

次致死浓度 Cu^{2+} 对罗非鱼呼吸生理的影响*

柴敏娟 黄玉霖

蒋忻坡

(厦门大学)

(上海市水产研究所)

提 要 本文研究次致死浓度 Cu^{2+} 对罗非鱼呼吸生理的影响。通过比较 15 天里各污染组鱼呼吸频率、振幅和鳃盖运动的变化, 得出罗非鱼异常鳃盖运动频率随 Cu^{2+} 浓度的增加而递增, 咳嗽运动先于驱逐反射(expulsion reflex), 提示鱼类的咳嗽运动和驱逐反射可作为次致死浓度下 Cu^{2+} 污染的敏感生物学监测指标。

关键词 Cu^{2+} , 鳃盖运动, 咳嗽运动, 驱逐反射, 生物学监测指标, 罗非鱼

微量重金属是水生生物生长、发育的必要元素, 水体中重金属浓度一旦超过生物的生态幅度, 便会产生致死或次致死效应。随着工业发展, 注入水域的重金属日益增多, 对鱼类资源造成重大影响, 为此, 人们开始探讨、研究重金属对鱼类生理的影响。Thomas (1913) 发现花鱗鱼 (*Fundulus heterochilitus*) 只能在 $4\text{mg}/\text{l}$ Cu^{2+} 溶液中存活 10 小时, 提出过量 Cu^{2+} 威胁着鱼类的生存^[1,2], 可惜未能引起足够的重视。五十年代后期, 水域污染日趋严重, 国外学者才相继进行研究^[7-10]。国内起步较迟, 自七十年代末, 才对中毒鱼体内毒物含量进行分析^[1], 在毒物对幼鱼存活率影响^[2]等方面开展研究, 至于毒物对呼吸生理的影响, 除黄溢明等观察过重金属对鱼呼吸生理的初期中毒效应外^[8], 尚未见到类似报道。本文以罗非鱼 (*Tilapia* sp.) 为材料, 观测次致死浓度 Cu^{2+} 对鱼类呼吸生理的影响, 探讨鱼类的呼吸频率、咳嗽运动和驱逐反射作为重金属污染指标的可行性, 为保护鱼类资源提供参考依据。

材料与 方法

实验用 50 尾罗非鱼捕自厦门大学芙蓉湖, 体长 18-22cm, 体重 100g 左右, 雌雄不拘, 暂养于 1.5M 直径圆池 10~15 天, 实验用水系去 Cl^- 的自来水, 为防止饲料影响污染液浓度, 整个实验过程不喂食。

实验共分五组, 即清水对照组和含有 0.1、0.4、0.8 和 1.2ppm Cu^{2+} 的污染组, 污染组 Cu^{2+} 浓度分别为国家渔业标准所规定浓度 (0.01mg/l) 为基数的 10、40、80、100 倍。各组 4 尾鱼, 每批实验期为 15 天, 一天定时观测 6 次, 水温为 $23^\circ \pm 1.5^\circ\text{C}$, pH 值为 5.5~6.0, 整个实验期每天换 20% 的同质水, 并用养鱼打气机连续充气, 以维持水体含足够的溶解氧。

为准确记录鱼的鳃盖运动规律, 必须在鳃盖上安装一传感器, 使鳃盖运动的变化转变为相应的电信号输出, 为此在鱼体上先固定一个安装传感器的载体, 比重同实验水, 使其对鱼的影响降至最小, 再将

* 福建省自然科学基金资助课题。

收稿年月: 1989 年 1 月; 1989 年 7 月修改。

By-P 型半导体应变片构成的呼吸运动传感器置于载体, 待鱼在实验水箱适应 0.5 小时至能自由运动后, 开始实验。借助于传感器, 鱼鳃盖运动的变化转变为应变片阻值和电桥输出电压的相应变化, 再由模数转换线路转换成数字量^[4], 供 LASER-310 型计算机计算, 并直接绘出鳃盖运动波形图。

由此测得的频率和振幅数据再送计算机, 按绘图程序直接画出原始数据曲线和拉格郎日插值曲线, 最后由勒让特正交多项式 $y = \sum_{p=0}^5 a_p P_p(x)$ 作图, 即得一光滑曲线, 它能如实反映出鱼在次致死浓度 Cu^{2+} 中毒时, 呼吸生理的变化^[6]。

