

# 河流汞污染对青鳉鱼早期发育的毒性影响

林 晶<sup>1</sup> 闫海鱼<sup>2\*</sup> 荆 敏<sup>2,3</sup> 杨光红<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>贵州医科大学公共卫生学院, 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵阳 550025; <sup>2</sup>中国科学院地球化学研究所, 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081; <sup>3</sup>中国科学院大学, 北京 100049)

**摘 要** 清镇市化工厂是贵州省东门桥河汞污染的重要来源。为了评估这条河流的汞污染程度, 本研究调查了东门桥河环境样品中的汞含量和分布情况。河流水体总汞 (THg) 和甲基汞 (MeHg) 的平均含量分别为 (135.79±47.40) 和 (0.64±0.58) ng·L<sup>-1</sup>; 生物膜中 THg 和 MeHg 的平均含量分别为 (3.38±1.91) mg·kg<sup>-1</sup> 和 (10.47±0.40) μg·kg<sup>-1</sup>; 沉积物中 THg 和 MeHg 的平均含量分别为 (23.21±20.22) mg·kg<sup>-1</sup> 和 (32.74±10.96) μg·kg<sup>-1</sup>。为了进一步了解这条河流中汞对水生生物的风险, 将青鳉鱼胚胎和仔鱼分别暴露于从河中收集的被汞污染的河水、生物膜和沉积物中。青鳉鱼胚胎经 15 d 暴露后, 孵化时间延长、孵化率显著降低, 死亡率显著升高, 实验暴露还导致胚胎无法破膜、卵黄囊水肿等畸形效应, 以及初孵仔鱼不同程度的畸形。青鳉鱼仔鱼经 24、48、96 h 和 21 d 暴露后, 各暴露组的死亡率和畸形率随着暴露时间的延长而显著升高, 且表现出一系列以脊柱弯曲为主的畸形效应。研究表明, 东门桥河的汞污染会严重影响青鳉鱼的早期生长发育。

**关键词** 青鳉鱼; 汞污染; 胚胎毒性; 发育毒性

**Toxic effects of river mercury contamination on early development of *Oryzias latipes*.** LIN Jing<sup>1</sup>, YAN Hai-yu<sup>2\*</sup>, JING Min<sup>2,3</sup>, YANG Guang-hong<sup>1</sup> (<sup>1</sup>School of Public Health, the Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; <sup>2</sup>The State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China; <sup>3</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China).

**Abstract:** The Qingzhen chemical industry is an important source of Hg pollution to the Dongmenqiao River, Guizhou Province, southwest China. To evaluate the Hg pollution status of this river, we measured the concentration and distribution of Hg in environmental samples collected from the Dongmenqiao River. The average THg and MeHg concentrations were (135.79±47.40) and (0.64±0.58) ng·L<sup>-1</sup> in river water, (3.38±1.91) mg·kg<sup>-1</sup> and (10.47±0.40) μg·kg<sup>-1</sup> in biofilms, and (23.21±20.22) mg·kg<sup>-1</sup> and (32.74±10.96) μg·kg<sup>-1</sup> in sediments, respectively. To further clarify the risk of mercury on aquatic organisms in this river, embryos and larvae of *Oryzias latipes* were exposed to different treatments with Hg-contaminated water, biofilms and sediments collected from the river. After 15 days of exposure, the hatching time of embryos was prolonged, the hatching rate was significantly decreased, and the mortality rate was significantly increased. The results showed the inability of embryos in breaking the membrane, yolk sac edema and other malformation effects, as well as different degrees of malformation of the newly hatched larvae. After 24 h, 48 h, 96 h, and 21 d exposure, the mortality and deformity rates significantly increased with the increasing time of exposure, and a series of deformity effects occurred mainly as spinal curvature. Our results indicated that mercury pollution in the Dongmenqiao River may significantly affect the early growth of *O. latipes*.

**Key words:** *Oryzias latipes*; mercury pollution; embryo toxicity; developmental toxicity.

国家自然科学基金项目 (41273099, 40973083) 资助。

收稿日期: 2019-09-04 接受日期: 2020-02-12

\* 通讯作者 E-mail: yanhaiyu@vip.skleg.cn

汞 (Hg) 特别是甲基汞 (MeHg) 极易在食物链中传输、生物积累和生物放大(冯新斌等, 2013)。孕妇汞的长期低剂量暴露会造成胎儿水俣病。因此, 环境中低含量的汞也有可能对胚胎期或仔鱼的生长发育造成很大的毒性影响( Korbas *et al.* 2012; Dong *et al.* 2016)。水环境中的汞主要结合在水中的生物体、悬浮颗粒物以及表层沉积物和生物膜等固相表面上( Booth *et al.* 2011)。自然水体生物膜是由微生物、其他有机成分以及与其相结合的铁氧化物、锰氧化物等无机矿物共同组成的复合表面附着物, 在水生环境中几乎所有固体基质的表面自然产生( Schneider *et al.* 2018)。重金属进入水体, 首先到达生物膜并通过此层才能到达基底。

青鳉鱼是国际标准组织 (ISO) 推荐的毒性实验标准用鱼之一, 被广泛用于环境监测领域( Ismail *et al.* 2011; 王洪盼, 2015)。特别是青鳉鱼早期阶段对水环境变化比成鱼更加敏感( Scholz *et al.* 2008), 当水环境中的污染物浓度超过其代谢能力时, 青鳉鱼就会产生一系列毒性效应。因此, 其胚胎和仔鱼常被选择来测试潜在的环境风险。

贵州清镇有机化工总厂因醋酸生产过程工艺中采用汞作触酶, 在 27 年的生产过程中排放大量含汞废水, 造成周边环境严重污染。自 2017 年以来, 污染区的排污沟及周边土壤经过异土覆盖、河道清淤、边坡硬化等措施, 已显著降低了土壤、大气和水体汞含量。但是, 由于其处于亚热带湿润气候区, 河流除

