

5 种重金属暴露对斑马鱼呼吸运动的影响

汪红军, 李嗣新, 周连凤, 郑金秀, 梁友光

(水利部中国科学院水工程生态研究所, 武汉 430079)

摘要:为了探讨外源性重金属暴露对鱼类呼吸反应的影响,利用鱼类的呼吸参数的变化来预警水体污染。尝试以斑马鱼为实验生物,进行了 5 种重金属离子对斑马鱼的急性毒性实验;应用生物早期预警系统(BIO-SENSOR 7008),研究了斑马鱼在不同重金属浓度暴露 1 h 后的呼吸反应变化情况及预警结果。结果表明, Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 等重金属对斑马鱼的 96 hLC₅₀ 分别为 0.14、0.174、6.497、44.48、116.432 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;安全浓度分别为 0.014、0.017、0.65、4.5、11.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;应用呼吸参数的预警浓度分别为 0.08、0.08、4.8、7.5、105 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其中系列浓度 Hg^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率和呼吸强度都显著升高($F=2.75, P<0.05$; $F=28.95, P<0.01$); Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等暴露对斑马鱼呼吸频率和呼吸强度先升高再降低($P<0.01$); Zn^{2+} 暴露则对斑马鱼呼吸运动具有显著抑制作用($P<0.01$);而 Pb^{2+} 对斑马鱼呼吸强度影响较小($P>0.05$)。斑马鱼呼吸参数作为生物监测指标来预警水体 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等重金属污染较为敏感。

关键词:斑马鱼;呼吸反应;重金属污染;生物早期预警

中图分类号:X503.225 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)09-1675-06

The Effect of Exposure to Five Kinds of Heavy Metals on Respiratory Movement of Zebra Fish (*Brachydanio rerio*)

WANG Hong-jun, LI Si-xin, ZHOU Lian-feng, ZHENG Jin-xiu, LIANG You-guang

(Institute of Hydroecology, MWR and CAS, Wuhan 430079, China)

Abstract: Changes in the respiratory system of fish can rapidly reflect changes in the body's own function, which is sensitive to the external environment, reflecting the important indicators of body function state. In order to discuss the influence of exogenous heavy metal exposure on fish ventilatory response, fish ventilatory parameters were used to warn water pollution as sensitive biological marks. Trying zebra fish (*Brachydanio rerio*) as a experimental organism, an acute toxic experiment was carried out to study the influence of five kinds of heavy metal ions on zebra fish. By biological early warning system (BIO-SENSOR 7008), we studied the variation of ventilatory response and warning results of zebra fish exposed to different heavy metal concentrations 1 hour later. The results indicated that 96 hLC₅₀ of Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} on zebra fish were 0.14、0.174、6.497、44.48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and 116.432 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Safe concentrations were 0.014、0.017、0.65、4.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and 11.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Warning concentrations of applying ventilator parameters were 0.08、0.08、4.8、7.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and 105 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Ventilatory frequency and amplitude of zebra fish exposed to a series of concentrations significantly increased ($F=2.75, P<0.05$; $F=28.95, P<0.01$). Ventilatory frequency and amplitude of zebra fish first increased and then decreased exposing to Cu^{2+} 、 Cd^{2+} . The exposure of Zn^{2+} inhibited significantly the ventilatory of zebra fish ($P<0.01$). However, Pb^{2+} had little effect on the zebra fish ventilatory ($P>0.05$). The order of zebra fish sensitivity to the five kinds of heavy metals was $\text{Cu}^{2+}>\text{Hg}^{2+}>\text{Zn}^{2+}>\text{Cd}^{2+}>\text{Pb}^{2+}$. As biological marks, zebra fish ventilatory parameters is sensitive to warn the pollution of Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Zn^{2+} and so on in water.

Keywords: zebra fish; ventilatory response; heavy metal pollution; biological early warning

用鱼类监测水体污染,美国、欧洲、日本、加拿大等国应用较早。1927 年美国将河流分三带即新污染

带、污染带和恢复带,并指出相应的指示鱼类为抵抗型、忍耐型和敏感型,根据鱼的呼吸变化指示有毒环境^[1]。Walden 用鱼的咳嗽次数来反应造纸厂废水对鱼的影响,并据此确定废水的安全浓度。美国清洁水法规定了生物监测的一些形式,如生物监测用于工业污水排放的监控等。美国国家环保局(USEPA)将生物监测作为环境监测和管理的重要组成部分,并制定了相

