

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20140527001

王洪盼, 赵艳民, 秦延文, 等. Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 对日本青鳉 (*Oryzias latipes*) 早期发育阶段的急性毒性效应研究[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(4): 793-802
Wang H P, Zhao Y M, Qin Y W, et al. Acute toxicity effects of copper and cadmium on the early developmental stage of *Oryzias latipes* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(4): 793-802 (in Chinese)

Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 对日本青鳉 (*Oryzias latipes*) 早期发育阶段的急性毒性效应研究

王洪盼^{1,2}, 赵艳民², 秦延文², 刘宪斌^{1,*}

1. 天津科技大学, 天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457

2. 中国环境科学研究院, 环境基准与风险评估国家重点实验室, 国家环境保护河口与海岸带环境重点实验室, 北京 100012

收稿日期: 2014-05-27 录用日期: 2014-06-30

摘要: 为探究并比较淡水鱼种日本青鳉早期发育阶段对 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 等重金属胁迫的响应, 在实验室通过半静态方式, 对日本青鳉受精卵和仔稚鱼分别进行了 48 h 和 96 h 急性毒性实验。结果表明: Cu^{2+} 对日本青鳉胚胎 24、48 h- LC_{50} 分别为 $8.164 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $6.965 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cd^{2+} 对日本青鳉胚胎 24、48 h- LC_{50} 分别为 $63.084 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $53.093 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 较低浓度组 Cu^{2+} ($\leq 1.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时日本青鳉胚胎的发育速率快于对照组, 而较高浓度组 ($\geq 3.87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 胚胎的发育速率则慢于对照组; 与 Cu^{2+} 略有不同, 无论浓度高低 Cd^{2+} 对胚胎的孵化速率均产生抑制作用; Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 质量浓度分别高于 $1.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $19.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 两种重金属离子均显著降低胚胎的孵化率 ($P < 0.05$)。 Cu^{2+} 对日本青鳉初孵仔鱼 24、48、72 和 96 h- LC_{50} 分别为 $5.361 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.844 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.020 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.352 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cd^{2+} 对日本青鳉初孵仔鱼 24、48、72 和 96 h- LC_{50} 分别为 $15.907 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10.550 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $7.986 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $6.346 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cu^{2+} 对日本青鳉稚鱼 24、48、72 和 96 h- LC_{50} 分别为 $5.732 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.037 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.498 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.955 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cd^{2+} 对日本青鳉稚鱼的 24、48、72 和 96 h- LC_{50} 分别为 $16.419 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $11.745 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $8.516 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $6.776 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与其它淡水水生生物相比, 日本青鳉仔稚鱼对铜和镉离子较为敏感。

关键词: 日本青鳉; 重金属; 发育阶段; 急性毒性

文章编号: 1673-5897(2014)4-793-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity Effects of Copper and Cadmium on the Early Developmental Stage of *Oryzias latipes*

Wang Hongpan^{1,2}, Zhao Yanmin², Qin Yanwen², Liu Xianbin^{1,*}

1. Tianjin key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, State Environmental Protection Key Laboratory of Estuary and Coastal Environment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Received 27 May 2014 accepted 30 June 2014

Abstract: In order to explore and compare the toxicity responses of *Oryzias latipes* at its early developmental stage under the exposure of Cu^{2+} and Cd^{2+} , static-renewal acute toxicity (48 h) on the embryo of *Oryzias latipes* and acute toxicity (96 h) on the fry and fingerling were investigated. The results showed that the 24

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX7503)

作者简介: 王洪盼(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为水生生态毒理学, E-mail: wanghp0227@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: bx0688@tust.edu.cn

and 48 h-LC₅₀ values were 8.164 and 6.965 mg·L⁻¹, respectively, for Cu²⁺-exposed embryos of *Oryzias latipes*; and were 63.084 and 53.093 mg·L⁻¹, respectively, for Cd²⁺-exposed embryos of *Oryzias latipes*. Embryo incubation time of *Oryzias latipes* was shortened in low Cu²⁺ concentration (≤ 1.97 mg·L⁻¹) while was prolonged in high Cu²⁺ concentration (≥ 3.87 mg·L⁻¹). In contrast, regardless of what the cadmium concentration was, all the embryo incubation time of *Oryzias latipes* exposed to Cd²⁺ were prolonged significantly. Cu²⁺ and Cd²⁺ could decrease the hatchability of the embryos when the concentrations were higher than 1.97 mg·L⁻¹ and 19.68 mg·L⁻¹, respectively. The 24, 48, 72 and 96 h-LC₅₀ values for *Oryzias latipes* larvae exposed to Cu²⁺ were 5.361, 2.844, 2.020 and 1.352 mg·L⁻¹, respectively; the 24, 48, 72 and 96 h-LC₅₀ values for *Oryzias latipes* larvae exposed to Cd²⁺ were 15.907, 10.550, 7.986 and 6.346 mg·L⁻¹, respectively; the 24, 48, 72 and 96 h-LC₅₀ values for *Oryzias latipes* fingerling exposed to Cu²⁺ were 5.732, 4.037, 2.498 and 1.955 mg·L⁻¹, respectively; and the 24, 48, 72 and 96 h-LC₅₀ values for *Oryzias latipes* fingerling exposed to Cd²⁺ were 16.419, 11.745, 8.516 and 6.776 mg·L⁻¹, respectively. Compared with other freshwater aquatic organisms, the *Oryzias latipes* fry and fingerling were sensitive to copper and cadmium.

Keywords: *Oryzias latipes*; heavy metal; developmental stage; acute toxicity

日本青鳉(*Oryzias latipes*)隶属于辐鳍鱼纲(Actinopterygii)、鹤鲶目(Beloniformes)、异鳉科(Adrianichthyidae),成年个体体长20~40 mm之间,广泛分布于日本、朝鲜及我国华北、华东及华南地区,是研究鱼类胚胎发育、遗传变异及生理特性的好材料,也是水生毒理学的标准实验用鱼之一。

铜和镉是环境中普遍存在的两种重金属。近年来,国内外众多研究者针对铜、镉对水生动物的毒性影响开展了相关研究,涉及的水生动物如无脊椎动物的克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*)、红裸须摇蚊幼虫(*Propiloscerus akamus*)和羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)等,脊椎动物如鳙(*Aristichthys nobilis*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、唐鱼(*Tanichthys albonubes*)、中华鲮鱼(*Rhodens sinensis Gunthe*)和斑马鱼(*Brachydanio rerio*)等^[1-11],而关于铜和镉对日本青鳉早期发育阶段的急性毒性效应研究则相对较少。同一物种在不同发育阶段对铜、镉的敏感性不同,一般而言,胚胎及仔稚鱼阶段是对重金属污染物敏感阶段^[12-14],本研究以日本青鳉胚胎、仔稚鱼为研究对象,在实验室通过半静态方式,对日本青鳉受精卵和仔稚鱼分别进行急性毒性实验研究,研究结果有助于了解重金属对青鳉的毒性影响机制,同时为构建铜、镉的环境基准提供科学依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试验用日本青鳉