了水体、沉积物之外, 生物膜发育较多, 适合多环境介质暴露实验。且以往的研究大多数是基于单一污染物对青鳉鱼的毒性效应的室内模拟, 但自然水环境中往往存在着多种污染物和复杂的环境条件, 使得单一污染物的研究结果不能代表实际环境的污染效应。因此, 本研究选取该河流水体、生物膜和沉积物样品, 对青鳉鱼胚胎和仔鱼进行汞暴露研究, 检测其对青鳉鱼的早期发育毒性效应和潜在风险。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集与测定

2019 年 4 月, 根据水流方向和距污染源的距离, 在贵州清镇市东门桥河上游 (S1)、中游 (S2) 和下游 (S3) 分别采集水样、沉积物和生物膜样品, 并采用便携式水质参数仪 (SX751, 上海三信) 现场测定 pH、DO 和水温。具体采样点见图 1。

水样采集: 根据痕量汞形态分析测定方法(蒋红梅, 2005; 闫海鱼, 2005), 采集河流表层水样, 用于 THg 和 MeHg 的含量分析。用于胚胎和仔鱼毒性暴露的水样, 使用除汞预处理的聚乙烯采样桶采集 20 L 水样, 尽快带回实验室开始汞暴露实验, 其余水样放入 4 °C 冰箱避光保存, 使用前放入水浴锅内升温至 25 °C。

沉积物采集: 使用 50 mL 聚乙烯离心管采集水面以下 10 cm 以内的沉积物, 每个采样点平行采集 3 份样品, 密封后当天带回实验室冷冻保存待下一

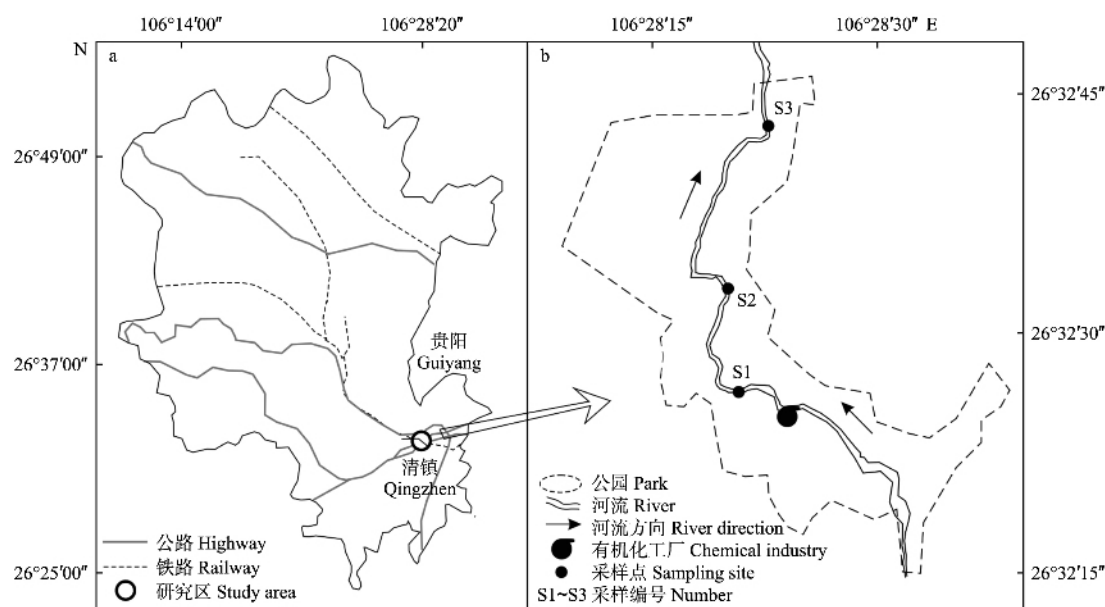


图 1 东门桥河采样点示意图  
Fig.1 Sampling sites of Dongmenqiao river

步处理。使用保鲜袋采集的沉积物带回实验室立即用于胚胎和仔鱼的暴露实验。

**生物膜采集:** 实验使用 50 mL 聚乙烯塑料瓶采集生物膜样品。将附着生物膜的石头从岸边水中取出,放入酸洗过的塑料瓶中,尽快转移至实验室, HY-4 调速多用振荡器(上海双捷)振荡( $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 12 h 以上(申禹等,2013),使生物膜从石头上脱落,使用真空冷冻干燥仪 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥,干燥样品用玛瑙研钵研磨过 120 目尼龙筛,将研磨后的样品转移至新的塑料瓶中,并尽快测定。用于胚胎和仔鱼毒性暴露的生物膜采集后直接带回实验室进行暴露实验。

**THg 和 MeHg 的分析测定:** 沉积物和水样的保存、前处理和分析方法均根据本实验室建立的方法进行(蒋红梅等,2004;何天容等,2004;李仲根等,2005)。生物膜 THg 前处理采用王水水浴消解(Farag *et al.*,1998);MeHg 前处理使用硫酸铜浸提,二氯甲烷萃取与反萃取(何天容等,2004)。THg 采用金汞齐-冷原子荧光法吸附测定,MeHg 采用蒸馏-水相乙基化结合 GC-冷原子荧光法测定。

**质量控制:** 实验用水为 18.2 Milli-Q 超纯水。水样测定采用加标回收,沉积物和生物膜 THg 含量测定采用 GBW-07305a(GSD-5a)作为标准参考物质,测得值为( $0.28 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (推荐值为( $0.29 \pm 0.03$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ );沉积物和生物膜 MeHg 采用 ERM-CC580 作为标准参考物质,测得值为( $72.07 \pm 2.95$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (推荐值为( $75.5 \pm 4$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。样品数按比例插入 10% 的平行样和 5% 方法空白,平行样的平均百分标准偏差 $<10\%$ ,实验结果可靠。