收稿日期:2010-03-19

基金项目:水利部“948”项目(200709);国家水专项——流域水环境预警技术与三峡库区示范项目(2009ZX07528-003-03)

作者简介:汪红军(1981—),男,湖北仙桃人,实习研究员,主要从事水环境预警系统研究。E-mail:wanghj@mail.ihe.ac.cn

通讯作者:梁友光 E-mail:liangyg@mail.ihe.ac.cn

关国家标准^[2]。利用鱼的呼吸参数作为生物监测方法来评价污水水质已有30多年^[3]。Cairns & van der Schalie^[4]以及Cairns & Gruber^[5]将呼吸参数用于自动、实时生物早期预警系统中,主要研究的传感鱼为虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和蓝鳃太阳鱼(*Lepomis macrochirus*)^[5-6]。在国内,王子健等则利用日本青鳉(*Oryzias latipes*)运动行为的变化来预警突发性水质污染^[7]。

斑马鱼(*Brachydanio rerio*)作为一种敏感的模式生物,对多种环境污染物较敏感,已被广泛地用于胚胎发育毒理学、环境毒理学、病理毒理学、药物毒理学等毒理学领域的研究中,并展现出其特有的优势^[8-10]。随着分子生物学的发展,目前利用分子生物学技术在环境污染物没有对人体造成明显损害前就可监测到毒物的效应。何珊等采用RT-PCR技术和RACE技术分析鱼体内肝细胞HSP70基因表达的变化来指示富营养化程度^[11]。Carvan等运用转基因斑马鱼的某些效应元件来显示其接触了特定毒物^[12]。但利用斑马鱼的呼吸运动来指示和预警水体污染,还鲜见报道。

本文使用美国生物监测公司(BMI)生产的生物早期预警系统(BIO-SENSOR 7008),研究斑马鱼在不同重金属浓度短期暴露下呼吸反应变化,以期利用鱼类的呼吸运动变化进行水质预警和快速评价水体的综合毒性提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

实验仪器为生物早期预警系统,主要原理为以鱼为传感生物,根据个体鱼呼吸参数变化预警水环境变化。预警系统主要包括4部分:呼吸监测传感器(Bio-Sensor);信号过滤放大器(Bio-Amp);计算机数据处理及显示系统;自动报警及水质采样器。当鱼呼吸时,鱼类的神经肌肉活动的总和产生微伏级的生物电信号,其中最强的就是呼吸信号,这个信号被呼吸室的传感器(Bio-Sensor)接收;然后送到信号过滤放大器(Bio-Amp)予以过滤、放大;这个经过过滤、放大和数据化的信号被传送到计算机上,根据预设统计算法判断是否发生了异常反应,一旦超出阈值范围发出警报信号;自动采样器则采集水样,再通过理化分析,确定水质变化情况。

1.2 实验用鱼

本实验选择斑马鱼(*Brachydanio rerio*)为实验鱼,来源于武汉市某水族馆,体长为 (2.3 ± 0.3) cm,体重为

(0.22 ± 0.05) g。实验前在水族箱中驯养14 d以上,驯养期间活动正常,记录死亡率低于5%,选择个体健康,反应灵敏,大小基本一致的斑马鱼。

1.3 化学试剂

实验用化学试剂均为国产分析纯试剂,HgCl₂纯度为99.50%,贵州铜仁化学试剂厂生产;CuSO₄·5H₂O纯度为99.0%,天津市博迪化工有限公司生产;Cd(NO₃)₂·4H₂O纯度为99.0%,天津市苏庄化学试剂厂生产;ZnCl₂纯度为98.0%,国药集团化学试剂有限公司生产;Pb(Ac)₂·3H₂O纯度为99.5%,国药集团化学试剂有限公司生产。

1.4 实验方法

1.4.1 急性毒性实验

正式实验开始前先进行预备实验,采用静水法进行。拟定一组较大范围的实验液系列浓度进行预备实验,每12 h纪录一次各浓度组死亡的鱼数量,并及时捞出死鱼。每次实验要持续96 h,以观察全部死亡的时间。筛选斑马鱼24 h 100%致死浓度(24 h LC₁₀₀)和96 h最大耐受浓度(96 h LC₀)。正式实验系列浓度由上述24 h 100%致死浓度和96 h最大耐受浓度之间设置5组浓度梯度,每组设一重复。设一对照组,每组实验液的体积为15 L,每缸投入10条符合要求的斑马鱼,纪录水温,每6 h纪录一次鱼的中毒症状、死亡时间和死亡数量,连续观察96 h,并纪录结果。

