

水体锌暴露对南方鲇 *Silurus meridionalis* 幼鱼的生态毒理学影响^①

李万军, 刘立, 闫玉莲, 谢小军

西南大学 水生生物及水环境研究所/淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要: 以人工授精获得的南方鲇 *Silurus meridionalis* Chen 幼鱼(18.92 ± 0.09) g 为研究对象, 以 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为毒物源, 在水温(27.5 ± 0.5) °C、硬度 $25 \sim 30$ mg CaCO_3/L 条件下, 测得水体锌(Zn^{2+})暴露对南方鲇的 96 h 半致死质量浓度(96 h LC_{50})为 8.98 mg/L. 在水体 Zn^{2+} 质量浓度分别为 0(对照组)、1/60 96 h LC_{50} 和 1/30 96 h LC_{50} (分别为 149.60 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 299.30 $\mu\text{g}/\text{L}$)的条件下, 进行了为期 8 周的慢性暴露实验, 结果表明: 实验鱼的终末体质量、特定体质量生长率、肥满度和肝指数均随着 Zn^{2+} 质量浓度的上升呈下降趋势, 且高质量浓度 Zn(1/30 96 h LC_{50})暴露组的终末体质量、特定体质量生长率、肥满度和肝指数均显著低于对照组($p < 0.05$); 而肾指数与静止代谢率随 Zn^{2+} 质量浓度的上升呈升高趋势, 低质量浓度 Zn(1/60 96 h LC_{50})暴露组肾指数显著高于对照组($p < 0.05$), 高质量浓度 Zn 暴露组静止代谢率显著高于其余 2 个处理组($p < 0.05$). 随着水体 Zn^{2+} 质量浓度的升高, 鱼体蛋白质质量分数、灰分质量分数、干物质质量分数以及能量密度均呈下降趋势, 而脂肪质量分数变化趋势恰相反. 2 个 Zn 暴露组鱼体蛋白质质量分数均显著低于对照组($p < 0.05$), 高质量浓度 Zn 暴露组鱼体能量密度显著低于对照组($p < 0.05$), 脂肪、灰分、干物质质量分数在各组间差异不具有统计学意义. 实验鱼的肝、鳃、肾、肠、脑和肌肉等器官组织及全鱼中的 Zn 累积量均随水体 Zn^{2+} 质量浓度呈升高趋势; 高质量浓度 Zn 暴露组肝、鳃、肠及全鱼的 Zn 累积量均显著高于对照组($p < 0.05$), 而肌肉或脑 Zn 累积量在各组间差异不具有统计学意义. 两暴露组鱼体各组织中 Zn 的累积量顺序相同, 从大到小依次为肠、鳃、肾、肝、全鱼、脑、肌肉, 两暴露组组内肠、鳃和肾中 Zn 累积量相近且均显著高于其他组织($p < 0.05$), 肌肉中的 Zn 累积量均显著低于其他组织($p < 0.05$). 通过讨论提出, 水体 Zn 暴露改变了南方鲇的能量利用模式, 鱼体优先利用蛋白质提供解毒所需额外能量, 降低了鱼体蛋白质及能量累积的速率, 导致其生长速度减缓; 水体 Zn 主要通过鳃进入鱼体, 经血液循环后分布到鱼体各器官组织, 其中肌肉是 Zn 累积的“非活跃组织”.

关键词: 水体锌(Zn); 生长; 生化组分; 组织 Zn 累积; 南方鲇

中图分类号: Q958.116

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2017)05-0001-09

重金属是水生生物环境常见的污染物之一, 其主要通过农业、工业和生活废水等人类活动进入自然水体. 随着人类活动频率加快, 包括重金属在内的外源物不断进入水生环境, 使水生生态系统受到严重损害. 水体的重金属离子可以直接或间接对水生生物产生毒害作用, 并在水生生物体内累积^[1-2]. 人类在食用受重金属污染的藻类、鱼类等水生生物的同时, 重金属便可以通过食物链最终转移到人体内并产生累积, 对人类健康产生潜在威胁^[3].

锌(Zn)是常见的重金属污染物之一, 也是生物必需元素之一. 近年来, 随着工业、农业的快速发展,

① 收稿日期: 2016-12-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31300338); 重庆市自然科学基金项目(cstc2013jjB80008); 中央高校基本科研业务费专项基金项目(XDJK2016C156).

作者简介: 李万军(1989-), 男, 山东枣庄人, 硕士, 主要从事鱼类生理生态学研究.

通信作者: 谢小军, 教授.

Zn 排放引起的水体污染也逐渐加剧。在水产养殖产业中,人工饲料中添加的过量 Zn 不会被完全吸收,释放到水体中对水生环境造成一定的污染,最终造成鱼类的中毒效应^[4]。另外,虽然长江水体的 Zn 质量浓度未超过我国渔业水体限度(0.1 mg/L),但有研究指出长江部分江段和湖泊中的 Zn 污染物和毒性对渔业的环境产生了显著的危害^[5]。

生长状态作为鱼类健康状态最直观的指标,可以直接反映重金属暴露对鱼类健康状态的影响^[6]。Zn 暴露可以改变鱼类的食欲和摄食行为,引起鱼体摄入能量的改变^[7]。Zn 暴露也会改变鱼类的基础代谢情况^[8],消耗额外能量应对 Zn 暴露毒性的生理胁迫,使得用于生长的能量占比改变^[9]。因此,可以认为鱼类的生长状态和代谢水平可以作为 Zn 暴露对鱼类影响的重要指标。

鱼类生化组成和能量密度作为能量代谢指标,可以反映鱼类在外界环境下对环境因子的适应度^[10]。蛋白质、脂肪和灰分是鱼体主要的生化组成物质,在一定条件下通常维持着相对稳定的比例^[10],当鱼体生存环境发生变化时,鱼体在改变自身代谢水平的同时改变能量的分配模式,导致鱼体生化组成发生变化^[9,11]。