## 1.2 实验生物及养殖条件

自中科水质(无锡)购买青鳉鱼成鱼,并饲养在 40 L 的鱼缸中。饲养用水为充分曝气的自来水,光照周期为 14:10(昼:夜),水温( $25 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ ,每天使用虹吸法清理一次鱼缸粪便,并适当补充新的曝气水,成鱼每日投喂新孵化出的丰年虾两次(梁鸿等,2016)。青鳉鱼生长到 3 月龄,体长 20 mm 左右开始性成熟产卵。天然产卵高峰期在 4—9 月。在上述养殖条件下,10 d 之内即可使青鳉鱼产卵。每天早晨光照 1 h 后,每尾雌鱼可产卵 10~30 枚,收集成鱼所产鱼卵,在显微镜下挑选色泽透亮、发育正常的鱼卵用于暴露实验。正常条件下,鱼卵经过 8~12 d 即可孵化出仔鱼,选择刚孵化出的健康活泼的仔鱼用于毒性暴露实验。实验过程中,每日投喂一次熟

蛋黄液直至暴露结束。整个实验过程室温控制在( $25 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.2.1 胚胎汞暴露实验** 实验暴露容器为 6 cm 无菌培养皿(Corning 美国),实验设置 3 个处理组,分别为 A 组:河水;B 组:河水+沉积物;C 组:河水+沉积物+生物膜。实验时 B、C 组分别称取 5 g 沉积物于培养皿底部,然后向 C 组中加入 2 g 生物膜,再分别于 B、C 组底物表面固定一层细渔网,以避免胚胎埋入沉积物中导致缺氧,最后向各处理组中缓慢加入 10 mL 河水(Barjhoux *et al.*,2012)。实验设置 1 个空白对照(曝气自来水),每组设置 3 个平行。将胚胎随机分配到各培养皿中,每个培养皿 20 枚。每天定时更换一次暴露溶液,并在体式显微镜(M125C,Leica)下观察胚胎发育情况,每天记录胚胎的孵化、畸形和死亡数量,并及时剔除培养皿中的死亡胚胎,暴露周期为 15 d。暴露结束后,分别计算胚胎孵化率和孵化时间、胚胎畸形率和胚胎死亡率。

**1.2.2 仔鱼汞暴露实验** 实验暴露容器为 10 cm 无菌培养皿(Corning 美国),实验设置 3 个处理组,分别为 D 组:河水;E 组:河水+沉积物;F 组:河水+沉积物+生物膜。试验时 E、F 组分别称取 20 g 沉积物,然后向 F 组中加入 10 g 生物膜,再分别于 E、F 组底物表面固定一层细渔网,以避免仔鱼与底物直接接触,最后向各处理组中缓慢加入 50 mL 河水(李楚娴等,2014)。实验设置 1 个空白对照(曝气自来水),每组设置 3 个平行。将仔鱼随机分配到各培养皿中,每个培养皿 20 尾。每天定时更换一次暴露溶液,并使用体式显微镜拍下仔鱼图片,每天记录仔鱼的畸形和死亡数量,并及时移除培养皿中的死亡仔鱼,暴露时间分别为 24 h、48 h、96 h 和 21 d。暴露结束后,分别计算仔鱼畸形率和死亡率。

## 1.3 数据处理与分析

使用 Office Excel 2007 和 SPSS 17.0 统计软件进行数据整理和分析,数据经正态性检验和方差齐性检验,对照组和各处理组间采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为显著差异。作图使用 Origin 9.1 软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 水样、沉积物和生物膜中 THg 和 MeHg 含量

河水水样、沉积物和生物膜中 THg 和 MeHg 含量如表 1、表 2 所示。水样 THg 浓度变化呈现为:  $S1 > S2 > S3$ ;而 MeHg 的变化不显著( $n = 3, P > 0.05$ )。S2 采样点沉积物的 THg 和 MeHg 含量均高于其他

表 1 东门桥河水体中 THg 和 MeHg 含量( $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ )Table 1 THg and MeHg concentration in water of Dongmenqiao River ( $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ )

	S1		S2		S3	
	THg	MeHg	THg	MeHg	THg	MeHg
水样 Water	201.96±4.84	0.17±0.02	111.97±2.46	0.30±0.17	93.43±1.70	1.45±0.01

表 2 东门桥河沉积物和生物膜的 THg 和 MeHg 含量

Table 2 THg and MeHg concentration in sediment and biofilm of Dongmenqiao River

	S1		S2		S3	
	THg ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	MeHg ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	THg ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	MeHg ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	THg ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	MeHg ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
沉积物 Sediment	4.63±0.55	35.07±2.47	51.33±2.65	44.85±3.67	13.67±1.03	18.31±0.59
生物膜 Biofilm	0.69±0.01	9.92±0.68	4.93±0.87	10.67±1.32	4.52±0.79	10.83±0.81

两个站点( $n=3, P<0.05$ )。中游和下游的生物膜 THg 含量相近,但均高于上游站点,而 3 个采样点的 MeHg 含量均无显著差异( $n=3, P>0.05$ )。

