

铜对中华倒刺鲃幼鱼的急性致毒效应^{*}

张 怡^{1,2}, 夏继刚², 曹振东², 张安杰², 庞 爬², 付世建²

(1. 重庆师范大学 化学学院; 2. 生命科学学院 进化生理与行为学实验室 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要:检测了水体铜(Cu^{2+})暴露对中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)幼鱼的急性毒性以及组织铜富集的影响。结果发现:1)中华倒刺鲃幼鱼死亡率随水体铜含量和暴露时间的增加而上升($p<0.05$),死亡率与暴露时间的关系呈“S”型逻辑回归曲线;铜暴露96、120、144、168 h的半致死含量 LC_{50} 分别为0.500、0.401、0.356和0.352 $mg \cdot L^{-1}$,铜对中华倒刺鲃幼鱼的安全含量为0.050 $mg \cdot L^{-1}$;0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 $mg \cdot L^{-1}$ 铜暴露下幼鱼的半致死时间 LT_{50} 分别为116.0、78.0、80.7、56.0、46.7、46.0 h。2)中华倒刺鲃幼鱼组织按铜富集含量由高到低顺序排列为肝脏、鳃、肌肉,急性铜暴露(7 d)不足以产生较强的富集效应。研究提示水体中的铜含量变化显著作用于中华倒刺鲃幼鱼的存活率,但对组织铜富集的影响不显著。

关键词:铜;急性毒性;生物富集;中华倒刺鲃

中图分类号:Q955

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2013)04-0015-06

水体重金属污染以及水生生物对重金属的富集已日益受到人们的普遍关注^[1]。铜是生物体自身必需的微量元素之一,同时也是一种常见的重金属污染物,它在组织中的富集将对生物机体产生毒害作用^[2]。工业重金属铜污染和渔业生产中铜类杀菌药物的广泛使用,往往造成鱼体内累积过量的铜并产生毒害作用,影响渔业资源和人类的食品安全。

中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*),俗称乌鱂、青波,隶属鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲃亚科(Barbinae)、倒刺鲃属(*Spinibarbus*),主要分布于中国长江上游及长江支流,为嘉陵江重要的经济鱼类。中华倒刺鲃对水质要求高,营底栖生活^[3]。孙翰昌等人^[4-5]研究了铜和直链十二烷基苯磺酸钠污染对中华倒刺鲃抗氧化酶活性的影响。本研究考察了不同含量铜(Cu^{2+})暴露对中华倒刺鲃幼鱼存活和组织铜富集的影响,为水体重金属生态毒理效应研究提供基础资料,并为鱼类健康养殖提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼的来源和驯养 实验用中华倒刺鲃幼鱼购自重庆合川水产养殖场。实验前将鱼在自净化循环控温水槽(容积250 L)中驯化适应2周,每日饱足投喂商业饲料1次。驯养用水为曝气后的自来水,驯养期间充气使水体溶氧水平接近饱和,日换水量约为水体的10%,水温控制为(20±0.5)℃,pH值为7.6±0.4,24 h全光照。

1.1.2 主要仪器和试剂 TAS-986 火焰型原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)用于测定鱼体组织铜含量,硫酸铜(纯度99%,重庆博艺化学试剂有限公司)用于配制铜标准溶液,麻醉剂为200 $mg \cdot L^{-1}$ 的MS-222(上海布西化工科技有限公司)。

1.2 实验方案

1.2.1 实验Ⅰ 实验共设10个铜(Cu^{2+})含量梯度:0(对照)、0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2和1.4 $mg \cdot L^{-1}$,暴露周期为7 d。驯养结束后,选取体长为(5.12±0.08) cm、体重为(2.87±0.13) g的健康幼鱼360尾,随机平均分配至各含量梯度组,每组设3个平行,每个平行有幼鱼12尾。实验期间,每2 h记录各组鱼死亡数,观察实验鱼中毒症状和各组织中毒特征。实验期间不投饵,每日定时换水并补充相应含量的硫酸铜溶液以保持水体铜

