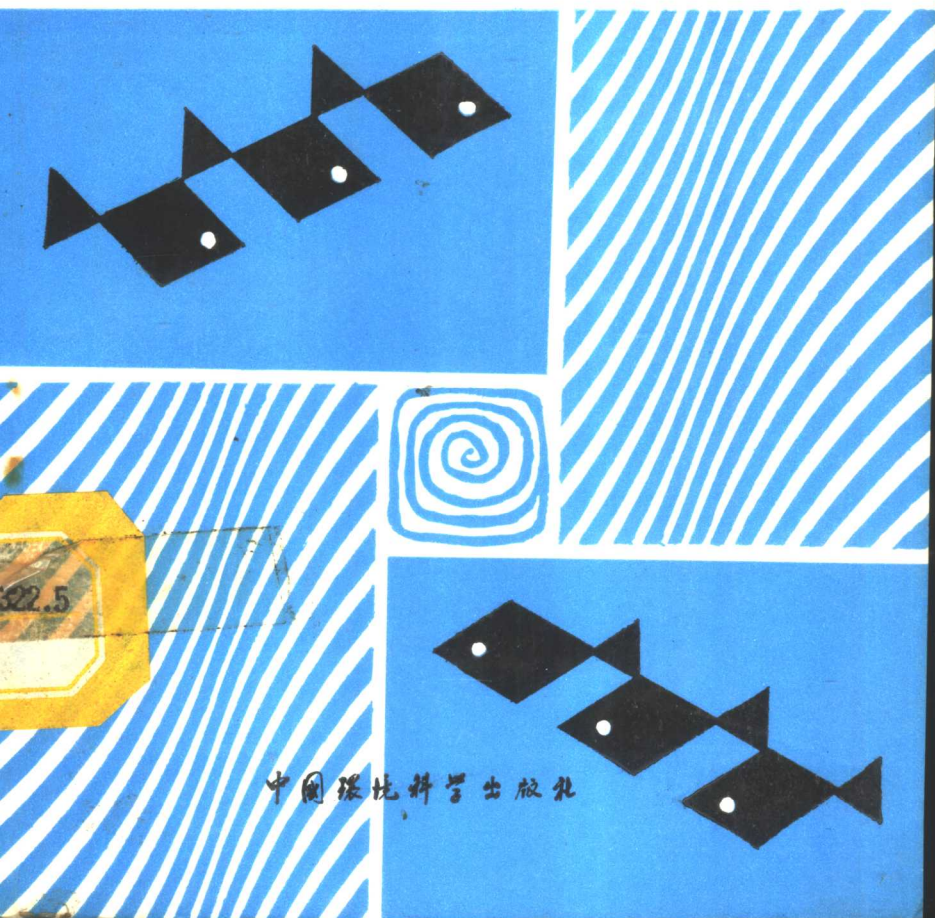


水污染鱼类 毒性实验方法

邱郁春 主编



中国环境科学出版社

(京) 新登字 089 号

内 容 简 介

本书从用水生生物来判断水环境中的污染出发,较为系统地介绍了进行水体中化学毒物对鱼类毒性的研究方法。叙述了鱼类的生物学,描述了鱼类的急性实验、慢性实验、致畸实验、致突变实验、毒物的联合作用实验和毒物的富集实验方法,介绍了在进行鱼类实验时常用观察指标的实验方法,如鱼类的回避实验、耗氧量实验、毒物的排泄实验和污染水域网箱养鱼现场实验等的实验方法,同时还简要地介绍了鱼体内几种主要毒物含量的测定方法、鱼类生理生化测定法和病理组织学检查,实验数据的统计分析。

该书可供从事环境卫生、环境医学、环境毒理、水生毒理、食品毒理、水生生物监测实际工作的人员、中、高等院校环境保护专业师生以及其他有关从事实际工作和科研工作人员阅读。