1.4.2 鱼类呼吸反应实验

实验在生物早期预警系统中进行。实验鱼在曝气自来水中适应14 d后置于8个监测室中,监测室编号分别为1、2、3、4、5、6、7、8,每个监测室放1尾鱼,在控制水体条件下进行4 d的呼吸反应数据收集(空白实验)。在实验玻璃缸中配置一系列浓度梯度的重金属标准溶液,浓度梯度分别为:Hg²⁺:0.08、0.16、0.24、0.32 mg·L⁻¹;Cu²⁺:0.08、0.16、0.24、0.32 mg·L⁻¹;Cd²⁺:2.4、4.8、7.2、9.6 mg·L⁻¹;Zn²⁺:7.5、15、30、45 mg·L⁻¹;Pb²⁺:35、70、105、140 mg·L⁻¹。分别用计量泵(100 mL·min⁻¹)将受测标准溶液持续加入监测室,顺序为浓度从低到高,每个浓度进行1 h的鱼类呼吸反应实验,分别记录空白条件及重金属暴露条件下斑马鱼呼吸反应信号的变化,主要包括呼吸频率(VF)和呼吸强度(VA)。记录频次为1次·min⁻¹。

1.5 数据分析

急性毒性实验半致死浓度(LC₅₀)及置信区间使用SPSS16.0软件分析。呼吸频率(VF)、呼吸强度(VA)数据用SPSS16.0软件的单因素方差分析软件

包进行各实验组间数据差异显著性检验,并用LSD检验软件包进行组间两两比较。鱼类生物早期预警系统统计算法使用移动平均法(moving average),设定评估间隔为8 min,统计计算的样本数为6个,报警标准偏差阈值系数为3倍,报警鱼数量为6条,即8条鱼中有6条或以上警告,系统报警。

2 结果与分析

2.1 斑马鱼急性毒性实验结果

斑马鱼急性毒性实验结果表明, Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 等重金属对斑马鱼的96 hLC₅₀及95%置信区间分别为0.14(0.068~0.268) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.174(0.04~0.596) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、6.497 (5.199~7.638) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、44.48 (36.762~52.721) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、116.432(95.204~131.692) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;安全浓度分别为0.014、0.017、0.65、4.5、11.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 Hg^{2+} 暴露下斑马鱼的呼吸反应

不同浓度 Hg^{2+} 暴露1 h后呼吸频率、呼吸强度如图1所示。从图1可以看出,不同浓度 Hg^{2+} 暴露分别对斑马鱼呼吸频率(VF)和呼吸强度(VA)有显著性

($F=2.75$, $P<0.05$)和极显著性($F=28.95$, $P<0.01$)影响。与暴露前比较,斑马鱼VF、VA均有升高趋势,0.08、0.16、0.24 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组VF差异不显著($P>0.05$),0.32 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组VF升高显著($P<0.05$);而VA各浓度组与暴露前相比,均极显著升高($P<0.01$),表明 Hg^{2+} 暴露对斑马鱼呼吸具有明显的刺激作用。 Hg^{2+} 对斑马鱼96 hLC₅₀为0.14 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,鱼类呼吸反应预警浓度为0.08 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与96 hLC₅₀比值为0.57,利用鱼类呼吸参数预警 Hg^{2+} 较为敏感。

2.3 Cu^{2+} 暴露下斑马鱼的呼吸反应

不同浓度 Cu^{2+} 暴露斑马鱼呼吸反应变化如图2所示。从图2中可以看出, Cu^{2+} 暴露对斑马鱼VF、VA均有极显著性影响($F=12.08$, $P<0.01$; $F=3.53$, $P<0.01$),且随着 Cu^{2+} 暴露浓度的增加,VF、VA均有先升高再降低的趋势。VF由暴露前的1.02 Hz逐渐升高到0.24 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的2.64 Hz,增幅为158.8%。高浓度0.32 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组VF为1.92 Hz,与0.24 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组相比,降幅为27.1%,有极显著降低($P<0.01$);但与暴露前相比,仍然有极显著升高($P<0.01$)。