* 收稿日期:2013-02-21 修回日期:2013-03-06 网络出版时间:2013-07-20 19:23

资助项目:国家自然科学基金(No. 31172096);重庆市科技创新能力建设项目(No. CSTC2010CA1010)

作者简介:张怡,女,硕士,研究方向为鱼类生理生态学,E-mail:zhangyi@cqnu.edu.cn;通讯作者:付世建,E-mail:shijianfu9@hotmail.com

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20130720.1923.201304.15_001.html

含量基本恒定,日换水量为水体的50%,其它实验条件与驯养期保持一致。

1.2.2 实验Ⅱ 在实验Ⅰ结果的基础上,设定0(对照)、0.05、0.1和0.2 mg·L⁻¹共4个铜含量梯度,选取中华倒刺鲃幼鱼144尾(体长为(5.02±0.11)cm、体质量为(2.91±0.09)g)随机平均分配至各含量梯度组,每个含量梯度设3个平行,每个平行含中华倒刺鲃幼鱼12尾。实验条件与实验Ⅰ相同,暴露7d后,每个平行下选取8尾实验鱼开展组织铜富集实验。将实验鱼用MS-222麻醉后,解剖分离出肝脏、鳃和肌肉组织并于-20℃保存,称取组织样本放入坩埚在烘箱烘干至恒重后,置于电炉上炭化,再经马弗炉灰化,将灰化后的样本溶于0.5 mol·L⁻¹的硝酸溶液,采用AS-986火焰型原子吸收分光光度计测定组织铜含量。

1.3 数据处理

采用寇氏法(Karber)^[6]计算铜对中华倒刺鲃幼鱼的半致死含量LC₅₀和不同含量暴露下的半致死时间,并得出实验鱼死亡率与水体铜离子含量的拟合回归方程。采用公式“安全含量(SC)=96 h LC₅₀×10%”和“生物浓缩系数(BCF)=生物体中某元素含量/环境中该元素含量”计算水体铜离子的安全含量和生物浓缩系数^[7-8]。实验数据以Excel进行常规计算后,使用STATISTIC 7.0进行方程拟合,采用SPSS 17.0进行单因素方差分析。统计数据均以“平均值±标准误”(Mean±SE)表示,显著性水平为p<0.05。

2 结果与分析

2.1 中华倒刺鲃幼鱼的铜(Cu²⁺)中毒症状

不同含量铜暴露下中华倒刺鲃幼鱼的中毒症状基本一致。中毒过程表现为:初期实验鱼失去平衡能力,出现侧翻和前进方向不稳现象。呼吸加速,鳃盖开合频率加快;随着暴露时间的延长,实验鱼失去平衡能力和运动能力,对外界刺激反应迟钝,鳃盖开合频率降低,呼吸衰竭;最终,实验鱼失去运动能力,腹部向上,漂浮于水面。经解剖观察,中毒个体鳃丝及肝脏颜色明显加深。

2.2 水体铜(Cu²⁺)含量和暴露时间对中华倒刺鲃幼鱼存活率的影响

中华倒刺鲃幼鱼存活率受水体铜含量(p<0.05)和暴露时间(p<0.05)的影响显著。除对照组外,各处理组中华倒刺鲃幼鱼的死亡率均随暴露含量的升高和暴露时间的延长而增加。其中,0.4、0.6、0.8、1.0、1.2和1.4 mg·L⁻¹铜暴露组,实验鱼死亡率随暴露时间的增加而增加,之后进入一个平台稳定期;实验鱼死亡率线性上升的起始时间随暴露含量的升高而前置,进入平台稳定期的时间亦随暴露含量的升高而缩短,分别为144、102、92、84、90和86 h(图1)。