水污染鱼类毒性实验方法

邱郁春 主编
责任编辑 张维平

中国环境科学出版社出版
北京崇文区北岗子街8号

三河县宏达印刷厂印刷

新华书店总店科技发行所发行 各地新华书店经售

1992年4月第一版 开本 787×1092 1/32
1992年4月第一次印刷 印张 6
印数 1—2,000 字数 134千字

ISBN 7-80093-009-2/X·519

定价: 4.00元

前 言

随着工农业及其他事业的不断发展，在其生产或实验过程中，排放出来的有害有毒物质必定会对优美清洁的自然环境造成污染，以致危害水中的生物资源和影响人类的健康。因此，对环境必须进行监测。对水域环境监测一般有两种方法：一种是理化监测，直接测定水域环境中污染物的种类及其含量，这种监测方法，只能测报当时当地环境的瞬间情况，而不能反映出已往发生的改变，也不能反映出多种污染物混合后的颉颃和加成作用对水中生物群落产生的影响；另一种为生物实验，生物能集聚整个时期环境因素改变的情况以及各种环境因素变化的协同和颉颃作用的结果。

所以，生物实验在国外被大多数的生态学家和环境保护工作者研究水域环境污染时所采用，并已成为一个很活跃的研究课题。如日本用鲤鱼的感觉器官，英国用虹鳟的呼吸速率，法国用鳟鱼的脑髓电位活动，联邦德国用象鼻鱼的带电器官，苏联用红鳞鱼的生死反应，瑞典用地方常见鱼的行为反应，加拿大用食蚊鱼的生死反应，巴西用观赏鱼的健康状况，尼日利亚用狗鱼的嗅觉器官及美国用金鱼的脑胆碱酯酶的活性等方面的监测研究。

在水域污染的生物实验中，所使用的实验生物对象，主要是鱼类。在国内，目前还没有对其实验的有关方法能作一综合介绍，因此，编者根据多年来的资料收集和工作实践，汇编出《水污染鱼类毒性实验方法》一书。

本书在编写过程中，承蒙上海华东师范大学生物系孙帼英教授对书中部分章节进行了认真的修改；复旦大学生物系邵炳绪副教授和湖南医科大学卫生系唐明德老师编写了部分内容。最后，全书由湖南医科大学卫生系王翔朴教授审阅定稿。国家环保局成果处提供了资金赞助，刘秀茹同志对本书的出版工作给予多方面的关心和支持。在此，编者对他们谨致以衷心的感谢。

由于作者缺乏经验、水平有限，书中错误和不妥之处，敬请读者批评指正。

作者

1990年3月

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 实验鱼类的生物学	(9)
第一节 鱼类的形态构造.....	(9)
第二节 实验鱼类的生物学.....	(11)
第三节 鱼类生物学指标的数理统计.....	(42)
第三章 鱼类毒性实验方法	(50)
第一节 鱼类的急性毒性实验.....	(50)
第二节 鱼类的慢性毒性实验.....	(62)
第三节 鱼类的回避实验.....	(67)
第四节 鱼类的耗氧量实验.....	(74)
第五节 毒物在鱼体内的富集实验.....	(77)
第六节 鱼类的致畸实验.....	(79)
第七节 鱼类致突变实验.....	(82)
第八节 鱼类的毒物联合作用实验.....	(89)
第九节 鱼类的毒物排泄实验.....	(91)
第十节 污染水域网箱养鱼现场实验.....	(94)
第四章 鱼类的生理生化指标测定法	(96)
第一节 鱼类的心跳生理活动实验.....	(96)
第二节 鱼体内含脂量的测定方法.....	(99)
第三节 鱼类的采血技术.....	(100)
第四节 鱼类血球活体涂片法.....	(105)
第五节 鱼类红、白血球的计数法.....	(107)
第六节 鱼类血红蛋白的测定方法.....	(113)

第五章 鱼体中有毒物质的分析	(116)
第一节 酚的测定	(117)
第二节 氰化物的测定	(120)
第三节 汞的测定	(126)
第四节 砷的测定	(133)
第六章 鱼类的病理组织学检查	(136)
第一节 鱼类细胞组织的显微测量	(136)
第二节 鱼类组织切片技术	(140)
第七章 实验数据的统计处理与分析	(155)
附录1 我国地面水环境质量三级标准	(168)
附录2 生活饮用水水质标准	(169)
附录3 我国工业“废水”排放试行标准	(170)
附录4 我国渔业水域水质标准	(171)
附录5 我国海水水质要求	(173)
附录6 我国海水中有毒物质最高容许浓度	(174)
附录7 日本海域水质标准	(174)
附录8 苏联规定的沿海水质标准	(175)
附录9 罗马尼亚水质标准	(175)
附录10 美国规定的渔业、养贝类业的水质标准	(176)
附录11 世界各国对海产品中有毒物质的允许含量	(176)
附录12 日本规定鱼类水质标准	(178)
附录13 某些国家鱼类急性中毒试验条件	(178)
附录14 酒精稀释计算表	(178)
附录15 相当于机率0.05与0.01的卡方值表	(180)
附录16 t值表	(181)

