

浮选剂丁基黄原酸钠对草鱼早期发育阶段的毒性效应*

张甫英

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

丁基黄原酸钠是一种金属矿的浮选剂。作者研究了它对草鱼早期发育阶段(孵化、存活、生长、畸形等)的毒性效应。结果表明,丁基黄原酸钠对草鱼胚胎96 h的半致死浓度为17.8 mg/L,致畸半效应浓度为8.85 mg/L,当浓度为24 mg/L时,其胚胎的孵化率仅为38.8%,对生长有影响的浓度为5.6—10.0 mg/L,浓度在5.6 mg/L就可诱发畸形。丁基黄原酸钠对草鱼胚胎具有强烈的致畸作用,畸形的主要症状为弯体和体表瘤状赘生物。

关键词 浮选剂,早期发育阶段,毒性效应,弯体,赘生物

丁基黄原酸盐即丁基黄药,在有色金属选矿工艺中是常用的一种浮选捕集剂。从50年代起我国就大量生产和使用。在酸性废水中黄药不稳定,在中性和碱性条件下较为稳定,5 d内仅分解1—2%,已知的分解产物有二硫化碳及相应的醇类^[1]。

在金属矿的浮选过程中,含有黄药的废水在大量排放时可使地面水呈强烈的异臭,抑制多种水生生物的生长^[1],从而引起人们广泛的关注。张甬元等^[2]曾用乙基黄药对草鱼进行急性毒性试验,提出了关于排放标准的建议。此后 Mosevich^[3]发现黄药对鲑科鱼类胚胎发育有严重的危害。这提示我们要注意黄药对我国的经济鱼类早期发育阶段的危害性,本研究结果报道了黄药对草鱼早期发育阶段的毒性影响。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验选用草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus* Cuvier et Valenciennes) 的卵取自水生所养殖场刚进行人工授精后吸水膨胀的受精卵。在解剖镜下逐个选择发育整齐的受精卵,投入到所设计的不同浓度的黄药溶液中。实验期间随时观察胚胎的发育情况,对孵化、畸形及死亡等数据作详细记录,实验过程中出现的典型畸形症状用显微摄影记录。当实验进行到第6 d,把各浓度组中一部分轻度畸形的鱼苗转移到清水中,进行恢复试验。各浓度组内比较正常的鱼苗转入大容器内,维持原来的浓度水平,延长试验时间,观察其

* 中国科学院武汉分院择优支持项目。

1) 武汉医学院环境卫生教研组。环境污染与卫生监测(第二辑)。1975: 66—73(内部资料)。

1991年7月24日收到,1994年10月22日修回。

生长情况。在鱼苗开始摄食时,先喂蛋黄,接着喂丰年虫和红虫。

1.2 试验药品

实验使用的丁基黄原酸钠取自大冶铁矿铜绿山选矿厂(纯度为80%)。试验配制的母液浓度为1000 mg/L,母液配好后贮存在冰箱内备用,母液每隔1 d 重新配制一次。实验期间每天更换试验溶液2次。

1.3 稀释用水

试验采用的稀释水是经过活性炭过滤并静置24 h 以上的自来水。其水质情况: pH7.4,电导率200 $\mu\text{S}/\text{cm}$,总硬度2.1 mg/L(以 CaCO_3 计),酚酞碱度1.7 mg/L(以 CaCO_3 计)。试验期间的水温为 $24 \pm 1^\circ\text{C}$,溶解氧始终保持高于5 mg/L。由于稀释水为中性偏碱,因此黄药在这种水质下比较稳定,但是为了尽量减少试液浓度的变动,试液现配现用。

1.4 实验容器

实验容器采用直径为10 cm 的玻璃结晶皿,盛试液300 ml,投入受精卵200 颗左右,另设置平行试验。试验过程中因鱼苗不断长大,恢复试验和生长试验改用直径为12 cm 的玻璃结晶皿和直径为17.5 cm 的白色搪瓷碗,盛试液500 ml。

2 结果

2.1 对孵化的影响

黄药严重影响草鱼胚胎的孵化,如图1所示,孵化率随着黄药浓度的升高而下降。当浓度为24 mg/L 时其孵化率仅为38.8%,当黄药浓度在10—24 mg/L 的范围内,此为草鱼的孵化率下降最明显的区间,若黄药的浓度高于这个范围,草鱼的孵化基本上被抑制。试验进行到32 h,对草鱼孵化进程详细检查,发现2.4, 5.6 和10 mg/L 的三个浓度组已基本上完成了孵化进程,而13.5,18 和24 mg/L 的三个浓度组,仅有部分鱼苗孵化出膜,大部分仍然没有出膜,显然黄药浓度高于13.5 mg/L 会延缓草鱼胚胎发育的进程。