水环境中的重金属主要通过水体和食物暴露途径进入鱼体^[1-2]。虽然 Zn 是维持鱼体生长发育功能必需的微量营养素^[12],但鱼类如果生长在含高质量浓度的 Zn 水体中,鱼体组织器官吸收和累积 Zn 的速率将会高于其清除能力,使其在鱼体各组织中累积^[13],对鱼体产生毒害作用^[14],干扰体内酸碱平衡及离子调节,使鳃组织功能受损,造成体内各器官组织供氧不足^[15]等毒理胁迫效应。Zn 在鱼体内的累积速率主要受温度、硬度、pH 值、盐度、暴露途径、暴露时间、暴露质量浓度等非生物因素及鱼种、鱼龄和生活史阶段等生物因素的共同影响^[13,16-18]。另外,由于鱼体各组织器官在结构和功能上的差异,其对重金属的亲合力、运转代谢和清除能力各不相同,在重金属暴露后出现组织累积分布的差异^[13,18-19]。

本研究以 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为 Zn 离子源,以南方鲇为实验对象,观测其在 96 h 内的急性中毒症状及半致死质量浓度,并测定不同水体 Zn 质量浓度暴露下对南方鲇生长指标、静止代谢、身体生化组分及各组织中 Zn 累积与分布的影响,为探讨水体 Zn 暴露对南方鲇生态毒理学机制提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 实验鱼的来源与驯化

实验鱼为西南大学水生生物及水环境研究所当年人工繁殖的同批南方鲇幼鱼。实验开始前选取体质量为 15 g 左右、体表无伤的南方鲇幼鱼 600 尾,在实验室人工养殖条件下进行驯化。将驯化鱼随机分到室内 6 个循环水养殖系统,每个循环系统 10 个养殖箱(规格为:长×宽×高=42 cm×29 cm×25 cm),每个养殖箱 10 尾。驯化温度为 $(27.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,水体硬度为 $(25 \sim 30) \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$,溶氧大于 6 mg/L, pH 值为 (7.10 ± 0.05) ,光周期为 L:D=12 h:12 h,每天 8:00 开灯,20:00 关灯(瞬时开关),关灯后以草鱼 *Ctenopharyngodon idellus* 鱼肉为饵料饱足投喂 1 次,21:00 清理残饵。实验鱼驯养时间为 2 周,每 2 d 换 1 次水,每次换水量约为总体积的 1/2。

1.2 急性实验

选取经驯化体质量相近 $(17.84 \pm 0.13) \text{ g}$ 的实验鱼 180 尾,随机分为 6 组,每组 30 尾。各组分别采用 3 个养殖箱,各养殖水箱注入 30 L 软水。水温、硬度、pH 值、光周期和溶氧等条件与驯养时一致。以 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为 Zn 离子源,经预实验结果确定水体 Zn 暴露下南方鲇的最大全存活和最小全致死质量浓度大致范围为 7.0 mg/L 和 11.0 mg/L。根据预实验结果,6 个处理组的 Zn 质量浓度分别为 0(对照),7.0,8.0,9.0,10.0 和 11.0 mg/L,每个质量浓度组 3 个重复,每个重复即 1 个养殖水箱,各养殖 10 尾。实验持续 96 h,期间不投喂,每 24 h 换水 1 次,并在换水前取水样待测水体中 Zn 的实际质量浓度。用火焰-原子分光光度计检测得每组的水体 Zn 质量浓度分别为 0(未检出), (7.12 ± 0.08) , (8.08 ± 0.07) , (9.09 ± 0.10) , (10.08 ± 0.04) 和 $(11.06 \pm 0.05) \text{ mg/L}$ (Mean±S.E., n=4)。实验开始每隔 1 h 观察 1 次,连续观察 8 h,然后每隔 4 h 观察 1 次,分别记录鱼体中毒症状与死亡情况。

1.3 慢性实验

选取经驯化后,体质量相近 $(19.72 \pm 0.10) \text{ g}$ 鱼体,随机分为 3 组,每组 70 尾(初始体质量见表 1),每组使用 1 个循环养殖系统(规格与驯养循环水养殖系统一致),每个系统由 10 个重复(10 个养殖水箱)组成,

每箱养殖 7 尾实验鱼. 根据急性实验确定水体 Zn 质量浓度对南方鲇 96 h LC_{50} ($8\,977.70\,\mu\text{g/L}$), 分别以其 96 h LC_{50} 的 1/60(低质量浓度)和 1/30(高质量浓度)对实验鱼进行水体 Zn 暴露处理, 另设 1 个空白对照, 即 3 个实验组, 水体 Zn 质量浓度分别为 0(对照)、149.60、299.30 $\mu\text{g/L}$. 实验水体溶氧量、水温、水体硬度、pH 值、光周期、换水频次与投喂时间均与驯化期条件相同. 每次换水前取水样, 用火焰-原子分光光度计测定实验水体中 Zn 的质量浓度, 测得每组水体 Zn 在养殖期间的实际质量浓度为 0(未检出)、 $(151.18\pm 0.93)\,\mu\text{g/L}$ 和 $(302.28\pm 2.01)\,\mu\text{g/L}$ (Mean $\pm$ S. E., $n=28$).

水体 Zn 暴露 8 周后, 实验鱼禁食 24 h, 然后用 MS222 麻醉, 每组随机抽取 30 尾鱼, 测定鱼体常规生物学参数, 并解剖取肝脏、鳃、肾脏、肠、肌肉和脑组织液氮冷冻, 在 $-80\,^{\circ}\text{C}$ 低温保存待测; 每组随机抽取 8 尾鱼用于测定鱼体静止代谢, 然后烘干至恒定质量, 磨粉用于测定全鱼的生化组分及全鱼 Zn 累积量.