实 验 结 果

一、 Cu^{2+} 对罗非鱼呼吸生理的影响

1. 呼吸频率与振幅 罗非鱼的正常呼吸频率约为 74 次/分, 系 50 尾 284 次正常呼吸频率的平均值。以此值为标准(100%), 求出实验组 15 天呼吸频率变化(图 1)。由图可知, 对照组 15 天的频率变化总在均值上下波动(图 1a), 实验组鱼在中毒初期呼吸频率均下降, 下降速率随 Cu^{2+} 浓度的增加而加速, 这与急性实验吻合^[3]。其中 0.1ppm 组鱼中毒最浅, 频率曲线会逐渐回升, 恢复到均值附近波动(图 1b), 这可能是鱼适应该环境的一种表现, 其他三组频率曲线都未回到均值, 而随 Cu^{2+} 浓度的增加离均值越来越远。(图 1, c, d, e)。

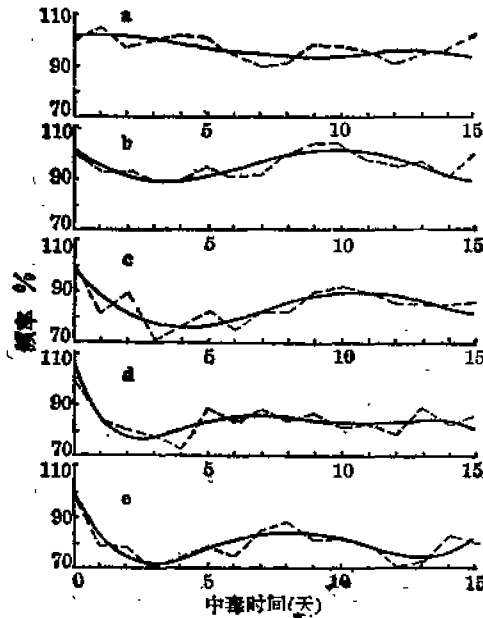


图 1 罗非鱼 15 天呼吸频率的变化

Fig. 1 Changes in respiratory frequency of *Tilapia* sp. during 15 days.

a. 对照组, b. 0.1ppm 组, c. 0.4ppm 组, d. 0.8ppm 组, e. 1.2ppm 组

.....原始数据和拉格郎日插值的重合折线

——5 次勒让特正交多项式的拟合曲线

(1) 柴敏娟等, 水域中 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 对罗非鱼鳃盖运动的影响。厦门大学学报, 待发表。

罗非鱼呼吸振幅也随 Cu^{2+} 浓度的增加而变化(图2,图中粗线表示频率,细线表示振幅)。从图可见,呼吸振幅的变化不如频率有规律,若与频率变化相对照,可发现两者存在一定的互补关系,即当呼吸频率降低时,呼吸振幅反而增大,而频率增大时,振幅倒减小。

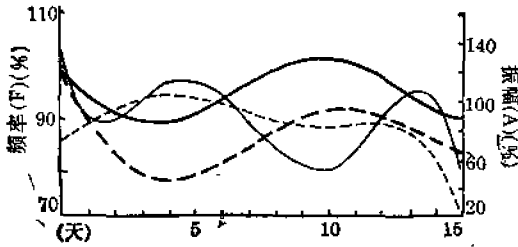


图2 污染鱼15天呼吸频率与振幅曲线

Fig. 2 Curves of respiratory frequency and amplitude in polluted fish during 15 days.

F. 频率曲线, A 振幅曲线
—0.1ppm组,0.4ppm组

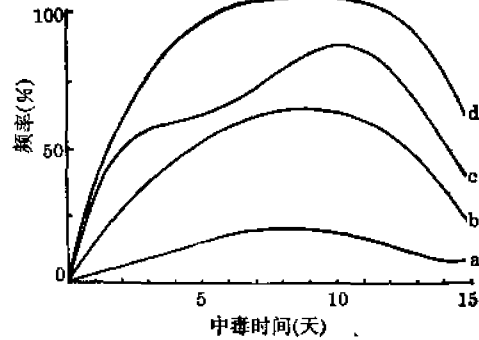


图3 污染鱼15天异常鳃盖运动的频率变化

Fig. 3 Frequency changes in abnormal opercular movement of polluted fish during 15 days.