## 2.2 汞暴露对青鳉鱼胚胎孵化率、畸形率和死亡率的影响

通常情况下,青鳉鱼胚胎在 8~12 d 即可孵化出仔鱼。如图 2 所示,与对照组相比,S1、S2 和 S3

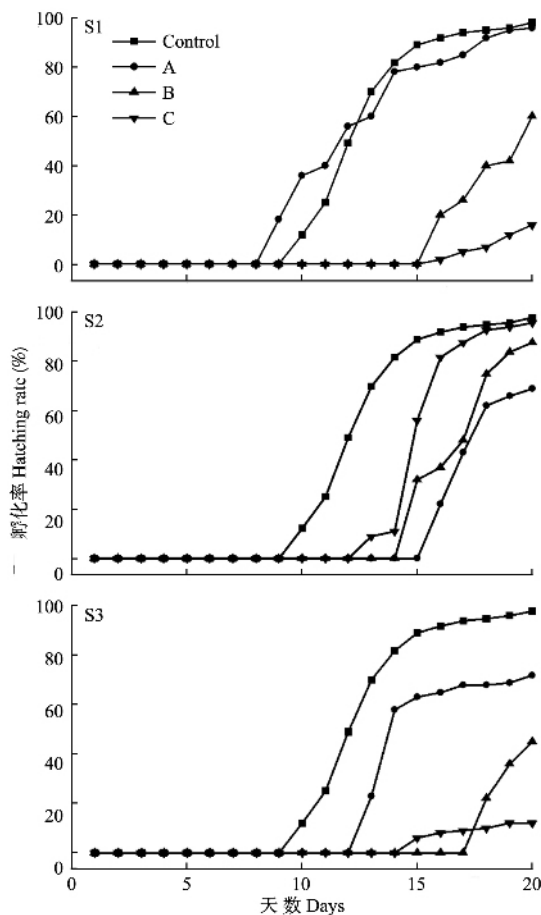


图 2 汞暴露对青鳉鱼胚胎孵化率的影响  
Fig.2 Effect of mercury exposure on hatching rate of *Oryzias latipes* embryo

采样点实验暴露的胚胎孵化率均出现不同程度的降低和孵化时间延迟。S1 采样点的 B、C 处理组与对照组胚胎孵化率相比显著降低( $n=20, P<0.05$ ), A 处理组则无显著差异( $n=20, P>0.05$ ); S2 采样点各处理组胚胎孵化率表现为: 对照>C 组>B 组>A 组; S3 采样点各处理组的胚胎孵化率与 S2 站点相反, 呈现为: 对照>A 组>B 组>C 组。胚胎暴露 15 d 后, 与对照组相比 S1 的 B、C 处理组, 以及 S2 和 S3 的 3 个处理组胚胎孵化时间均出现不同程度延长( $n=20, P<0.05$ )。

由图 3 可知,与对照组相比,各实验暴露组的胚胎畸形率显著升高,其中 S1 站点 A 处理组的畸形率高达 77%。S2 采样点各处理组的畸形率表现为: A 组>B 组>C 组,而 S3 站点各处理组的畸形率趋势与 S2 站点相反,表现为: C 组>B 组>A 组( $n=20, P<0.05$ )。与图 2 的 S2、S3 站点孵化率趋势相比可知,孵化率和畸形率呈现出反向的趋势,即孵化率越高,畸形率则越低;而 S1 的孵化率和畸形率则没有表现出明显的反向趋势。各实验暴露导致胚胎孵化延迟、脊柱畸形和卵黄囊水肿等畸形效应(图 4 中 2 所

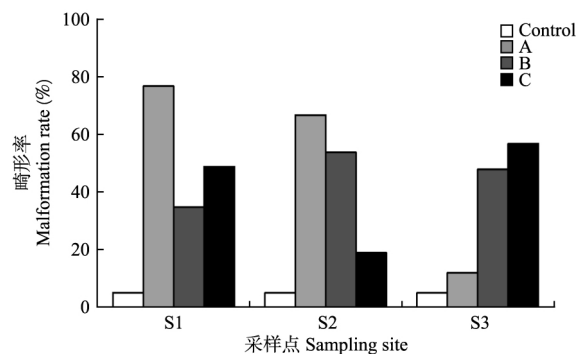


图 3 汞暴露对青鳉鱼胚胎畸形率的影响  
Fig.3 Effect of mercury exposure on malformation rate of *Oryzias latipes* embryo

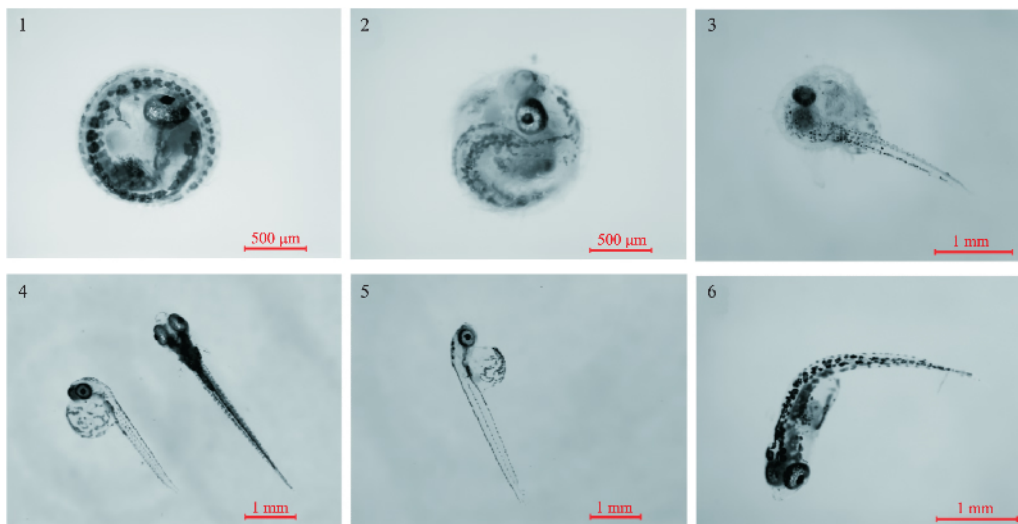


图 4 汞暴露对青鳉鱼胚胎发育的影响

Fig.4 Effect of mercury exposure on development of *Oryzias latipes* embryo

注: 1: 正常发育的胚胎; 2: 尾部脊柱畸形, 卵黄囊水肿, 孵化延迟; 3: 仔鱼无法破膜, 卵黄囊水肿, 体长较短; 4: 畸形仔鱼(左)和正常孵化仔鱼(右)对比; 5: 卵黄囊水肿, 体长较短, 颜面畸形; 6: 脊柱畸形, 心包水肿, 拉伸心脏。

Note: 1: normal development of embryos; 2: tail spinal deformity, yolk sac edema, delayed incubation; 3: larvae can not break the membrane, yolk sac edema, body length is shorter; 4: deformed larvae (left) and normal hatching larvae (right) contrast; 5: yolk sac edema, short body length, craniofacial deformity; 6: spinal deformity, pericardial edema, stretching the heart.