附录17	F 值表		(182)
附录18	F 值表		(184)

第一章 绪 论

水是自然界一切生命的重要物质基础，是人类不可缺少的环境因素之一。人们不但每天需要一定量的饮用水，而且还需要摄入一定量的水产品。由于人们的生产和生活活动，将大量的有害物质排入水体，超出了水体的容纳限度和本身的自净能力，造成水体不同程度的污染。1953~1959年日本水俣病的发生就是通过水体污染的鱼类食物链所造成的一个极为典型的事例。因此，为了判断水体中有害物质的污染及可能造成的危害，保护水体环境，造福于人类，积极开展鱼类毒性实验的研究极为必要。

一、鱼类毒性实验的重要性及其实际应用

鱼类毒性实验是研究水体中有害物质对鱼类不良影响的实验。鱼类和其它的水生生物一样，对水环境中所发生的物理、化学和生物性的各种变化，反应十分地灵敏。因此，鱼类与水环境之间存在着极为密切的相互关系。在进行江、河、湖、海等水域污染的调查时，常常由于水体中污染物种类繁多，难以用单一的理化指标表示其污染的程度，但通过鱼类的毒性实验就能够在一定程度上综合地反映出水体的污染情况和污染物的联合毒性。进入水环境中的工业废水成分异常的复杂，随不同的工业企业所使用的原料、生产的产品不同而不同。而且水体中毒物之间存在着联合作用，这就使废水的毒性与单一存在的毒物毒性有所不同，因而也用鱼类毒

性实验测定工业废水的实际毒性，作为对水体进行卫生综合评价的指标。此外，鱼类毒性实验还可用来作为长期连续性的监测，以反映水环境质量变化的全貌。所以，鱼类毒性实验方法是极其重要的。正因为如此，目前已有许多的国家将鱼类毒性实验方法列为一种常规的水质污染评价的方法。

鱼类毒性实验已广泛地应用于实际工作中，根据鱼类所产生的各种变化来分析水环境中所存在的污染物。如鱼类行为的变化可用于自动化的连续监测工业废水的报警系统中；鱼类活动形式的变化，用于监测重金属污染；鱼类游动行为的变化，用于监测热污染；鱼类呼吸频率和咳嗽频率的变化，用于监测农药、造纸等污水。英国特信特河水质监测系统就是用鱼监测马斯顿牧地附近的“河流净化湖”水质的毒性。联邦德国用西非的象鼻管鱼监测饮用水。原因是此种鱼在清洁水中能发射出400—800m/s的电脉冲，当水质变坏时，其脉冲频率就急剧下降。因此，将鱼放入饮用水中，在岸上设置接收机接收其发出的信号，便可监测水质的变化。目前，德国科学家正在研究用测定鳟鱼脑子的电活性信号图，来报告水体中污染物的存在。此外，鱼类毒性实验可作为管理工业废水排放的一种检定方法。这样，通过鱼类毒性实验所得的结果，可为制定各种有害化学物质在水中的卫生标准及渔业用水水质卫生标准提供可靠的科学依据。

二、鱼类毒性实验研究任务和内容

鱼类毒性实验研究任务和内容是在于查明水中各种污染物或污水对鱼类是否产生毒性作用；研究化学污染物进入鱼体内的分布、富集和排泄等代谢情况；研究水体中化学污染物或污水对鱼类产生毒害作用的表现及中毒的机制，找出产生

不良影响的阈剂量或阈浓度。

三、剂 量

剂量的概念较为广泛，它是指给予鱼类或与鱼类相接触的数量。通常以单位体重的数量（mg/kg体重）或水中的浓度（ppm）来表示。不同剂量的毒物对机体呈现不同的性质或不同程度的毒害作用。因此，必须明确下列有关剂量的概念。

