

铜、汞、镉、六六六和对硫磷对 食蚊鱼生长的影响

周永欣 唐辉远

(中国科学院水生生物研究所)

提 要

对2日龄的食蚊鱼仔鱼的急性毒性, 96小时 LC_{50} 是: 铜, 0.28毫克/升; 汞, 0.58毫克/升; 镉, 10.2毫克/升; 六六六(丙体), 0.53毫克/升; 对硫磷, 0.3毫克/升。依据20天的生长数据求得的铜、镉和对硫磷的最大允许毒物浓度分别是0.015—0.030、0.005—0.010和0.0015—0.0030毫克/升, 相应的应用系数分别为0.05—0.1、0.0005—0.0009和0.005—0.01。

在制订渔业水质标准和评价化学物质对水生生物的影响时, 毒物对鱼类全生活周期影响的慢性毒性资料仍是最可靠的依据。然而由于鱼的性成熟时间一般都比较长, 完成一次从胚胎经历仔鱼、幼鱼、成鱼, 直至子一代幼鱼的慢性试验所持续的时间约需一年左右, 有的甚至更长, 即使采用性成熟时间较短的鱼作为试验材料, 完成一次全生活周期慢性试验也仍需几个月时间。因此要对排入水体的各种化学物质的渔业水质标准, 以及它们对水生生物影响的毒性评价都提供慢性毒性资料显然是不可能的。探索如何缩短慢性试验的持续时间, 用慢性中毒的早期影响结果来预报毒物的长期影响已成为人们所关心的问题。

不少学者在用不同种鱼对多种化学物质进行慢性试验时, 看到同一种鱼的不同发育阶段对毒物的敏感性存在着差异, 而且发现在鱼的整个生活周期中, 从胚胎到仔鱼或早期幼鱼的所谓早期发育阶段对毒物最为敏感。实验资料表明, 在慢性试验中, 其对早期发育阶段的影响, 预测的最大允许毒物浓度(MATC)与试验结束时求得的最大允许毒物浓度基本上是一致的^[6,8,12,13]。从而提出了用鱼类早期发育阶段试验的结果来预报化学物质对鱼类可能产生的影响, 这样就大大缩短了试验的持续时间, 为评价化学物质对鱼类的影响提供了比较快速的实验方法。

本试验选用污染水体中常见的重金属——铜、汞和镉, 以及我国广泛使用的两种农药——六六六和对硫磷, 观察它们对食蚊鱼(*Gambusia affinis*)仔鱼-幼鱼发育阶段的影响, 据以预测它们的最大允许毒物浓度及应用系数^[11]。

材 料 与 方 法

试验用鱼由本实验室繁殖提供。试验前挑选足够数量, 大小差不多的临产雌鱼(臀鳍

上方左右两侧体壁上的胎斑大而明显)转入小玻璃缸内饲养,任其自然繁殖,用2日龄的仔鱼进行试验。由于没有获得足够数量的同一批2日龄的仔鱼,因此各毒物只能分批进行试验。试验在7—8月间进行。各组试验鱼曝露到20天时,用MS-222麻醉后逐条测量全长和称重。试验持续到40天结束,此时食蚊鱼已可从外观明显地辨别出性别。

试验容器为10×14×20厘米的方形玻璃缸,盛2升试验溶液,每缸随机放10尾2日龄的仔鱼。用容量为10升的玻璃缸配制试验溶液,以每分钟约30毫升的流量流经试验容器。每天吸除粪便后投喂一次活饵(枝角类),并定期清洗试验容器。

六六六、对硫磷均系武汉市葛店化工厂产品,六六六的丙体含量为13.9%,对硫磷的有效成分是97.98%。六六六、对硫磷用5%吐温-80丙酮溶液配制成丙体含量及有效成分均为0.1毫克/毫升的母液。铜、汞、镉采用CuSO₄·5H₂O(分析纯),HgCl₂(分析纯),CdCl₂·2H₂O(分析纯),用蒸馏水分别配制成浓度为0.2毫克Cu⁺⁺/毫升、0.04毫克Hg⁺⁺/毫升及2毫克Cd⁺⁺/毫升的母液,并加适量的盐酸酸化。

