

## 斑马鱼对水源水质的生物预警研究

李清雪<sup>1</sup>, 张宝中<sup>2</sup>, 车克锐<sup>3</sup>

(1. 河北工程大学 学科规划与建设处, 河北 邯郸 056038; 2. 河北工程大学 能源与环境工程学院, 河北 邯郸 056038; 3. 沧州规划设计研究院, 河北 沧州 061000)

**摘要:** 针对水源水质典型污染物(重金属、有机物), 以斑马鱼为试验生物, 研究目标污染物对斑马鱼的毒性效应, 用 SPSS 软件计算目标污染物对斑马鱼的半致死浓度, 同时进行目标污染物对斑马鱼死亡率的 Pearson 相关系数检验。结果表明: 重金属和有机物对斑马鱼死亡率存在剂量-效应关系; 斑马鱼能够灵敏检测水源污染, 在污染物浓度极低时( $Hg^{2+}$  为  $8 \mu g/L$ 、 $Cd^{2+}$  为  $1.5 mg/L$ 、氯苯为  $12 mg/L$ ), 斑马鱼仍然有响应, 因此斑马鱼的毒性测试方法可以用来对水源污染进行生物预警。

**关键词:** 水源安全; 生物预警; 斑马鱼; 重金属; 有机物

**中图分类号:** X832

**文献标识码:** A

## Biological early warning for water quality on zebrafish

LI Qingxue<sup>1</sup>, ZHANG Baozhong<sup>2</sup>, CHE Kekai<sup>3</sup>

(1. Department of Disciplines Plan and Construction, Hebei University of Engineering, Hebei Handan, 056038, China;

2. College of Urban Construction, Hebei University of Engineering, Hebei Handan, 056038, China;

3. Institute of Plan and Design, Traffic South Street, Xinhua District, Hebei Cangzhou, 061000, China)

**Abstract:** The early warning of water source pollution with biological monitoring method is studied. The zebrafish is used as the experimental object. And the SPSS according to behavioral difference of fish in different toxicity environment. The study shows that the dose effect relationship was exists between heavy metals, organic compounds and zebrafish mortality. As a result, toxicity testing methods on zebrafish can be used to carry on biological pre-alarm for water pollution.

**Key words:** Water security; biological monitoring; zebrafish; heavy metal; organic compound

近年来, 我国水污染事件频繁发生, 严重威胁饮用水水源安全<sup>[1]</sup>。2005 年以来, 我国相继发生了松花江硝基苯水污染、太湖蓝藻暴发、山西汾河水库水质污染、湘江镉污染、湖北枝江化学原料污染等水源水质污染事件<sup>[2-3]</sup>。如何在事故发生的第一时间应用科学合理的预警监测技术实现预警至关重要, 其有助于及时识别水质污染和水质异常<sup>[4]</sup>。目前研究的新型水质综合毒性都是利用生物监测来完成的<sup>[5-8]</sup>。本文以岳城水库为研究水域, 以斑马鱼作为试验生物, 研究其对重金属和有机污染物的响应, 此实验对及时发现岳城水库当地人民的饮用水安全隐患, 及后续污染防治具有重要的科学意义。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 试验材料

供试斑马鱼购于邯郸市某花鸟鱼虫市场, 鱼长( $30 \pm 5$ ) mm、重( $0.3 \pm 0.1$ ) g, 在实验室( $22 \pm 1$ )°C 直径为 30 cm 的鱼缸内驯养 12 d。每天喂食并清理粪便和残余饵料, 实验前 24 h 停止喂食, 驯养期间未出现鱼体死亡情况。

$HgCl_2$ 、 $Pb(NO_3)_2$ 、 $Cd(NO_3)_2$ 、 $K_2Cr_2O_7$ 、 $As_2O_3$ 、苯酚、二甲苯、甲苯、氯苯、苯均为分析纯, 购于天津市津东天正精细化学试剂厂。