1. 剂量与效应和剂量与反应

剂量与效应是指给予鱼类机体一定剂量的毒物后，在毒物的毒害作用下所出现的生物学变化，如鱼类的血象改变，某些体内酶活性的增加或降低等。剂量与反应是指接触一定剂量的毒物后所表现的某种效应，并达到一定强度的个体在群体中所占的百分率或比值。

2. 致死量

（1）绝对致死量（ LD_{100} ） 绝对致死量（浓度）是指能引起一群鱼类全部死亡的最低量（浓度）。

（2）半数致死量（ LD_{50} ） 半数致死量（浓度）是指引起一群鱼类50%死亡所需的最低量（浓度）。

（3）最小致死量（MLD） 最小致死量（浓度）是指引起一群鱼类个别死亡所需的最大量（浓度）。

3. 最大无作用量

最大无作用量是指不引起一群鱼类死亡的最大量（浓度）。

4. 最小有作用量

最小有作用量是指能引起鱼类机体产生某项观察指标发生异常变化所需的最小量（浓度）。最小有作用量（浓度）又叫中毒阈剂量（浓度）。

5. 无反应量（浓度）

无反应量（浓度）是表示不引起鱼类机体发生某种效应的最大剂量（浓度）。

6. 毒作用带

毒作用带是指引起鱼类机体产生某种效应到鱼类死亡的剂量（浓度）范围。

四 鱼类毒性实验中注意的基本问题

在进行水中化学污染物对鱼类毒性的研究中，一般应注意以下几个基本的问题。

1. 实验时的水质条件

水质条件一般是指水的温度、pH、溶解氧（DO）、硬度、水中的有机物和水量等。水质条件合理与否，直接关系到实验的研究结果。因此，在进行鱼类毒性实验的研究时，应保证满足实验的基本要求。

水温 水温的高低对鱼类的活动有一定的影响，温度高可增加水体中化学污染物的溶解度及活性，使实验液的毒性大小发生变化。一般认为温度上升，毒物的毒性增加，但增加的程度各不相同。同时，温度高可加强鱼体内的物质代谢，影

响鱼的活动能力及生理机能。对于某些污水中的毒物，水温高，由于助长其挥发或分解，而使毒物的毒性下降。因此，实验液中应保持对鱼类生存适宜的温度。一般温水鱼保持在20—28℃之间；冷水鱼保持在12—18℃之间。为了使实验的结果可靠，避免不同水温的变化而影响实验的准确性，故要求在同一实验中全部温度变动范围不得超过4℃（即 $\pm 2^\circ\text{C}$ ）。

pH值 淡水的pH值一般为6~8；海水为8—8.4。当水的pH值在5—9.5时，就pH值而言，它不会对鱼产生直接的有害影响。不同的鱼种要求水质的pH值的范围不同，但一般实验时可在6.7—8.5之间。pH值对鱼类的代谢和生长有密切的关系。当pH值 >9.5 以上时，即会对鱼产生有害作用，鱼皮、鳃等发生溶解，特别是鱼鳃的溶解可直接危及鱼的呼吸机能。pH值过低（无机酸增加），可使鱼鳃凝缩，也危及呼吸机能，严重时使鱼窒息死亡。因此，必须严格地控制实验液中的pH值的范围，最好使pH值能保持在7左右。如果pH值过高或过低时，需要进行调节。但在调节pH值时，必须防止水中毒物含量的变化。

溶解氧 (DO) 鱼类生存，需要水中含有一定量的溶解氧。因此，水中的溶解氧是鱼类生存的基本条件。不同鱼类需氧量的情况有较大的差别。如红点鲑需要9ppm才能存活，而泥鳅、鲶鱼则只需1.5ppm即可存活。但一般的鱼多在4ppm以上才能正常生活。在用一般淡水鱼作实验时，要求水中的溶解氧不应低于5mg/L。所以，在整个实验过程中，溶解氧必须保持在实验鱼类所需氧的范围内，以排除由于缺氧而引起鱼的异常症状及窒息现象。水中溶解氧的含量，随气温和气压而有所不同，在760mmHg*气压下，水中溶解氧

* 1mmHg = 133.322Pa

随温度的变化而发生变化，气温高则水中的溶解氧含量就相对减少。若实验时采用地下水，则由于地下水的溶解氧含量低，一般多在4mg/L以下，因此，我们需要用曝气或充氧的方法来满足实验的要求。在实验时，若发现试液中溶解氧低，实验鱼呈现缺氧状态时，应立即更换试液或采用恒流装置或者向缺氧试液中充氧，从而保证实验鱼所需要的氧。当实验鱼出现死亡时，应正确判断是中毒引起还是缺氧引起。