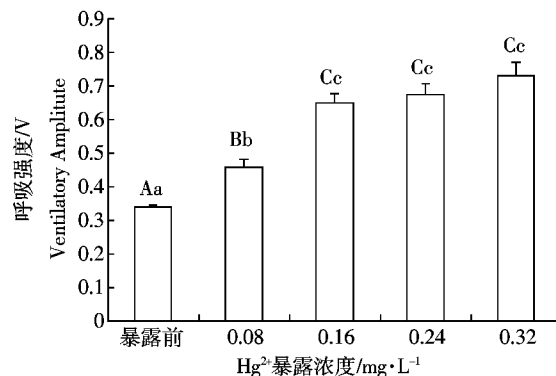
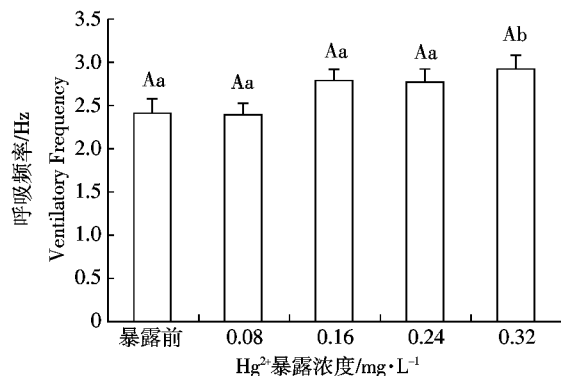


图1 不同浓度 Hg^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率、呼吸强度的变化

Figure 1 The changes of fish VF and VA in the exposure of different concentrations of Hg^{2+}

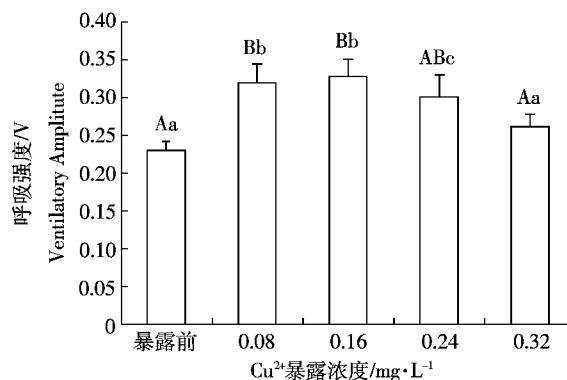
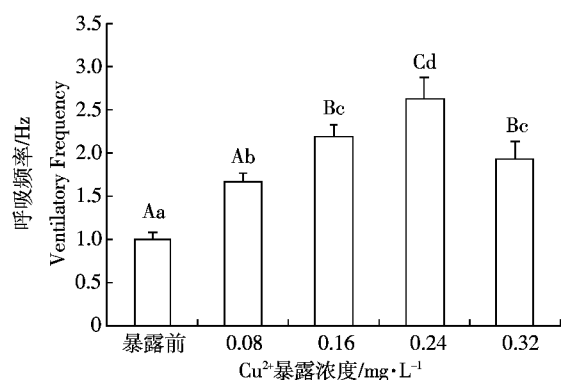


图2 不同浓度 Cu^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率、呼吸强度的变化

Figure 2 The changes of fish VF and VA in the exposure of different concentrations of Cu^{2+}

与暴露前比较, Cu^{2+} 暴露浓度为 0.08 、 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组时, VA 极显著增加 ($P < 0.01$); 高浓度组 0.24 、 $0.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 则开始降低, 其中 $0.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组与暴露前 VA 值无显著差异 ($P > 0.05$)。斑马鱼 96 hLC_{50} 为 $0.174 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 呼吸预警浓度为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 96 hLC_{50} 比值为 0.46 , 表明斑马鱼呼吸频率对 Cu^{2+} 反应敏感, 利用生物预警系统在线监测 Cu^{2+} 灵敏度较高。

2.4 Cd^{2+} 暴露下斑马鱼的呼吸反应

不同浓度 Cd^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸反应变化如图 3 所示。可以看出, Cd^{2+} 暴露对斑马鱼 VF、VA 均有极显著性影响 ($F=6.78, P < 0.01$; $F=4.84, P < 0.01$), 随着 Cd^{2+} 暴露浓度的升高及时间的推移, 斑马鱼 VF、VA 均有先升高后降低的趋势。与暴露前比较, VF、VA 在 $2.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组升高均不显著 ($P > 0.05$), 而分别在暴露浓度为 4.8 、 $7.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时逐渐升高 ($P < 0.05$)。当暴露浓度为 $9.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 斑马鱼 VA 开始极显著降低 ($P < 0.01$), 并降低到与暴露前相当水平 ($P > 0.05$); VF 也有降低趋势, 但没有统计学意义 ($P > 0.05$)。 Cd^{2+} 对斑马鱼 96 hLC_{50} 为 $6.497 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 呼吸预警系统预警浓