本试验用水取自岳城水库, 水质为 II 水, 偶尔

投稿日期: 2016-09-12

特约专稿

基金项目: 水利部公益性行业科研专项(201401030)

作者简介: 李清雪(1964-), 女, 河北大名, 博士, 教授, 从事水处理方面研究。

会出现Ⅲ水,在用于实验之前进行曝气充氧使得溶解氧 $\geq 8.6$  mg/L。

母液配制:重金属以离子浓度为 10 mg/L 配置母液;对于有机物,依次移取所需试剂、一定量助溶剂无水乙醇和乳化剂吐温-80 于一小烧杯中混匀,用蒸馏水定容到所需刻度。其中助溶剂和乳化剂不超过 0.2%。

## 1.2 试验方法

首先进行预实验,得到污染物对斑马鱼全致死浓度和全不致死浓度(表1),然后在此浓度范围内按照几何级数梯度设置 5 个浓度进行正式实验,每个浓度重复 3 次,同时设空白对照组。实验在直径为 30 cm 的鱼缸内进行,每个鱼缸放入 10 尾鱼,每 12 h 换一次水,以保证试液浓度和溶解氧含量,光暗比 12:12 (以小时计),温度  $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,实验周期为 96 h,每 12 h 记录斑马鱼死亡情况及其中毒症状,并及时捞出死鱼。

表 1 实验溶液浓度设定

Tab.1 Concentration of test solution

| 污染物 | 浓度范围                                      |
|-----|---|
| 重金属 | $\text{Hg}^{2+}$ 7.5 ~ 65 $\mu\text{g/L}$ |
|     | $\text{Pb}^{2+}$ 1.2 ~ 9.5 mg/L           |
|     | $\text{Cd}^{2+}$ 1.2 ~ 6.5 mg/L           |
|     | $\text{Cr}^{6+}$ 14 ~ 50 mg/L             |
|     | $\text{As}^{3+}$ 4.7 ~ 78 mg/L            |
| 有机物 | 苯酚 10 ~ 120 mg/L                          |
|     | 甲苯 50 ~ 180 mg/L                          |
|     | 二甲苯 15 ~ 130 mg/L                         |
|     | 氯苯 10 ~ 80 mg/L                           |
|     | 苯 90 ~ 340 mg/L                           |

## 1.3 数据处理

数据采用 SPSS13.0 计算污染物对斑马鱼半致死浓度  $\text{LC}_{50}$ 、Pearson 相关系数和 95% 置信区间。

## 2 结果分析

### 2.1 重金属对斑马鱼的毒性效应

斑马鱼的死亡率随不同重金属浓度的发展如图 1~ 图 5。

在重金属对斑马鱼的毒性效应试验中,空白组均未出现鱼的异常反应。当  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{As}^{3+}$  浓度分别超过引起斑马鱼死亡的初始浓度

