

铜、锌和甲胺磷对大鳞副泥鳅胚胎发育和仔鱼成活的影响

姚纪花 周平凡

(上海水产大学, 200090)

摘要 本文反映铜、锌两种重金属和甲胺磷农药对大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 胚胎发育和仔鱼成活的影响, 得到了三种药物对大鳞副泥鳅胚胎的24hLC₅₀及对仔鱼的24h、48hLC₅₀和安全浓度。结果表明: 三种药物均能不同程度的影响大鳞副泥鳅的胚胎发育和仔鱼成活; 三者的毒性强度是铜大于锌、铜锌远大于甲胺磷; 但仔鱼比胚胎对药物更敏感。

关键词 重金属, 农药, 大鳞副泥鳅, 胚胎, 仔鱼

众所周知, 鱼类的胚胎期和仔鱼期是整个生活史中对各种药物最为敏感的时期。因此, 早期阶段的毒性试验被广泛应用于水质标准的建立和筛选大量的化学药品[Mckim, 1977]。有关重金属及有机磷农药对鱼类的毒性研究甚多, 但对鳅科鱼类的毒性报道较少, 目前仅见以泥鳅属的泥鳅[周立红等, 1994]和大鳞泥鳅[周立欣等, 1995]为材料, 尚未见其它种属的研究。大鳞副泥鳅属于副泥鳅属且是鳅科中个体较大的经济鱼类, 分布较广, 且易于在实验室饲养, 因而是一种较理想的试验材料。为此, 我们进行了铜、锌和甲胺磷三种药物对大鳞副泥鳅胚胎发育和仔鱼成活影响的研究。

1 材料和方法

实验用鱼于1996年4月从本校附近的图们路农贸市场购得, 室内驯养一周以上。通过人工催青、授精获得受精卵。胚胎发育分期依据梁秩桑等[1988]。取发育至原肠中期的受精卵以及孵出后约12小时左右的仔鱼作试验用材料。实验用药物为硫酸铜(CuSO₄·5H₂O)、硫酸锌(ZnSO₄·7H₂O), 均系分析纯, 50%甲胺磷乳油(C₂H₈NO₂PS, 化学名称为O,S—二甲基—硫赶磷酰胺)。三者预实验基础上的设置浓度(以ppm表示)分别为: 铜(0.20、0.40、0.80、1.60、3.20); 锌(0.36、0.72、1.44、2.88、5.76); 甲胺磷(200、400、800、1600、3200)。使用前, 先用蒸馏水配成一定浓度的贮备液, 再用曝气自来水稀释成各种浓度的试验用液。用培养皿分盛20ml试验用液, 每只培养皿中放卵40粒或仔鱼20尾。设平行组和对照组, 实验进行二次。水温23—27℃; pH 7.0—7.3; OD>5mg/L。

通过解剖镜或显微镜观察并记录胚胎的发育、成活、畸变和延滞情况以及仔鱼的行为和成活情况, 采用静水实验法, 每12小时换水一半以上, 并及时清除死亡卵和仔鱼。出膜阶段拍摄初

孵仔鱼照片,根据三种药物的毒性试验数据在半对数坐标纸上用直线内插法求得它们对胚胎的24hLC₅₀和对仔鱼的24h、48hLC₅₀,并算出其安全浓度。计算公式:

$$\text{安全浓度} = \frac{48\text{hLC}_{50}}{(24\text{hLC}_{50}/48\text{hLC}_{50})^2}$$

2 结果

三种药物对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼的毒性试验结果见表1。

表1 三种药物对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼的毒性试验结果

Tab. 1 Results of toxicity tests with three toxicants for the embryo and larva of *P. dabryanus*