日本青鳉由中国环境科学研究院人工模拟养殖

基地驯养,成鱼体长(2.8 ± 0.3) cm,体重(0.42 ± 0.12) g。将其养殖在20 L的矩形玻璃钢中,每天定点投喂2次新鲜孵化24 h的丰年虫幼虫;实验室温度控制在(24 ± 1) °C,光照周期为16 h:8 h(昼:夜)。

显微镜下选择色泽透亮饱满、发育正常的受精卵用于胚胎发育毒性试验;选择同一批受精卵孵出,体质健康、反应灵敏、表现活泼的仔稚鱼作为试验对象开展仔稚鱼的暴露试验。

1.2 试验药物配制

试验药物为CuSO₄·5H₂O和CdCl₂·2.5H₂O,购自国药集团化学试剂有限公司,分析纯。试验前分别称取CuSO₄·5H₂O 3.906 g和CdCl₂·2.5H₂O 2.036 g,定容1 L,配制成Cu²⁺和Cd²⁺质量浓度为1 g·L⁻¹的母液备用,根据实际需要稀释成不同浓度系列的试验用液。

1.3 试验条件

实验用水为暴气自来水。暴露过程中pH值为7.1~7.4,溶解氧为6.8~8 mg·L⁻¹,总硬度(均值)250 mg·L⁻¹(以CaCO₃计),水温(24 ± 1) °C。

1.4 实验方法

采用半静态实验法。实验容器为180 mm的结晶皿,胚胎(受精后4 h)实验用水400 mL,每组50枚;仔鱼(孵出2 d后)、稚鱼实验用水200 mL,每组10尾。水温(24 ± 1) °C。正式实验前先进行预试验,以确定24 h内Cu²⁺和Cd²⁺的全致死浓度和全不致死浓度。根据预实验的结果按等对数间距设置5个浓度组,同时设1个空白对照组,每组设置3个平行。本研究设置的浓度见表1。

表1 两种重金属试验用液浓度

Table 1 The concentrations of the experimental heavy metals

生活史	重金属	质量浓度/(mg·L ⁻¹)
Life stage	Heavy metal	Concentration/(mg·L ⁻¹)
胚胎	Cu	1.00, 1.97, 3.87, 7.62, 15.00
	Cd	10.00, 19.68, 38.73, 76.21, 150.00
仔稚鱼	Cu	1.00, 1.50, 2.24, 3.35, 5.00
	Cd	4.00, 5.57, 7.77, 10.84, 15.00

胚胎暴露试验进行 48 h, 胚胎于重金属溶液中暴露 48 h 后, 每日更换未添加重金属的实验用水, 试验过程中连续观察胚胎发育情况, 记录胚胎各实验组孵化率和孵化时间(暴露开始到所有存活胚胎均孵化完成的时间), 并及时清除死亡胚胎(卵发白不透明或卵膜内物质凝聚为一白色的小点即判断为死亡)^[10]。仔稚鱼试验进行 96 h, 每日观察仔稚鱼的存活情况, 记录初孵仔鱼和稚鱼在不同浓度重金属溶液中 24、48、72 和 96 h 的死亡数, 并计算出初孵仔鱼和稚鱼各组的平均死亡率。为保证暴露试验中重金属浓度的稳定, 试验期间每 24 h 需换液 1 次。

1.5 数据分析方法

本实验所得数据均用 SPSS19.0 软件进行处理。分别建立 24 h、48 h 两个不同观察时段的日本青鳉胚胎和 24 h、48 h、72 h 和 96 h 四个不同观察时段的仔稚鱼的毒性试验数据的线性回归方程, 并计算半致死浓度(LC₅₀); 组内采用单样本 T 检验, 组间采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验, 数据的表示方法为平均值 ± 标准偏差, $p < 0.05$ 为显著差异。

2 结果 (Results)

2.1 胚胎急性毒性试验

Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉胚胎急性毒性实验结果见表 2。暴露 48 h 后, 对照组青鳉胚胎死亡率为 15.3%, 1.00 和 1.97 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺ 暴露组日本青鳉

胚胎死亡率分别为 18.0% 和 20.0%, 相比对照组没有显著性差异($p > 0.05$), 而 3.87、7.62 和 15.00 mg·L⁻¹ 的暴露组日本青鳉胚胎死亡率分别高达 48.0%、53.3% 和 75.3%, 均显著高于对照组($p < 0.05$)。

本研究设置的镉暴露浓度中, 除 10.00 mg·L⁻¹ 的镉浓度组日本青鳉胚胎平均死亡率为 18.7% 与对照组相比不具有显著性差异外($p > 0.05$), 其余各暴露组日本青鳉胚胎死亡率均显著高于对照组($p < 0.05$), 150 mg·L⁻¹ 的镉浓度组日本青鳉胚胎平均死亡率高达 91.3%。

采用机率单位法计算两种重金属离子对日本青鳉胚胎 24、48 h 的半致死浓度, 结果见表 3。铜对日本青鳉胚胎的 24、48 h 半致死浓度分别为 8.164 和 6.965 mg·L⁻¹; 镉对日本青鳉胚胎 24、48 h 半致死浓度为 63.084 和 53.093 mg·L⁻¹。二者毒性比较结果为: Cu²⁺ > Cd²⁺。

表2 暴露于 Cu²⁺、Cd²⁺ 48h 后日本青鳉胚胎死亡率
Table 2 Embryonic mortality of *Oryzias latipes* exposing to Cu²⁺ or Cd²⁺ for 48 h

离子	实验浓度/(mg·L ⁻¹)	平均死亡率/%	
		24 h	48 h
Ion	Experimental concentration/(mg·L ⁻¹)	Average mortality/%	
对照组	0.00	14.0 ± 2.0 ^{AA}	15.3 ± 2.3 ^{AA}
	1.00	16.0 ± 2.0 ^A	18.0 ± 2.0 ^A
	1.97	18.0 ± 3.5 ^A	20.0 ± 2.0 ^A
Cu	3.87	44.7 ± 4.2 ^b	48.0 ± 3.5 ^b
	7.62	50.0 ± 4.0 ^b	53.3 ± 5.0 ^b
	15.00	70.7 ± 6.1 ^c	75.3 ± 4.2 ^c
	10.00	16.0 ± 2.0 ^{AB}	18.7 ± 1.2 ^{AB}
	19.68	20.0 ± 2.0 ^B	20.7 ± 1.2 ^B
Cd	38.73	30.0 ± 3.5 ^C	37.3 ± 4.2 ^C
	76.21	62.7 ± 2.3 ^D	69.3 ± 3.0 ^D
	150.00	86.7 ± 3.0 ^E	91.3 ± 2.3 ^E
	53.093	53.0 ± 3.0 ^D	53.0 ± 3.0 ^D

注: 小写字母不同代表 Cu²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$); 大写字母不同代表 Cd²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$)。

Note: The different small letters indicate a significant difference between different Cu²⁺ exposure groups ($p < 0.05$); The different capital letters indicate a significant difference between different Cd²⁺ exposure groups ($p < 0.05$).