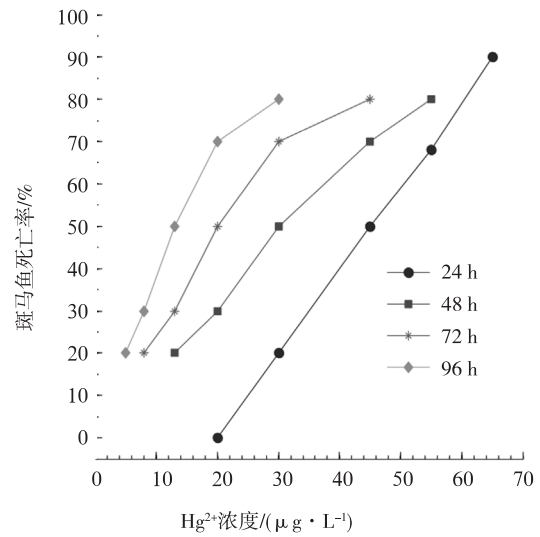


图 1  $\text{Hg}^{2+}$  对斑马鱼死亡率影响

Fig.1 Effect of  $\text{Hg}^{2+}$  on zebrafish mortality

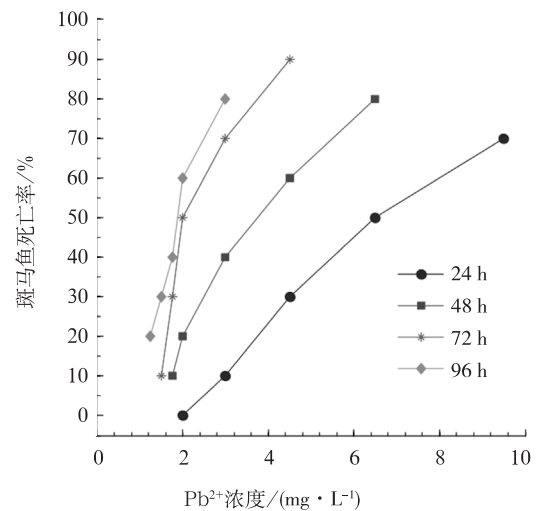


图 2  $\text{Pb}^{2+}$  对斑马鱼死亡率影响

Fig.2 Effect of  $\text{Pb}^{2+}$  on zebrafish mortality

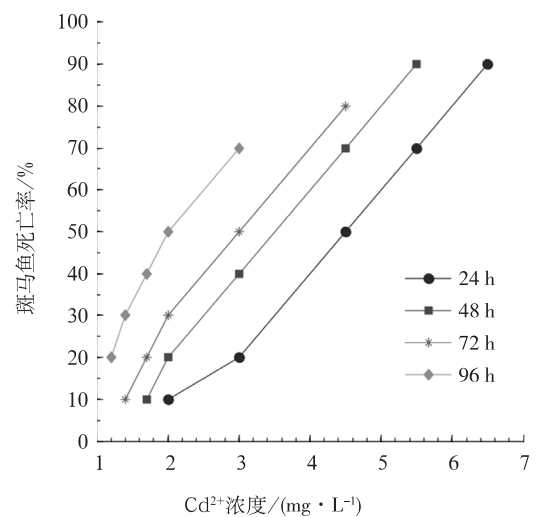


图 3  $\text{Cd}^{2+}$  对斑马鱼死亡率影响

Fig.3 Effect of  $\text{Cd}^{2+}$  on zebrafish mortality

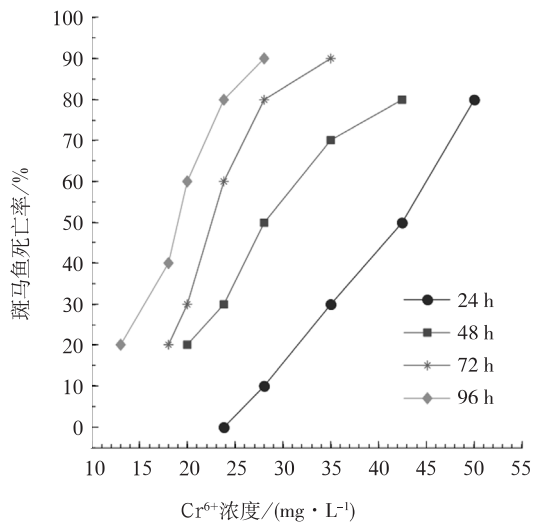


图 4 Cr<sup>6+</sup> 对斑马鱼死亡率影响

Fig.4 Effect of Cr<sup>6+</sup> on zebrafish mortality

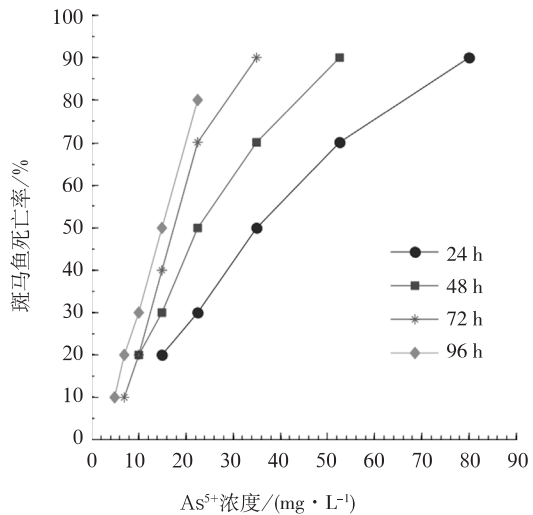


图 5 As<sup>3+</sup> 对斑马鱼死亡率影响

Fig.5 Effect of As<sup>3+</sup> on zebrafish mortality

20 μg/L、2 mg/L、2 mg/L、24 mg/L、15 mg/L 时，随着重金属离子浓度的增加，斑马鱼死亡率逐渐升高；当其浓度分别达 65 μg/L、9.5 mg/L、6.5 mg/L、50 mg/L、80 mg/L 时，斑马鱼全部死亡。通过实验观察：斑马鱼对重金属中毒初期，均表现出剧烈、无序游动，身体失衡，同时伴有抽搐现象，中毒症状严重程度与浓度大小基本成正比。对各种重金属浓度和斑马鱼死亡率进行剂量 - 效应相关性分析，得到 Pearson 相关系数 *R*。数据结果分析得到 96 h 半致死浓度 LC<sub>50</sub>，以及 95% 置信区间（表 2）。

实验结果表明：所关注的五种重金属离子，Cr<sup>6+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、As<sup>3+</sup> 对斑马鱼的 LC<sub>50</sub> 见表 2，毒性大小依次为 Hg<sup>2+</sup>>Pb<sup>2+</sup>>Cd<sup>2+</sup>>As<sup>3+</sup>>Cr<sup>6+</sup>。