

## 低pH对草鱼呼吸活动和耗氧代谢的影响\*

余日清\*\* 贺锡勤

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

X503.225

## 摘 要

研究了低pH(6.0—3.6)对草鱼呼吸活动机能及耗氧代谢的影响。结果表明,在pH4.6—3.6条件下,草鱼呼吸和气体代谢活动受干扰的程度随酸度增大而急剧加重。其具体表现为,呼吸率加快,咳嗽反应增加,呼吸深度加大,耗氧率起始升高继而迅速下降,并在极端pH(3.6)下最终引起机体组织缺氧而致死。对于pH5.6,草鱼各类呼吸与代谢指标未受明显影响,基本属于正常,供试草鱼对低pH反应的灵敏度依次为,咳嗽率>呼吸率>耗氧率>呼吸深度。

关键词: pH; 呼吸活动; 耗氧率; 草鱼。

酸雨是全球关注的环境问题之一。在斯堪的纳维亚半岛、美国东北部以及加拿大东部,酸雨引起了许多湖泊、河流非常严重的酸化及其鱼类资源的丧失<sup>[1-3]</sup>。在我国,西南地区和华南地区已出现明显的酸雨现象<sup>[4]</sup>。

鱼类是终身栖息于水环境中的生物,其气体交换主要通过鳃进行。鱼鳃上皮与水密切接触,对水质污染十分敏感。农药<sup>[5]</sup>、造纸废水<sup>[6]</sup>、镉<sup>[7]</sup>和亚致死pH<sup>[8]</sup>对鱼类呼吸代谢影响已有报道。不过研究对象主要是鲑鳟鱼类,而我国水产养殖主要是鲤科鱼类。水体酸化对我国主要养殖鱼类的影响尚未见报道。鱼类的酸碱耐受性问题早已引起人们关注。我国渔业及海水水质标准规定,淡水pH值为6.5—8.5,海水为7.5—8.4。这一标准是依据鱼类致死时的极端pH值推导,或参考别国水质标准得出。亚致死水平污染导致鱼类生理功能紊乱,具有隐蔽和潜在性质。为此,进行不同水平低pH值对草鱼呼吸生理影响试验,探讨酸雨的危害以及致死机制,并为我国渔业水域水质pH标准修订,提供进一步依据。

## 一、材料与 方法

试验采用封闭式循环水装置(图1)。水泵(P)把贮水箱(Q)的水抽上高位水箱(A<sub>2</sub>)中,借助水位差,流经可调控流量的开放式呼吸槽(R<sub>1</sub>)和密封式呼吸槽(R<sub>2</sub>),并回流至贮水箱(Q)。高位水箱A<sub>1</sub>和Q内装有加温和附属控温装置(T),以调控水温。用压缩空气使A<sub>2</sub>箱中的水剧烈曝气,以保持水中溶氧和充分排除CO<sub>2</sub>。Q箱上设稀硫酸稳压瓶(pH),调节由稳压瓶引出的细聚乙烯管高度,即可得到不同大小的稳定滴流量<sup>[9]</sup>。试验水pH值因鱼持续碱分泌会逐渐升高,偏离试验要求的酸度值<sup>[10]</sup>,采用滴控装置,使试验水pH值趋于稳定。当实验鱼处于试验前暂养或手术后恢复时,此装置可方便地从封闭循环改为流水系统,即直接引水入A<sub>1</sub>,经A<sub>2</sub>、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、Q,从低漏管L流出。