药物	浓度 (ppm)	时间 (h)	胚胎期成活率(%)						鱼苗成活率(%)			
			原肠中期	胚孔封闭期	眼囊期	肌肉效应期	心脏搏动期	孵出期	孵化率 (%)	畸形率 (%)	24小时	48小时
			0	4	8	11	15	24				
对照	0.00		100	100	100	100	100	100	97.5	0	100	100
铜	0.20		100	100	100	100	100	97.5	92.5	2.5	90	85
	0.40		100	100	100	100	100	95	90	7.5	80	65
	0.80		100	100	100	97.5	95	90	80	15	65	40
	1.60		100	100	90	85	80	67.5	45(57.5)	25	15	0
	3.20		100	85	65	60	57.5	35	15(30)	20	0	0
	200		100	97.5	90	90	85	82.5	80	5	80	72.5
锌	0.36		100	100	100	100	100	100	95	5	95	92.5
	0.72		100	100	100	97.5	97.5	92.5	87.5	10	85	80
	1.44		100	100	90	90	85	82.5	80	32.5	70	55
	2.88		100	100	72.5	65	55	47.5	40	30	30	0
	5.76		100	75	40	27.5	12.5	0	0	0	0	0
甲胺磷	200		100	97.5	90	90	85	82.5	80	5	80	72.5
	400		100	97.5	90	87.5	82.5	62.5	57.5	12.5	55	35
	800		100	92.5	80	75	72.5	60	60	20	52.5	0
	1600		100	85	70	65	65	55	52.5	20	20	0
3200		100	87.5	52.5	35	0	0	0	0	0	0	

注:延滞1.5小时后的最终孵化率;延滞3小时后的最终孵化率。

2.1 铜的影响

2.1.1 胚胎期

受精卵投入实验水体后,在0.20、0.40和0.80ppm的低浓度下,至孵出期,成活率均在90%以上,孵化率也大于80%,而在1.60和3.20ppm高浓度时,成活率则明显下降,尤其在3.20ppm组,胚胎发育至眼囊期、肌肉效应期、心脏搏动期和孵出期的成活率分别只有65%、60%、57.5%和40%,孵化率只有30%。而且随着铜浓度的递增,初孵仔鱼畸形率也呈上升趋势。说明铜在高浓度下,对大鳞副泥鳅胚胎的致死和致畸作用明显增强。观察还表明,低浓度组中的胚胎发育进程与对照组基本相同,而高浓度组的发育速率较为缓慢,当对照组全部孵出时,1.60ppm和3.20ppm组的孵出率只有45%和15%,最终孵出率分别为57.5%和30%。两组分别延时1.5和3小时左右。这表明铜浓度达到一定剂量时,对胚胎发育有较明显的迟滞效应,且随着剂量的增加,滞后时间延长。

2.1.2 仔鱼

当仔鱼放入0.40ppm以下浓度组时,8小时内未见明显的活动异常,而放入3.20ppm铜液时,仔鱼短时也活动正常,但不久即变得反应迟钝,心率减慢,最后只有微弱的心搏,身体发白,12小时内全部死亡。

2.2 锌的影响

2.2.1 胚胎期

在1.44ppm以下各浓度组中,锌对大鳞副泥鳅胚胎的发育影响不大,表现在各组孵出期的成活率和孵化率均在80%以上,但当浓度增至2.88ppm和5.76ppm时,各阶段的成活率大幅度下降,至孵出期,两组的成活率分别为47.5%和0,孵出率只有40%和0。从表1还可看出,锌对大鳞副泥鳅胚胎的毒性虽不如铜,然而,锌也有较明显的致畸作用。在1.44和2.88ppm下,出膜仔鱼畸形率分别为32.5%和30%。此外,观察表明,各组锌液中胚胎的孵出时间与对照组相近,锌对大鳞副泥鳅胚胎发育没有明显的迟滞效应。

2.2.2 仔鱼

与铜相比,锌对大鳞副泥鳅仔鱼的毒性也较弱,在1.44ppm浓度组,24和48小时仔鱼的成活率为70%和55%,而在0.80ppm铜液中,24和48小时仔鱼的成活率仅有65%和40%。不过,随着锌浓度的增加,其毒性也随之增强,表现在鱼苗中毒症状更明显且成活率急骤下降。在5.76ppm的锌液中,8小时内即有一大半死亡,24小时全部死亡。

2.3 甲胺磷的影响

2.3.1 胚胎期

低浓度组或短时间暴露,对胚胎发育影响不大,如200ppm组至孵出期的成活率和孵化率达82.5%和80%;400和800ppm两组发育至眼囊期时,成活率均大于80%。但随着毒物浓度的递增和浸毒时间的延长,胚胎成活率逐渐下降,如400、800、1600和3200ppm四组心搏期的成活率分别为82.5%、72.5%、65%和0,但至孵出期,前三组的成活率分别降至62.5%、60%和55%。另从表1看出,甲胺磷对大鳞副泥鳅胚胎也有一定的致畸作用。在200、400、800和1600ppm四组,畸形率分别达5%、12.5%、20%和20%。然而,各浓度组的胚胎发育速度与对照组基本同步,因此,甲胺磷对大鳞副泥鳅胚胎发育无迟滞效应。