1.4 南方鲇生长状态相关指标的计算公式

特定体质量生长率($SGRW, \%\text{d}^{-1}$)= $100\times(\ln W_t - \ln W_0)/t$

肥满度($CF, \%$)= $(W/L^3)\times 100$

肝指数($HIS, \%$)= $100W_H/W_t$

肾指数($KIS, \%$)= $100\times W_K/W_t$

其中 W_t 和 W_0 分别为鱼体终末体质量和初始体质量(g), W_H 为肝脏质量(g), W_K 为肾脏质量, L 为实验鱼体长(cm), t 为实验时间(d).

1.5 静止代谢的测定

采用西南大学水生生物与水环境研究所设计的鱼类流水式呼吸仪及相应方法测定实验鱼的耗氧率^[20-22], 水温控制在 $(27.5\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$. 水体 Zn 暴露 8 周后, 实验鱼禁食 24 h, 称体质量, 每个处理组随机抽取 8 尾鱼放入呼吸仪, 每个呼吸室置入 1 尾鱼, 另用一未放鱼的呼吸室做空白对照. 在呼吸室内驯化 24 h 后开始测定, 每 2 h 测定 1 次, 以 4 次的平均值为该鱼的静止代谢呼吸耗氧值.

实验鱼个体静止代谢率的计算公式为 $R=(\Delta O_2\times V)/m$

其中, R 表示实验鱼的静止代谢率 [$O_2: \text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{h})$], ΔO_2 表示装有实验鱼的呼吸室与空白呼吸室中的溶氧差值 ($O_2: \text{mg/h}$), V 表示呼吸室中水的流速 (L/h), m 表示实验鱼体的体质量 (kg).

1.6 鱼体组分测定及能量密度估算

将取样鱼体在 $70\,^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒定质量, 测定其干物质质量分数, 然后用研钵将其磨成细粉测定鱼体组分. 蛋白质质量分数采用凯氏定氮法测定 ($N\times 6.25$), 脂肪质量分数用索氏抽提法测定, 灰分质量分数利用马弗炉于 $550\,^{\circ}\text{C}$ 灼烧后测定, 能量密度采用公式 $E(\text{kJ/g})=\text{蛋白值质量分数}\times 23.6+\text{脂肪质量分数}\times 39.5$ 进行估算^[23].

1.7 实验水体及鱼体组织中 Zn 累积量测定

实验水样每次取 50 mL, 取样后向其加入 0.25 mL 浓硝酸酸化过滤后待测. 每组从已解剖取样的 30 尾鱼中随机选取 8 尾鱼的肝脏、肾脏、鳃、肌肉、脑测定各组织中 Zn 累积量, 用测定鱼体组分的鱼粉测定全鱼中 Zn 累积量. 样品消解和测定参考中国国家标准方法^[24]. 称取 0.1~1.0 g 样品置于 50 mL 锥形瓶中, 每个样品添加 8 mL 高氯酸-硝酸(体积比 1:4)混合酸, 静置消化 10~12 h 后用电热板 $150\,^{\circ}\text{C}$ 赶酸, 最后用 0.05% 硝酸定容至 10 mL 待测. 处理后的水样和鱼样再采用火焰-原子分光光度计(TAS-990, 北京普析通用仪器有限责任公司)测定其 Zn 累积量.

1.8 数据统计分析方法

采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件进行数据整理及统计分析. 各组间比较采用单因素方差分析和 LSD 检验, 显著性水平为 $p<0.05$, 数据表示为平均值 $\pm$ 标准误.

2 结 果

2.1 水体 Zn 急性暴露对南方鲇的毒性作用

在水体 Zn 质量浓度处理中, 实验鱼的中毒反应均表现出相同的渐进症状, 对照组各重复之间在整个实验期间的行为无明显差异, 而其余 5 个 Zn 暴露处理组随着暴露时间的延长, 实验鱼体逐渐表现出行为

异常,有的骤游骤停,有的上下翻转,时而在水中游转,碰撞水箱或其他实验鱼.随着中毒时间延长,暴露组实验鱼体游泳能力明显减弱,有的甚至发生侧身或翻转卧在水箱底部,呼吸频率先加快再降慢,出现“咳嗽反应”,Zn 暴露质量浓度越大,“咳嗽”的频率越频繁,在即将死亡前的 1~2 h 呼吸频率降低,最终死亡.最低质量浓度组 90 h 后才开始出现鱼体死亡;而最高质量浓度组在 16 h 后就出现死亡现象,48 h 死亡超过一半,96 h 全部死亡;死亡鱼体大多鳃盖张开,做呼吸状,解剖发现死亡鱼体鳃丝大多充血减少、红色变浅.与对照组相比,水体 Zn 暴露组的体表粘液增多,泄殖孔及胸鳍附着皮肤处大多出现红点.

随着水体 Zn 质量浓度升高,实验鱼的死亡率明显提高,表现出剂量效应.以 Zn 的暴露质量浓度为自变量,鱼体死亡的百分率为因变量,计算得到回归方程为 $y=23.34x-159.54(N=15, R^2=0.985)$.运用直线内插法,求得水体 Zn 暴露对南方鲇的 96 h LC_{50} 为 8.98 mg/L(图 1).