2.3 中华倒刺鲃幼鱼的半致死含量LC₅₀及安全含量

经逻辑斯谛模型“Y=100/(1+ae^{-bx})”拟合,铜暴露96、120、144和168 h,95%致死含量分别为0.646、0.618、0.527和0.542 mg·L⁻¹,半致死含量LC₅₀分别为0.500、0.401、0.356和0.352 mg·L⁻¹(图2),铜对中华倒刺鲃幼鱼的安全质量含量为0.050 mg·L⁻¹。

2.4 水体铜(Cu²⁺)对中华倒刺鲃幼鱼半致死时间LT₅₀的影响

水体铜含量与幼鱼LT₅₀负相关(p<0.05)(图3),经拟合得相关性方程为:y=180.24e^{-1.0783x}(r²=0.9332)。铜暴露含量在0.2 mg·L⁻¹及以下时,7 d内死亡率小于10%,超过0.4 mg·L⁻¹时,LC₅₀与对照组相比有显著差异(p<0.05),0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mg·L⁻¹铜暴露组的LT₅₀分别为(116.0±6.9)、(78.0±5.3)、(80.7±4.2)、(56.0±4.0)、(46.7±7.6)、(46.0±6.0) h。

2.5 铜在中华倒刺鲃幼鱼肝脏、鳃和肌肉的富集特征

中华倒刺鲃幼鱼肝脏、鳃和肌肉组织铜含量及其对铜的浓缩系数见表1。各处理组组织铜含量特征和生物浓缩系数均为肝脏大于鳃和肌肉(p<0.05)。铜暴露对鳃组织铜含量影响显著(p<0.05),导致组织铜含量下降,对肝脏和肌肉组织铜含量无显著影响。各组织生物浓缩系数均小于5 000^[9],说明急性铜暴露(7 d)不足以产

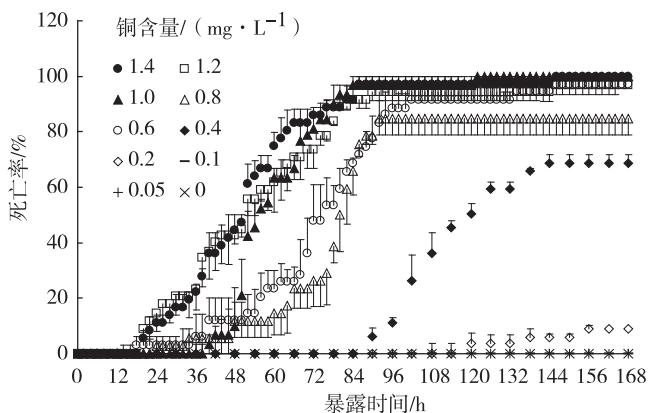


图1 中华倒刺鲃幼鱼死亡率与水体铜含量和暴露时间的关系

Fig. 1 The relationships between lethal rate and exposure time of juvenile qingbo *Spinibarbus sinensis* after exposed to different copper concentrations