示)。此外,青鳉鱼胚胎试验暴露还导致孵化的仔鱼呈现出一系列畸形,包括仔鱼无法破膜(图4中3所示)、卵黄囊水肿(图4中3~5所示)、体长变短(图4中4~5所示)、颜面畸形(图4中5所示)、脊柱畸形和心包水肿、拉伸心脏(图4中6所示)。在所有观察到的形态学畸形中,最常见的畸形是卵黄囊水肿,其次是体长变短。

如图5所示,东门桥河3个采样点不同处理组暴露对青鳉鱼胚胎死亡数与对照组相比均有不同程度的增加。总体来说,胚胎死亡率随着汞暴露浓度的增加而表现出逐渐升高的趋势。3个采样点的总体死亡率呈现为: S3>S1>S2。S1和S3采样点各处

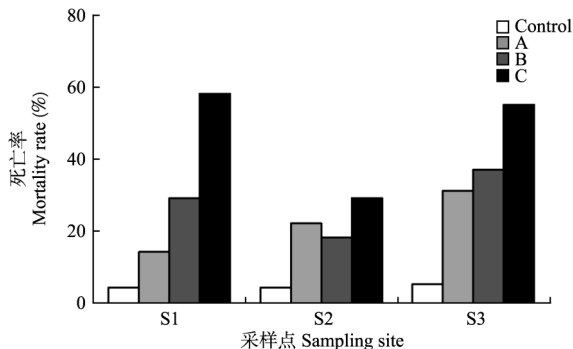


图 5 汞暴露对青鳉鱼胚胎死亡率的影响

Fig.5 Effect of mercury exposure on mortality rate of *Oryzias latipes* embryo

理组暴露后的死亡率表现为: C组>B组>A组,其中C组的死亡率分别高达58%和55%。S2采样点的B处理组的死亡率显著高于对照组,但低于A、C处理组( $n=20, P<0.05$ )。

2.3 汞暴露对青鳉鱼仔鱼畸形率和死亡率的影响

如图6所示,S1、S2和S3采样点的3个处理组仔鱼畸形率在24h、48h、96h和21d处均显著高于对照组( $n=20, P<0.05$ )。随着处理时间的延长,仔鱼的畸形率也逐渐升高,F处理组21d时的畸形率高达68%~77%。试验暴露后的仔鱼畸形效应表现为一系列的脊柱弯曲,包括脊柱向上弯曲(图7中8所示)、脊柱向下弯曲(图7中9所示)、脊柱向左侧弯曲(图7中10、12)、脊柱向右侧弯曲(图7中11所示)。此外,试验暴露还导致仔鱼死亡且全身水肿发白、颜面畸形(图7中8~9所示)、心包水肿(图7中8所示)、鳍腐(图7中8~10所示)、眼球破裂(图7中11所示)、脱皮(图7中11~12所示)和身体消瘦(图7中12所示)。由上可知,试验暴露致仔鱼畸形效应以脊柱弯曲最为常见。

青鳉鱼仔鱼实验暴露期间,对照组的死亡率均小于6%。由图8可知,随着实验暴露时间延长,青鳉鱼仔鱼的死亡率显著升高( $n=20, P<0.05$ ),其中以F处理组21d的死亡率最高,S3站点甚至高达72%。实验各处理组的总体死亡率呈现为:F组>E

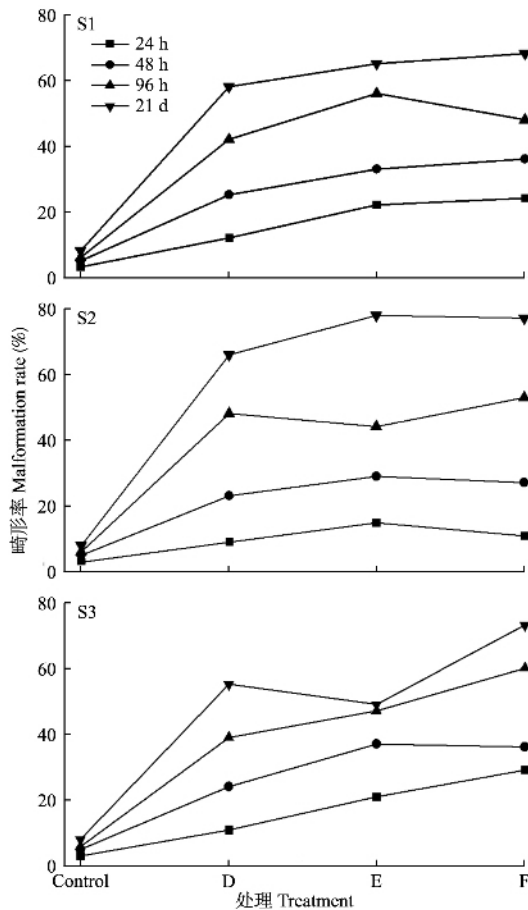


图6 汞暴露对青鳉鱼仔鱼畸形率的影响  
Fig.6 Effect of mercury exposure on malformation rate of *Oryzias latipes* larvae

组>D组。图8显示,S2站点各处理组死亡率在24 h之内大幅度增加,S3站点的死亡率主要集中在48 h和96 h之间。而S1的死亡率升高较为平缓,并没有在某个时间段大幅上升。同时,S2站点21 d的死亡率显著低于其他两个站点21 d的死亡率( $n=20, P<0.05$ )。