2.3.2 仔鱼

当放入低浓度组中,8小时内仔鱼活动基本正常,但当放入3200ppm毒液后,鱼苗立即剧烈挣扎、稍后又变得非常迟钝,心率明显减慢,8小时内全部死亡。

根据所得数据,分别求出了三种药物对大鳞副泥鳅胚胎的24hLC₅₀和对仔鱼的24h、48hLC₅₀及安全浓度,并与泥鳅作比较(表2)。

表2 三种药物对大鳞副泥鳅和泥鳅的LC₅₀(ppm)及安全浓度(S_c,ppm)

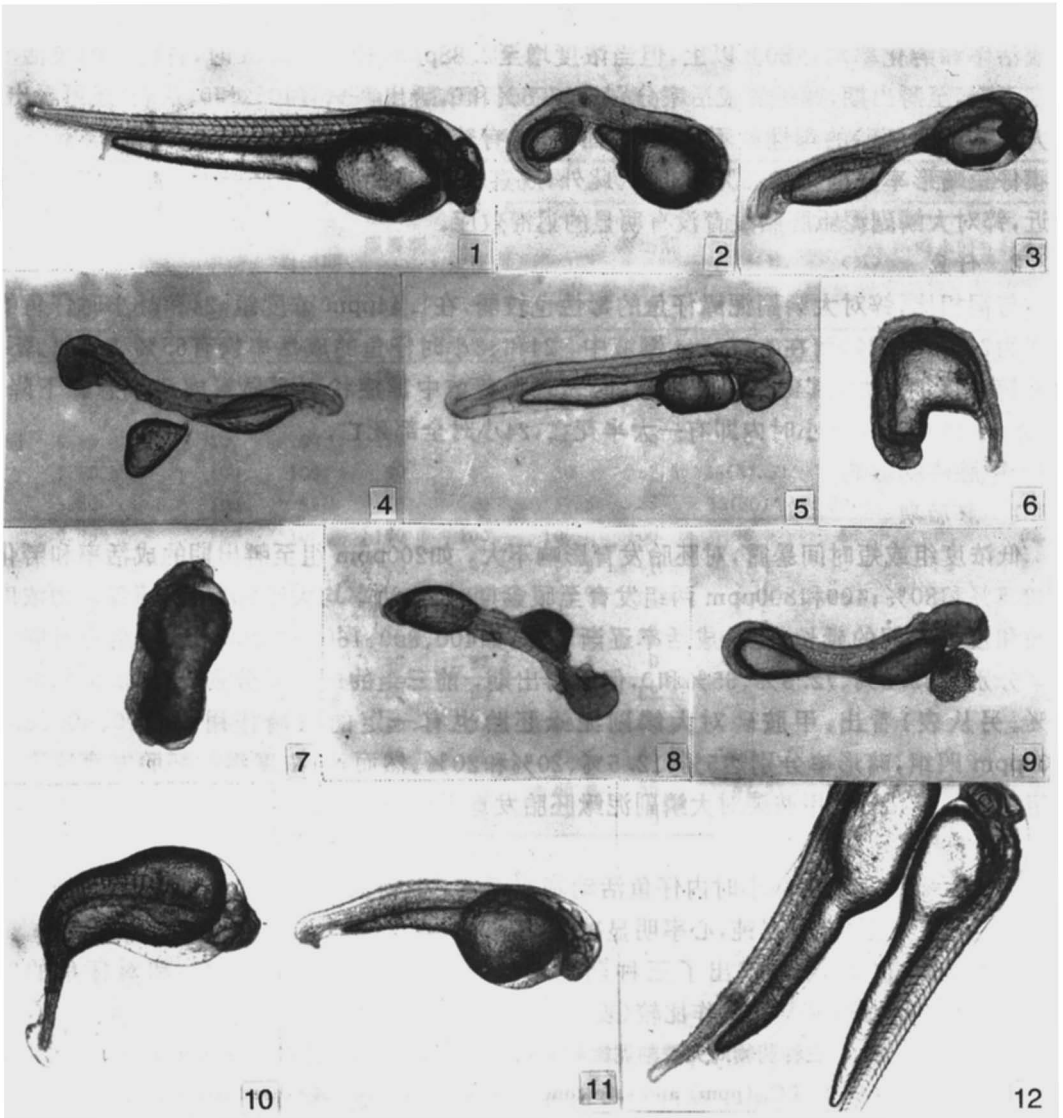
Tab. 2 LC₅₀(ppm) and safe concentration (S_c,ppm) of three toxicants