用静水生物检测法测定上述所试毒物对食蚊鱼幼鱼的96小时LC₅₀,然后按各自的LC₅₀乘上一定的系数设置试验浓度,并对照(表1)。

表1 各毒物试验的配制浓度

Table 1 The calculated initial concentrations of five toxicants for tests

毒物	0.5×LC ₅₀	0.1×LC ₅₀	0.05×LC ₅₀	0.01×LC ₅₀	0.005×LC ₅₀	0.001×LC ₅₀	0.0005×LC ₅₀	对照
铜	0.15	0.03	0.015	0.003	—	—	—	未检出
汞	0.30	0.06	0.030	0.006	0.003	—	—	未检出
镉	—	1.0	0.50	0.10	0.05	0.01	0.005	未检出
六六六*	—	0.05	0.025	0.005	0.0025	—	—	未检出
对硫磷	—	0.03	0.015	0.003	0.0015	0.0003	—	未检出

* 按丙体计。

试验用水系武汉东湖水厂的自来水,经活性炭过滤后存放24小时;pH7.4,电导(微欧/厘米)200,总硬度2.1毫克/升(以CaCO₃计),酚酞碱度1.7毫克/升(以CaCO₃计)。铜、镉(原子吸收法)、汞(汞蒸气法)、六六六和对硫磷(气相色谱法)均未检出。试验期间的溶解氧均在4毫克/升以上,每天的光照时间为11小时。由于各毒物分批进行试验,因此试验期间的水温各毒物之间有所差异,镉试验时的水温为26—28℃、铜24—26℃、六六六25—27℃、汞和对硫磷23—24℃。

结 果

用静水生物检测法测得的铜、汞、镉、六六六和对硫磷对食蚊鱼幼鱼的96小时LC₅₀分别是:0.28、0.58、10.20、0.53(丙体)和0.30毫克/升。

1. 死亡情况 在铜的各试验浓度中,0.15毫克/升组的食蚊鱼,试验开始后第3天出现死鱼,到第8天就全部死亡。汞的最高浓度(0.30毫克/升)组试验开始当天就发生死鱼,曝露到第3天全部死亡,而0.06毫克/升组的试验鱼则延续到第9天才全部死去。经1.00、0.50和0.10毫克镉/升曝露的食蚊鱼,试验开始后的第2天均中毒死亡,0.05毫克

镉/升浓度组的试验鱼则相继在 4 天内死亡。我们对上述 4 个镉浓度重复了 3 次, 每次的死亡情况都大致相似。除了 0.15 毫克铜/升, 0.30 和 0.06 毫克汞/升, 1.00、0.50、0.10 及 0.05 毫克镉/升各浓度组出现死鱼外, 其余各浓度及六六六、对硫磷各试验组在试验期间均未出现死鱼现象。

2. 生长情况 2 日龄的食蚊鱼仔鱼经不同浓度的铜、汞、镉、六六六和对硫磷曝露至 20 天时, 经 F 检验, 汞和对硫磷各试验组食蚊鱼的平均全长和平均体重与对照组有非常显著的差异 (F^* 、 F^{**} 均大于 $F_{0.01}$); 铜、镉和六六六各试验组的食蚊鱼与对照组相比也同样存在着显著性差异(表 3)。这表明在实验浓度下, 铜、汞、镉、六六六和对硫磷对食蚊鱼的生长有明显的抑制, 而且随着毒物浓度的增加, 抑制生长的程度也加深(图 1)。

表 2 五种毒物对食蚊鱼生长的影响

Table 2 Effects of five toxicants on growth of mosquitofish

毒物	$0.1 \times LC_{50}$	$0.05 \times LC_{50}$	$0.01 \times LC_{50}$	$0.005 \times LC_{50}$	$0.001 \times LC_{50}$	$0.0005 \times LC_{50}$	对照
铜	26.5*±7.3 (14.9±1.2)**	38.2±7.9 (16.5±2.1)	42.0±14.8 (16.9±0.9)	—	—	—	42.2±11.8 (16.9±1.9)
汞	—	19.2±5.5 (12.7±0.9)	29.6±5.1 (14.9±0.7)	42.3±7.4 (16.3±0.7)	—	—	52.0±8.2 (17.1±0.7)
镉	—	—	—	—	104.0±24.3 (21.8±1.9)	131.8±22.4 (23.0±1.4)	148.1±42.5 (24.2±2.1)
六六六	75.5±16.9 (19.8±1.5)	79.3±15.7 (20.3±1.4)	87.5±15.5 (20.5±1.4)	91.4±19.3 (21.1±1.7)	—	—	113.9±38.5 (22.4±1.8)
对硫磷	21.6±5.5 (12.1±0.9)	33.2±6.8 (13.4±1.2)	44.1±10.0 (16.8±1.4)	49.0±8.4 (17.0±0.8)	49.9±7.2 (16.7±0.8)	—	52.0±8.2 (17.1±0.7)