### 3 讨论

水体 THg 平均含量为( $135.79 \pm 47.40$ )  $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ,略高于我国地表水环境质量标准(GB 3838-2002)规定的Ⅲ类地表水汞浓度标准限值( $\leq 100 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ )。沉积物的 THg 和 MeHg 含量分别为( $23.21 \pm 20.22$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和( $32.74 \pm 10.96$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,高于同区域内沉积物背景值( $0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) (冯新斌 2015)。沉积物中的 THg 和 MeHg 的空间分布从上游到下游呈递增趋势,可能由于河道底泥疏浚重点清除了上游河道,下游河道清理不彻底的缘故。生物膜样品中汞含量比沉积物中低,含量分别为( $3.38 \pm 1.91$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和( $10.47 \pm 0.40$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;高于非污染区环境生物膜汞含量水平( $0.02 \sim 0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) (Hamelin *et al.* 2015; García-Alonso *et al.* 2017),但低于矿区生物膜汞水平( $4.60 \sim 9.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) (Huguet *et al.* 2010)。

河水、沉积物和生物膜均对青鳉鱼胚胎发育(孵化率、孵化时间、畸形率和死亡率)造成了不良

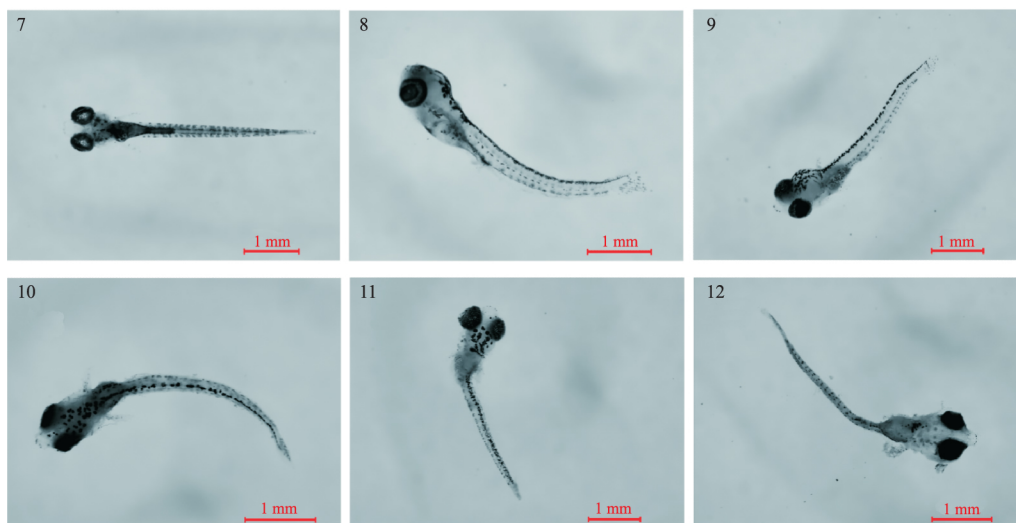


图7 汞暴露对青鳉鱼仔鱼早期发育的影响  
Fig.7 Effect of mercury exposure on early development of *Oryzias latipes* larvae

注: 7: 正常仔鱼; 8: 脊柱上弯,全身水肿,头部膨大,颅面畸形,心包水肿,鳍腐; 9: 脊柱下弯,全身水肿,颅面畸形,鳍腐; 10: 脊柱侧弯,鳍腐; 11: 脊柱侧弯,脱皮,眼球破裂; 12: 脊柱侧弯,身体消瘦,脱皮。  
Note: 7: normal larvae; 8: spine up, body edema, head enlargement, craniofacial deformity, pericardial edema, fin rot; 9: spine down, body edema, craniofacial deformity, fin rot; 10: scoliosis, Fin rot; 11: scoliosis, peeling, eyeball rupture; 12: scoliosis, body weight loss, peeling.

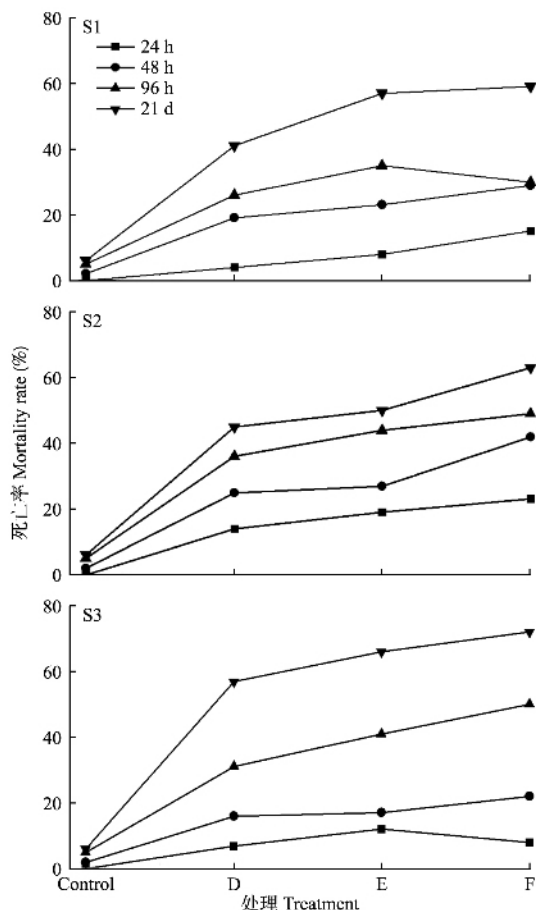


图8 汞暴露对青鳉鱼仔鱼死亡率的影响  
Fig.8 Effect of mercury exposure on mortality rate of *Oryzias latipes* larvae