生较强的富集效应。

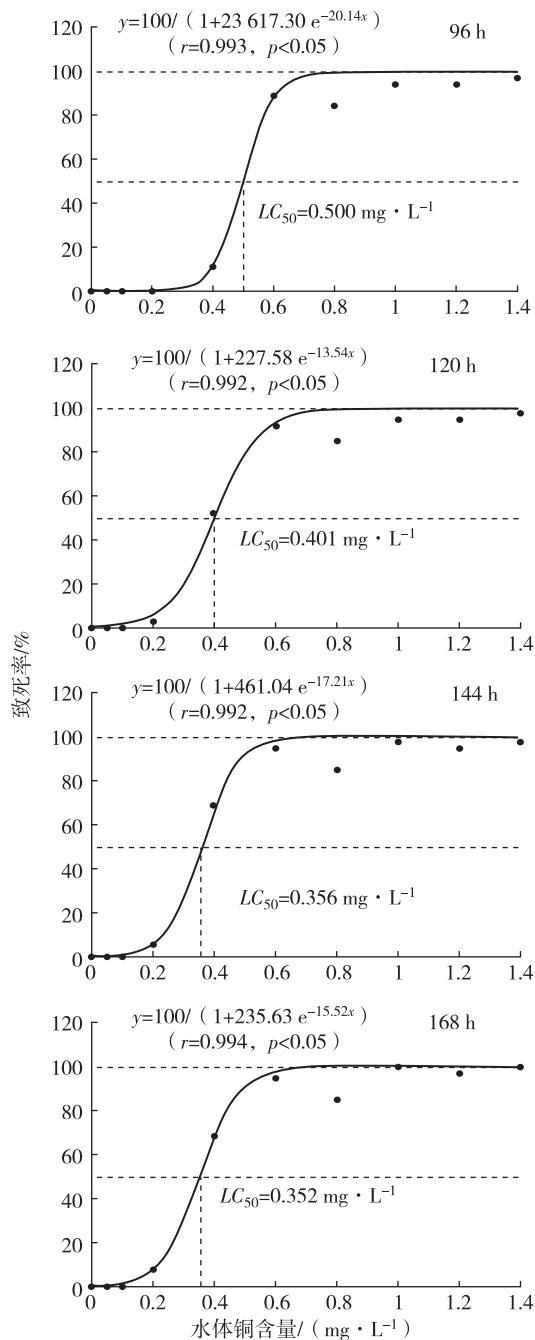


图2 不同暴露时间中华倒刺鲃幼鱼致死率与水体铜含量的关系模型

Fig. 2 Regression analysis of copper concentration on lethal rate of juvenile qingbo *Spinibarbus sinensis* under different exposure time

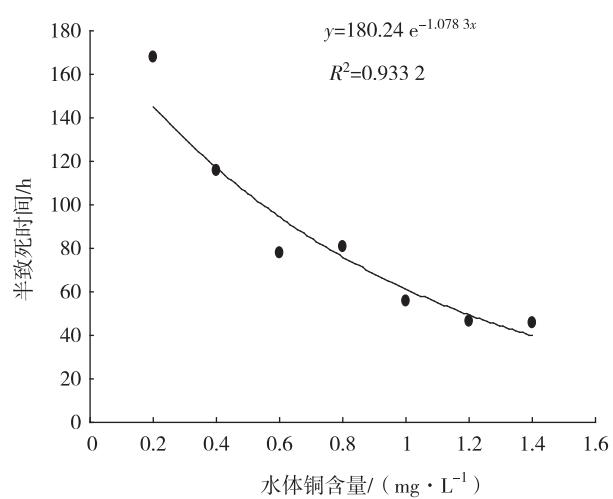


图3 中华倒刺鲃幼鱼半致死时间与水体铜含量的关系

Fig. 3 The relationships between LT_{50} and copper concentration of juvenile qingbo *Spinibarbus sinensis*

表1 中华倒刺鲃幼鱼肝脏、鳃和肌肉铜含量及生物浓缩系数

Tab. 1 The copper contents and BCF in liver, gill and muscle under different copper concentrations of juvenile qingbo *Spinibarbus sinensis*

铜含量/(mg·L⁻¹)	组织铜含量/(mg·kg⁻¹)		
	肝脏	鳃	肌肉
0	13.8±1.9	9.0±0.3	3.8±0.2
0.05	16.6±4.7	3.3±0.9*	3.8±0.9
0.1	13.4±2.1	3.1±0.4*	4.4±0.9
0.2	16.0±2.7	3.2±0.3*	2.3±0.4

铜含量/(mg·L⁻¹)	生物浓缩系数		
	肝脏	鳃	肌肉
0	0	65.4	76.0
0.05	332.9	65.4	76.0
0.1	133.5	31.4	43.5
0.2	79.9	15.8	11.6