表3 Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉胚胎毒性试验数据的线性回归分析Table 3 The linear regression analysis of Cu²⁺、Cd²⁺ on toxicity experimental data of *Oryzias latipes*

金属	暴露时间/h	回归方程	R ²	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95% 置信区间
Metal	Exposure time/h	Regression equation			95% confidence interval
Cu	24	$y = 3.6812x + 19.370$	0.9151	8.164	4.730 ~ 15.188
	48	$y = 3.8566x + 21.508$	0.9156	6.965	3.051 ~ 13.204
Cd	24	$y = 0.4937x + 16.980$	0.9731	63.084	56.125 ~ 70.495
	48	$y = 0.5137x + 19.777$	0.9620	53.093	46.673 ~ 59.693

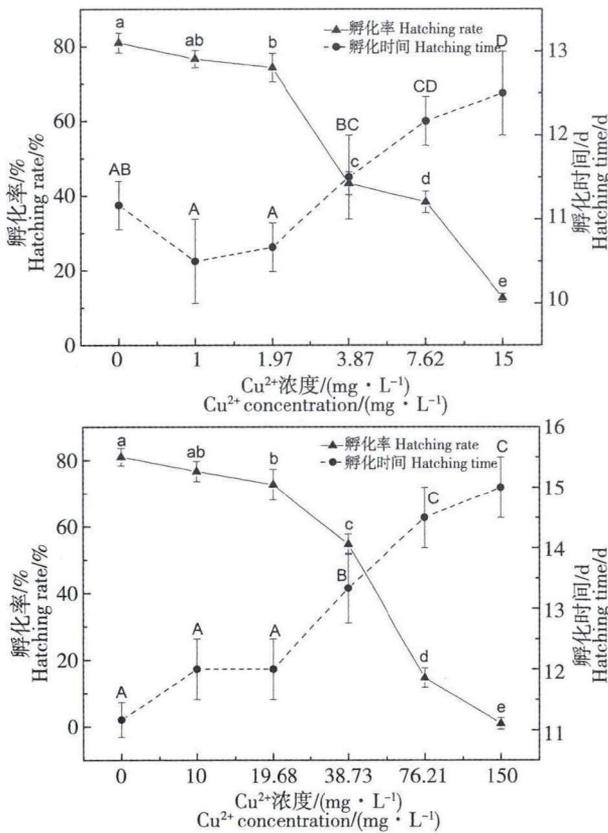


图1 Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉胚胎孵化率和孵化时间的影响

注：各个折线图字母相同表明组间差异不显著 ($p > 0.05$)；反之表明差异显著 ($p < 0.05$)。

Fig. 1 Effects of Cu²⁺ and Cd²⁺ on hatching rate and hatching times of *Oryzias latipes*

Note: Same letters on each line chart show no significant difference between the groups ($p > 0.05$); conversely show significant difference ($p < 0.05$).

Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉胚胎孵化率和孵化时间的影响如图1所示。两种金属均降低了日本青

鳉胚胎的孵化率。Cu²⁺ 和 Cd²⁺ 质量浓度分别高于 197mg·L⁻¹ 和 19.68 mg·L⁻¹ 时, 孵化率显著低于对照组 ($P < 0.05$)。然而, 两种金属对日本青鳉胚胎的孵化时间的作用方式有所差异。Cu²⁺ 较低浓度组 ($\leq 1.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时日本青鳉胚胎的发育速率快于对照组, 而较高浓度组 ($\geq 3.87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 胚胎的发育速率则慢于对照组。Cd²⁺ 在各个质量浓度水平上都会对胚胎的孵化起一定的抑制作用, 且对胚胎发育速率抑制作用随着暴露浓度的升高而增大。

2.2 重金属对日本青鳉初孵仔鱼的急性毒性

Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉初孵仔鱼急性毒性实验结果如表4所示, 1.00 和 1.50 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺ 暴露 48 h 后初孵仔鱼出现死亡, 死亡率分别为 6.7% 和 26.7%, 72 h 后死亡率分别为 16.7% 和 40%, 96 h 后死亡率分别为 36.7% 和 56.7%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$)。2.24、3.35 和 5.00 mg·L⁻¹ 的铜处理组暴露 24 h 后即出现初孵仔鱼死亡现象, 平均死亡率分别为 10.0%、26.7% 和 40.0%, 均显著高于对照组 ($p < 0.05$), 且随着暴露时间的延长, 死亡率逐渐升高。

镉暴露浓度中, 4.00 mg·L⁻¹ 的 Cd²⁺ 暴露 72 h 后初孵仔鱼出现死亡, 死亡率为 10.0%, 96 h 死亡率为 20.0%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$)。5.57 mg·L⁻¹ 的镉浓度组暴露 48 h 后初孵仔鱼开始出现死亡, 死亡率为 6.7%, 72 h 和 96 h 死亡率分别为 23.3% 和 40.0%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$), 7.77、10.84 和 15.00 mg·L⁻¹ 的镉处理组暴露 24 h 后即出现初孵仔鱼死亡现象, 平均死亡率分别为 6.7%、16.7% 和 40.0%, 而且 10.84 和 15.00 mg·L⁻¹ 的处理组死亡率显著高于对照组 ($p < 0.05$), 而且随着暴露时间的延长, 死亡率呈上升趋势。

表4 Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉初孵仔鱼死亡率的影响

Table 4 Effects of Cu²⁺ and Cd²⁺ on mortality of newly-hatched larvae of *Oryzias latipes*

离子 Ion	实验浓度/(mg·L ⁻¹) Experimental concentration/(mg·L ⁻¹)	不同时间平均死亡率/% Average mortality of different time/%			
		24 h	48 h	72 h	96 h
对照组 Control group	0.00	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}
	1.00	0.0 ± 0.0 ^A	6.7 ± 5.8 ^A	16.7 ± 5.8 ^B	36.7 ± 5.8 ^B
	1.50	0.0 ± 0.0 ^A	26.7 ± 5.8 ^B	40.0 ± 10.0 ^C	56.7 ± 11.5 ^C
	2.24	10.0 ± 0.0 ^B	43.3 ± 5.8 ^C	60.0 ± 10.0 ^D	80.0 ± 10.0 ^D
	3.35	26.7 ± 5.8 ^C	56.7 ± 15.3 ^C	80.0 ± 17.3 ^C	100.0 ± 0.0 ^E
Cu	5.00	40.0 ± 10.0 ^D	90.0 ± 10.0 ^D	100.0 ± 0.0 ^F	100.0 ± 0.0 ^E
	4.00	0.0 ± 0.0 ^A	0.0 ± 0.0 ^A	10.0 ± 0.0 ^{AB}	20.0 ± 0.0 ^B
	5.57	0.0 ± 0.0 ^A	6.7 ± 5.8 ^A	23.3 ± 5.8 ^B	40.0 ± 10.0 ^C
	7.77	6.7 ± 5.8 ^A	40.0 ± 0.0 ^B	66.7 ± 11.5 ^C	76.7 ± 11.5 ^D
	10.84	16.7 ± 5.8 ^B	56.7 ± 11.5 ^C	76.7 ± 15.3 ^{CD}	86.7 ± 5.8 ^D
Cd	15.00	40.0 ± 10.0 ^C	80.0 ± 10.0 ^D	90.0 ± 0.0 ^D	100.0 ± 0.0 ^E