根据鱼类毒性分级标准<sup>[8]</sup>，Hg<sup>2+</sup> 为极高毒，Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 为高毒，Cr<sup>6+</sup>、As<sup>3+</sup> 为中毒。各种金属离子浓度与斑马鱼死亡率存在剂量 - 效应关系。

### 2.2 有机物对斑马鱼的毒性效应

在有机物对斑马鱼的毒性效应实验中，对照组没有出现异常症状。当苯酚、甲苯、二甲苯、氯苯、苯浓度分别到达 45、85、40、27、160 mg/L 时，斑马鱼开始出现死亡现象，随着有机物浓度的增加死亡率升高（图 6~图 10）。当各有机物浓度分别达到 115、178、123、75、340 mg/L 时，斑马鱼全部死亡。通过实验观察：斑马鱼受有机污染物影响均表现出兴奋并快速游动，开始竖游、侧游、偶尔出现挣扎性窜动，且伴有麻醉现象。

对各有机物浓度与斑马鱼死亡率进行剂量 - 效应相关性分析得到 Pearson 相关系数 *R*。数据结果分

表 2 各金属离子对斑马鱼 96 h 半致死浓度 LC<sub>50</sub>、95% 置信区间及相关系数

Tab.2 Metal ion 96 h-LC<sub>50</sub>, 95% confidence interval and Pearson correlation coefficient

| 金属离子             | LC <sub>50</sub> | 95% 置信区间             | <i>R</i> |
|------------------|------------------|----------------------|----------|
| Hg <sup>2+</sup> | 19.790 mg/L      | 4.415 ~ 27.384 μg/L  | 0.985    |
| Pb <sup>2+</sup> | 1.98 mg/L        | 0.983 ~ 2.736 mg/L   | 0.974    |
| Cd <sup>2+</sup> | 2.158 mg/L       | 0.983 ~ 2.736 mg/L   | 0.983    |
| Cr <sup>6+</sup> | 19.394 mg/L      | 13.364 ~ 28.115 mg/L | 0.975    |
| As <sup>3+</sup> | 15.084 mg/L      | 2.894 ~ 20.985 mg/L  | 1.000    |