注:“*”表示该数据与对照数据差异显著($p<0.05$)。

3 讨论

3.1 水体铜(Cu²⁺)含量和暴露时间对中华倒刺鲃幼鱼致死率的影响

铜作为鱼类必需的微量元素,参与多种酶类的合成,在鱼体代谢和免疫防御等生命活动中起着至关重要的作用^[10]。然而,鱼类长期摄入过量的铜会导致细胞坏死和组织病变^[11-12],抑制生长和繁殖^[13-14],甚至引发死亡。本研究中,水体铜含量和暴露时间的增加均会导致实验鱼死亡率上升。同时,半致死含量 LC_{50} 随暴露时间的延长而降低,结果与铜暴露对其他鲤科鱼类的急性毒性研究结果相似(表2)。

表2 水体铜(Cu^{2+})暴露对不同鱼的急性毒性
Tab. 2 Acute toxicity of Cu^{2+} in different fish species

物种	暴露时间 /h	铜离子含量/(mg·L ⁻¹)				半致死 含量/ (mg·L ⁻¹)	安全含量/ (mg·L ⁻¹)	参考文献
		4.0	6.4	10.2	16			
<i>Cyprinus carpio</i>	24	0	11.1	16.7	27.8	15.4		
	48	5.6	27.8	50.0	61.1	10.3	0.736	贺诗水 ^[17]
	72	11.1	38.9	55.6	77.8	8.58		
	96	16.7	44.4	66.7	88.9	7.36		
铜离子含量/(mg·L ⁻¹)								
<i>C. carpio</i>		0.5	0.76	1.15	1.73	2.62	3.97	6.00
	24	0	0	0	13	30	43	100
	48	0	0	7	30	50	70	100
	72	0	0	10	40	67	87	100
<i>C. carpio</i>	96	0	3	17	63	77	100	100
		0.30	0.46	0.71	1.1	1.69	2.69	4.00
	24	0	7	13	20	40	73	100
	48	0	13	27	40	53	87	100
<i>C. carpio</i>	96	0	27	53	73	87	93	100
铜离子含量/(mg·L ⁻¹)								
	3.50	5.30	8.02	12.14	18.37	27.80	42.08	
24	0	7	13	27	40	60	87	
<i>Carassius auratus</i>	48	0	7	20	47	80	93	100
	72	0	13	27	40	60	80	100
	96	7	20	40	60	73	93	100
		11.24±1.72	88.53±8.17	84.80±6.05	96.67±3.33	94.29±2.97	97.22±2.78	0.50
铜离子含量/(mg·L ⁻¹)								
<i>S. sinensis</i>		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
	24	0	0	3.03±3.03	2.78±2.78	0	14.60±3.85	11.11±2.78
	48	0	0	12.12±8.02	11.61±5.82	10±5.776	42.62±10.10	44.44±5.56
	72	0	0	48.05±12.8	26.31±9.15	81.11±6.76	73.65±8.20	86.11±2.78
<i>S. sinensis</i>	96	0	11.24±1.72	88.53±8.17	84.80±6.05	96.67±3.33	94.29±2.97	97.22±2.78
	120	3.70±3.70	50.53±3.68	91.56±5.29	84.80±6.05	96.67±3.33	94.29±2.97	97.22±2.78
	144	5.79±3.22	68.65±3.25	94.60±2.76	84.80±6.05	100	94.29±2.97	97.22±2.78
	168	8.82±1.41	68.65±3.25	96.97±3.03	84.80±6.05	100	96.67±3.33	100