for *P. dabryanus* and *M. anguillicaudatus*

重金属或农药	胚胎		鱼 苗		成 体	
	24hLC ₅₀	24hLC ₅₀	48hLC ₅₀	S _c	96hLC ₅₀	S _c
铜	2.26(1.45)	0.90(0.025)	0.62(0.105)	0.089(0.022)		
锌	2.78(1.55)	1.98(1.20)	1.5(1.05)	0.26(0.242)		
甲胺磷	1680	830	280	31	(200)	(20)

注:1.表中的阿拉伯数字,括号外为大鳞副泥鳅的,括号内为泥鳅的。 2.本表参照文献[5]及[9]。

综上所述,铜、锌两种重金属和甲胺磷农药对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼均有不同程度的影响。三者虽然都能致胚胎畸形,但致畸程度有较大的差异。表现在出膜仔鱼上,铜、锌两种重金属引起的畸形症状较严重,除胚体弯曲外,大多伴有卵黄缺失。如有的胚胎体中部或尾部弯曲,同时卵黄囊断裂为二(图版-2,3);有的卵黄囊部分游离(图版-4,5)有的形成鸡形胚(图版-6);严重的还表现为胚体极短(图版-7),仅为正常(图版-1)体长的五分之二;再就是小头无眼(图版-8)和尾鳍褶折叠不伸展(图版-9)等。这些仔鱼由于营养物质卵黄的缺失,多数不能



图版 大鳞副泥鳅初孵仔鱼的光镜照片

Plate Macrophotographs of post-hatching larva of *P. dabryanus*

1. 正常的初孵仔鱼; 2、3. 胚体弯曲伴卵黄囊断裂; 4、5. 胚体部分卵黄囊游离; 6. 胚体严重弯曲,呈鸡形胚;
7. 短体胚,仅为正常的五分之二体长; 8. 小头无眼的胚体; 9. 胚体尾鳍褶折叠不展; 10. 胚体弯曲; 11. 胚体短化;
12. 左胚体卵黄囊前端部分较细长。(照片放大23.8倍)

2-9. 暴露于铜、锌溶液中的初孵仔鱼; 10-12. 暴露于甲胺磷溶液中的初孵仔鱼。

再续发育而很快死亡。与铜、锌相比,甲胺磷引起的畸形程度明显较轻,它主要引起身体弯曲(图版-10)、体短(图版-11),个别的卵黄囊前端较细长(图版-12),但所有胚体卵黄囊均完整,因而它们仍能存活较长时间。

3 讨论

(1)各种重金属污染有许多共同的特点,但其毒性强弱程度实际上存在很大差别。我们的研究表明,铜对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼的毒性大于锌。这与周立红等[1994]和周永欣等[1995]对另两种泥鳅的研究结果相吻合。铜的毒性较大,一方面是与它的强渗透力有关,同时,还与试验铜液中的 SO_4^{2-} 有关,因为通常铜的毒性随摄入少量的 SO_4^{2-} 而增高的[弗斯特纳等,1987年中译本]。当然,我们的结果也显示铜、锌两种重金属的毒性作用有不相同处:即不论是胚胎还是仔鱼苗,低浓度下都可以接受,对发育及成活率无明显影响,但随着剂量的增高,都具有可见的致畸胎性,并很快出现胚体死亡,而且在正常和死亡之间存在很狭的剂量带。这一结论与对泥鳅及白鲢等鱼类[陈其震等,1988]的研究结果也相一致。而且也符合多种重金属对鱼类的毒性作用规律。然而,比较铜、锌两者对大鳞副泥鳅和泥鳅的试验结果,我们发现,除锌的安全浓度较接受,其它数据均是泥鳅的较高,也即表示泥鳅对铜、锌更敏感。排除实验条件(如水体量及投放的鱼卵及仔鱼数等)的影响,原因更可能是这样:两种鱼的形态虽相近,但并非同一物种,因而是生活习性不同。大鳞副泥鳅生活在条件较好的江河湖泊,而泥鳅栖息于浅水湖塘,水田和沼泽中[梁秩桑等,1988]。因此后者的卵在母体内可能已受到较多的污染、毒性实验时显示出更为敏感的特性[Weis等,1977]。