注: 小写字母不同代表 Cu²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$); 大写字母不同代表 Cd²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$)。

Note: The different small letters indicate a significant difference between different Cu²⁺ exposure groups ($p < 0.05$); The different capital letters indicate a significant difference between different Cd²⁺ exposure groups ($p < 0.05$).

采用机率单位法计算两种重金属离子对日本青鳉初孵仔鱼 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度见表 5。铜对日本青鳉初孵仔鱼的 24、48、72 和 96 h 半致死浓度分别为 5.361、2.844、2.020 和 1.352 mg·L⁻¹; 镉对日本青鳉初孵仔鱼 24、48、72 和 96 h 半致死浓度分别为 15.907、10.550、7.986 和 6.346 mg·L⁻¹。二者毒性比较结果为: Cu²⁺ > Cd²⁺。

2.3 重金属对日本青鳉 30 d 稚鱼的急性毒性

Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉 30 d 稚鱼急性毒性实验结果如表 6 所示。1.00 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺ 暴露 72 h 后 30 d 稚鱼出现死亡, 死亡率为 10.0%, 96 h 死亡率为 20.0%, 均显著高于对照组 ($p < 0.05$)。1.50 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺ 暴露 48 h 后 30 d 稚鱼出现死亡, 死亡率为 6.7%, 72 h 和 96 h 死亡率分别为 20.0% 和 30.0%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$)。2.24、3.35 和 5.00 mg·L⁻¹ 的

铜处理组暴露 24 h 后即出现 30 d 稚鱼死亡现象, 平均死亡率分别为 10.0%、16.7% 和 33.3%, 均显著高于对照组 ($p < 0.05$), 且随着暴露时间的延长, 死亡率逐渐升高。

镉暴露浓度中, 4.00 mg·L⁻¹ 的 Cd²⁺ 暴露 72 h 后 30 d 稚鱼出现死亡, 死亡率为 6.7%, 96 h 死亡率为 16.7%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$)。5.57 和 7.77 mg·L⁻¹ 的镉浓度组暴露 48 h 后 30 d 稚鱼开始出现死亡, 死亡率分别为 6.7% 和 30.0%, 72 h 后死亡率分别为 30.0%、和 56.7%, 96 h 后死亡率分别为 40.0% 和 70.0%, 显著高于对照组 ($p < 0.05$)。10.84 和 15.00 mg·L⁻¹ 的镉处理组暴露 24 h 后即出现 30 d 稚鱼死亡现象, 平均死亡率分别为 10.0% 和 26.7%, 均显著高于对照组 ($p < 0.05$), 而且随着暴露时间的延长, 死亡率呈上升趋势。

表 5 Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉初孵仔鱼毒性试验数据的线性回归分析

Table 5 The linear regression analysis of Cu²⁺、Cd²⁺ on toxicity experimental data of newly-hatched larvae of *Oryzias latipes*

金属	暴露时间/h	回归方程	R ²	LC ₅₀	95% 置信区间	安全浓度/(mg·L ⁻¹)
Metal	Exposure time/h	Regression equation		/(mg·L ⁻¹)	95% confidence interval	Safe concentration/(mg·L ⁻¹)
Cu	24	$y = 9.0683x - 7.0056$	0.9152	5.361	4.644 ~ 6.832	0.135
	48	$y = 18.599x - 3.3541$	0.9787	2.844	2.460 ~ 3.285	
	72	$y = 20.828x + 4.0050$	0.9562	2.020	1.691 ~ 2.339	
	96	$y = 20.171x + 18.216$	0.8391	1.352	1.015 ~ 1.595	
Cd	24	$y = 3.7081x - 19.355$	0.9453	15.907	14.137 ~ 19.499	0.635
	48	$y = 7.5185x - 28.262$	0.9602	10.550	7.834 ~ 15.475	
	72	$y = 7.3687x - 13.636$	0.9089	7.986	4.145 ~ 11.678	
	96	$y = 7.0853x + 3.4990$	0.8624	6.346	5.436 ~ 7.158	

表 6 Cu²⁺、Cd²⁺ 对日本青鳉 30d 稚鱼死亡率的影响

Table 6 Effects of Cu²⁺ and Cd²⁺ on mortality of larvae of 30 days of *Oryzias latipes*

离子	实验浓度/(mg·L ⁻¹)	不同时间平均死亡率/%				
		Average mortality of different time/%				
Ion	Experimental concentration/(mg·L ⁻¹)	24 h	48 h	72 h	96 h	
对照组	Control group	0.00	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}	0.0 ± 0.0 ^{AA}
Cu	1.00	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	10.0 ± 10.0 ^b	20.0 ± 10.0 ^b	
	1.50	0.0 ± 0.0 ^a	6.7 ± 5.8 ^a	20.0 ± 0.0 ^c	30.0 ± 0.0 ^b	
	2.24	10.0 ± 10.0 ^b	23.3 ± 5.8 ^b	36.7 ± 5.8 ^d	66.7 ± 15.3 ^c	
	3.35	16.7 ± 5.8 ^b	43.3 ± 11.5 ^c	76.7 ± 5.8 ^e	86.7 ± 5.8 ^d	
	5.00	33.3 ± 5.8 ^c	63.3 ± 5.8 ^d	100.0 ± 0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^d	
Cd	4.00	0.0 ± 0.0 ^A	0.0 ± 0.0 ^A	6.7 ± 5.8 ^A	16.7 ± 5.8 ^B	
	5.57	0.0 ± 0.0 ^A	6.7 ± 5.8 ^A	30.0 ± 10.0 ^B	40.0 ± 10.0 ^C	
	7.77	0.0 ± 0.0 ^A	30.0 ± 10.0 ^B	56.7 ± 5.8 ^C	70.0 ± 10.0 ^D	
	10.84	10.0 ± 0.0 ^B	46.7 ± 11.5 ^C	70.0 ± 0.0 ^D	83.3 ± 5.8 ^E	
	15.00	26.7 ± 5.8 ^C	70.0 ± 0.0 ^D	86.7 ± 5.8 ^E	96.7 ± 5.8 ^F	

注: 小写字母不同代表 Cu²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$); 大写字母不同代表 Cd²⁺ 暴露组间差异显著 ($p < 0.05$)。

Note: The different small letters indicate a significant difference between different Cu²⁺ exposure groups ($p < 0.05$); The different capital letters indicate a significant difference between different Cd²⁺ exposure groups ($p < 0.05$).