注:表中“铜离子含量/(mg·L⁻¹)”栏下各列为不同暴露时间下水体中不同铜离子含量对鱼类的致死率(单位:%)。

安全含量为水体有毒物质对水生生物作用96 h时半致死含量的10%,常被用来衡量水体有毒物质对水生生物的毒性强度。水体有毒物质对鱼类的毒性作用分为4个等级:剧毒—安全含量小于0.1 mg·L⁻¹,高毒—安全含量为0.1~1.0 mg·L⁻¹,中毒—安全含量为1~10 mg·L⁻¹,低毒—安全含量大于10 mg·L⁻¹^[8];中国渔业水域水质标准规定水体铜含量应低于0.01 mg·L⁻¹(TJ35-79)^[7]。本研究中,铜暴露对中华倒刺鲃幼鱼的安全含量为0.050 mg·L⁻¹,说明铜对于中华倒刺鲃幼鱼为剧毒物质,结果与陈昌明等人^[15]和王笛等人^[16]的研究结果相近;较其它已有研究报道的鲤科鱼类而言(表2),中华倒刺鲃幼鱼的安全质量含量偏低,说明该物种对水体铜污染更为敏感。

多数研究表明,重金属铜中毒后鱼体死亡率与水体铜含量呈线性正相关关系^[17-20]。本研究发现,中华倒刺鲃幼鱼死亡率与暴露含量呈“S”型逻辑斯谛曲线。中华倒刺鲃幼鱼受水体铜暴露初期,死亡率增长缓慢,处于死

亡率增加的潜伏期;随着铜对幼鱼毒害作用的加强,种群内幼鱼死亡率增长进入加速期;当幼鱼死亡个体数达到50%(半致死)时,幼鱼死亡率增长最快并进入转折期;之后死亡率增速变缓,直至幼鱼受过量铜的毒害作用,种群全部死亡。为获得更为详尽的数据,本研究加密了取样时间点,与大多数96 h内取样获得的线性毒理效应关系相比,逻辑斯谛回归曲线更真实地反应了水体铜胁迫对中华倒刺鲃幼鱼存活的影响。