影响。随着暴露天数的增加,3个采样点不同处理组的青鳉鱼胚胎孵化率变化趋势各不相同。与对照组相比,实验各处理组均致使青鳉鱼胚胎的孵化率降低和孵化时间延长,其中以水体+沉积物+生物膜的联合暴露对胚胎的孵化率影响最大,孵化率只有32%,而其他两组暴露的孵化率平均在60%以上,说明汞暴露会影响胚胎破膜,其中更复杂的暴露环境和含量更高的汞暴露对胚胎的孵化率影响越大。孵化率降低和孵化时间延长可归因于汞诱导胚胎的缺氧和孵化酶活性的干扰(Lin *et al.*, 2013)。青鳉鱼胚胎孵化期间,汞能够有效地突破绒毛膜进入胚胎,并在其中不断累积。胚胎正常孵化过程中,绒毛膜会逐渐被孵化酶分解,当孵化酶活性受到干扰后,会影响胚胎破膜。同时,汞在胚胎表面的吸附可以阻断绒毛膜通道,减少氧气和养分的进入,从而导致胚胎孵化延迟或失败。实验暴露还导致一系列形态学畸形,如水肿(卵黄囊、心包)、脊柱弯曲和体长变短等,其中以水肿最为常见,这可能与胚胎卵膜的渗透

性紊乱有关(Myosho *et al.*, 2018),扩散至胚胎内的汞,会扰乱胚胎的发育代谢,进而导致新孵仔鱼的形态学缺陷(Wu *et al.*, 2012)。此外,青鳉鱼胚胎的死亡率随汞暴露浓度的增加而升高,可以观察到,水体+沉积物+生物膜的联合暴露导致胚胎高达47%的死亡率,而水体暴露和水体+沉积物联合暴露的死亡率分别为22%和28%。提示汞暴露浓度越高,渗透入胚胎中的汞含量随之增加,从而导致胚胎较高的死亡率。

青鳉鱼仔鱼汞暴露结束后,出现了明显的致畸效应,以水体+沉积物+生物膜的联合暴露对仔鱼的畸形率影响最大,高达44%;且随着暴露时间延长,仔鱼的畸形率逐渐升高,仔鱼经24、48和96 h暴露后,畸形率分别为17%、30%和49%;而经21 d暴露后,畸形率达到72%。与对照组相比,仔鱼经汞暴露后,死亡率出现不同程度的升高,且死亡率的增加趋势和畸形率一致,以汞含量最高的水体+沉积物+生物膜的联合暴露组死亡率最高,为46%。同时,仔鱼的死亡率也表现出了时间效应关系,仔鱼经24 h、48 h、96 h和21 d汞暴露后,死亡率分别达到12%、25%、38%和57%,提示青鳉鱼早期阶段对汞污染表现出了明显的浓度效应关系和时间依赖性。此外,实验汞暴露致使仔鱼出现脊柱弯曲、水肿和身体消瘦等畸形,仔鱼畸形特征与胚胎暴露后初孵仔鱼的畸形特征存在较大差异,提示胚胎时期和仔鱼早期发育时期对于同一污染环境水体表现出不同的敏感性,这种差异可能与胚胎的卵膜有关,卵膜可以在胚胎孵化前提供保护作用,隔离周围有害物质对胚胎的伤害(Iconomidou *et al.*, 2000)。而仔鱼的毒物暴露途径主要是鳃和皮肤(王洪盼, 2015),随着汞暴露浓度的增加和暴露时间延长,鱼体内各组织器官汞含量逐渐积累,从而使仔鱼出现脊柱弯曲等形态学变化甚至死亡。

#### 4 结论

在目前河流水样THg和MeHg暴露浓度为(135.79±47.40)和(0.64±0.58) ng·L<sup>-1</sup>,沉积物浓度为(23.21±20.22) mg·kg<sup>-1</sup>、(32.74±10.96) μg·kg<sup>-1</sup>,生物膜浓度为(3.38±1.91) mg·kg<sup>-1</sup>、(10.47±0.40) μg·kg<sup>-1</sup>的情况下,青鳉鱼胚胎发育均受到不良影响,表现为孵化时间延长,孵化率降低,死亡率升高,胚胎无法破膜和脊柱畸形、卵黄囊水肿等畸形效应,以及初孵仔鱼不同程度的畸形。青鳉鱼仔

鱼的死亡率和畸形率对汞暴露显现出明显的浓度效应关系和时间依赖性,且表现出一系列以脊柱弯曲为主的畸形效应。此外,实验汞暴露导致的仔鱼畸形特征与胚胎暴露后初孵仔鱼的畸形特征存在较大差异。