采用机率单位法计算两种重金属离子对日本青鳉 30 d 稚鱼 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度, 结果见表 7。铜对日本青鳉 30 d 稚鱼的 24、48、72 和 96 h 半致死浓度分别为 5.732、4.037、2.498 和 1.955 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 镉对日本青鳉 30 d 稚鱼 24、48、72 和 96 h 半致死浓度分别为 16.419、11.745、8.516 和 6.776 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。二者毒性比较结果为: $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ 。

3 讨论 (Discussion)

3.1 日本青鳉不同发育阶段对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 的急性致毒效应分析

生物对污染物胁迫响应的敏感程度受其自身进化程度、栖息环境、代谢能力及发育状况等多种因素影响^[16]。McKim 等^[14]评述了 34 种污染物对 4 种鱼类的 56 次生活周期的毒性实验资料后指出, 鱼类胚胎、仔鱼和早期幼鱼生活阶段是最为敏感的阶段。本研究中两种重金属离子对青鳉仔稚鱼的毒性远远大于胚胎。叶素兰等^[10]认为可能是卵膜对胚胎有一定的保护作用, 重金属离子不能有效地突破卵膜的保护而进入胚胎, 从而提供给胚胎更充足的时间来发育而减低了毒害作用。日本青鳉胚胎外覆盖了卵膜, 卵膜的主要成分是纤维蛋白, 按照配位化学的理论, 蛋白质分子中的大量巯基(-SH)对二价金属离子尤其重金属离子具有极高的亲和力, 通过络合绑定, 使金属从自由态变成无毒状态, 从而降低了重金属的毒性^[17-20]。本研究中, 高浓度组受精卵的绒毛膜随暴露时间的延长而渐渐变得模糊、发白, 进而卵开始凝固, 可能是金属离子与绒毛膜上蛋白质结合导致蛋白变性失活而使得膜整体结构改变^[15]。高浓度组的胚胎孵化出膜后活力很弱, 多数在短时间内死亡。实验结果与叶素兰等^[10]报道 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等重金

属离子对鳙胚胎和仔鱼的急性毒性、吴玉霖等^[21]报道对牙鲮(*Paralichthys olivaceus*)胚胎和仔鱼的毒性影响的结果相一致。但与何斌等^[5]报道对淡水石斑鱼(*Cichlasoma manggwen-se*)胚胎的毒性大于仔鱼、陈其晨等^[22]报道的草鱼(*Ctenopharyngodon idel-lus*)胚胎的毒性大于鱼苗、吴鼎勋等^[23]报道重金属对鳊状黄姑鱼(*Nibeia miichthioides*)胚胎的毒性大于仔鱼的结果相比有较大出入。何斌等^[5]认为其主要原因可能是重金属离子进入胚胎后, 破坏其组织器官的形成和影响其正常的代谢活动, 而仔稚鱼由于其体内组织器官已经趋于完善, 对外界的重金属离子有一定的抵抗和耐受能力。而其中草鱼产漂浮性卵, 蛋白少, 卵膜的孔径较大(吸水膨胀后膜径大于 4.5 mm), 可能因为渗入的重金属离子多而导致胚胎的毒性大于鱼苗, 这还需要进一步研究^[24]。

3.2 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对日本青鳉的急性毒性差异

本研究发现, Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 对胚胎发育期的日本青鳉急性毒性表现为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ 。研究结果与陈国柱等^[25]报道重金属对唐鱼胚胎毒性和叶素兰等^[10]报道重金属离子对鳙胚胎毒性的影响结果一致。然而, 本研究发现两种金属离子对于日本青鳉胚胎孵化的影响方式存在差异, Cu^{2+} 较低浓度组 ($\leq 1.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时日本青鳉胚胎的发育速率快于对照组, 而较高浓度组 ($\geq 3.87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 胚胎的发育速率则慢于对照组, 而 Cd^{2+} 无论高低, 均表现出对胚胎发育的抑制趋势。铜元素隶属于生物必需重金属元素, 只有超过一定量才会产生毒性, 但这个阈值是很低的。低浓度时促进青鳉胚胎发育, 初步的解释认为这可能是重金属对不同生物的孵化酶激活或破坏不同所致^[9], 其机理将有待于进一步研究; 而镉则为非必需重金属元素, 对青鳉胚胎的毒性影响作用较为明显。

表 7 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对日本青鳉 30 d 稚鱼毒性试验数据的线性回归分析

Table 7 The linear regression analysis of Cu^{2+} 、 Cd^{2+} on toxicity experimental data of larvae of 30 days of *Oryzias latipes*

金属 Metal	暴露时间/h Exposure time/h	回归方程 Regression equation	R^2	LC_{50} ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	95% 置信区间 95% confidence interval	安全浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Safe concentration/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Cu	24	$y = 7.1550x - 5.6099$	0.9177	5.732	4.905 ~ 7.663	0.135
	48	$y = 14.180x - 8.1602$	0.9523	4.037	3.565 ~ 4.731	
	72	$y = 21.849x - 7.1104$	0.9684	2.498	2.220 ~ 2.821	
	96	$y = 21.523x + 3.6017$	0.9317	1.955	1.663 ~ 2.243	
Cd	24	$y = 2.4905x - 14.174$	0.8806	16.419	14.801 ~ 20.381	0.635
	48	$y = 6.5182x - 25.624$	0.9854	11.745	10.601 ~ 13.286	
	72	$y = 6.9333x - 9.8739$	0.9102	8.516	5.539 ~ 11.759	
	96	$y = 6.9912x + 0.9584$	0.8840	6.776	5.730 ~ 7.708	

同一时间的Cd²⁺对仔稚鱼的LC₅₀值均远远高于Cu²⁺,表明Cu²⁺对日本青鳉的毒性高于Cd²⁺。与白秀娟等^[26],叶素兰等^[10],黄辨非等^[27]研究的结果相一致,但何斌等^[5]对淡水石斑(*Cichlasoma mangguen-se*)仔鱼的研究发现,Cd²⁺的LC₅₀值小于Cu²⁺,表明Cu²⁺、Cd²⁺对仔稚鱼的毒性可能存在着种间差异^[10]。有研究表明,食性、营养级和体重的增长速率是影响其种间差异的重要因素^[28]。