a. 0.1ppm组, b. 0.4ppm组
c. 0.8ppm组, d. 1.2ppm组

2. 异常鳃盖运动 罗非鱼呼吸运动可分正常呼吸运动、咳嗽和驱逐反射(expulsion reflex),后两种为异常鳃盖运动。一次异常鳃盖运动常在多次正常鳃盖运动后出现,它是鱼处于不利环境的一种保护性反射。实验结果表明,对照组基本未见异常鳃盖运动,而四组污染鱼均出现异常运动,其出现频率随溶液中 Cu^{2+} 含量的增加而递增(图3),从图3的五次勒让特正交多项式拟合的光滑曲线可见,0.1ppm的曲线低而平坦,最大值仅为100次/小时,而其余三组曲线都较高耸,尤其是1.2ppm的,最大值为460次/小时,约为0.1ppm组的4.6倍。各实验组咳嗽和驱逐反射出现的时间不同,咳嗽一般在中毒5分钟就可观察到,而驱逐反射则在中毒达一定程度后才会出现。如0.1ppm组鱼在中毒第5分钟出现咳嗽运动,驱逐反射则在中毒第五天才出现,持续5天后消失;0.4ppm组的驱逐反射比前者早出现2天;0.8和1.2ppm组又比0.4ppm组提前2天出现,其中1.2ppm组鱼均在中毒0.5小时后就出现,并且后三组的驱逐反射一旦出现,就基本贯穿始终,差别仅在于频率不同,1.2ppm组的约为前两组的2.0~2.5倍。可见异常鳃盖运动的出现有一定规律,即咳嗽在前,驱逐在后,它们的频率均随污染物浓度的增加而递增;驱逐反射的出现又随污染程度的增大而提前。

二、 Cu^{2+} 对罗非鱼其他生理影响

罗非鱼是较活跃鱼类,易于集群,体色较浅,且不时发生撕咬现象。对照组鱼保持了这种好动的习性,而实验鱼一旦 Cu^{2+} 中毒,就不同程度地呆板起来,常安静地停在水里,有时用头撞壁或用身体擦壁,偶然也作急促游泳(jerk swimming)。这与 Henry (1979)观察到的行为模式相似^[6]。提示 Cu^{2+} 中毒可能引起鱼体骨骼肌麻痹,对鱼行为起间接的抑制作用。

Cu^{2+} 中毒鱼的体色和粘液分泌也受到不同程度的影响。自然状态鱼的体色淡、条纹隐而不显,中毒初期体色变深,条纹清晰。若鱼在 Cu^{2+} 液中生存下来,那么体色会随鱼

对环境的适应而逐渐变淡, 条纹不清。中毒鱼往往会分泌许多粘液, 其分泌量随中毒的深度及 Cu^{2+} 浓度的增加而增多, 1.2ppm 组鱼分泌的粘液最多, 箱底常有沉积物, 0.1ppm 组最少, 水最清澈。

罗非鱼在各污染组的存活率随 Cu^{2+} 浓度而异。0.1ppm 组存活的鱼最多(82.5%); 0.4ppm 组其次, 约 71%; 0.8ppm 组为 50%; 存活率最小的是 1.2ppm 组, 只有 23%, 可见存活率是随着 Cu^{2+} 浓度的增加而降低, 提示罗非鱼尚能在 0.1ppm Cu^{2+} 液中生存。根据 15 天的观察, LC_{50} 为 0.8ppm。

讨 论

罗非鱼在次致死浓度 Cu^{2+} 液中, 呼吸频率和振幅间的互补现象在四个实验组均存在, 这可能是 Cu^{2+} 刺激呼吸介质传播通道上的感受器, 此类感受器可接受化学性和机械性刺激^[9], 经 V、VII、X 对脑神经传播, 反射性地抑制呼吸频率, 致使体内摄氧量的不足和 CO_2 的累积, 体内过量的 CO_2 又反射性地促使呼吸运动的加深, 振幅变大增加每次换气量, 以弥补因频率减少造成的供氧不足, 笔者认为两者的互补可能是鱼维持机体需氧量的代偿效应, 是次致死浓度 Cu^{2+} 液中存活的罗非鱼适应环境的一种方法。