* 体重(毫克)。

** 括号内均为全长(毫米)。

表 3 食蚊鱼生长的 F 检验

Table 3 F tests of growth of mosquitofish

	铜	汞	镉	六六六	对硫磷
$F_{0.01}$	4.41	4.41	5.49	3.81	3.41
$F_{0.05}$	2.88	2.88	3.35	2.60	2.40
F^*	4.63	40.61	4.76	3.91	14.9
F^{**}	3.6	34.88	3.90	3.54	46.4

* 体重。

** 全长。

铜、汞、镉、六六六和对硫磷各浓度中食蚊鱼的生长与各自的对照组进行双尾检验^[15]的结果: 0.015 毫克铜/升、0.005 毫克镉/升和 0.0015 毫克对硫磷/升试验组食蚊鱼的生长与各自的对照组相比均无显著性差异, 而 0.03 毫克铜/升、0.01 毫克镉/升和 0.003 毫克对硫磷/升的则对食蚊鱼的生长都有明显的影响(表 4)。因此, 铜、镉和对硫磷对食蚊鱼的预测最大允许毒物浓度分别是: 0.015—0.030 毫克/升、0.005—0.010 毫克/升和 0.0015—0.0030 毫克/升; 它们的应用系数 $\left(\frac{MATC}{96 \text{ 小时 } LC_{50}}\right)$ 分别为 0.05—0.1、0.0005—0.0009 和 0.005—0.01。

表4 与对照组相比生长有显著性差异的毒物浓度

Table 4 Concentrations of toxicants at which growths were determined to be significantly different from those of the respective controls

毒物	与对照组有显著性差异的最低浓度 (毫克/升)		与对照组无显著性差异的最高浓度 (毫克/升)
	P = 0.05	P = 0.01	P = 0.05
铜	0.03	0.03	0.015
汞	0.003	0.003	—
镉	0.01	0.01	0.005
六六六	0.0025	—	—
对硫磷	0.003	—	0.0015

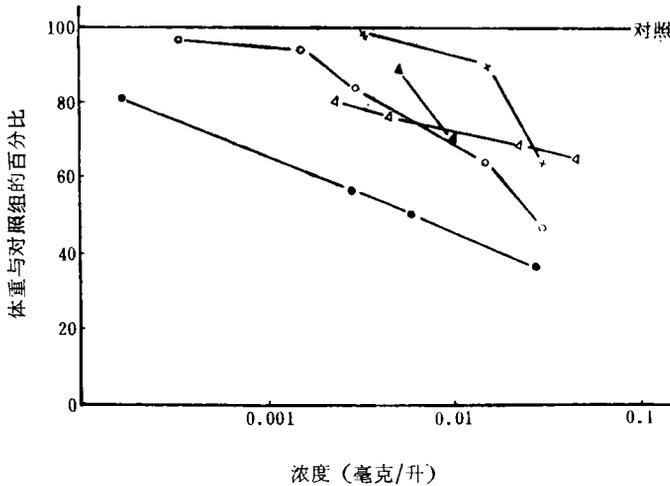


图1 五种毒物对食蚊鱼仔鱼-幼鱼生长的影响

×——铜, ●——汞, ▲——镉, △——六六六, ○——对硫磷

Fig. 1 Effects of five toxicants on growth of larvae-juvenile of mosquitofish.

由于汞和六六六试验浓度设置偏高,即使是最低浓度(0.003 毫克汞/升, 0.0025 毫克六六六/升),对食蚊鱼的生长仍有明显的影响。因此汞和六六六对食蚊鱼生长的无影响浓度应分别低于 0.003 毫克/升和 0.0025 毫克/升。

试验结束时(40 天),由于食蚊鱼从外观已可明显地区别出性别,因而所得生长数据未进行统计处理。在对硫磷试验中,看到 0.03、0.015 和 0.003 毫克/升 3 个浓度组的食蚊鱼出现尾柄部明显的畸形,畸形率分别为 90%、70% 和 60%,而 0.0015 和 0.0003 毫克/升中的试验鱼均未观察到畸形。若以畸形作为试验观察指标,则预测的最大允许毒物浓度与上述依据生长指标预测的结果是相吻合的,二者都为 0.0015—0.003 毫克/升。