研究发现,2种重金属离子在较高的质量浓度中对日本青鳉仔稚鱼有较明显的影响,使日本青鳉表现出不同程度的中毒反应,甚至死亡。最低质量浓度组的仔稚鱼活动状况与对照组基本无差异,大多在实验容器中上水层静止或缓慢游动,死亡现象很少。较高浓度组日本青鳉仔稚鱼放入实验容器内很快出现异常反应,在容器内作快速游动状,随着实验时间的延长,仔稚鱼的活力开始减弱,不时地在水中侧游、打转,上下直窜,逐渐开始游动缓慢,对外界的刺激反应也变得迟钝,慢慢的丧失了运动能力,最后死亡漂浮在水面。中毒死亡的个体体态呈白色,大多腹部侧斜向上,鱼体僵硬。

本研究结果表明,日本青鳉初孵仔鱼对铜和镉的安全质量浓度分别为0.135、0.635 mg·L⁻¹;稚鱼对铜和镉的安全质量浓度分别为0.196、0.678 mg·L⁻¹。Cu²⁺和Cd²⁺的安全质量浓度均高于《地表水环境质量标准》(GB3838—2002)中Ⅰ类水质标准^[29]和《渔业水质标准》(GB11607—1989)^[30]所规定的指标,表明日本青鳉仔稚鱼对Cu²⁺和Cd²⁺具有较强的耐受特性。

3.3 日本青鳉对Cu²⁺、Cd²⁺的敏感性评价

本研究总结了国内外有关重金属离子对淡水鱼

类的急性毒性结果,特别总结了处于早期敏感阶段的LC₅₀数据情况(表8),以对比分析日本青鳉对重金属离子胁迫响应的敏感程度。

从表6、7还能看出,Cu²⁺、Cd²⁺对青鳉仔稚鱼的LC₅₀值明显高于叶素兰等^[10],何斌等^[5]分别报道重金属离子对鳙仔鱼(*Aristichthys nobilis*)和淡水石斑(*Cichlasoma mangguense*)仔鱼的LC₅₀值,低于卜艳珍等^[31],李浩等^[4]报道重金属对金鱼幼鱼(*Carassius auratus*)、羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)和红裸须摇蚊幼虫(*Prosilocerus akamus*)的LC₅₀值;说明Cu²⁺、Cd²⁺对青鳉仔稚鱼的毒性低于鳙仔鱼和淡水石斑仔鱼的毒性而高于对金鱼幼鱼、羽摇蚊幼虫和红裸须摇蚊幼虫的毒性。

由表8可知,Cu²⁺和Cd²⁺对淡水水生动物仔稚期LC₅₀范围分别为:0.023~209 mg·L⁻¹和0.015~767 mg·L⁻¹,而Cu²⁺和Cd²⁺对日本青鳉仔稚鱼LC₅₀范围分别为:1.352~1.955 mg·L⁻¹和6.346~6.776 mg·L⁻¹。可见,日本青鳉仔稚鱼与其它淡水水生动物相比对Cu²⁺和Cd²⁺较为敏感。

本研究还发现,在实验期间Cu²⁺对日本青鳉胚胎、仔稚鱼的LC₅₀值均小于Cd²⁺对其的LC₅₀值,说明Cu²⁺对日本青鳉胚胎、仔稚鱼的敏感性大于Cd²⁺。而Cu²⁺、Cd²⁺对日本青鳉仔稚鱼的LC₅₀值小于胚胎的LC₅₀值,从这一结果可以得知日本青鳉胚胎、仔稚鱼对Cu²⁺、Cd²⁺两种重金属的敏感程度依次为:仔稚鱼>胚胎。这与Yang等^[32],陈中智等^[33],Kashiwada等^[34]研究的结论相吻合。其原因可能是胚胎卵膜硬化可以较好的阻塞污染物进入胚胎的通路来抵御外界有毒的化学物质^[35]。

表8 Cu²⁺、Cd²⁺对淡水水生动物急性毒性数据

Table 8 Acute toxicity of Cu²⁺ and Cd²⁺ to Freshwater aquatic animals

鱼种 Fish fingerling	受测阶段 Test stage	暴露时间 Exposure time	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)		文献 Literature
			Cu ²⁺	Cd ²⁺	
日本青鳉 <i>Oryzias latipes</i>	初孵仔鱼 Larvae	96h	1.352	6.346	本研究
日本青鳉 <i>Oryzias latipes</i>	稚鱼 Fingerling	96h	1.955	6.776	In this study
罗氏沼虾 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	仔虾 Larval shrimp	96h	0.462	0.015	[36]
牙鲆 <i>Paralichthys solivaceus</i>	仔鱼 Larvae	96h	0.023	0.142	[20]
鳙 <i>Aristichthys nobilis</i>	仔鱼 Larvae	96h	0.100	0.320	[10]
三疣梭子蟹 <i>Portunus trituberculatus</i>	幼蟹 Juvenile crab	96h	0.156	-	[37]
日本对虾 <i>Penaeus japonicus</i> Bate	仔虾 Larval shrimp	96h	-	0.342	[38]
淡水石斑 <i>Cichlasoma mangguense</i>	仔鱼 Larvae	96h	0.978	0.481	[5]
黑点青鳉 <i>Oryzias melastigma</i>	初孵仔鱼 Larvae	96h	-	1.120	[16]
底鳉 <i>Fundulus heteroclitus</i>	仔鱼 Larvae	96h	-	2.230	[39]
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	幼鱼 Juvenile fish	96h	-	3.490	[6]

续表 8

克氏原螯虾 <i>Procambarus clarkia</i>	仔 虾 Larval shrimp	96h	5.280	3.740	[9]
厚颌鲂 <i>Megalobrama pellegrini</i>	幼 鱼 Juvenile fish	96h	0.230	4.440	[40]
绿蟾蜍 <i>Bufo viridis</i>	幼 仔 Larvae	96h	1.100	-	[41]
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	幼 蟹 Juvenile crab	96h	-	5.348	[42]
斑马鱼 <i>Brachydanio rerio</i>	幼 鱼 Juvenile fish	96h	0.174	6.497	[1]
中国林蛙 <i>Rana chensinensis</i>	幼 仔 Larvae	96h	2.990	-	[43]
中华鲮鱼 <i>Rhodens sinensis</i> Gunther	幼 鱼 Juvenile fish	96h	0.236	7.270	[11]
金 鱼 <i>Carassius auratus</i>	幼 鱼 Juvenile fish	96h	-	13.50	[31]
唐 鱼 <i>Tanichthys albonubes</i>	初 孵仔鱼 Larvae	96h	0.323	20.59	[8]
羽摇蚊虫 <i>Chironomus plumosus</i>	幼 虫 Larvae	96h	91.00	186.0	[4]
红裸须摇蚊虫 <i>Prosilocerus akamus</i>	幼 虫 Larvae	96h	209.0	767.0	[4]

注：“—”为无相关记录或未测定。

Note: “—” no relevant records or determined.