2.2 对胚胎存活率的影响

黄药对草鱼胚胎96 h 毒性试验结果(表1)。计算出黄药对草鱼胚胎96 h 的 LC_{50} 值为17.8 mg/L,95%的可信限为16.52—19.14 mg/L,回归方程 $Y = 2.4 + 2.5 x$ 。为了能继续观察96 h 后黄药对草鱼苗的毒性效应,试验时间适当延长,结果发现,24mg/L 高浓度组内孵出的草鱼苗在试验第8d 均全部死亡。

2.3 致畸效应

2.3.1 致畸半效应浓度 试验经120 h, 检查各浓度组内的畸形率和体表瘤状赘生物的百分率(表2)。由表2可见,浓度为5.6 mg/L 的黄药是草鱼胚胎出现畸形和产生体表

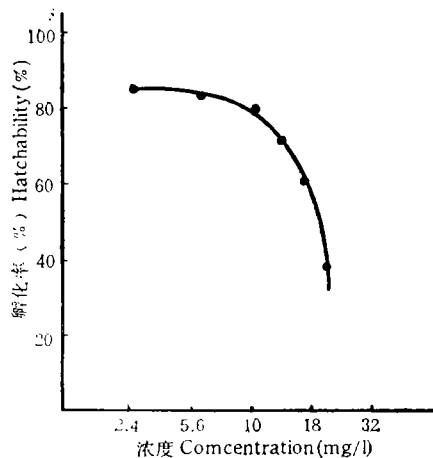


图1 试验经32h 草鱼卵在不同浓度黄药试液中的孵化率(横坐标是对数尺度)

Fig.1 Hatchability of grass carp after 32-hours exposure to butyl xanthate of different concentration (Logarithm scale)

表 1 草鱼胚胎 96 h 的毒性试验结果
Tab. 1 Ninety-six hours toxic test of grass carp embryos

浓 度 Concentration (mg/L)	24	18	13.5	10	5.6	2.4	对 照 Control
96 h 的死亡率 96h Mortality (%)	97	59.7	35.9	19.9	17.3	12.9	8.2

瘤状物的阈浓度。计算出 120 h 的致畸半效应浓度 EC_{50} 为 8.85 mg/L, 95% 可信限为 7.65—10.24 mg/L, 回归方程为 $Y = 1.33 + 3.88 x_0$

表 2 试验经 120 h 草鱼的畸形率和形成赘生物的百分率
Tab. 2 Percentage of teratogeny and neoplasm of grass carp fries over a period of 120-hours exposure

浓度 Concentration (mg/L)	试验鱼苗数 No. of fries	正常鱼苗数 Normal fries	畸形鱼苗数 No. of abnormal fries			畸形百分率 Teratogenic percentage (%)	赘生物百分率 Percentage of neoplasm (%)
			一般畸形 Deformity	赘生物 Neoplasm	畸形总数 Total		
18.0	103	12	9	82	91	88.3	79.6
13.5	128	34	6	88	94	73.4	68.8
10.0	117	41	3	73	76	65.0	62.4
5.6	163	131	2	30	32	19.6	18.4
2.4	123	123	0	0	0	0	0
对照 Control	119	119	0	0	0	0	0

2.3.2 畸形症状 草鱼胚胎发育过程中受黄药毒性的影响, 出现多种畸形症状: 胚孔不能封闭而形成大的卵黄栓; 胚体混沌不清; 卵黄囊膨大积水, 有的整个胸部膨大成球状; 心脏发育受阻而分化不全, 心脏搏动微弱, 例 24 mg/L 浓度组中畸形草鱼胚的心搏率仅为 40 次/min, 只有正常胚心搏率的 1/2; 畸形胚中出现较多的为弯体畸形; 还有一种特殊的畸形症状是在体表产生瘤状赘生物, 有些个体兼有弯体和体表瘤状赘生物。

2.3.3 瘤状赘生物 体表瘤状赘生物(简称瘤状物), 位于畸形胚胎的体侧, 多数出现在肛门和尾柄附近, 有的畸形个体上出现多个, 起初在畸形胚的表皮下呈圆形或卵圆形, 与周围组织界线明显, 但不隆起, 随着胚体的不断发育和长大, 这种瘤状物增生很快而在体表隆起, 当试验第 6d 测量瘤状物与所在部位体宽之比为 2:5。到试验第 13d, 瘤状物的大小是所处部位体宽的 2.5 倍, 试验时间增加 1 倍, 瘤状物增大到原来的 2—3 倍。这种瘤状物的表面呈乳头状, 内部似乎充满结缔组织。鱼苗若生有大型或数个瘤状物, 会影响它的游泳能力, 由于瘤状物迅速增生, 有些会突然发生溃破造成鱼苗的死亡。这种瘤状物的出现较独特, 在畸形鱼苗所处部位绝大多数是相同的, 然而在对照组绝无一例发生, 这说明与自然畸胎无关, 完全是受黄药的毒性所导致, 而且瘤状物的发生率与黄药的浓度呈显很好的相关性 ($r = 0.96$)。