(2)有机磷农药的致畸作用,多数是引起胚体甚至成体的脊索弯曲[日本环境厅土壤农药课编,1983年中译本]。我们的研究表明,甲胺磷农药也不例外。它不仅能致大鳞副泥鳅的胚胎脊索弯曲,对仔鱼也同样如此。但是,与铜、锌相比,后两者引起的畸形程度要严重得多。另外,比较三种药物对大鳞副泥鳅和泥鳅的 LC_{50} 及安全浓度、不难发现,甲胺磷的要高出百倍甚至千倍,这说明甲胺磷的毒性远比铜、锌的为低。因此,我们有理由说,农田使用甲胺磷农药,对鱼类的毒性较小;而铜、锌对水体的污染及后果不容忽视。

(3)研究还表明:对三种药物来说,大鳞副泥鳅仔鱼比胚胎更敏感。究其原因,是由于卵内胚胎受到卵膜的保护作用,仔鱼对药物更敏感乃是许多鱼类的共性[Pickering等,1972;尹伊伟等,1986;周立红等,1994]。

通过三种药物对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼的毒性试验,进一步阐明:胚胎的反应不仅与它受到不正常影响的时期有关。也决定致畸因素的性质,接触时间的长短,胚胎的生理状态以及由它的遗传构成所决定的抗性或易感性[威利尔等,1964年中译本]。

总的结论是:①对大鳞副泥鳅胚胎和仔鱼,三种药物的毒性强度是铜大于锌大于甲胺磷;②对三种药物,大鳞副泥鳅仔鱼比胚胎更敏感;③大鳞副泥鳅可作为一种理想的毒性试验材料。

本校渔业学院1996届毕业生王小平参加了部分工作,照片的放大工作由张敏同志协助完成。在此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 尹伊伟等,1986.34种化学物对白鲢鱼种、鱼苗及鱼卵的急性致毒试验的研究。中国环境科学,6(2):3-6。
- [2] 日本环境厅水质保全局土壤农药课编(许泳峰译),1983.农药污染,64-78.农业出版社(京)。
- [3] 弗斯特纳,U,等(王忠玉等译),1987.水环境的金属污染,13.海洋出版社(京)。
- [4] 陈其晨等,1988.重金属对鱼类毒性的综合研究,水产学报,12(1):21-32。
- [5] 周立红等,1994.四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,16(1):11-19。
- [6] 周永欣等,1995.铜、锌和五氯酚对大鳞泥鳅和斑马鱼胚胎-幼鱼的毒性。水生生物学报,19(增刊):1-7。
- [7] 威利尔,B. H等著(庄孝儒等译),1964.发育分析,1984.科学出版社(京)。
- [8] 梁秩乘等,1988.大鳞副泥鳅的胚胎发育及鱼种培养。水生生物学报,12(1):27-42。
- [9] 楼允东等,1994.两种农药对泥鳅微核和核异常的诱导。上海水产大学学报,3(3):104-111。
- [10] Mckim, J. M., 1977. Evaluation of tests with early life stage of fish for predicting long-term toxicity. *J. Fish Ees. Board Can.*, 34:1148-1154.
- [11] Pickering, Q. H. *et al.*, 1972. Acute and chronic toxicity of cadmium to the fathead minnow (*Pimephles promelas*). *J. Fish Ees. Board Can.*, 29:1066-1099.
- [12] Weis, J. S., *et al.*, 1977. Effects of heavy metals on development of the killifish, *Fundulus heterolitus*. *J. Fish Biol.*, 11:49-54.

EFFECTS OF COPPER, ZINC AND METHAMIDOPHOS ON THE EMBRYO DEVELOPMENT AND LARVA SURVIVAL OF LOACH *PARAMISGURNUS DABRYANUS* SAUVAGE

Yao Ji-hua and Zhou Ping-fan

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT This paper reported the effects of copper, zinc and methamidophos on the embryo development and larva survival of loach *paramisgurnus dabryanus*. The 24h LC₅₀ of the embryos and 24h, 48h, LC₅₀ and safe concentration (S_c) of the larvae have been obtained. The results show that both the embryos and larvae could be influenced in some degrees by three toxicants toxic intensity of copper is higher than zinc, and both of them are much higher than methamidophos. In comparison with embryo, the larva is more sensitive for the those toxicants.

KEYWORDS heavy metal, pesticide, *Paramisgurnus dabryanus*, embryo, larva