讨 论

(1) Mount(1968)^[10]、Mount 和 Stephan(1969)^[11]观察了铜对黑头软口鲶(*Pimephales*

promelas) 的慢性毒性, 他们求得的最大允许毒物浓度分别是 0.015—0.033 毫克/升和 0.0106—0.0184 毫克/升。Benoit (1975)^[1]由慢性试验在蓝鳃鱼 (*Lepomis macrochirus*) 上求得的最大允许毒物浓度为 0.021—0.040 毫克/升。McKim 等 (1978)^[7]用 8 种淡水鱼为材料, 以幼鱼现存量作为指标, 研究了铜对这 8 种鱼的胚胎-早期幼鱼阶段的影响, 对溪红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*)、虹鳟 (*Salmo gairdneri*)、湖红点鲑 (*Salvelinus namaycush*)、河鳟 (*Salmo trutta*)、加拿大白鲑 (*Coregonus artedii*)、白亚口鱼 (*Catostomus commersoni*) 和小口黑鲈 (*Micropterus dolomieu*) 幼鱼现存量有影响的浓度在 0.0317—0.0435 毫克/升之间, 而白斑狗鱼 (*Esox lucius*) 对铜的耐受性较高, 有影响的浓度达 0.1041 毫克/升。我们依据对食蚊鱼仔鱼-幼鱼阶段生长影响预测的最大允许毒物浓度为 0.015—0.030 毫克/升, 与上述有关资料是大体相符的。

Pickering 和 Gast (1972)^[2]、Eaton (1974)^[3]、Spehar (1976)^[4]先后用黑头软口鲶、蓝鳃鱼、旗鱼 (*Kuhlia taenium*) 为材料, 研究了镉对全生活周期的影响。Benoit 等 (1976)^[2]甚至观察了镉对溪红点鲑连续 3 代的影响。他们以生长、产卵、孵化等为指标, 求得了镉对黑头软口鲶、蓝鳃鱼、旗鱼和溪红点鲑的最大允许毒物浓度, 其结果分别是 0.037—0.057、0.031—0.080、0.0041—0.0081 和 0.0017—0.0034 毫克/升。Eaton 等 (1978)^[4]研究了镉对溪红点鲑、河鳟、湖红点鲑、白斑狗鱼、白亚口鱼、小口黑鲈和银大马哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 等 7 种淡水鱼的胚胎和仔鱼的影响, 引起胚胎死亡或影响仔鱼生长的浓度在 0.004—0.012 毫克/升之间。我们预测的镉对食蚊鱼的最大允许毒物浓度 (0.005—0.010 毫克/升) 除与黑头软口鲶 (0.037—0.057 毫克/升) 和蓝鳃鱼 (0.031—0.080 毫克/升) 有些差异外, 与其他鱼的结果相接近。

六六六对鱼类的慢性毒性试验几乎全都用林丹进行, Macek 等 (1977)^[5]用蓝鳃鱼、黑头软口鲶、溪红点鲑为材料, 根据对生长、繁殖影响求得的最大允许毒物浓度分别是 0.0091—0.0125、0.0091—0.0235 和 0.0088—0.0166 毫克/升。而在我们试验中, 最低浓度 (0.0025 毫克/升) 对食蚊鱼仔鱼-幼鱼的生长仍有明显的影响。其原因除了不同种之间的敏感性存在着差异外, 还可能是我们所用的六六六是各种异构体的混合物, 而且尚有一些其他杂质, 这些异构体和杂质对食蚊鱼生长的影响有待进一步研究。

氯化高汞和对硫磷对鱼类的慢性毒性, 至今尚未看到这方面的报道。

(2) 各对照组之间的体重及全长存在着很大的差异 (表 2), 其原因是由于我们未能同时获得足够数量的 2 日龄仔鱼, 因此各毒物只能分批进行试验, 这样就带来了各批试验之间水温的差异, 水温高的试验生长快一些, 反之水温低的生长也就慢一些。