2.2 水体 Zn 慢性暴露对南方鲇生长状态的影响

8 周暴露实验后,实验鱼的终末体质量和特定体质量生长率随着 Zn 暴露质量浓度的升高而下降(表 1),且对照组与高质量浓度 Zn 暴露组间的终末体质量和特定体质量生长率差异具有统计学意义($p<0.05$),低质量浓度 Zn 暴露组与对照组和高质量浓度 Zn 暴露组间差异不具有统计学意义;暴露组实验鱼的肥满度均显著低于对照组($p<0.05$)(表 1).高质量浓度 Zn 暴露组南方鲇的肝指数显著降低($p<0.05$);暴露组的肾指数相对于对照组有升高的趋势,对照组与低质量浓度 Zn 暴露组间差异具有统计学意义($p<0.05$),而与高质量浓度 Zn 暴露组的差异不具有统计学意义.随着暴露质量浓度的升高,实验鱼体静止代谢率有增加的趋势,对照组与低质量浓度 Zn 暴露组的静止代谢率均显著低于高质量浓度 Zn 暴露组($p<0.05$),对照组与低质量浓度 Zn 暴露组间静止代谢差异不具有统计学意义(表 1).

表 1 水体 Zn 暴露对南方鲇鱼体生长参数的影响

生长参数	Zn 暴露质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	0	149.60	299.30
初始体质量/g($n=70$)	19.82±0.15	19.56±0.21	19.25±0.21
终末体质量/g($n=60$)	40.75±1.48 ^a	36.65±0.197 ^{ab}	34.20±1.89 ^b
特定生长率/($\%\cdot\text{d}^{-1}$)($n=60$)	1.22±0.07 ^a	0.98±0.08 ^{ab}	0.91±0.08 ^b
肥满度/($\%$)($n=60$)	0.84±0.01 ^a	0.76±0.03 ^b	0.77±0.08 ^b
肝指数/($\%$)($n=30$)	1.67±0.10 ^a	1.68±0.08 ^a	1.32±0.08 ^b
肾指数/($\%$)($n=30$)	0.52±0.22 ^b	0.64±0.03 ^a	0.59±0.02 ^{ab}
静止代谢率/[$\text{O}_2:\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{h})^{-1}$]($n=8$)	100.38±4.18 ^b	110.14±5.20 ^b	132.74±5.99 ^a

注:数据采用平均值±标准误(Mean±S.E.)表示;同行中不同字母表示差异具有统计学意义($p<0.05$).

2.3 水体 Zn 慢性暴露对南方鲇鱼体组分及能量密度的影响

随着水体 Zn 质量浓度的升高,实验鱼体的蛋白质量分数、灰分质量分数、干物质质量分数以及能量密度均呈下降趋势,而脂肪质量分数的变化呈相反趋势(表 2);两暴露组鱼体蛋白质质量分数显著低于对照组($p<0.05$);高质量浓度 Zn 暴露组鱼体能量密度显著低于对照组($p<0.05$),低质量浓度 Zn 暴露组鱼体能量密度与对照组和高质量浓度 Zn 暴露组差异不具有统计学意义;而脂肪质量分数、灰分质量分数和干物质质量分数在各组间差异不具有统计学意义(表 2).

2.4 鱼体组织中 Zn 的累积与分布

随着水体 Zn 暴露质量浓度升高,实验鱼的肝、鳃、肾、肠、脑和肌肉等器官组织及全鱼中的 Zn 累积量均呈升高趋势(表 3);各水体 Zn 质量浓度组间全鱼 Zn 累积量的差异均具有统计学意义($p<0.05$);高质量浓度 Zn 暴露组肠和鳃的 Zn 累积量显著高于对照组和低质量浓度 Zn 暴露组($p<0.05$),对照组和低质量浓度 Zn 暴露组之间差异不具有统计学意义;高质量浓度 Zn 暴露组肝和肾的 Zn 累积量显著高于对照组

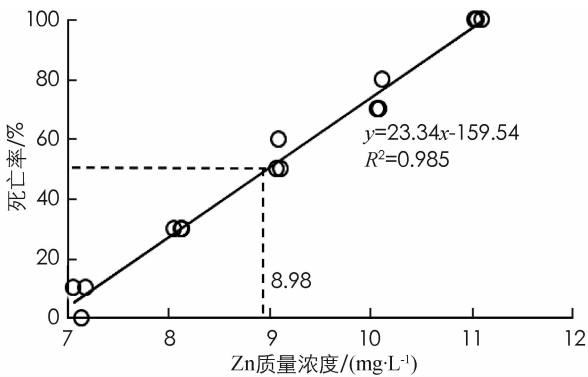


图 1 南方鲇水体 Zn 暴露 96 h 死亡率

($p<0.05$), 而低质量浓度 Zn 暴露组肝和肾的 Zn 累积量与对照组和高质量浓度 Zn 暴露组差异不具有统计学意义; 肌肉或脑 Zn 累积量在各组间差异不具有统计学意义(表 3)。

2 个水体 Zn 暴露组鱼体各组织中 Zn 的累积量由高到低顺序相同, 均为肠、鳃、肾、肝、全鱼、脑、肌肉, 两暴露组肠、鳃和肾中 Zn 累积量差异不具有统计学意义且均显著高于其他组织($p<0.05$); 肌肉的 Zn 累积量均显著低于其他组织 ($p<0.05$)(表 3)。

表 2 水体 Zn 暴露对南方鲇鱼体组分和能量密度的影响

项目	Zn 暴露质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	0	149.60	299.30
蛋白质/%	12.63 $\pm$ 0.74 ^a	10.86 $\pm$ 0.44 ^b	9.95 $\pm$ 0.26 ^b
脂肪/%	4.06 $\pm$ 0.27	4.16 $\pm$ 0.36	4.29 $\pm$ 0.25
灰分/%	2.01 $\pm$ 0.09	2.00 $\pm$ 0.36	1.81 $\pm$ 0.07
干物质/%	18.61 $\pm$ 0.61	18.47 $\pm$ 0.93	17.50 $\pm$ 0.39
能量密度/($\text{kJ}\cdot\text{g}^{-1}$)	4.46 $\pm$ 0.13 ^a	4.17 $\pm$ 0.26 ^{ab}	3.90 $\pm$ 0.17 ^b

