\mu\text{g}/\text{L}$,与 30d 流水式试验所得的结果(25.2 和 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$)也颇为接近。

2. 在 30d 流水式试验中,高浓度组,如 101 和 41.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 组的幼鱼的平均体重是 8.21 和 8.47mg,对照组的平均体重却只有 6.87mg(表 3)。Lett 等(1976)^[13],Waiwood 和 Beamish(1978)^[14]也看到类似的情况。铜对鱼类的食欲有很大的影响,试验开始时食欲受到抑制,若干天后有恢复正常,在生长上出现所谓补偿现象。本试验在平均体重上出现的“反常”现象,除有受到抑制的食欲恢复正常的原因外,还有由于这两个高浓度组的死亡率(72.2 和 31.9%)大大超过对照组和其它浓度组的死亡率,从而降低了这些试验容器的幼鱼密度,在食欲恢复正常后加速了生长。因此,铜对幼鱼生长的影响本文除使用平均体重指标外,还采用了现存量指标。

3. 用 30d 流水式试验和 16d 换水式试验测定的铜对大鳞泥鳅的 NOEC 和 LOEC 颇为接近,对其它有毒化学物质及工业废水是否如此,尚待进一步研究。如果研究表明,16d 换水式试验结果与 30d 或早期生活阶段试验结果相近,那么泥鳅幼鱼 16d 换水式试验有可能发展成为一种对有毒化学品和工业废水的亚慢性毒性进行快速评价的试验方法。

表 6 铜的部分生活阶段试验结果

Tab. 6 Results of partial and early life stage test with copper

试验鱼 Species	水硬度 (mg/L, 以 CaCO_3 计) hardness	观察指标 Endpoints	试验周期 (d) Duration	NOEC ($\mu\text{g}/\text{L}$)	LOEC ($\mu\text{g}/\text{L}$)
黑头软口鱼 ^[12]	40	生长, 死亡	32	13	26
溪红点鲑 ^[1]	45	生长	90	9.5	17.4
蓝鳃太阳鱼 ^[3]	45	死亡	90	21.0	40.0
白斑狗鱼 ^[2]	45	生长	30	34.0	104.0
虹鳟 ^[2]	45	生长	30	11.4	31.7
黑头软口鱼 ^[7]	48	生长	7	9.9	26
大鳞泥鳅	115	死亡	30	25.2	41.2
大鳞泥鳅	115	生长	16	19	38

参 考 文 献

- [1] McKim J M, Benoit D A. Effects of long-term exposures to copper on the survival, growth, and reproduction of brook trout. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 1971, **28**: 655—662.
- [2] McKim J M, Eaton J G, Holcombe G W. Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1978, **19**: 608—616.
- [3] Benoit D A. Chronic effects of copper on survival, growth, and reproduction of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Trans. Am. Fish. Res. Bd Can.*, 1975, **104**: 353—358.
- [4] Mount D I, Stephan C E. Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 1969, **26**: 2449—2457.
- [5] McKim J M. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. *J. Fish. Res. Bd Can.*, 1977, **34**: 1148—1154.

- [6] Macek K J, Sleight B H. Utility of toxicity tests with embryos and fry of fish in evaluating hazard associated with the chronic toxicology and hazard evaluation. Ed. by Mayer F L and Hamelink J L. Philadelphia:ASTM. , 1977.
- [7] Norberg T J, Mount D I. A new fathead minnow (*Pimephales promelas*) subchronic toxicity test. *Environ. Toxicol. Chem.* , 1985, **4**:711—718.
- [8] 周永欣等. 在不同水硬度下铜对草鱼、鲢和大鳞泥鳅的急性毒性. 暨南大学学报, 1992, **13**(3):62—66.
- [9] Benoit D A. A continuous-flow mini-diluter system for toxicity testing. *Water Res.* , 1982, **16**:457—464.
- [10] Sachs L. *Applied Statistics*. New York: Speinger-Verlag, 1982.
- [11] Litchfield J T, Wilcoxon H A. A simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Thet.* , 1949, **96**:99—113.
- [12] Lind D, Alto K, Chatterton S. Regional copper-nickel study. Aquatic Toxicology progress report. Duluth, Minnesota:Minnesota environmental quality board, October 1978.
- [13] Lett P F, Farmer F J, Beamish F W H. Effect of copper on some aspects of the bioenergetics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd Can.* , 1976, **33**:1335—1342.
- [14] Waiwood K G, Beamish J W H. The effect of copper, hardness and pH on growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Biol.* , 1978, **13**:591—598.

TOXICITY OF COPPER TO JAVENILE LOACH

Zhou Yongxin, Zhou Renzhen and Xu Lihong

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

We investigated the effects of copper on the growth and survival of juvenile loach (*Misgurnus mizolepis*) in flow-through or renewal test with a hardness of 115 mg/L (as CaCO_3). tests began using newly hatched loach larvae and were run for 30 days in flow-through test or 16 days in renewal test. The results showed that, in flow-through test, the lowest observed effect concentration (LOEC) for copper, at which significant effects on the survival of the loach were observed, was $41.2\mu\text{g}/\text{L}$, and the no observed effect concentration (NOEC) was $25.2\mu\text{g}/\text{L}$. In renewal test, the NOEC and LOEC for copper were 19 and $38\mu\text{g}/\text{L}$ respectively, based on the standing crop.

Key words *Misgurnus mizolepis*, LOEC, NOEC, Copper.