硬度 实验水的硬度不同对鱼类中毒的影响也不同。重金属在水中的毒性可因水质硬度不同而有所变化。硬度高毒性小，硬度低毒性大。因此，若在研究水体中重金属污染物对鱼类的毒性时，应注意实验水的硬度。在通常的条件下，要求测定实验液的硬度值、且鱼类毒性实验应在软水水质中进行，而地下水一般不作实验用水。

有机物 实验水要求有机物的含量不宜过多，过多的有机物在水中分解，可消耗水中的溶解氧；另一方面，一些有机悬浮物还能吸附水中的其它化学物质，沉降底层，影响实验的结果。因此，在研究中，要求实验水中有机物的含量，以生化需氧量（BOD）表示。一般不应超过5ppm，最好在3ppm以下。

水量 实验中应保证供给实验鱼足够的水量。一方面能使实验鱼有足够的活动容积，另一方面以确保供给实验鱼以足够的溶解氧量。一般要求每1g体重的鱼供水1L。

2. 实验的化学污染物

理化特性 实验的化学污染物的结构，理化性质不同直接关系到它进入水体后的变化、迁移和对鱼类的危害。因此，在进行实验前，首先必须掌握该物质的理化特性，如分

子式、结构式、溶解度、沸点和在水中的稳定性等有关资料，必要时还常需要进行实验物的专门测定。测定的具体方法可参照湖南医科大学王翔朴教授等所编写的《卫生毒理实验方法》一书。

剂型 实验的化学物质的剂型不同，它在水中的溶解及分布状况就不同。因此，对鱼类所表现的毒性大小也就不同。有人研究，农药在水中乳剂比粉剂的毒性大。如农药DDT，其粉剂和乳剂的组分均为20%，但对鱼的致死浓度：粉剂1—10ppm，乳剂为0.1—1.0ppm。

助溶剂 在鱼类毒理实验中，对于那些微溶或不溶于水的化学污染物，为了提高它在水中的溶解度，以利于实验的进行，国内外的研究者们常常加入助溶剂。理想的助溶剂其本身应是无毒性，不致影响实验所用的化学污染物有效成分的性质及其在鱼体内的吸收；对实验的化学污染物有最大的助溶作用。目前，常用的有吐温、二甲基亚砷、羧甲基纤维素、丙二醇等。但应注意，助溶剂不能直接加入实验水中，而首先应将受试的化学污染物与助溶剂混匀，再加少量的水，使之形成乳化，然后再将其加入实验水中。正式实验时，对照组必须加入与实验组含最高助溶剂之量相等的助溶剂。

3. 实验鱼条件

不同种类和不同个体（生长发育不同阶段）的鱼对水中化学污染物的反应不尽相同，它们彼此之间存在着种类和个体的差异，造成差异的根本原因是体内各种代谢酶。有人研究残留氯对胖头鲤及大嘴鲈的毒性，比较7天的TLM值分别为0.082—0.115及0.261，前者的毒性比后者大2—3倍。同一种类的鱼，一般认为鱼苗比鱼种敏感，幼鱼比成鱼敏感。

所以，我们在进行研究时，常选择幼鱼作为实验对象，且最好选择两种不同种类以上的鱼来进行实验，以判定化学污染物的毒性。

4. 接触剂量

在实验时，鱼类接触一定的剂量（浓度），则必然会出现一些反应。因此，剂量-反应的关系是毒理学中的一个基本的问题。在确定一种或多种化学污染物的毒性作用和其慢性阈浓度，以及以慢性阈浓度为基础制定各种有关的卫生标准时，都是以剂量-反应为基础的。研究已证明。水中化学污染物对鱼类能否产生危害和危害的程度如何，主要是取决于化学污染物在水中的浓度。当水中化学污染物的浓度低到一定程度时，对鱼类不引起任何反应。只有当水中该污染物的浓度增加至一定的水平时，便可引起鱼类的反应。根据浓度的高低，可使鱼类产生生理性或病理性的反应，出现中毒症状。具有富集作用的化学污染物，虽然在低浓度下，短期不引起危害，但时间过长，该污染物在鱼体内的富集量过多。当体内的富集量达到中毒的阈值时，便对鱼类产生有害的影响。