\* 国家“七五”攻关项目

\*\* 现在广州中山大学环科所工作

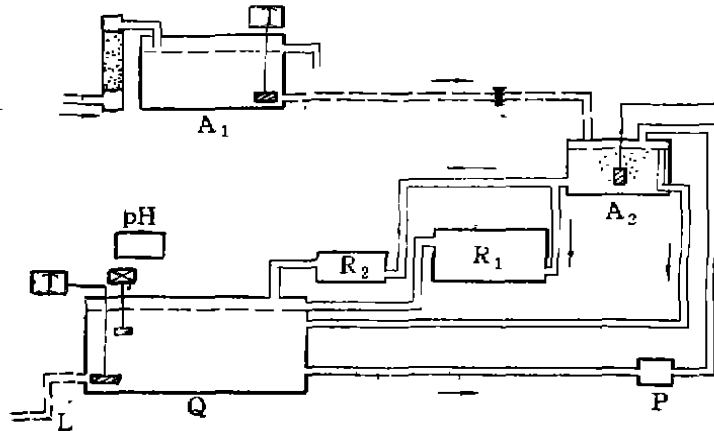


图1 封闭式循环水装置

Fig.1 Apparatus of close water-circulating

草鱼呼吸反应测试在黑色有机玻璃制成的开放式呼吸槽  $R_1$  ( $60\text{cm} \times 45\text{cm} \times 23\text{cm}$ ) 中进行。槽内分成6个间隔,可同时进行6尾鱼测试。呼吸反应测试用鳃腔插导管技术(另文发表),将鳃腔内压力变化,经讯号放大器放大,自动平衡记录仪记下鱼的呼吸曲线(图2)。曲线上相邻两个波峰代表一个呼吸周期,计算单位时间内波峰数,得鱼的呼吸频率(次/min)。曲线振幅的大小,指示呼吸深度。曲线上急剧升高并引起强烈反复的波峰,即咳嗽。计算单位时间内咳嗽波峰,得咳嗽频率(次/min)。

草鱼耗氧率测试在黑色有机玻璃制成的密封式呼吸槽( $41\text{cm} \times 8\text{cm} \times 9\text{cm}$ ,容积3L)中进行。水流量视鱼个体大小而异,一般在  $100\text{--}150\text{ml/min}$  之间。每次测定时,流量保持恒定。耗氧率计算公式为:

$$M_{O_2} = \frac{V_w \cdot (DO_1 - DO_2)}{W} \times 60$$

式中,  $V_w$  为水流量( $\text{ml/min}$ ),  $DO_1$  和  $DO_2$  分别是进水和出水溶氧量( $\text{mg/L}$ ),  $W$  为鱼体重( $\text{g}$ ),  $M_{O_2}$  为耗氧率( $\text{mg/kg} \cdot \text{h}$ )。

实验草鱼平均体重  $91.9\text{g}$  ( $58.0\text{--}140.8\text{g}$ ),取自本所试验场。试验前,在室内脱氯的自来水中至少暂养适应  $48\text{h}$ ,暂养期间不加投喂,使草鱼处于食物吸收后状态,以减少食物代谢对呼吸、耗氧的可能影响。试验用活性炭脱氯的自来水,水温  $23.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ ,溶氧  $> 6.0\text{mg/L}$ ,  $p_{\text{CO}_2} < 2.7\text{hPa}$ ,水质硬度  $8.49$  德国度,  $\text{Ca}^{2+}$  为  $1.72\text{meq/L}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  为  $7.07\text{meq/L}$ ,属中等硬度偏软水。

试验设  $\text{pH}5.6, 4.6, 3.6$  及对照 ( $\text{pH}7.6$ ) 四个水平。每水平测定  $9\text{--}10$  尾鱼。实验结果用方差分析  $q'$  值检验及非参数 Wilcoxon-Wilcox 秩和检验,进行统计处理。

## 二、结 果

在正常情况下,草鱼具有较稳定的呼吸活动和耗氧代谢。由实验知其一般生理指标为:呼吸频率  $48$  次/min,咳嗽率  $0.4$  次/min,耗氧率  $149.37\text{mg/kg} \cdot \text{h}$ 。图2为不同水平低  $\text{pH}$  影响下,草鱼呼吸运动的代表性曲线。曲线中突出的高峰为鱼咳嗽反应。