通讯作者简介: 刘宪斌 (1964—), 男, 博士后, 教授, 主要从事环境生态调查与修复、海岸带地质环境研究。

参考文献:

- [1] Zodrow J M, Stegeman J J, Tanguay R L. Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in zebrafish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, (66): 25 - 38
- [2] Dutta K, Kaviraj A. Acute toxicity of cadmium to fish *Laheo rohita* and copepod *Diaptomus forbesi* pre-exposed to Cao [J]. *Chemosphere*, 2001, 42(8): 955 - 958
- [3] 陈锡涛. 镉对花鲢 (*Aristichthys nobilis*) 幼鱼, 鱼苗和鱼种的急性毒性及其安全浓度的评价[J]. *环境科学与技术*, 1991, 4: 5 - 8
- [4] 李 浩. 铜和镉对羽摇蚊幼虫 (*Chironomus plumosus*) 和红裸须摇蚊幼虫 (*Prosilocerus akamus*) 的毒性效应 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012
- Li H. Toxic effects of copper and cadmium exposure on *Chironomus plumosus* and *Prosilocerus akamus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012 (in Chinese)
- [5] 何 斌, 何利君, 杜 军, 等. 4 种重金属离子对淡水石斑胚胎及仔鱼急性毒性的研究[J]. *水利渔业*, 2006, 26(4): 94 - 95, 106
- [6] 蔺玉华, 卢建民, 梁智龙, 等. 铬对鲤、草鱼胚胎发育及鱼苗的毒性影响[J]. *水产学杂志*, 2000, 13(2): 32 - 35
- Lin Y H, Lu J M, Liang Z L, et al. Toxic effects of chromium on embryos development and fries *Grass Carps* and *Common Carps* [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2000, 13(2): 32 - 35 (in Chinese)
- [7] 王 茜, 王 兰, 席玉英, 等. 镉对长江华溪蟹的急性毒性与积累[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2003, 26(2): 176 - 178
- Wang Q, Wang L, Xi Y Y, et al. The acute toxicity and accumulated of Cd^{2+} in freshwater Crab *Sinopotam on yang tsekiense* [J]. *Journal of Shanxi University (Natural Science)*, 2003, 26(2): 176 - 178 (in Chinese)
- [8] 陈辉辉. 铜, 镉, 氯氰菊酯和溴氰菊酯对唐鱼 (*Tanichthys albonubes* Lin) 的毒性效应 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2011
- Chen H H. Toxic effects of copper, cadmium, cypermethrin and deltamethrin exposure on *Tanichthys albonubes* Lin [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2001 (in Chinese)
- [9] 董学兴, 吕林兰, 王爱民, 等. Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 对克氏原螯虾幼虾的毒性效应研究[J]. *水生态学杂志*, 2010, 3(3): 15715 - 15718
- Dong X X, Lv L L, Wang A M, et al. Study on the acute toxicity of Cu^{2+} and Cd^{2+} acting on *Procambarus clarkii* Juvenile [J]. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(3): 15715 - 15718 (in Chinese)
- [10] 叶素兰, 余治平. Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+} 对鱮胚胎和仔鱼的急性致毒效应[J]. *水产科学*, 2009, 28(5): 263 - 267
- Ye S L, Yu Z P. Acute toxicity of Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} and Cr^{6+} to embryos and larvae of Bighead Carp *Aristichthys nobilis* [J]. *Fisheries Science*, 2009, 28(5): 263 - 267 (in Chinese)
- [11] 杨建华, 宋维彦. 3 种重金属离子对中华鲮鱼的急性毒性及安全浓度研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(23): 12481 - 12482, 12485
- Yang J H, Song W Y. Study on acute toxicity and safe concentration of 3 heavy metal ions to *Rhodens sinensis* Gunther [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(23): 12481 - 12482, 12485 (in Chinese)
- [12] Claire J, Violetle T, Amaury D L, et al. Effects of microst in-LR on development of medaka fish embryos

- (*Oryzias latipes*) [J]. *Toxicol*, 2004, 43: 141 - 147 .
- [13] Rice D W, Harrison F L, Jearld A J. Effects of copper of early life history stages of northern anchovy *EnCraul is mordax* [J]. *Fishery Bulletin*, 1980, 78(3): 675 - 682
- [14] Mckim J M. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long term toxicity [J]. *Fish Res Board Can*, 1977, 35: 112 - 118
- [15] González-Doncel M, Larrea M, Sánchez-Fortún S, et al. Influence of water hardening of the chorion on cadmium ac-cumulation in medaka (*Oryzias latipes*) eggs [J]. *Chemosphere*, 2003, 52(1): 75 - 83
- [16] 穆景利, 王莹, 王新红, 等. Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cr^{6+} 和 Pb^{2+} 对黑点青鳉 (*Oryzias melastigma*) 早期生活阶段的毒性效应研究[J]. *生态毒理学报*, 2011, 6(4): 352 - 360
- Mu J L, Wang Y, Wang X H, et al. Toxic effects of cadmium, mercury, chromium and lead on the early life stage of Marine Medaka (*Oryzias melastigam*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(4): 352 - 360 (in Chinese)
- [17] 魏欣, 茹炳根. 二价铅离子与金属硫蛋白相互作用的研究[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 1999, 15(2): 289 - 295
- Wei X, Ru B G. The interaction of two divalent lead ion with Metallothionein [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 15(2): 289 - 295 (in Chinese)
- [18] 霍礼辉, 林志华, 包永波, 等. 重金属诱导贝类金属硫蛋白研究进展[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(1): 7 - 13
- Huo L H, Lin Z H, Bao Y B, et al. The research advances of Mollusca Metallothionein induced by heavy metals [J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(1): 7 - 13 (in Chinese)
- [19] 励建荣, 宣伟. 金属硫蛋白的研究进展[J]. *食品科学*, 2010, 31(17): 392 - 396
- Li J R, Xuan W. Research progress of metallothioneine [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 31(17): 392 - 396 (in Chinese)
- [20] Geffard A, Amiard-Triquet C, Amiard J C. DO seasonal changes affect metal lothionein induction by metals in mussels *Mytilus*, *Mytilus edulis* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 61(2): 209 - 220
- [21] 吴玉霖, 赵鸿儒, 侯兰英. 重金属对牙鲆胚胎发育和仔鱼的影响[J]. *海洋与湖泊*, 1990, 21(4): 386 - 392
- Wu Y L, Zhao H R, Hou L Y. Effects of heavy metals on embryos and larvae of flat fish *Paralichthys Olivaceus* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1990, 21(4): 386 - 392 (in Chinese)
- [22] 陈其晨, 张克俭, 徐关文, 等. 重金属对鱼类毒性的综合研究[J]. *水产学报*, 1988, 12(1): 21 - 33
- Chen Q C, Zhang K J, Xu G W, et al. A comprehensive investigation on the toxic effects of heavy metals on fish [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1988, 12(1): 21 - 33 (in Chinese)
- [23] 吴鼎勋, 洪万树. 四种重金属对鮟鱇鱼胚胎和仔鱼的毒性[J]. *台湾海峡*, 1999, 18(2): 186 - 190
- Wu D X, Hong W S. Study on toxicity of four heavy metals to embryo and larval of *Nibea mitchthioides* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1999, 18(2): 186 - 190 (in Chinese)
- [24] 李修峰, 黄道明, 谢文星, 等. 汉江中游产漂流性卵鱼类产卵场的现状[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21(2): 105 - 111
- Li X F, Huang D M, Xie W X, et al. Current status of spawning grounds of fish with pelagic eggs in the middle reaches of Hanjiang River [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(2): 105 - 111 (in Chinese)
- [25] 陈国柱, 方展强. 铜、锌、镉对唐鱼胚胎及初孵仔鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. *生物学杂志*, 2011, 28(2): 28 - 31
- Chen G Z, Fang Z Q. Safety assessment and acute toxicity of copper, zinc and cadmium to the embryo and larval fish of *Tanichthys albonubes* [J]. *Journal of Biology*, 2011, 28(2): 28 - 31 (in Chinese)
- [26] 白秀娟, 卢伙胜, 冯波. 三种重金属离子对文昌鱼幼体的急性毒性[J]. *水生态学杂志*, 2013, 34(3): 81 - 84
- Bai X J, Lu H S, Feng B. Acute toxicity of three heavy metal ions on larva of *Branchiostomo belcheri* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2013, 34(3): 81 - 84 (in Chinese)
- [27] 黄辨非, 王晓娟, 罗静波. 3种重金属药物对金鱼胚胎-仔鱼的毒性试验[J]. *水利渔业*, 2006, 26(1): 92 - 94
- [28] 朱艾嘉, 许战洲, 柳圭泽, 等. 黄海常见鱼类体内汞含量的种内和种间差异研究[J]. *环境科学*, 2014, 35(2): 764 - 769
- Zhu A J, Xu Z Z, Liu G Z, et al. Inner- and inter-species differences of mercury concentration in common fishes from the Yellow Sea [J]. *Environmental Science*, 2014, 35(2): 764 - 769 (in Chinese)
- [29] 国家环境保护总局. GB3838—2002 地表水环境质量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
- [30] 国家环境保护总局. GB11607—1989 渔业水质标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1989
- [31] 卜艳珍, 杨利晓. 4种重金属对金鱼幼鱼的急性毒性研究[J]. *水利渔业*, 2007, 27(1): 84 - 85
- [32] Yang Z, Yang J X. Effect of photoperiod on the embryonic development of obscure puffer (*Takifugu obscurus*) [J]. *Journal of Fresh Water Ecology*, 2004, 19(1): 53