表 3 各有机物对斑马鱼 96 h 半致死浓度 LC<sub>50</sub>、95% 置信区间及相关系数

Tab.3 Organic of 96 h-LC<sub>50</sub>, 95% confidence interval and Pearson correlation coefficient

| 有机物 | LC <sub>50</sub> / (mg · L <sup>-1</sup> ) | 95% 置信区间 / (mg · L <sup>-1</sup> ) | <i>R</i> |
|-----|--|------------------------------------|----------|
| 苯酚  | 25.161                                     | 11.244 3 ~ 53.555 7                | 0.979    |
| 甲苯  | 70.95                                      | 52.589 4 ~ 101.416 2               | 0.997    |
| 二甲苯 | 32.25                                      | 16.463 6 ~ 53.934 6                | 0.967    |
| 氯苯  | 19.75                                      | 16.463 6 ~ 53.934 6                | 0.979    |
| 苯   | 126.86                                     | 89.443 6 ~ 187.756 4               | 0.978    |

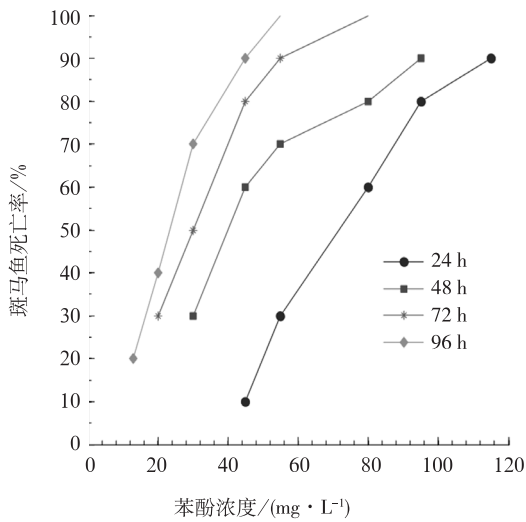


图6 苯酚对斑马鱼死亡率影响

Fig.6 Effect of phenol on zebrafish mortality

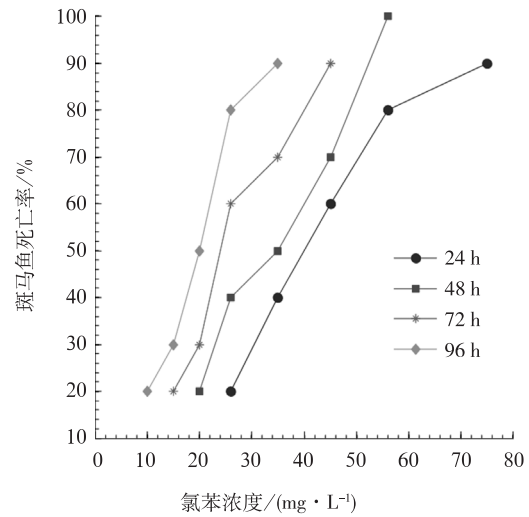


图9 氯苯对斑马鱼死亡率影响