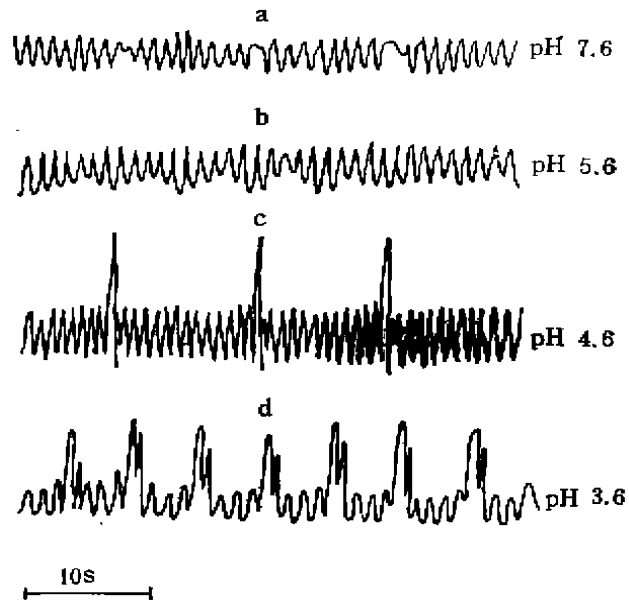


图2 草鱼在不同酸化水平作用下的呼吸运动曲线  
Fig.2 The respiratory movement of grass carp exposed at different levels of acidification

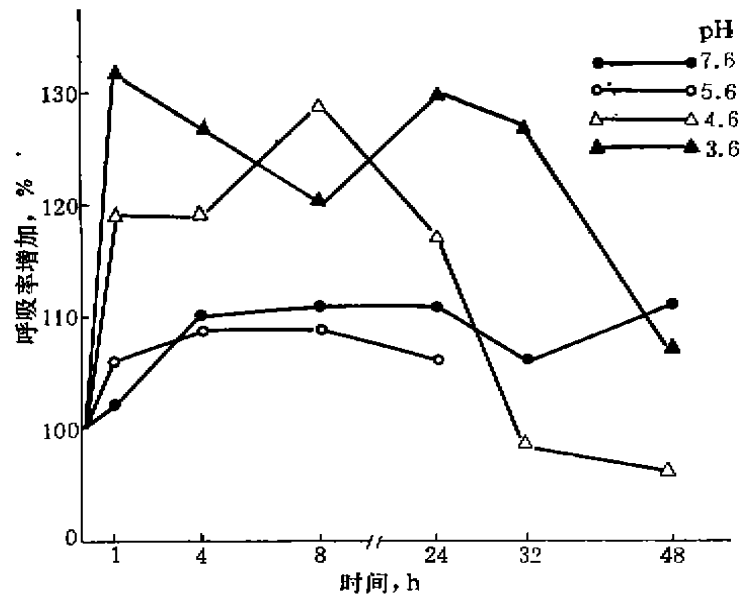


图3 不同水平低 pH 对草鱼呼吸率的影响  
Fig.3 Effect of low pH on ventilation rate of grass carp

草鱼对水质酸化作出的即刻反应是呼吸率加快(图3)。由图3可以看出,草鱼在 pH 3.6 和 4.6 酸化水中呼吸率反应均表现出时间依赖性,具有起始升高但随时间延长而逐渐下降的趋势。不同的是 pH3.6 时升高幅度大于 pH4.6, 而出现下降的时间则迟于 pH4.6。pH3.6 和 4.6 的酸化水中的草鱼在第 48 小时分别出现 67% 和 50% 的死亡率。pH5.6 时,草鱼的呼吸反应属于正常,呼吸率在酸化前后差别不显著 ( $P > 0.05$ )。对照组草鱼手术后在 48h 实验过程中,可以看出呼吸率是比较平稳的,这表明手术恢复良好,未对呼吸活动产生影响。

表 1 不同水平低 pH 对草鱼咳嗽反应的影响 (平均值±标准差)

Table 1 Effect of low pH on the cough response of grass carp

时间, h	咳嗽率, 次/min			
	对照 (pH7.6)	pH5.6	pH4.6	pH3.6
0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.2	0.9±0.5
1	0.4±0.2	1.0±0.3**	3.4±0.4**	4.8±1.5**
4	1.0±0.2**	0.4±0.2	2.7±0.6**	6.8±1.1**
8	0.1±0.1	0.6±0.2	4.3±0.8**	5.1±1.1**
24	0.3±0.2	0.2±0.1	3.9±0.8**	6.9±1.1**
32	0.1±0.1	/	5.4±0.4**	8.6±1.5**
48	0.4±0.2	/	2.6±0.4**	11.3±1.8**

“\*”表示处理组与酸化前对照值 (0h) 间的差异显著 (0.05水平);