注: 数据采用平均值 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ S. E, $n=8$)表示; 同行中不同字母表示差异具有统计学意义($p<0.05$)。

表 3 水体 Zn 暴露对南方鲇鱼体 Zn 累积与分布的影响 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

组织	Zn 暴露质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	0	149.60	299.30
鳃	25.93 $\pm$ 1.59 ^{xy}	27.46 $\pm$ 1.50 ^{xy}	37.05 $\pm$ 3.58 ^{ax}
肝	14.69 $\pm$ 1.43 ^{by}	15.71 $\pm$ 1.40 ^{bxy}	20.26 $\pm$ 2.24 ^{bx}
肾	19.16 $\pm$ 2.26 ^{aby}	27.06 $\pm$ 2.75 ^{axy}	34.74 $\pm$ 4.34 ^{ax}
肠	23.03 $\pm$ 1.78 ^{xy}	27.50 $\pm$ 0.79 ^{xy}	48.05 $\pm$ 4.65 ^{ax}
肌肉	3.94 $\pm$ 0.17 ^d	4.12 $\pm$ 0.22 ^d	4.35 $\pm$ 0.59 ^c
脑	11.27 $\pm$ 0.85 ^c	11.92 $\pm$ 0.57 ^c	14.60 $\pm$ 2.59 ^b
全鱼	10.22 $\pm$ 0.52 ^{cz}	15.91 $\pm$ 1.15 ^{by}	19.77 $\pm$ 0.85 ^{bx}

注: 数据采用平均值 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ S. E, $n=8$)表示; abcde: 同列中不同字母表示同一处理下不同组织间的差异具有统计学意义, xyz: 同行中不同字母表示同一组织不同处理质量浓度间差异具有统计学意义($p<0.05$)。

3 讨 论

3.1 水体 Zn 暴露对南方鲇生长状态的影响

Zn 虽然是动物体的必需金属元素, 但当环境质量浓度到达一定程度就会对动物体的生长等产生不利的影响^[2,14,16], 中国地表水质标准规定 I 类水体 Zn 的质量浓度不超过 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[25], 本研究慢性毒理实验中暴露组水体 Zn 质量浓度分别为 149.60 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 299.30 $\mu\text{g}/\text{L}$, 高于上述标准 2~5 倍, 应当具有较大的毒性效应。

鱼类的生长状态可以作为重金属毒性胁迫的重要标志^[26]。Shukla 等^[27]发现水体中硫酸锌为 12 mg/L 时, 斑鳢 *Channa punctatus* 的生长明显受到抑制; Abdel-Tawwab 等^[11]发现罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 经水体 Zn(3.5 mg/L 或 7.0 mg/L)暴露 6 周后, 鱼体的特定体质量生长率显著下降; 刘存岐等^[28]实验发现, 海水中 Zn 的质量浓度超过 40 $\mu\text{g}/\text{L}$ 后日本对虾仔虾 *Penaeus japonicas* 的生长、存活都会受到抑制。本研究也发现水体 Zn 暴露抑制实验鱼的生长, 且高质量浓度暴露组终末体质量和特定体质量生长率显著低于对照组($p<0.05$), 表明水体 Zn 在此质量浓度条件下对南方鲇的毒性效应明显。有研究表明污染胁迫会导致鱼类支出额外的能量来用于解毒和抗氧化, 其代谢率升高, 引起能量分配模式改变, 导致鱼类用于生长的能量减少^[29-30]。本研究实验鱼的静止代谢率随 Zn 暴露质量浓度升高而升高, 与生长率的变化呈相反的趋势, 表明当必需元素 Zn 过量时, 鱼类则需要支出更多的能量来应对 Zn 胁迫, 因而减少了机体的能量储备和累积比例, 导致生长速率下降。

3.2 水体 Zn 暴露对南方鲇鱼体组分及能量密度的影响

蒋明等^[31]研究发现团头鲂 *Megalobrama amblycephala* 鱼体蛋白质质量分数随 Zn 暴露质量浓度的增加有先升高后降低的趋势, 表明 Zn 可以改变鱼体蛋白质代谢模式, 过量摄入 Zn 会使鱼体蛋白质的累积率

下降。本研究 Zn 暴露组实验鱼体蛋白质质量分数显著低于对照组($p < 0.05$), 与文献[31]观察到的现象一致。有研究者发现经水体锌暴露 60 d 后的斑鳢, 肝脏中脂肪质量分数显著增加^[32], 表明了水体锌暴露能诱导鱼类肝脏发生脂肪沉积; 黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* 经水体 Zn 暴露 8 周后, 肝脏脂肪质量分数和脂蛋白脂肪酶(LPL)的酶活性随水体 Zn 质量浓度的增加而增加^[33]。本研究中暴露组鱼体脂肪质量分数有升高的趋势, 而高质量浓度 Zn 暴露组鱼体能量密度却显著降低($p < 0.05$)。Moolman 等^[34]研究发现 Zn 暴露后的无脊椎动物体, 其碳水化合物、蛋白质等能量储备物质减少, 而脂肪质量分数并未受到影响。因此, 笔者认为南方鲇在水体 Zn 暴露下优先利用蛋白作为能量物质为解毒提供能量, 所以鱼体能量密度随蛋白质质量分数的下降而下降, 其脂肪质量分数不受明显影响。

3.3 水体 Zn 暴露对 Zn 在南方鲇鱼体累积及组织分布的影响

有研究表明鱼体组织器官的重金属累积量与水环境中金属质量浓度呈正相关关系^[35-36]。在本研究中, 实验鱼的肝、鳃、肾、肠器官组织及全鱼中的 Zn 累积量均随着暴露质量浓度的升高而增加, 表现出质量浓度剂量效应(表 3)。