罗非鱼正常鳃盖运动是口腔壁、鳃盖和鳃盖膜的综合运动, 改变了口腔和鳃腔内压, 迫使水从口吸入, 从鳃孔流出。咳嗽和驱逐反射时, 改变了呼吸动作的顺序, 使经过鳃的水流方向突然逆转, 水便从口和鳃孔中突然喷出。咳嗽和驱逐反射均是清除鳃上异物的一种保护性反射, 它们的出现有明显规律。咳嗽时大部分水从鳃孔排出, 是以 Hughes 划分的后咳(backward cough)成份为主^[7]。驱逐反射是一种比咳嗽更为有效地清除异物的动作, 根据 Hughes 对硬骨鱼的咳嗽的分类方法^[7], 笔者认为驱逐是以前咳(forward cough)占优势, 鉴于它与咳嗽在出现的时间、形式、清除异物的有效率等诸方面的不同, 为有别起见, 采用 Satchell 提出的“驱逐”一词^[11]。至于两者产生的原因, 推测是因 Cu^{2+} 随水呼吸进入鳃腔, 密集地积聚在鳃组织表面及口腔壁上, 与鳃上皮分泌的粘液结合成一种不溶解性的金属蛋白质化合物, 这种化合物随中毒的延续累积增多, 成为诱发咳嗽和驱逐反射的刺激源。咳嗽和驱逐反射的生理意义尚未知, 可能是由于水和血液间正常逆流交换受到干扰, 减少了氧摄取的缘故。

由于水环境化学性质的变化, 使鳃呼吸机制受干扰而引起缺氧, 鱼体内需氧代谢受抑, 鳃次级结构血管收缩, 骨骼肌麻痹, 丧失对氧敏感的能力, 这是鳃呼吸的鱼比肺呼吸的脊椎动物对氧更敏感的原因, 为此, 鱼类的呼吸运动可作为污染的生物学监测指标。本实验结果表明, 罗非鱼呼吸运动对 Cu^{2+} 非常敏感, 特别是咳嗽和驱逐反射频率变化尤为明显, 提议可作为次致死浓度 Cu^{2+} 污染的敏感指标。

参 考 文 献

- [1] 陈其展等, 1988. 重金属对鱼类毒性的综合研究. 水产学报, 12(1): 21~23.
- [2] 周永欣等, 1981. 铜-汞、六六六-对硫磷对食蚊鱼的急性毒性. 中国环境科学, 4: 38~41.
- [3] 黄溢明等, 1988. 重金属离子(Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ag^{+})对鲢鱼咳嗽反应的影响. 环境科学学报, 8(2): 216~222.
- [4] 黄玉霖, 1986. 金鱼化学感受与摄食行为的研究. 厦门大学学报, 25(6): 705~711.

- [5] —, 1986. 勒让特正交多项式与鱼类生理的研究。生物数学论文集(中国生物数学学会)。
- [6] Henry, M. & J. Atehison, 1970. Behavioral changes in bluegill (*Lepomis macrochirus*) as indicators of sublethal effects of metals. *Env. Biol. Fish.*, 4(1): 37-42.
- [7] Hughes, G. M. & R. J. Adeney, 1977. Variations in the pattern of coughing in the rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 68: 102-122.
- [8] Ponderff, R. & M. Katz, 1953. Critical review of literature on toxicity of industrial wastes and their components to fish —II: the metals as salts. *Sewag Ind. Waster*, 25: 802-839.
- [9] Behwoldt, R. *et al.*, 1971. Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson River fish species. *Bull. Envir. Contain toxic*, 5: 445-448.
- [10] Satchell, G. H., 1982. Respiratory toxicology of fishes. In: *Aquatic toxicology*. 19-23. Ed. Weber, L. J., Raven Press. New York.
- [11] Satchell, G. H. & D. J. Maddalena, 1972. The cough or expulsion reflex in the port jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41A: 49-62.
- [12] Thomas, A., 1913. Effects of certain metallic salts upon fish. *Trans. Am. Fish Soc.*, 44: 120-124.

EFFECT OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF COPPER IONS ON RESPIRATORY PHYSIOLOGY OF *TILAPIA* SP.

Chai Minjuan and Huang Yuling

Jiang Xinpo

(Xiamen University)

(Shanghai Fisheries Research Institute)

ABSTRACT The effect of sublethal concentrations of copper ions on respiratory physiology of freshwater fish (*Tilapia* sp.) was studied. By comparing the respiratory frequency, respiratory amplitude and opercular movement among the groups of fish reared in various concentration of Cu^{2+} for 15 days, it was found that the frequency of abnormal opercular movement increased with increasing concentrations of copper ions, and the cough movement appeared earlier than the expulsion reflex did. This suggested that cough movement and expulsion reflex could be used as the sensitive biological monitoring indexes under pollution of sublethal concentration of copper ions.

KEYWORDS copper ion, opercular movement, cough movement, expulsion reflex, biological monitoring index, *Tilapia* sp.