“\*\*”表示差异极显著 (0.01水平)。

草鱼咳嗽反应比呼吸率对低 pH 更为敏感。从表 1 可以看出在 pH4.6 时,自酸化的第 1 小时草鱼的咳嗽频率即显著增加 ( $P < 0.01$ )。咳嗽率从酸化前的约 3 min 一次,增加到 3—5 次/min,并在 48h 内一直维持着显著较高的水平。在 pH3.6 时,草鱼的咳嗽次数更为频繁,咳嗽率随时间延长呈持续增高的趋势,直至酸化 48 h 达到 11 次/min 的最高值,此时鱼的呼吸率中约 1/5—1/3 已属于咳嗽反应。pH 3.6 和 4.6 组草鱼咳嗽反应在 48h 内,没有恢复迹象。pH5.6 及 7.6 时,草鱼咳嗽率稍有波动,但仍属于正常范围。

表 2 不同水平低 pH 对草鱼呼吸深度的影响 (平均值±标准差)

Table 2 Effect of low pH on depth of breathing (cm H<sub>2</sub>O) of grass carp

时间, h	呼吸深度, cm H <sub>2</sub> O			
	对照 (pH7.6)	pH5.6	pH4.6	pH3.6
0	0.7±0.1	0.8±0.1	0.8±0.0	0.7±0.1
1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.9±0.1	1.3±0.1**
4	0.7±0.1	0.7±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1
8	0.7±0.1	0.8±0.1	0.9±0.1	1.0±0.1
24	0.6±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1	1.1±0.1*
32	0.7±0.1	/	0.9±0.1	1.3±0.2**
48	0.6±0.1	/	0.7±0.1	1.1±0.1*

“\*”表示处理组与酸化前对照值 (0h) 间的差异显著 (0.05水平);

“\*\*”表示差异极显著 (0.01水平)。

低 pH 酸化水对草鱼呼吸深度的影响, 仅在 pH3.6 时发现显著的反应 (表 2)。这时鱼的呼吸深度比处理前显著增大, 而且在酸化 48h 内未见有下降趋势。在 pH4.6 及 5.6 时, 草鱼呼吸深度基本保持不变。

低 pH 对草鱼耗氧率影响见图 4。pH 3.6 和 4.6 时, 在短期内引起草鱼耗氧率升高, 高峰均出现在第 4 小时, 分别比对照值升高 20% 和 23%。其后, 随处理时间延长, 耗氧率迅速下降。在第 24 小时, 耗氧率下降到接近对照值。pH3.6 酸化水中草鱼耗氧率继续降低, 至第 48 小时, 比对照值低 28% ( $P < 0.01$ ), 并出现部分鱼死亡。值得注意的是在 48h 后换为中性水 (pH7.6), 草鱼耗氧率在 4h 内, 恢复正常。pH5.6 组草鱼耗氧率亦出现升高, 但幅度不大, 比对照值升高 10%, 且高峰出现在较迟的第 8 小时, 至 24h 已恢复到与处理前相同数值。对照组的耗氧正常, 没有出现大的波动。

在试验中, 观察到 pH3.6 组的草鱼大量分泌粘液, 以致循环试验水表面浮有鱼腥味的白色泡沫。同时, 刚死不久的草鱼肉眼可见鳃瓣苍白, 鳃丝表面附有很厚的粘液, 甚至充满整个鳃腔。部分体表、鳍端组织也被腐蚀, 鳞下表皮散见血痕。