Fig.9 Effect of chlorobenzene on zebrafish mortality

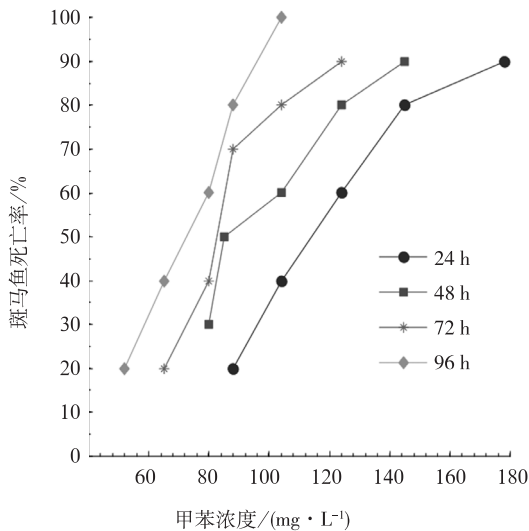


图7 甲苯对斑马鱼死亡率影响

Fig.7 Effect of toluene on zebrafish mortality

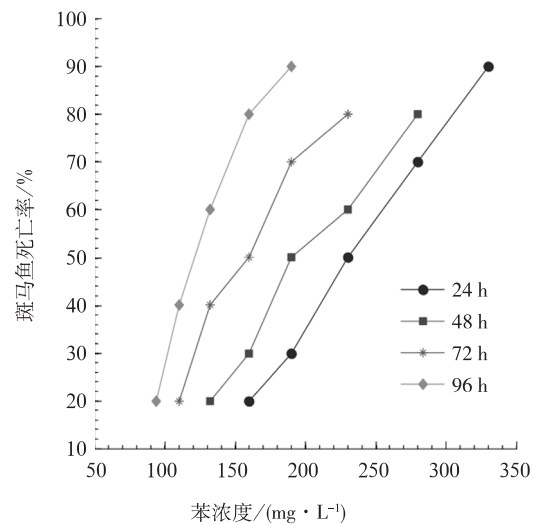


图10 苯对斑马鱼死亡率影响

Fig.10 .Effect of benzene on zebrafish mortality

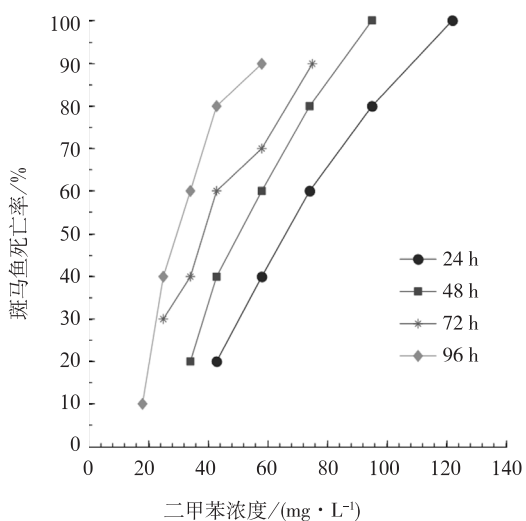


图8 二甲苯对斑马鱼死亡率影响

Fig.8 Effect of xylene on zebrafish mortality

析得到 96 h 半致死浓度  $LC_{50}$  以及 95% 置信区间 (表 3)。实验结果表明: 五种有机污染物中, 苯酚、甲苯、二甲苯、氯苯、苯对斑马鱼的  $LC_{50}$  见表 3, 毒性大小依次为: 氯苯 > 苯酚 > 二甲苯 > 甲苯 > 苯。根据鱼类毒性分级标准<sup>[9]</sup>, 其中苯酚、甲苯、二甲苯、氯苯为中毒, 苯为低毒, 各种有机污染物对斑马鱼死亡率存在剂量-效应关系。

### 3 结论

1) 通过对比重金属离子对斑马鱼 96 h 半致死浓度  $LC_{50}$ , 金属离子毒性大小为:  $Hg^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > As^{3+} > Cr^{6+}$ 。根据鱼类毒性分级标准, 其中  $Hg^{2+}$  为极高毒,  $Pb^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  为高毒,  $Cr^{6+}$ 、 $As^{3+}$  为中毒。各种金属离子对斑马鱼死亡率存在剂量效

应关系。

2) 根据对比有机污染物对斑马鱼 96 h 半致死浓度  $LC_{50}$ , 有机污染物毒性大小为: 氯苯 > 苯酚 > 二甲苯 > 甲苯 > 苯。根据鱼类毒性分级标准, 其中苯酚、甲苯、二甲苯、氯苯为中毒, 苯为低毒。各种有机污染物对斑马鱼死亡率存在剂量-效应关系。