3.2 水体铜(Cu^{2+})在中华倒刺鲃幼鱼组织中的累积特征

铜是生物完成多种生理生化过程所必须的微量元素^[21],正常情况下,鱼体铜的组织分布规律依铜含量由高到低顺序排列为肝脏、鳃、肌肉^[22-24]。本研究中,对照组和铜暴露处理组鱼体铜含量均为肝脏高于鳃和肌肉,且铜暴露后肝脏铜含量有上升的趋势,研究结果与上述文献报道类似,该现象的产生可能主要由于肝脏易被诱导产生结合重金属离子的金属硫蛋白(Metallothionein)^[25],铜与金属硫蛋白结合后富集在肝脏组织中。有研究发现,慢性铜暴露(56 d)导致锦鲤幼鱼内脏和肌肉组织中铜含量随暴露含量的增加而增加^[26];Martins等用⁶⁴Cu研究了急性铜致毒后蓝蟹(*Callinectes sapidus*)体内铜积累与组织分布情况^[21],发现鳃是铜积累的主要靶器官,是防止铜进入血淋巴以及随后积累于内部组织的生物屏障。本研究中,急性(7 d)水体铜暴露对中华倒刺鲃幼鱼鳃组织铜含量影响显著,但未对肝脏和肌肉铜含量造成显著影响。鳃组织铜含量的降低可能是由于铜暴露引起鳃渗透调节的障碍^[27],使得本应由鳃排出体外的多余水份无法排出,滞留于鳃组织中,增加组织湿重,从而降低了组织的铜含量。尽管已有众多文献研究报道了鱼类对水体重金属污染的富集特征,然而重金属在鱼体内的富集途径与规律、代谢机制及其时间效应尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Danabas U,Ural M. Determination of metal (Cu,Zn,Se,Cr and Cd) levels in tissues of the Cyprinid fish,*Capoeta trutta* (Heckel,1843) from different regions of keban dam lake (*Euphrates-Turkey*) [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2012,89(3):455-460.
- [2] Gioda C R,Loro V L,Pretto A, et al. Sublethal zinc and copper exposure affect acetylcholinesterase activity and accumulation in different tissues of *Leporinus obtusidens* [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2013,90(1):12-16.
- [3] 李萍,王宝森. 中华倒刺鲃[J]. 生物学通报, 2008, 43(8): 17-18.
Li P,Wang B S. *Spinibarbus sinensis*[J]. Bulletin of Biology, 2008,43(8):17-18.
- [4] 孙翰昌,丁诗华,陈大庆,等. Cu^{2+} 对中华倒刺鲃抗氧化功能的毒理效应[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(1):69-72.
Sun H C,Ding S H,Chen D Q, et al . ,Toxicological effects of copper exposure on antioxidative function in *Spinibarbus sinensis*[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25 (1):69-72.
- [5] 杨帆,孙翰昌. 直链十二烷基苯磺酸钠对中华倒刺鲃SOD和GSH-Px的活性影响[J]. 淡水渔业, 2009, 39(5):71-75.
Yang F,Sun H C. Effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on the activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in *Spinibarbus sinensis* [J]. Freshwater Fisheries, 2009,39(5):71-75.
- [6] 明道绪. 兽医统计方法[M]. 成都:成都科技大学出版社, 1991:200-203.
Ming D X. Veterinary statistics method [M]. Chengdu: Chengdu University of Science and Technology Press, 1991:200-203.
- [7] 邱郁春. 水污染鱼类毒性实验方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,1992:171-172.
Qiu Y C. Fish toxicity test method for water pollution[M]. Beijng:China Environmental Science Press,1992:171-172.
- [8] 张志杰,张维平. 环境污染生物监测与评价[M]. 北京:中国环境科学出版社,1991:69.
Zhang Z J,Zhang W P. Biological monitoring and evaluation of environmental pollution[M]. Beijng:China Environmental Science Press,1991:69.
- [9] Environment Canada. Guidance manual for the categorization of organic and inorganic substances on Canada's Domestic Substances List: Determining persistence, bioaccumulation potential and inherent toxicity to non-human organisms[R]. Canada:Existing Substances Branch,2003.
- [10] 谭树华,欧阳铭. 铜对水生生物生理及毒性作用的研究进展[J]. 江西农业学报, 2010, 22(11):139-142
Tan S H,Ou-yang M. Research advance in physiological and toxicological effects of copper on aquatic animals[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2010,22(11):139-142.
- [11] Handy R D,Runnalls T,Russell P M. Histopathologic biomarkers in threespined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, from several rivers in southern England that meet the freshwater fisheries directive[J]. Ecotoxicology, 2002, 11 (6):467-479.
- [12] Dethloff S D,Khan S,Bailey H C. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Arch Envir Contam Toxicol, 2007,36(4):415-423.
- [13] Hall W S,Bushong S J,Hall L W, et al. Monitoring dissolved copper concentrations in Chesapeake Bay[J]. USA