5. 接触途径

进行鱼类毒性实验，一般是将化学污染物配成水溶液，进行静态式或动态式染毒。但当用大鱼作实验时，亦可采用肌肉注射或腹腔注射的途径进行实验。

第二章 实验鱼类的生物学

进行鱼类的毒性实验，首先必须对实验所用鱼类的形态特征、生活习性、生长和繁殖等生物学知识有所了解，才能根据实验的目的和要求，选用适合的实验鱼。不然，实验得出的结果，也许无实用价值或半途而废。

第一节 鱼类的形态构造

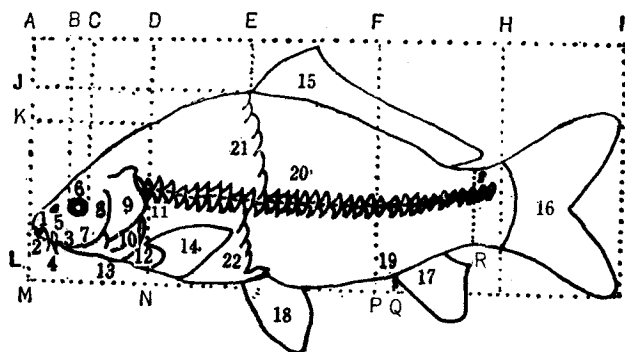


图 2-1 鲤鱼外形各部位名称及其主要器官

1. 前上颌骨 2. 下颌 3. 上颌骨 4. 触须 5. 鼻孔 6. 眼 7. 颊部 8. 前鳃盖骨 9. 鳃盖骨 10. 下鳃盖骨 11. 鳃膜 12. 胸部 13. 峡部 14. 胸鳍 15. 背鳍 16. 尾鳍 17. 臀鳍 18. 腹鳍 19. 肛门 20. 侧线鳞 21. 侧线上鳞 22. 侧线下鳞
- A—I 全长 A—H 体长或标准长 A—D 头长 K—L 头高 A—B 吻长 B—C 眼径 C—D 眼后头长 J—M 体高 G—H 尾柄长 S—R 尾柄高 E—G 背鳍基长 Q—G 臀鳍基长

凡是终身在水中生活，以鳍游泳并用鳃呼吸的脊椎动物，均称为鱼。

鱼类的外部形状及各部分的名称或器官，现以典型的鲤鱼为例图示如下（图2-1）。

鱼类的鳍式代号：D代表背鳍，A代表臀鳍，V代表腹鳍，P代表胸鳍，C代表尾鳍。大写的罗马数字代表鳍棘的数目（如I、II……），小写的罗马数字代表不分枝的鳍条（如i、ii……），阿拉伯数字代表分枝的鳍条。

例如，鲤鱼的鳍式为：D.Ⅲ—Ⅳ17—22；A.Ⅲ5—6；P.I15—16；V.Ⅱ8—9。白鲢的鳍式为：D.iii—7；A.iii—12—13。

鱼体的内脏构造如图2-2所示。

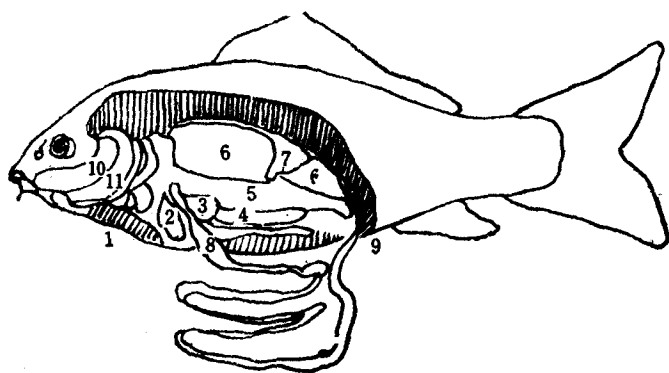


图 2-2 鲤鱼的内脏侧面剖图 (♂)

1. 心脏 2. 肝脏 3. 胆囊 4. 脾脏 5. 睾丸 6. 卵巢 7. 肾脏
8. 肠 9. 肛门 10. 鳃耙 11. 鳃片

鱼体的心脏构造如图2-3所示。