本研究中暴露组鱼体各组织中 Zn 累积量从大到小依次为肠、鳃、肾、肝、全鱼、脑、肌肉; 两暴露组组内肠、鳃、肾中 Zn 累积量在三者之间差异不具有统计学意义, 但均显著高于其他组织($p < 0.05$)。肾脏具有解毒、排泄和离子调节等功能^[36]。Javed^[13]研究发现水体 Zn 暴露卡特拉魮 *Catla catla*、南亚野鲮 *Labeo rohita*、麦瑞加拉鲮 *Cirrhina mrigala* 60 d 后 3 种鱼体肾脏中 Zn 累积量显著增加; 周彦锋等^[37]发现经水体 Zn 急性暴露的鲫鱼 *Carassius auratus* 肾脏中金属硫蛋白(MTs)显著升高, 并指出水体中的 Zn^{2+} 可诱导鲫鱼组织中 MTs 的合成与表达以应对金属对鱼体的胁迫作用。笔者认为当水体中 Zn 达到一定质量浓度, 鱼体通过 MTs 与 Zn 结合而解毒, 当结合物输送于肾脏而不能有效地排泄, 便会大量累积于肾脏组织中使其 Zn 累积量升高。鳃是鱼体离子调节的中枢部位, 调控鳃内外离子平衡^[38], 在暴露实验中直接与暴露水体接触, 可直接吸收水体中溶解的金属离子, 再经血液循环进入体内^[2]。Javed^[13]指出鱼体鳃是金属调节的重要器官, 表面有亲和金属的蛋白, 导致鱼体鳃上金属累积量较高。笔者认为, 暴露组鱼体鳃中 Zn 累积量升高, 主要是鳃对 Zn 的排泄速率不能抵消 Zn 的吸收速率, 增加了鱼体鳃的负荷所致。肠是鱼体消化吸收的主要器官, 而淡水鱼类几乎不喝水^[39], 有趣的是本研究是水体 Zn 暴露处理, 但却发现高质量浓度暴露组肠中 Zn 累积量在 3 个处理组所有组织中最高。Murugan 等^[16]也发现水体 Zn 暴露后斑鳢肠中 Zn 累积量还相对较高。有研究者提出胃肠粘膜表层中黏附有对 Zn 等重金属有较强亲合力的脂类物质, 使 Zn 的累积量达到较高水平, 导致暴露组肠中 Zn 累积量显著高于其他组织^[40]。因此, 笔者认为本研究肠中的 Zn 应当是通过鳃吸收后经血液循环在肠中累积所致, 由于肠组织对 Zn 的吸纳有较高的亲和机制, 因此形成较高的累积量。

已有的研究发现鱼体肌肉中金属累积量最低^[17,41-43]。Xu 等^[43]调查长江中游泥鳅 *Misgurnus anguillicaudatus* 和黄鲢 *Monopterus albus* 皮肤、肠和肌肉中的 8 种金属累积量, 发现各种重金属在肌肉中累积量最低。Yilmaz^[44]发现欧洲鳗鲡 *Anguilla anguilla* 和罗非鱼肌肉中的 5 种重金属累积量显著低于肝脏与鳃, 于是提出鱼体肌肉是金属累积的“非活性组织”。本研究也发现水体 Zn 暴露组鱼体肌肉中的 Zn 累积量与对照组差异不具有统计学意义, 各处理组鱼体肌肉中的 Zn 累积量显著低于其他组织($p < 0.05$), 而且 3 个处理组鱼体肌肉组织 Zn 累积量之间差异不具有统计学意义。因此, 肌肉不仅是重金属累积中累积量最低的器官, 而且其累积量受环境重金属质量浓度的影响较小。这提示我们在野外工作调查中, 如果仅仅依靠鱼体中的肌肉累积量来判断水体受污染程度会存在误差, 不宜作为环境监测的指标。

参考文献:

- [1] CLEARWATER S J, FARAG A M, MEYER J S. Bioavailability and Toxicity of Dietborne Copper and Zinc to Fish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 132(3): 269—313.
- [2] HOGSTRAND C, VERBOST P M, BONGA S E, et al. Mechanisms of Zinc Uptake in Gills of Freshwater Rainbow Trout: Interplay with Calcium Transport [J]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 1996, 270(5): 1141—1147.