#### 参考文献

- 冯新斌. 2015. 乌江流域水库汞的生物地球化学过程及环境效应. 北京: 科学出版社. [Feng XB. 2015. Biogeochemical Processes and Environmental Effects of Mercury in the Wujiang River Basin. Beijing: Science Press.]
- 冯新斌, 洪业汤. 2013. 汞的环境地球化学研究进展. 矿物岩石地球化学通报, **32**(5): 503-530. [Feng XB, Hong YT. 2013. Progress in environmental geochemistry of mercury. *Bulletin of Mineralogy, Geochemistry*, **32**(5): 503-530.]
- 何天容, 冯新斌, 戴前进, 等. 2004. 萃取-乙基化结合 GC-CVAFS 法测定沉积物及土壤中的甲基汞. 地球与环境, **32**(2): 83-86. [He TR, Feng XB, Dai QJ, et al. 2004. Determination of methylmercury in sediments and soil by extraction-ethylation combined with GC-CVAFS. *Earth and Environment*, **32**(2): 83-86.]
- 蒋红梅. 2005. 水库对乌江河流汞生物地球化学循环的影响 (博士学位论文). 贵阳: 中国科学院地球化学研究所. [Jiang HM. 2005. Influence of Reservoirs on Mercury Biogeochemical Cycles in Wujiang River (PhD thesis). Guiyang: Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences.]
- 蒋红梅, 冯新斌, 梁 琏, 等. 2004. 蒸馏-乙基化 GC-CVAFS 法测定天然水体中的甲基汞. 中国环境科学, **24**(5): 568-571. [Jiang HM, Feng XB, Liang L, et al. 2004. Determination of methylmercury in natural water by distillation-ethylation GC-CVAFS. *China Environmental Science*, **24**(5): 568-571.]
- 梁 鸿, 刘 勇, 饶凯锋, 等. 2016. 水环境中重金属铜暴露下青鳉鱼的行为响应. 生态毒理学报, **11**(6): 345-352. [Liang H, Liu Y, Rao KF, et al. 2016. Behavioral response of barley squid exposed to heavy metal copper in water environment. *Journal of Ecotoxicology*, **11**(6): 345-352.]
- 李楚娴, 孙荣国, 王定勇, 等. 2014. 三峡水库消落区土壤、植物汞释放及其在斑马鱼体的富集特征. 环境科学, **35**(7): 2721-2727. [Li CX, Sun RG, Wang DY, et al. 2014. Soil and plant mercury release from the falling area of the Three Gorges Reservoir and its enrichment characteristics in zebrafish. *Environmental Science*, **35**(7): 2721-2727.]
- 李仲根, 冯新斌, 何天容, 等. 2005. 王水水浴消解-冷原子荧光法测定土壤和沉积物中的总汞. 矿物岩石地球化学通报, **24**(2): 50-53. [Li ZG, Feng XB, He TR, et al. 2005. Determination of total mercury in soil and sediment by aqua regia digestion-cold atomic fluorescence spectrometry. *Bulletin of Mineralogy, Geochemistry*, **24**(2): 50-53.]
- 申 禹, 李 玲. 2013. 天然水体中生物膜对磷的吸附动力学特征. 环境科学学报, **33**(4): 1023-1027. [Shen Y, Li L. 2013. Adsorption kinetics of phosphorus by biofilms in natural waters. *Chinese Journal of Environmental Science*, **33**(4): 1023-1027.]
- 王洪盼. 2015. 铜和镉对日本青鳉毒性效应研究(硕士学位论文). 天津: 天津科技大学. [Wang HP. 2015. Study on the Toxic Effects of Copper and Cadmium on Japanese Barley (Master's thesis). Tianjin: Tianjin University of Science and Technology.]
- 闫海鱼. 2005. 环境样品中不同形态汞的分析方法建立与贵州百花湖汞的生物地球化学循环特征的初步研究(博士学位论文). 贵阳: 中国科学院地球化学研究所. [Yan HY. 2005. Analytical Methods for Different Forms of Mercury in Environmental Samples. A Preliminary Study on the Biogeochemical Cycling Characteristics of Mercury in Baihua Lake, Guizhou Province (PhD thesis). Guiyang: Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences.]
- Barjhoux I, Baudrimont M, Morin B, et al. 2012. Effects of copper and cadmium spiked-sediments on embryonic development of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Ecotoxicology & Environmental Safety*, **79**: 272-282.
- Booth SC, Workentine ML, Wen J, et al. 2011. Differences in metabolism between the biofilm and planktonic response to metal stress. *Journal of Proteome Research*, **10**: 3190-3199.
- Dong W, Liu J, Wei LX, et al. 2016. Developmental toxicity from exposure to various forms of mercury compounds in medaka fish (*Oryzias latipes*) embryos. *PeerJ*, **4**: e2282.
- Farag AM, Woodward DF, Goldstein JN, et al. 1998. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene river basin, Idaho. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **34**: 119-127.
- García-Alonso J, Lercari D, Araujo BF, et al. 2017. Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **187**: 53-61.
- Hamelin S, Planas D, Amyot M. 2015. Spatio-temporal variations in biomass and mercury concentrations of epiphytic biofilms and their host in a large river wetland (Lake St. Pierre, Qc, Canada). *Environmental Pollution*, **197**: 221-230.
- Huguet L, Castelle S, Schäfer J, et al. 2010. Mercury methylation rates of biofilm and plankton microorganisms from a hydroelectric reservoir in French Guiana. *Science of the Total Environment*, **408**: 1338-1348.
- Iconomidou VA, Chryssikos DG, Gionis V, et al. 2000. Secondary structure of chorion proteins of the teleostean fish dentexdext by ATR FT-IR and FT-Raman spectroscopy. *Journal of Structural Biology*, **132**: 112-122.



- Ismail A , Yusuf S. 2011. Effect of mercury and cadmium on early life stages of Java medaka ( *Oryzias javanicus* ): A potential tropical test fish. *Marine Pollution Bulletin* , **63**: 347–349.
- Korbas M , Macdonald TC , Pickering IJ , *et al.* 2012. Chemical form matters: Differential accumulation of mercury following inorganic and organic mercury exposures in zebrafish larvae. *ACS Chemical Biology* , **7**: 411–420.
- Lin SJ , Zhao Y , Ji ZX , *et al.* 2013. Zebrafish high-throughput screening to study the impact of dissolvable metal oxide nanoparticles on the hatching enzyme , ZHE1. *Small* , **9**: 1776–1785.
- Myosho T , Takahashi H , Yoshida K , *et al.* 2018. Hyperosmotic tolerance of adult fish and early embryos are determined by discrete , single loci in the genus *Oryzias*. *Scientific Reports* , **8**: 6897.
- Schneider L , Maher WA , Potts J , *et al.* 2018. Trophic transfer of metals in a seagrass food web: Bioaccumulation of essential and non-essential metals. *Marine Pollution Bulletin* , **131**: 468–480.
- Scholz S , Fischer S , Ulrike Gündel , *et al.* 2008. The zebrafish embryo model in environmental risk assessment—applications beyond acute toxicity testing. *Environmental Science and Pollution Research* , **15**: 394–404.
- Wu Y , Zhou QF. 2012. Dose- and time-related changes in aerobic metabolism , chorionic disruption , and oxidative stress in embryonic medaka ( *Oryzias latipes* ): Underlying mechanisms for silver nanoparticle developmental toxicity. *Aquatic Toxicology* , **124–125**: 238–246.
- 
- 作者简介 林 晶 ,女 ,1994 年生 ,硕士研究生 ,主要从事环境毒理学的研究工作。E-mail: 1339199758@qq.com  
责任编辑 魏中青
-