2.3.4 各浓度组内畸形鱼苗的比较 试验经 17 周, 对各浓度组内的畸形鱼苗进行比较(表

3)。表 3 中的平均体长,其数据经方差分析,各浓度组之间没有明显差异,但是 18 和 24 mg/L 两个浓度组内的畸形鱼苗,其围心腔全部呈膨大状,完全不能自由游泳而卧于水底。24 mg/L 浓度组内的畸形鱼苗,其心搏十分微弱,心搏率仅为 40 次/min,因此 18 和 24 mg/L 两个浓度组内的畸形鱼苗陆续死亡。

表 3 试验经一周,各浓度组内畸形鱼苗的比较

Tab. 3 Comparisons of abnormal fries in various concentration of butyl xanthate after one week experiment

浓 度 Concentration (mg/L)	平均体长 Mean length (mm)	心跳率(次/分) Heart rate (time/min.)	围心腔膨大状况 Cardiocoel swelling	游泳状况 Swimming
24	6.1±0.15	40	围心腔全部膨大	沉于水底 不会游泳
18	6.36±0.22	83	围心腔全部膨大	沉于水底 不会游泳
13.5	6.5 ±0.17	90	围心腔全部膨大	大部分沉于水底 不会游泳
10.0	6.75±0.05	92	少部分围心腔膨大	个别不会游泳而 沉于水底,其余的能游泳
5.6	6.88±0.05	96	个别围心腔膨大	全部能游泳

2.4 畸形鱼苗的恢复试验

把各个浓度组内一部分轻度畸形的鱼苗转移到清水中继续喂养,历时 15d (表 4)。

表 4 畸形鱼苗经 15 d 清水饲养的情况

Tab. 4 The growth and survival rate of abnormal fries after 15-day rearing in butyl xanthate-free water

浓 度 Concentration (mg/L)	存 活 率 Survival rate (%)	存活者的平均体长 Mean length of survivals (mm)
18	0	—
13.5	16	8.10±1.56
10	40	11.01±0.91
5.6	82.4	11.17±1.16
对 照 Control	100	12.42±0.64

由表 4 可见,18 mg/L 浓度组内的畸形鱼苗,经 15 d 的清水饲养,结果全部死亡。其余浓度组内的畸形鱼苗无论是存活率,还是平均体长都与暴露的原来浓度呈显出很好的相关性。生有较大瘤状物的小个体畸形鱼苗,体瘦无力,卧于水底,行动迟缓,觅食困难,饲养过程中不断死亡。带小瘤状物的鱼苗,一般显得个体较大,游泳和觅食能力强。经测量,这两种大小个体之比为 1.7:1。对照组与带大瘤状物的小个体畸形鱼苗之比为 2:1。显然这种瘤状物不仅影响鱼苗的发育和生长,而且直接影响到鱼苗的生存。

2.5 各浓度组内正常鱼苗的生长情况比较

把 13.5 mg/L 以下的各浓度组内较正常的鱼苗,转移到直径为 17.5 cm 的白色搪瓷碗内按原来的浓度水平继续饲养 18 d,观察其生长情况(表 5)。

表 5 黄药对草鱼苗生长的影响
Tab. 5 Effects of butyl xanthate on the growth of grass carp fries

浓 度 Concentration (mg/L)	13.5	10.0	5.6	2.4	对 照 Control
10d 平均体长 Mean length over 10d growth (mm)	6.93±0.33	7.99±0.93	8.52±0.45	8.73±0.31	8.62±0.35
18d 平均体长 Mean length over 18d growth (mm)	8.43±1.77	11.40±2.15	11.96±0.61	12.25±0.88	12.42±0.64

由表 5 可见,10.0 和 13.5 mg/L 两浓度组,无论是 10 d 还是 18 d 对生长都有明显的影响。2.4 和 5.6 mg/L 两个浓度组其生长情况与对照组相比较,无统计学上的差异,因此黄药对草鱼苗生长有影响的浓度在 5.6—10.0 mg/L 之间。