(3) 试验结束时, 我们按性别分别进行了测量, 由于数据过少, 未进行统计处理。但从这些数据可粗略地看到毒物对鱼类生长的影响是发育阶段愈早, 影响愈明显, 可是不同浓度之间生长的差异并不大, 表明存在着生长的补偿现象。因此在观察毒物对鱼类早期发育阶段的影响时, 必须选择一合适的试验持续时间。由于各种鱼的性成熟时间不同, 因而试验的持续时间也就不同。对食蚊鱼来说, 从刚产下的仔鱼到性成熟一般约需 50 天左右, 而在良好的饲养条件和适宜的水温下, 30 天左右就能从外观区分出性别。1978 年夏季我们曾做过上述毒物对食蚊鱼仔鱼生长影响的试验, 曝露十多天后肉眼就可看到各毒物不同浓度之间有着明显的差异, 但到 30 天测量时, 差异就不大明显, 试验未达到预期目

的。因此用食蚊鱼仔鱼作为早期发育阶段试验材料时, 试验持续时间选用 20 天较为适宜。

McKim (1977)^[8] 评述了十多年来不同作者用 34 种毒物和 4 种鱼进行 56 次生活周期试验所获得的资料, 用对胚胎-仔鱼或早期幼鱼影响预测最大允许毒物浓度, 曝露时间一般要 30—90 天, 大多数是 60 天。本试验曝露 20 天就可得出结果, 从而进一步缩短了试验持续时间。

(4) 用鱼类的早期发育阶段(胚胎-仔鱼或早期幼鱼) 试验结果来预测化学物质对鱼类的长期影响, 看来是一种比较快速而又经济的实验方法, 在实际应用上有它一定的价值。

参 考 文 献

- [1] Benoit, D. A., 1975. Chronic effects of copper on survival, growth, and reproduction of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Trans. Am. Fish. Soc.*, **104**: 353.
- [2] Benoit, D. A., et al., 1976. Toxic effects of cadmium on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Am. Fish. Soc.*, **105**: 550.
- [3] Eaton, J. G., 1974. Chronic cadmium toxicity to the bluegill (*Lepomis macrochirus* Rafinesque). *Trans. Am. Fish. Soc.*, **103**: 729.
- [4] Eaton, J. G., et al., 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species—I. Cadmium. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **19**: 95.
- [5] Macek, K. J., et al., 1977. Chronic toxicity of lindane to selected aquatic invertebrates and fishes. *Aquatic Sci. Fish. Abs.*, 7Q4552.
- [6] McKim, J. M., et al., 1975. Toxicity of a linear alkylate sulfonate to larvae of four species of freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **14**: 1.
- [7] McKim, J. M., et al., 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish—II. Copper. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **19**: 608.
- [8] Mckim, J. M., 1977. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **34**: 1148.
- [9] Mount, D. I. and C. E. Stephan, 1967. A method for establishing acceptable toxicant limits for fish—malathion and the butoxyethanol ester of 2, 4-D. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **96**: 185.
- [10] Mount, D. I., 1968. Chronic toxicity of copper to fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque). *Water Res.*, **2**: 215.
- [11] Mount, D. I., and C. E. Stephan, 1969. Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **26**: 2449.
- [12] Pickering, Q. H. and M. H. Gast, 1972. Acute and chronic toxicity of cadmium to fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **29**: 1099.
- [13] Pickering, Q. H. and T. O. Thatcher, 1970. The chronic toxicity of linear alkylate sulfonate (LAS) to *Pimephales promelas* Rafinesque. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **42**: 243.
- [14] Spehar, W. E., 1976. Cadmium and zinc toxicity to flagfish *Joranelia floridae*. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **33**: 1939.
- [15] Steel, R. G. D. and J. H. Torrie, 1960. Principles and Procedures of Statistics with Special Reference to Biological Sciences. pp. 481, McGraw-Hill. New York.

**EFFECTS OF COPPER, MERCURY, CADMIUM, BHC AND
PARATHION ON GROWTH OF MOSQUITO FISH
(*GAMBUSIA AFFINIS*)**

Zhou Yongxin and Tang Huiyuan
(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

Abstract

The fry of mosquitofish (*Gambusia affinis*) were exposed to low concentrations of copper, mercury, cadmium, BHC and parathion in soft water. Tests were started with 2-day-old fry and lasted for 40 days. Total length and weight of mosquitofish were determined after 20 days and at the end of the tests. Under the test conditions described, the maximum allowable toxicant concentrations (MATC's) have been obtained according to the effect on the growth of mosquitofish. MATC's estimated for copper, cadmium, and parathion were: 0.015—0.030, 0.005—0.010 and 0.0015—0.0030 mg/l respectively. Their application factors were: 0.05—0.1, 0.0005—0.0009, and 0.01—0.05 respectively.