度为 $4.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 96 hLC_{50} 比值为 0.74 , 可见斑马鱼对 Cd^{2+} 的耐受性较高。

2.5 Zn^{2+} 暴露下斑马鱼的呼吸反应

图 4 为斑马鱼在 Zn^{2+} 暴露下 VF、VA 变化情况。当 Zn^{2+} 暴露后斑马鱼 VF 随着 Zn^{2+} 暴露浓度的升高而逐渐降低 ($F=49.76, P < 0.01$), VF 暴露前为 2.34 Hz , 逐渐降低到 $45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时为 0.59 Hz , 降幅达 74.7% 。而 VA 与 VF 相比, 具有滞后效应, 从 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 才开始降低, 且之后的高浓度暴露 VA 也保持稳定 ($P > 0.05$)。急性毒性实验结果表明, 在各 Zn^{2+} 浓度组中, 斑马鱼鳃及体表分泌大量粘液, 口吐大气泡, 呼吸减慢, 这与预警系统仪器实验结果一致。表明 Zn^{2+} 对斑马鱼呼吸有明显抑制作用, 呼吸参数预警浓度与 96 hLC_{50} 比值为 0.17 , 表明斑马鱼呼吸频率对 Zn^{2+} 反应敏感, 利用生物预警系统在线监测 Zn^{2+} 灵敏度较高。

2.6 Pb^{2+} 暴露下斑马鱼的呼吸反应

图 5 为斑马鱼在 Pb^{2+} 暴露下 VF、VA 的变化情况。 Pb^{2+} 暴露对斑马鱼 VF 有显著性影响 ($F=2.41, P < 0.05$)。当 Pb^{2+} 暴露后斑马鱼 VF 有个降低的过程, 随

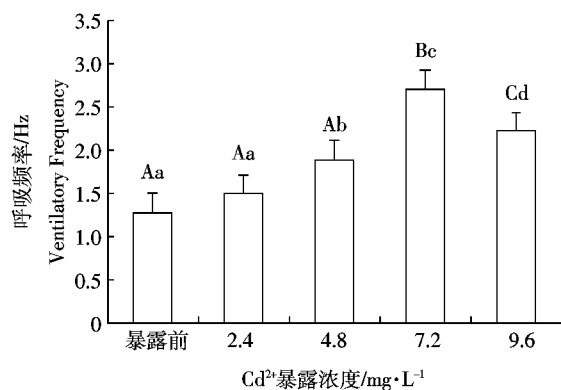


图 3 不同浓度 Cd^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率、呼吸强度的变化

Figure 3 The changes of fish VF and VA in the exposure of different concentrations of Cd^{2+}