- [3] VIARENGO A. Heavy Metals in Marine Invertebrates; Mechanisms of Regulation and Toxicity at the Cellular Level [J]. Critical Reviews in Aquatic Sciences, 1989, 1(2): 295—317.
- [4] 王渊源. 鱼类饲料的污染物 [J]. 水生生物学报, 1991, 15(2): 174—179.
- [5] 乔胜英, 蒋敬兰, 向武, 等. 武汉市湖泊中重金属污染状况 [J]. 水资源保护, 2007, 23(1): 46—48.
- [6] HUANG Wei, CAO Liang, SHAN Xiu-juan, et al. Toxic Effects of Zinc on the Development, Growth, and Survival of Red Sea Bream *Pagrus Major* Embryos and Larvae [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 58(1): 140—150.
- [7] GROH K J, CARVALHO R N, CHIPMAN J K, et al. Development and Application of the Adverse Outcome Pathway Framework for Understanding and Predicting Chronic Toxicity: II. A Focus on Growth Impairment in Fish [J]. Chemosphere, 2015, 120: 778—792.
- [8] GROBLER E, DU PREEZ H H, VAN VUREN J H J. Toxic Effects of Zinc and Iron on the Routine Oxygen Consumption of *Tilapia sparrmanii* (Cichlidae) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 1989, 94(1): 207—214.
- [9] ABDEL-TAWWAB M, MOUSAAD M N M, SHARAFELDIN K M, et al. Changes in Growth and Biochemical Status of Common carp, *Cyprinus carpio* L. Exposed to Water-born Zinc Toxicity for Different Periods [J]. International Aquatic Research, 2013, 5(1): 1—9.
- [10] JONSSON N, JONSSON B. Body Composition and Energy Allocation in Life-History Stages of Brown Trout [J]. Journal of Fish Biology, 1998, 53(6): 1306—1316.
- [11] ABDEL-TAWWAB M, EL-SAYED G O, SHADY S H. Effects of Dietary Protein Levels and Environmental Zinc Exposure on the Growth, Feed Utilization, and Biochemical Variables of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. Toxicological & Environmental Chemistry, 2012, 94(7): 1368—1382.
- [12] WATANABE T, KIRON V, SATOH S. Trace Minerals in Fish Nutrition [J]. Aquaculture, 1997, 151(1): 185—207.
- [13] JAVED M. Effects of Zinc and Lead Toxicity on the Growth and Their Bioaccumulation in Fish [J]. Pakistan Veterinary Journal, 2012, 32(3): 357—362.
- [14] EVERALL N C, MACFARLANE N A, SEDGWICK R W, et al. The Interactions of Water Hardness and pH with the Acute toxicity of Zinc to the Brown Trout, *Salmo trutta* L. [J]. Journal of Fish Biology, 1989, 35(1): 27—36.
- [15] HOGSTRAND C, WILSON R W, POLGAR D, et al. Effects of Zinc on the Kinetics of Branchial Calcium Uptake in Freshwater Rainbow Trout during Adaptation to Waterborne Zinc [J]. The Journal of Experimental Biology, 1994, 186(1): 55—73.
- [16] MURUGAN S S, KARUPPASAMY R, POONGODI K, et al. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.) after Chronic Exposure [J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2008, 8(1): 55—59.
- [17] ADHIKARI S, GHOSH L, GIRI B S, et al. Distributions of Metals in the Food Web of Fishponds of Kolleru Lake, India [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2009, 72(4): 1242—1248.
- [18] Javed M. Growth Responses of Fish under Chronic Exposure of Waterborne and Dietary Metals [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2012, 14(2): 281—285.
- [19] AL-BALAWI H F A, AL-AKEL A S, AL-MISNED F, et al. Effects of Sub-lethal Exposure of Lead Acetate on Histopathology of Gills, Liver, Kidney and Muscle and its Accumulation in These Organs of *Clarias gariepinus* [J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2013, 56(2): 293—302.
- [20] XIE Xiao-jun, SUN Ru-yong. The Bioenergetics of the Southern Catfish (*Silurus meridionalis* Chen). I. Resting Metabolic Rate as a Function of Body Weight and Temperature [J]. Physiological Zoology, 1990, 63(6): 1181—1195.
- [21] FU Shi-jian, XIE Xiao-jun, CAO Zhen-dong. Effect of Meal Size on Postprandial Metabolic Response in Southern Catfish (*Silurus meridionalis*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2005, 140(4): 445—451.
- [22] LUO Yi-ping, XIE Xiao-jun. Effects of Temperature on the Specific Dynamic Action of the Southern Catfish, *Silurus meridionalis* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(2): 150—156.