3 讨论

3.1 用鱼类胚胎作试验材料,研究毒物的生物效应已有 60 余年的历史,大量研究工作表明,胚胎发育期对大多数毒物的敏感性较幼鱼低。Eaton 等^[4]试验了镉对 7 种淡水鱼的毒性。Mckim 等^[5]试验了铜对 8 种淡水鱼的毒性。Robert^[6] 试验了 7 种除草剂对 5 种淡水鱼的毒性。都发现上述的现象,这与卵膜和卵周液对毒物起着天然屏障作用有关。但是不同的毒物对鱼类胚胎的毒性影响也有不同,从本实验的结果可以看出,黄药是属于对鱼类胚胎毒性较大的一种毒物,求得黄药对草鱼卵的 96 h 的 LC₅₀ 值为 17.8 mg/L。作者曾报道黄药对草鱼种的 96 h 的 LC₅₀ 值为 76 mg/L^[7]。张甬元等^[2]以草鱼苗 10 日全存活率直接求得的安全浓度为 50 mg/L。显然黄药对草鱼胚胎的毒性远高于其对草鱼苗和草鱼种的毒性。因此制订黄药的渔业水质标准的安全浓度时必须考虑以鱼类胚胎发育的安全浓度为主要依据。

3.2 Anderson^[8] 指出“某种物质在水中有一定水平时,虽然这样的水平对生活周期的较后阶段是正常的,但会损伤个体发育过程中的分化、生长和变态,这种不利的效应就是对胚胎有毒的物质”。因此在确定一种毒物的致畸性的,必须充分注意剂量——效应的关系。本实验结果表明,黄药对草鱼的致畸半效应浓度(EC₅₀)为 8.55 mg/L,5.6 mg/L 是致畸阈浓度。而黄药对草鱼种,草鱼苗和草鱼胚胎的半致死浓度(LC₅₀)和致死阈浓度,都远高于黄药对草鱼 EC₅₀ 值和致畸阈值,而且草鱼的畸形发生率与黄药浓度呈正相关,黄药引起的草鱼畸形症状比较单一和典型,因此黄药是鱼类胚胎的一种致畸剂。

3.3 黄药对草鱼胚胎致畸作用呈现出一种独特的现象,在草鱼胚胎发育过程中出现体表瘤状赘生物,这种体表瘤状赘生物的性质有待进一步的研究。黄药是鱼类胚胎的致畸剂,具有致命性,因此其致畸效应在水污染监测中应该特别重视。

参 考 文 献

- [1] 见百熙。浮选药剂。北京: 冶金工业出版社, 1985: 192—198。
- [2] 张甫元等。铁矿浮选厂尾矿水对家鱼的毒性及排放指标的探讨。水生生物集刊, 1959, 3: 345—351。
- [3] Mosevich M V, Arshanitsa N M, Glukhova L V, et al. Substantiation of the maximum permissible concentration of butyl sodium xanthate for fishery water bodies. *Chemical Abstracts*, 1977, **87** (24): 266.
- [4] Eaton J G, McKim J M, Nolcombe G W, Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species-1: Cadmium. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1978, **19**(1): 95—103.
- [5] McKim J M, Eaton J G, Holcombe G W, Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish-11: Copper. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1978, **19**(5): 608—616.
- [6] Robert C, Effects of some herbicides on fertilized fish eggs and fry. *Transactions of the American Fisheries Society*. 1967, **96**(4): 414—416.
- [7] 张甫英、尹伊伟。丁基黄原酸钠对鱼类的毒性效应(I) 丁基黄原酸钠对鱼类胚胎的毒性效应。鱼类学论文集(第五辑)。北京: 科学出版社, 1986: 153—158。
- [8] Anderson P D, Dapollonia S, Principle of ecotoxicology, SCOPE 12. Edited by Botler, G. C., Published by SCOPE, 1978: 194—201.

THE TOXIC EFFECTS OF BUTYL SODIUM XANTHATE ON THE EARLY DEVELOPMENT OF GRASS CARP, *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*

Zhang Fuying

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract

The common mineral floating agent, butyl xanthate has been studied with regard to its toxic effects on the early development of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. When exposed to lethal and sublethal concentrations of butyl xanthate, adverse responses were observed in hatching, surviving, growth and teratogeny of the embryos. The 96-hours median lethal concentration (LC_{50}) for embryos was 17.8mg/l. The median teratogenic effective concentration (EC_{50}) was 8.85mg/l. Teratogeny was induced at the concentration of 5.6mg/l. Furthermore, adverse effects on growth were observed at the concentration of 5.6—10mg/l. Hatchability was only 38.8% in 24mg/l. The butyl xanthate can therefore be considered being teratogenic to embryos of grass carp. Main teratological symptoms of the embryo were kyphosis and neoplasm on the body surface.

Key words Floating agent, Early development, Toxic effect, Kyphosis, Neoplasm