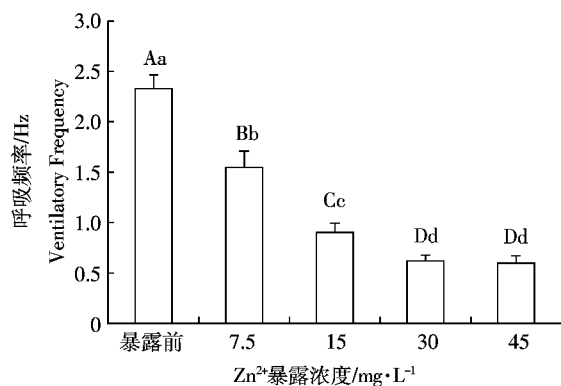
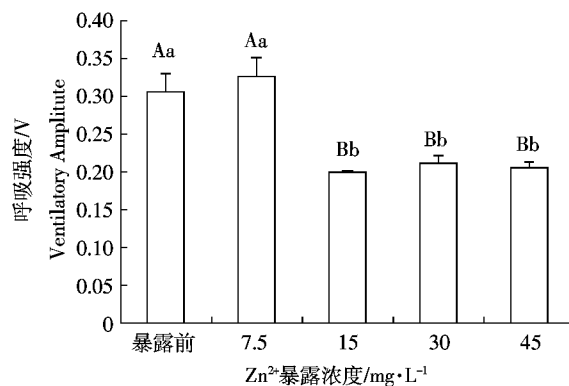
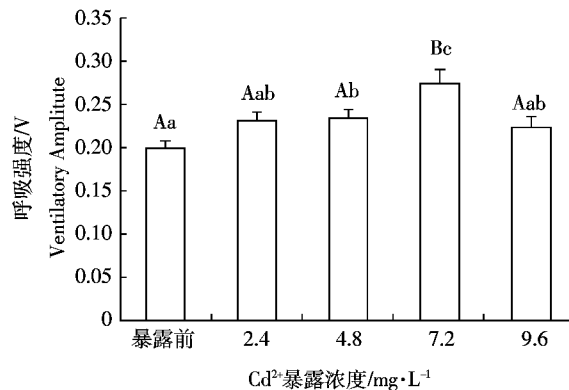
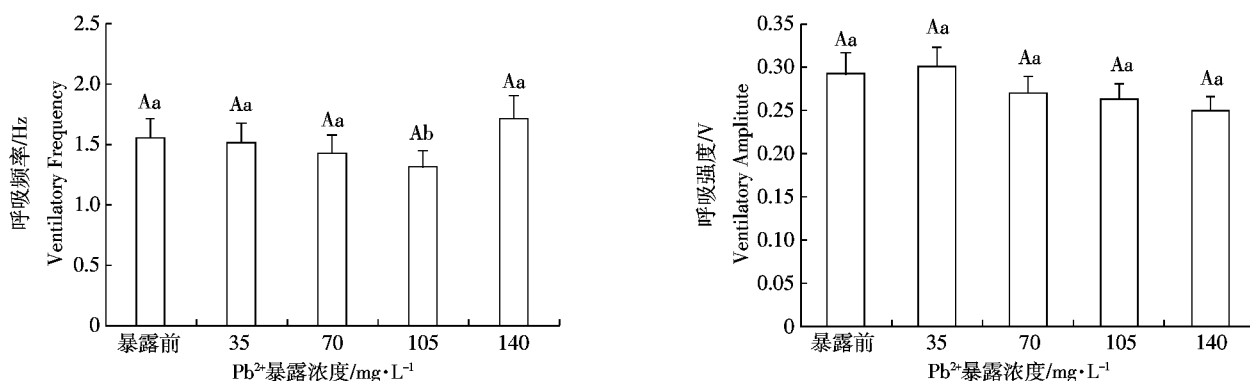


图 4 不同浓度 Zn^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率、呼吸强度的变化

Figure 4 The changes of fish VF and VA in the exposure of different concentrations of Zn^{2+}



图 5 不同浓度 Pb²⁺暴露下斑马鱼呼吸频率、呼吸强度的变化Figure 5 The changes of fish VF and VA in the exposure of different concentrations of Pb²⁺

后随着受试浓度增加到 140 mg·L⁻¹ 时, VF 又升高。而在设定 Pb²⁺ 浓度梯度短时间暴露对斑马鱼 VA 影响不明显 ($F=1.082, P>0.05$)。可见斑马鱼对 Pb²⁺ 的耐受性很高。

3 讨论

3.1 重金属对鱼类呼吸运动的影响

鱼类呼吸系统的变化能迅速反映出机体自身机能的变化, 它们对外环境变化敏感, 是反映机体机能状态的重要指标。黄溢明等研究了不同浓度铜、汞、银等离子对鲫鱼和鲤鱼呼吸运动机能的影响, 结果表明 3 种含重金属离子的溶液浓度在 0.1、0.3、0.5、1.0 mg·L⁻¹ 范围内, 均能迅速地引起鲫鱼和鲤鱼呼吸运动机能的改变^[3], 其中 Ag⁺ 对鱼类的呼吸运动机能的影响最大, 鲫鱼和鲤鱼对重金属离子具有相当高的敏感性。柴敏娟等分别研究了 Cu²⁺、Zn²⁺ 对罗非鱼呼吸运动的影响。将罗非鱼暴露于含有 ZnSO₄ 的水体中, 研究 15 d 中不同的亚致死浓度对鱼呼吸和咳嗽反应频率的影响后发现, 呼吸频率的变化和咳嗽反应明显受 Zn²⁺ 浓度的影响, 浓度越大, 呼吸频率曲线越偏离对照曲线, 咳嗽反应频率越高。通过比较 15 d Cu²⁺ 各浓度组鱼呼吸频率和鳃盖运动的变化, 罗非鱼异常鳃盖运动频率随 Cu²⁺ 浓度的增加而递增^[14-15]。