- [23] BRETT J R, GROVEST D D. Physiological Energetic in “Fish Physiology” [M]. New York: Academic Press, 1979.
- [24] 中华人民共和国卫生部. 食品中锌的测定: GB/T5009.14-2003 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [25] 中华人民共和国环境保护部. 地表水环境质量标准: GB 3838-2002 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [26] MAGER E M, GROSELLM. Effects of Acute and Chronic Waterborne Lead Exposure on the Swimming Performance and Aerobic Scope of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2011, 154(1): 7-13.
- [27] SHUKLA J P, PANDEY K. Effect of a Sublethal Concentration of Zinc Sulphate on the Growth Rate of Fingerlings of *Channa punctatus* (Bloch), a Freshwater Murrel [J]. Acta hydrochimica et Hydrobiologica, 1986, 14(6): 677-680.
- [28] 刘存岐, 王安利, 王维娜. 海水中 Zn^{2+} 和 Mn^{2+} 对日本对虾仔虾体内碱性磷酸酶活性的影响 [J]. 水产科技情报, 2002, 29(5): 195-197.
- [29] ROWE C L. Elevated Standard Metabolic Rate in a Freshwater Shrimp (*Palaemonetes paludosus*) Exposed to Trace Element-rich Coal Combustion Waste [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 121(4): 299-304.
- [30] MALTBY L. Studying Stress: The Importance of Organism-level Responses [J]. Ecological Applications, 1999, 9(2): 431-440.
- [31] 蒋 明, 黄 凤, 文 华, 等. 饲料锌对团头鲂幼鱼生长性能, 血清生化指标和抗氧化功能的影响 [J]. 中国水产科学, 2015, 22(6): 1167-1176.
- [32] MALIK D S, SASTRY K V, HAMILTON D P. Effects of Zinc Toxicity on Biochemical Composition of Muscle and Liver of Murrel (*Channa punctatus*) [J]. Environment international, 1998, 24(4): 433-438.
- [33] ZHENG Jia-lang, LUO Zhi, LIU Cai-xia, et al. Differential Effects of Acute and Chronic Zinc (Zn) Exposure on Hepatic Lipid Deposition and Metabolism in Yellow Catfish *Pelteobagrus Fulvidraco* [J]. Aquatic toxicology, 2013, 132-133(2): 173-181.
- [34] MOOLMAN L, VAN VUREN J H J, WEPENER V. Comparative Studies on the Uptake and Effects of Cadmium and Zinc on the Cellular Energy Allocation of Two Freshwater Gastropods [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 68(3): 443-450.
- [35] BERVOETS L, BLUST R. Metal Concentrations in Water, Sediment and Gudgeon (*Gobio gobio*) from a Pollution Gradient: Relationship with Fish Condition Factor [J]. Environmental Pollution, 2003, 126(1): 9-19.
- [36] RAJKOWSKA M, PROTASOWICKI M. Distribution of Metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in Fish Tissues in Two Lakes of Different Trophy in Northwestern Poland [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2013, 185(4): 3493-3502.
- [37] 周彦锋, 尤 洋, 吴 伟, 等. 重金属锌胁迫下鲫鱼不同组织中金属硫蛋白的动态变化 [J]. 江苏农业学报, 2009, 25(4): 818-823.
- [38] QADIR A, MALIK R N. Heavy Metals in Eight Edible Fish Species from Two Polluted Tributaries (Aik and Palkhu) of the River Chenab, Pakistan [J]. Biological Trace Element Research, 2011, 143(3): 1524-1540.
- [39] POTTS W T, FOSTER M A, RUDY P P, et al. Sodium and Water Balance in the Cichlid Teleost, *Tilapia mossambica* [J]. The Journal of Experimental Biology, 1967, 47(3): 461-470.
- [40] 韩 庆, 刘 婷, 黄春红, 等. Zn 对鲌的急性毒性作用及其在体内的积累与分布 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(1): 247-250.
- [41] BUSTAMANTE P, BOCHER P, CHEREL Y, et al. Distribution of Trace Elements in the Tissues of Benthic and Pelagic Fish from the Kerguelen Islands [J]. Science of the Total Environment, 2003, 313(1): 25-39.
- [42] DE ROSEMOND S, XIE Qian-li, LIBER K. Arsenic Concentration and Speciation in Five Freshwater Fish Species from Back Bay near Yellowknife, NT, Canada [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2008, 147(1/3): 199-210.
- [43] XU Tao, HUANG Ying-ping, CHEN Jun. Metal Distribution in the Tissues of Two Benthic Fish from Paddy Fields in the Middle Reach of the Yangtze River [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 92(4): 446-450.
- [44] YILMAZ F. The Comparison of Heavy Metal Concentrations (Cd, Cu, Mn, Pb, and Zn) in Tissues of Three Economically Important Fish (*Anguilla Anguilla*, *Mugil Cephalus* and *Oreochromis niloticus*) Inhabiting Köycegiz Lake-Mugla (Turkey) [J]. Turkish Journal of Science and Technology, 2009, 4(1): 7-15.

Ecophysiological Effects of the Waterborne Zinc (Zn) on the Southern Catfish (*Silurus meridionalis*)

LI Wan-jun, LIU Li, YAN Yu-lian, XIE Xiao-jun

Institute of Hydrobiology and Water Environment / Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development,
Ministry of Education, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) (18.92 ± 0.09 g) from artificial fertilization were exposed to the solutions of zinc sulfate heptahydrate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) at constant water temperature (27.5 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ and hardness (CaCO_3 , 25–30 mg/L), in order to observe the toxic effects of waterborne Zn on this fish. The results by the acute treatment show the median lethal concentration in 96 hours (96 h LC_{50}) of waterborne Zn^{2+} was 8.98 mg/L. In the chronic treatment, the test fishes were exposed to Zn^{2+} at a series of concentrations which were 0 (control group), 149.60 (low exposure group, 1/60 of 96 h LC_{50}), and 299.30 (high exposure group, 1/30 of 96 h LC_{50}) $\mu\text{g/L}$, respectively. After 8 weeks of chronic exposure, the final weight, specific weight growth rate, condition factor and hepatosomatic index of the test fishes decreased with the increasing Zn concentration, and those in the high exposure group were significantly lower than those in the control group ($p < 0.05$). Meanwhile, the kidney index and resting metabolic rates increased with the increasing Zn concentration. The kidney index in the high exposure group was significantly higher than that in the control group ($p < 0.05$), and the resting metabolic rate in the high exposure group was significantly higher than that in the other two groups ($p < 0.05$). The contents of crude protein, ash, dry mass and energy density of test fishes decreased with the increasing Zn concentration, but the tendency of the fat content was inverse. The contents of protein in Zn exposure groups were significantly lower than that in the control group ($p < 0.05$), and the energy density in the high exposure group was significantly lower than that in the control group ($p < 0.05$). The contents of fat, ash and dry mass of the catfish among three groups had no significant differences. The contents of Zn in organs (liver, gill, kidney, intestine, brain and muscle) and the whole body increased with the increasing Zn concentration. The contents of Zn in liver, gill, intestine, and whole body in the high exposure group were significantly higher than those in the control group ($p < 0.05$). The differences of the contents in either muscle or brain were not significant among the three groups. The bioaccumulation of Zn in the organs of the test fishes exposed to Zn^{2+} could be ordered from higher to lower as following: intestines > gill > kidney > liver > whole fish > brain > muscle, and the contents of Zn in intestines, gill and kidney were significantly higher than those in other organs ($p < 0.05$), but the content of Zn in muscle was the lowest among all organs. It is suggested that the pattern of energy allocation of the southern catfish was changed on the Zn exposure. Protein was preferentially used to provide extra energy for the detoxification on the Zn exposure, and the rates of the protein and energy deposited in the body were reduced. Therefore, the growth of the fish was depressed. The catfish uptakes the Zn mainly through the gill, then Zn was distributed to other tissues via the circulation of the blood. Muscle of southern catfish was not the active tissue for Zn bioaccumulation.

Key words: waterborne zinc; growth; biochemical composition; zinc bioaccumulation of tissues; *Silurus meridionalis*