3) 用重金属离子与有机污染物对斑马鱼的死亡状况加以对比。重金属离子对斑马鱼致死程度比较高, 有机污染物对斑马鱼的有较弱的麻醉作用。

#### 参考文献:

- [1] 张奇磊, 高琦, 沈琰. 饮用水源地水质预警系统的建立和应用研究 [J]. 环境科学与管理, 2014(2): 123-125.  
 [2] 张冉, 黎如昊, 刘芸, 等. 在线生物毒性监测技术预警水质有毒物质污染与因果关系分析的案例研究 [J]. 生态毒理学报, 2014(6): 1232-1238.

- [3] 李文攀, 周密, 白雪, 等. 集中式饮用水水源地水质预警指标体系构建 [J]. 中国环境监测, 2016(1): 128-132.  
 [4] 袁永钦, 匡科, 沈军. 广州市西江引水工程水质预警系统研究与实践 [J]. 中国给水排水, 2011(6): 1-5.  
 [5] 刘宴辉, 王绍祥, 黄怡, 等. 黄浦江水源原水水质安全在线监测指标筛选 [J]. 净水技术, 2012(4): 31-33.  
 [6] 李洁, 杨敏, 李应. 水源地水质在线生物监测系统的现状和展望 [J]. 安徽农业科学, 2013(23): 9755-9756.  
 [7] 杨培莎, 朱艳华. 水质生物监测方法及应用展望 [J]. 北方环境, 2010(2): 71-73.  
 [8] 刘在平, 张松林. 斑马鱼在环境检测领域中的应用 [J]. 环境监控与预警, 2011(1): 17-20.  
 [9] 国家环保局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 780-781.

(责任编辑 王利君)

(上接第 56 页)

地下水污染不明显, 只是部分区域地下水氨氮、硝酸盐氮含量较高, 但从多年地下水水质资料分析, 各种污染物质含量和检出率呈现上升趋势, 潜在的污染是存在的。

## 5 结论

邯郸市地下水水化学类型多为碳酸盐类, 占全部评价井的 71.8%, 又以钠组水的 I 型水为主。邯郸市地下水超标物质主要为溶解性总固体、总硬度、氯化物、硫酸盐、氨氮、氟化物、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮。其污染原因主要是原生污染, 与邯郸市的地质环境、水文地质条件及其气候有关。另外地下水长期超采、污染的地表水、农药化肥的使用都是地下水污染的重要因素。由于地下水具有污染过程缓慢、污染源难确定、污染难治理等特点, 一旦受到污染, 很难修复。所以加强地下水管理和保护, 建立健全其管理体制刻不容缓。

#### 参考文献:

- [1] 姚辉, 李朝阳, 张永生. 卧龙湖矿 8101 面地下水水质分类判别研究 [J]. 河北工程大学学报: 自然科学版, 2014, 31(4): 40-45.  
 [2] 席北斗, 赫英臣, 龚斌. 德国巴伐利亚州水域水质分类特征 [J]. 人民黄河, 2010, 32(1): 50-52.  
 [3] 薛巧英. 水环境质量评价方法的比较分析 [J]. 环境保护科学, 2004, 30(4): 64-67.  
 [4] LIAO Jianping. Comparison of Two Methods for Determination of Cyanide in Quality-Controlled Water Sample [J]. Journal of Environment and Health, 2002, 19(6): 75-78.  
 [5] 程继雄, 程胜高, 张炜. 地下水水质质量评价常用方法的对比分析 [J]. 安全与环境工程, 2008, 15(2): 24-28.  
 [6] 郭劲松, 王红. 水资源水质评价方法分析与进展 [J]. 重庆环境科学, 1999, 21(6): 1-9.  
 [7] 水利部水环境监测评价研究中心. 水质分析方法标准汇编 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

(责任编辑 王利君)