本研究表明 5 种重金属短时间暴露对斑马鱼呼吸的影响各不相同, 其中系列浓度 Hg²⁺ 暴露下斑马鱼呼吸频率和呼吸强度都显著升高 ($F=2.75, P<0.05$; $F=28.95, P<0.01$); Cu²⁺、Cd²⁺ 等暴露对斑马鱼呼吸频率和呼吸强度先升高再降低 ($P<0.01$); Zn²⁺ 暴露则对斑马鱼呼吸运动具有显著抑制作用 ($P<0.01$); 而 Pb²⁺ 对斑马鱼呼吸强度影响较小 ($P>0.05$)。斑马鱼呼吸参数作为生物监测指标来预警水体 Hg²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 等重金属

污染较为敏感。其机理可能是因为 Zn²⁺ 可以抑制鳃上 Ca²⁺-ATP 酶的活性, 从而使鳃盖运动受阻; 另外 Zn²⁺ 可以刺激鳃对粘液的分泌, 并且可以和粘液蛋白结合形成一种不溶性的金属蛋白质化合物, 它阻碍了鳃上皮的气体交换, 从而抑制了鱼的呼吸; Cu²⁺、Hg²⁺ 可能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。

3.2 基于鱼类呼吸运动的生物预警系统应用展望

3.2.1 基于鱼类呼吸运动预警系统的特点

鱼类呼吸预警系统有实效性和综合性、敏感性及自动化等优点^[16]。水环境质量和其他水环境条件改变的强度是随时间而变化的, 生活于一定水体的鱼类, 可以将长期的污染状况反映出来; 长期连续的生物监测能反映环境质量变化的全貌, 反映长期的污染效果, 具有时效性和综合性。鱼类呼吸对一些重金属污染物非常敏感, 它们能够对亚致死微量污染物快速作出响应。将电子技术和计算机技术应用于生物监测, 可以形成数字化、智能化的信息发生系统, 实现连续、实时在线监控, 计算机信息技术在水环境生物预警系统中具有重要的作用。

3.2.2 生物预警系统应用展望

生物早期预警系统可用来监测河流、湖泊、水库的突发性污染事故, 由莱茵河流域九国组成的保护莱茵河国际委员会(ICPR)1986 开始在莱茵河构建了预警和警告平台(WAP), 安装了生物预警系统在线监控水环境状况, 有效减少了突发性水污染事故的发生^[17]。生物早期预警系统还用于各种取水和排水口, 安装在饮用水处理厂、水产养殖厂等入口处, 能够保证进水水质; 安装在工业或生活排污口、冷却水排放口等处则可评价处理效果, 是否可以安全排入受纳水体等。美国国家环境保护局环境评估中心和美国陆军

环境健康研究中心利用鱼类呼吸预警系统共同对地表水处理设施进行在线监控^[8],在一年12个月当中,99%时间能正常运行,预警表明2.8%时间处理厂水质不合格。而 Sergio Reis Cunha 等已经成功将生物预警系统用于海水水质的在线监测上^[9]。从初期主要用来监控排入地表水的工业废水到当代保护饮用水安全,生物早期预警系统正逐渐成为直接维护人类健康的有效工具,在国内对其研究和应用应进一步受到重视。

4 结论

5种重金属短时间暴露对斑马鱼呼吸反应变化及敏感程度差异较大,其中 Hg^{2+} 暴露下斑马鱼呼吸频率和呼吸强度都显著升高; Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等暴露对斑马鱼呼吸频率和呼吸强度先升高再降低; Zn^{2+} 暴露则对斑马鱼呼吸运动具有显著抑制作用;而 Pb^{2+} 对斑马鱼呼吸强度影响较小。 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 等5种重金属应用呼吸参数的预警浓度分别为0.08、0.08、4.8、7.5、105 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。斑马鱼呼吸参数作为生物监测指标来在线预警水体 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等重金属污染较为敏感。

参考文献:

- [1] Belding D C. The respiratory movements of fish as an indicator of a toxic environment[J]. *Trans Am Fish Soc*, 1929, 59: 235–245.
- [2] ASTM. Standard guide for ventilator behavioral toxicology testing of freshwater fish. E1768–95[S]. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials. 1995.
- [3] Cairns J, Dickson K L, Westlake G F. Biological monitoring of water and effluent quality[C]. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, 1976.
- [4] Cairns J Jr, van der schalie W H. Biological monitoring. Part I: early warning systems[J]. *Water Res*, 1980, 14: 1179–1196.
- [5] Cairns J, Jr, Gruber D. A comparison of basic strategies in the instrumentation of biological early warning systems[J]. *Water Resour Bull*, 1980, 16(2): 261–266.
- [6] William H Van der Schalie, Tommy R Shedding, Paul L Knechtges, et al. Using higher organisms in biological early warning systems for real-time toxicity detection[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2001, 16: 457–465.
- [7] 任宗明, 李志良, 饶凯峰, 等. 氰戊菊酯和氯化镉暴露下日本青鳉的行为反应差异[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(6): 563–569.
REN Zong-ming, LI Zhi-liang, RAO Kai-feng, et al. The differences of the behavioral responses of Japanese Medaka (*Orvzias latipes*) in the exposure of fenvalerate and cadmium chloride[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(6): 563–569.
- [8] Vitozzi L, De Angelis G. A critical review of comparative acute toxicity data on fresh water fish[J]. *Aquat Toxicol*, 1991, 19: 167–204.
- [9] Ensenbach U, Nagel R. Toxicity of complex chemical mixtures: acute and long-term effects on different life stages of zebra fish[J]. *Ecotoxicol Env Saf*, 1995, 30: 151–157.
- [10] Ribeyre F, Amiard-Triquet C, Boudou A, et al. Experimental study of interactions between five trace elements—Cu, Ag, Se, Zn, Hg, —toward their bioaccumulation by fish (*Brachydaniorerio*) from the direct route [J]. *Ecotoxicol Env Saf*, 1995, 32: 1–11.
- [11] 何珊, 梁旭方, 李观贵, 等. 鲢鱼、草鱼和尼罗罗非鱼热休克蛋白70基因cDNA全序列的克隆与分析[J]. 环境科学学报, 2009, 29(11): 2324–2330.
HE S, LIANG X F, LI G G, et al. Cloning and analysis of the full-length cDNA sequences of the heat shock protein 70 gene from silver carp, grass carp and Nile tilapia [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(11): 2324–2330.
- [12] Carvan M J, Dalton T P, Stuart G W, et al. Transgenic zebra fish as sentinels for aquatic pollution[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2000, 919: 133–147.
- [13] 黄溢明, 牟凌云, 马际春, 等. 重金属离子(Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ag^{+})对鲫鱼和鲤鱼呼吸运动机能的影响[J]. 中山大学学报, 1987, 4: 80–85.
HUANG Yi-ming, MO Ling-yun, MA Ji-chun, et al. The effects of heavy metal ions (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{+}) on the respiratory movements in carp and grueian carp[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universtatis Sunyatseni*, 1987, 4: 80–85.
- [14] 柴敏娟, 黄玉霖, 等. 次致死浓度 Cu^{2+} 对罗非鱼呼吸生理的影响[J]. 水产学报, 1990, 14(1): 50–54.
CHAI Min-juan, HUANG Yu-lin, et al. Effect of sublethal concentrations of copper ions on respiratory physiology of *Tilapia* SP[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1990, 14(1): 50–54.
- [15] 柴敏娟, 周学成, 黄玉霖. Zn^{2+} 对罗非鱼呼吸运动的影响和解毒的初探[J]. 水生生物学报, 1993, 17(1): 53–57.
CHAI Min-juan, ZHOU Xue-cheng, HUANG Yu-lin. Effect of Zn^{2+} on the respiratory activity of *Tilapia* SP. with reference to detoxication methods[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, 17(1): 53–57.
- [16] 罗岳平, 李 宁, 汤光明. 生物早期警报系统在水和废水水质评价中的应用[J]. 重庆环境科学, 2002, 24(1): 49–53.
LUO Yue-ping, LI Ning, TANG Guang-ming. Application of early warning biological system in water and wastewater quality evaluation. [J]. *Chongqing Environment Science*, 2002, 24(1): 49–53.
- [17] Peter Diehl, Thomas Gerke, Ad Jeuken, et al. Early warning strategies and practices along the River Rhine[J]. *Hdb Env Chem*, 2006, 5: 99–124.
- [18] Shedd T R, van der Schalie W H, Widder M W, et al. Long-term operation of an automated fish biomonitoring system for continuous effluent acute toxicity surveillance [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2001, 66: 392–399.
- [19] Sergio Reis Cunha, Renata Goncalves, Sergio Rui Silva. An automated marine biomonitoring system for assessing water quality in real-time[J]. *Ecotoxicology*, 2008, 17: 558–564.

致谢: 彭建华研究员对论文进行了修改, 在此致谢。