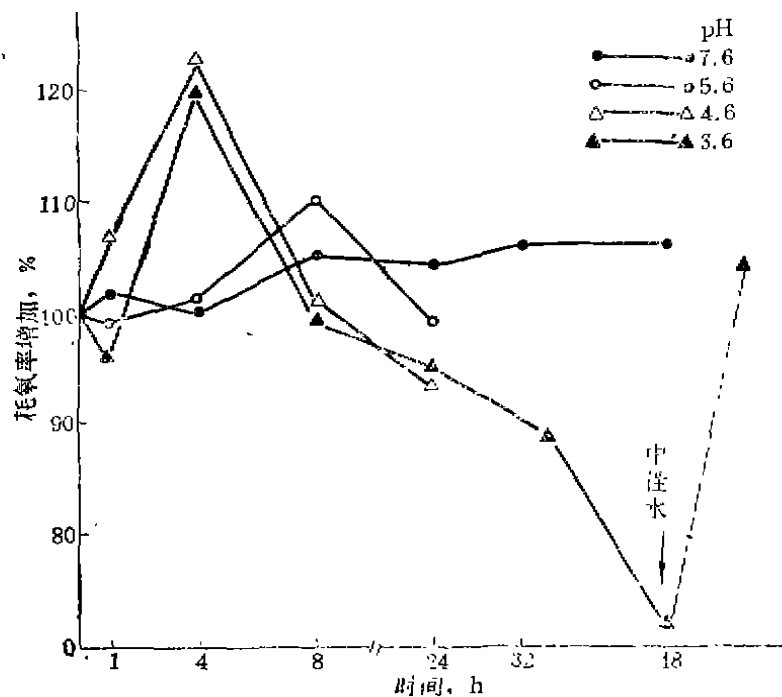


图 4 不同水平低 pH 对草鱼耗氧率的影响

Fig.4 Effect of low pH on oxygen consumption rate of grass carp

### 三、讨 论

低 pH 引起草鱼一系列深刻的呼吸生理反应, 其一般表现为呼吸率加快, 呼吸深度加大, 咳嗽反应增加, 耗氧率先升高, 继而下降。其中包含复杂的自身生理调节和致死机制。

呼吸率的改变是草鱼对低 pH 较灵敏的反应。pH3.6 和 4.6 时, 呼吸率比正常值高 20—30%, 与低 pH 对虹鳟<sup>[11]</sup>和溪红点鲢<sup>[12]</sup>呼吸反应的影响相近。在低 pH 作用下, 草

鱼呼吸深度的变化,仅在 pH3.6 时才有显著反应,比正常值提高 86%。因而,草鱼呼吸深度的反应并不象虹鳟<sup>[13]</sup>那样敏感。鱼类呼吸率和呼吸深度之间可相互补偿,其乘积代表呼吸容量。不论是草鱼或虹鳟在低 pH 影响下,实际呼吸容量均有增加,不同的是虹鳟是以增加呼吸深度,草鱼则是以增加呼吸率作出反应。咳嗽是鱼类在污染物影响下常见的一种保护性呼吸反应,其功能是口腔和鳃腔快速收缩和扩张产生反相水流,以清除鳃上异物。低 pH 对草鱼咳嗽反应有更为显著的影响。pH3.6 和 4.6 时,咳嗽率比正常值高 5—18 倍。在咳嗽率反应强度和灵敏度方面,草鱼都大于、高于虹鳟<sup>[13,14]</sup>。值得注意的是在 pH3.6 和 4.6 中的草鱼,鳃部有大量粘液的分泌。可以认为草鱼敏感、强烈的咳嗽反应至少部分是因粘液过多而引起的,而咳嗽本身对清除鳃上过多粘液起了一定作用<sup>[15]</sup>。但是,高咳嗽率严重干扰了鳃区的水、血反相流动,使鱼吸收水中溶氧效率下降。草鱼耗氧率对低 pH 的起始反应与虹鳟对中度低 pH 的反应相似<sup>[14]</sup>。pH3.6 时,随处理时间延长,草鱼耗氧率直线下降,并最终导致死亡,与极端低 pH 对鲤鱼<sup>[16]</sup>和溪红点鲑<sup>[17]</sup>的影响相似。

为维持机体正常气体代谢,鱼类具有很强的自我调节机能以保持其呼吸稳态。低 pH 时,草鱼呼吸频率增加。极端低 pH 水平,草鱼不仅增加呼吸率,而且增加呼吸深度,以最大限度增大呼吸容量应付恶劣环境。呼吸容量的增高是对鳃气体交换能力下降的一种补偿。亚致死 pH 水平时,草鱼的呼吸率、耗氧率随着处理时间延长,均可恢复正常,这可能与鳃呼吸进行生理调节有关。鱼类在低 pH 下,耗氧率的升高可能是因鱼对代谢能需求增加的结果。尽管极端低 pH(3.6)时,草鱼耗氧率已比正常值降低 28%,但换为正常中性水后,耗氧率在 4h 完全恢复正常。Daye 等认为这是由于细胞的损伤和修复建立了某种平衡<sup>[18]</sup>,低 pH 并未对鳃的机能造成永久性损伤。