- Environ Monito Assess, 1988, 11(1):33-42.
- [14] Eisler R. Handbook of chemical risk assessment: health hazards to humans, plants and animals. Volume 1: Metals [M]. New York: Lewis Publishers, 2000.
- [15] 陈昌明, 周兰, 任旺. 四种重金属对中华倒刺鲃的急性毒性[J]. 重庆水产, 2005(3):36-38.
Chen C M, Zhou L, Ren W. Acute toxicity of four heavy metals in *Spinibarbus sinensis* [J]. Chongqing Aquatic, 2005 (3):36-38.
- [16] 王笛, 胡文达, 郑永华. 铜、锌对中华倒刺鲃幼鱼的急性及亚急性毒性试验[J]. 重庆水产, 2012(2):54-59.
Wang D, Hu W D, Zheng Y H. Acute and subacute toxicities of copper and zinc to juvenile *Spinibarbus sinensis* [J]. Chongqing Aquatic, 2012(2):54-59.
- [17] 贺诗水. 铜离子对锦鲤的急性毒性及安全浓度评价[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(2):205-207.
He S S. Acute toxicity of copper and its safe concentration assessment on *Cyprinus carpio* [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2010, 38(2):205-207.
- [18] 王春秀. 水体铜对黄河鲤毒性作用研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.
Wang C X. Study on the effects of copper to the toxicity of the Yellow River carp[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2010.
- [19] 王利, 汪开毓. 鲤鱼急性铜中毒的病理学研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(16):6818-6820.
Wang L, Wang K Y. Pathological study on the acute copper poisoning in *Cyprinus carpio* L. [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(16):6818-6820.
- [20] 丛宁. 铜对金鱼毒性影响的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
Cong N. Studies on the toxicity and effect of copper used in goldfish[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005.
- [21] Martins C M G, Barcarolli I F, DeMenezes E J, et al. Acute toxicity, accumulation and tissue distribution of copper in the blue crab *Callinectes sapidus* acclimated to different salinities: in vivo and in vitro studies[J]. Aquat Toxicol, 2011, 101(1):88-99.
- [22] Daglish R W, Nowak B F. Rainbow trout gills are a sensitive biomarker of short-term exposure to waterborne copper [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2002, 43(1):96-102.
- [23] Cicik B. The effects of Copper-Zinc interaction on the accumulation of metals in liver, gill and muscle tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Ekoloji, 2003, 48(1):32-36.
- [24] Karayakar F, Cicik B, Ciftci N, et al. Accumulation of copper in liver, gill and muscle tissues of *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758) [J]. J Anim Vet Adv, 2010, 9(17):2271-2274.
- [25] Kagi J H R, Schaffer A. Biochemistry of metallothionein [J]. Biochemistry, 1988, 27:8509-8511.
- [26] 张海瑞, 许晓曦. 重金属离子铜、铅在锦鲤鱼幼鱼体内积累的研究[J]. 食品工业科技, 2009(7):276-278.
Zhang H R, Xu X X. Research on accumulate of heavy metal ions copper and lead in *Cyprinus carpio* juveniles [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009 (7): 276-278.
- [27] Grosell M, Wood C M. Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry[J]. J Exp Biol, 2002, 205:1179-1188.

Animal Sciences

Acute Toxic Effects of Cu²⁺ on Juvenile Qingbo, *Spinibarbus sinensis*

ZHANG Yi^{1,2}, XIA Ji-gang², CAO Zhen-dong², ZHANG An-jie², PANG Xu², FU Shi-jian²

(1. College of Chemistry; 2. Laboratory of Evolutionary Physiology and Behaviour, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: The effects of Cu²⁺ on acute toxicity and tissue copper accumulation in juvenile qingbo, *Spinibarbus sinensis*, were measured. The results showed that the fish lethal rate rose with the increased of copper concentration and exposure time ($p < 0.05$). The relationship between lethal rate and exposure time showed "S"-type logic regression curve. After exposed over 96, 120, 144 and 168 h, the copper concentration lethal for 50% (LC_{50}) of the fish were 0.500, 0.401, 0.356 and 0.352 mg · L⁻¹, respectively. The safe concentration of Cu²⁺ was 0.050 mg · L⁻¹. Exposed the fish to 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mg · L⁻¹, the exposure time lethal for 50% (LT_{50}) of the fish were 116.0, 78.0, 80.7, 56.0, 46.7 and 46.0 h, respectively. Accumulation of copper in tissues was highest in liver, followed by gill, and the lowest in muscle. The values of the bio-enrichment coefficient suggested that acute copper exposure was not sufficient to generate strong enrichment effect on fish. Taken together, all of results indicated that copper concentration in water could impact on the survival rate significantly while not on the copper accumulation in tissues of juvenile qingbo, *Spinibarbus sinensis*.

Key words: copper; acute toxicity; bioaccumulation; *Spinibarbus sinensis*

(责任编辑 方 兴)