- 58

- [33] 陈中智, 朱琳, 姚琨, 等. Ca^{2+} 与 Pb^{2+} 相互作用对斑马鱼胚胎毒性效应的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(4): 1205 - 1209
Chen Z Z, Zhu L, Yao K, et al. Interaction between calcium and lead affects the toxicity to embryo of Zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environmental Science, 2009, 30(4): 1205 - 1209 (in Chinese)
- [34] Kashiwada S, Ishikawa H, Miyamoto N, et al. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers [J]. Water Research, 2002, 36 (8): 2161 - 2166
- [35] 张陆伟, 蔡磊明, 赵学平, 等. 3种杀菌剂对日本青鳉早期生命阶段毒性效应初步研究[J]. 环境科学学报, 2013, 33(10): 2897 - 2903
Zhang L W, Cai L M, Zhao X P, et al. Preliminary study on toxic effects of three fungicides on early life-stage of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(10): 2897 - 2903 (in Chinese)
- [36] 江敏, 臧维玲, 姚庆祯, 等. 四种重金属对罗氏沼虾仔虾的毒性作用[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 203 - 207
Jiang M, Zang W L, Yao Q Z, et al. The toxicity of four heavy metals on *Macrobrachium rosenbergii* postlarva [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2002, 11 (3): 203 - 207 (in Chinese)
- [37] 姚海富, 杨阳, 陈伟杨, 等. 四种重金属对三疣梭子蟹蚤状幼体的急性毒性[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2008, 13(4): 16 - 19
Yao H F, Yang Y, Chen W Y, et al. Acute toxicity of four heavy metals on zoea larvae of *Portunus trituberculatus* [J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2008, 13(4): 16 - 19 (in Chinese)
- [38] 高淑英, 邹栋梁, 厉红梅. 汞、镉、锌和锰对日本对虾仔虾的急性毒性[J]. 海洋通报, 1999, 18(2): 93 - 96
Gao S Y, Zou D L, Li H M. Acute toxicity of Hg, Cd, Zn and Mn to postlarvae of *Penaeus japonicus* Bate [J]. Marine Science Bulletin, 1999, 18(2): 93 - 96 (in Chinese)
- [39] Sulaiman N, Hamid N H A. Aquatic toxicity testing of copper, cadmium and ammonia on seabass, *Lates calcarifer* [C]//Vigers G A, Ong K S, McPherson C, et al. ASEAN Marine Environmental Management: Quality Criteria and Monitoring for Aquatic Life and Human Health Protection. Penang, Malaysia: Proceedings of the ASEAN-Canada Technical Conference on Marine Science, 1996: 8 - 13
- [40] 程霄玲, 郑永华, 唐洪玉, 等. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 对厚颌鲂幼鱼的联合致毒效应研究[J]. 淡水渔业, 2009, 39(2): 54 - 59
Cheng X L, Zheng Y H, Tang H Y, et al. Study on the joint toxicity of Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} to the juvenile of *Megalobrama pellegrini* [J]. Freshwater Fisheries, 2009, 39(2): 54 - 59 (in Chinese)
- [41] 王爱民. 四种重金属对绿蟾蜍蝌蚪的急性毒性研究[J]. 新疆大学学报(理工版), 1990, 7(1): 60 - 64
Wang A M. Acute toxicity of 4 heavy metals on the Tadpoles of *Bufo viridis Laurenti* [J]. Journal of Xinjiang University (Institute), 1990, 7(1): 60 - 64 (in Chinese)
- [42] 于丰军, 李康, 李二超, 等. 铅和镉对中华绒螯蟹的急性毒性实验[J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 2004(增刊): 61 - 64
Yu F J, Li K, Li E C, et al. Acute toxicity and their joint toxicity effect of Pb^{2+} , Cd^{2+} for the juvenile of Chinese mitten-hanged crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Shanghai Normal University: Natural Sciences, 2004 (SI): 61 - 64 (in Chinese)
- [43] 王寿兵, 郭锐, 屈云芳, 等. Cu 对中国林蛙蝌蚪的急性毒性[J]. 应用生态学报, 1998, 9(3): 309 - 312
Wang S B, Guo R, Qu Y F, et al. Acute toxicity of Cu^{2+} to *Rana chensinensis* Tadpole [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1998, 9(3): 309 - 312 (in Chinese) ◆