在本试验 pH3.6 和 4.6 时,均出现草鱼部分死亡。低 pH 使鱼类致死的机制有三种可能,即组织缺氧;无机盐,特别是血液  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  的损失;血液酸碱平衡紊乱。这三种作用方式的重要性,可能因低 pH 作用水平和鱼种类不同而异,也有可能不同程度上共同起作用。就草鱼而言,pH3.6 时,耗氧率急剧下降,咳嗽率居高不下,粘液大量分泌,其后果是干扰鳃区水、血反向流动,增大血液与水间溶氧扩散距离。粘液在鳃上形成一层非传导层,妨碍氧的传送。因此,组织缺氧可能是极端 pH 下草鱼死亡的主要原因。至于亚致死水平(pH4.6)时,部分草鱼死亡,上述呼吸紊乱表现不明显,死鱼原因,尚不能定论。

综合低 pH 对草鱼上述各种呼吸反应的影响,可以发现其灵敏程度依次为:咳嗽反应 > 呼吸率 > 耗氧率 > 呼吸深度。由本试验结果推测并从一般天然水体酸碱度及我国水质标准考虑,pH > 5.6 的水体轻度酸化可能对草鱼呼吸生理活动的影响并不明显,其中的主要生理危害还有待进一步探讨。但在 pH4.6 以下,草鱼呼吸生理活动受到了较大的干扰,尤其是在严重酸化的水体(pH3.6)中,组织缺氧可能是草鱼酸致死的主要机制。作为一种较新的生物监测技术,由于咳嗽反应和呼吸频率测试方法简单且具有一定的灵敏度,建议采纳为常规水污染监测的一类生物学指标。

本工作承王德铭先生指导,并审阅本文,谨表谢意。

## 参 考 文 献

- [1] Wright R *et al.* United States Forest Service General Technical Report NE-23, 1976, 459  
 [2] Schofield C. *Ambio*, 1976, 5, 228  
 [3] Beamish R. *Water Air and Soil Pollution*, 1976, 6, 501  
 [4] Zhao D *et al.* *Ambio*, 1986, 15, 2  
 [5] McKim J M *et al.* *Environ Toxicol and Chem*, 1987, 6, 313  
 [6] Davis J C. *J Fish Res Board Can*, 1973, 30, 369  
 [7] Majewski H S *et al.* *Water Res*, 1981, 15, 1211  
 [8] Hargis J R. *J Exp Zool*, 1976, 196, 39  
 [9] 贺锡勤等. *环境科学学报*, 1986, 6(4): 487  
 [10] Ultsch G R *et al.* *J Exp Biol*, 1981, 93, 65  
 [11] Giles M A *et al.* *Can J Aquat Sci*, 1984, 41(11), 1686  
 [12] Dively J L *et al.* *Comp Biochem Physiol*, 1977, 57(A), 347  
 [13] Neville C M. *Comp Biochem Physiol*, 1979, 63(A), 373  
 [14] Neville C M. *Can J Fish Aquat Sci*, 1985, 42, 2004  
 [15] Ultsch G R *et al.* *Comp Biochem Physiol*, 1979, 62(A), 685  
 [16] Ultsch G R *et al.* *Comp Biochem Physiol*, 1980, 67(A), 329  
 [17] Packer R K *et al.* *Comp Biochem Physiol*, 1972, 41(A), 17  
 [18] Daye P G *et al.* *Can J Zool*, 1976, 54, 2140

1991年4月19日收到

THE EFFECTS OF LOW pH ON RESPIRATORY ACTIVITY AND OXYGEN CONSUMPTION METABOLISM OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS* CURIER AND VALENCIENNES)

Yu Riqing, He Xiqin

*(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan, 430072)*

## ABSTRACT

The results of the effects of low pH (6.0—3.6) on grass carp indicated that the respiratory activity and oxygen consumption metabolism at pH 4.6—3.6 was disturbed at higher degree to increscent acidity. The symptoms were increase in ventilation rate, cough rate and depth of breathing, and sharp decrease in oxygen consumption rate after an increase at the beginning. The sensitivities of grass carp to low pH were orderly: cough rate > ventilation rate > oxygen consumption rate > depth of breathing. These symptoms disappeared at pH 5.6.

**Keywords:** low pH, respiratory activity, oxygen consumption rate, grass carp.