

# 广州河涌污水暴露致食蚊鱼骨骼形态 雄性化的影响

张晓婵<sup>①</sup> 温茹淑<sup>②</sup> 方展强<sup>①\*</sup>

① 华南师范大学生命科学学院, 广东省高等学校生态与环境科学重点实验室 广州 510631;

② 嘉应学院生命科学学院 梅州 514015

**摘要:** 食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 骨骼发育具有性别二态性, 雄鱼臀鳍与第 14、15 和 16 椎体脉棘的形态特化受雄激素所调控, 因此可以作为生物标志物监测水环境中的雄激素污染。本文利用食蚊鱼臀鳍和椎体脉棘形态变化为指标, 调查了生活在受城市废水严重污染的广州市河涌中的食蚊鱼受内分泌干扰物影响的现状。根据食蚊鱼生长情况和捕鱼的便利性, 选择广州市海珠涌中下游宝岗大道段 (BG)、洪德路段 (HD) 和黄埔涌中下游赤岗路段 (CG)、苗艺路段 (MY) 4 个采样点, 同时设置不受城市废水污染的华南师范大学校区内的中心湖作对照点 (REF)。测量了雌、雄食蚊鱼第 4 臀鳍条长度和第 4 与第 6 臀鳍条长度的比值, 并采用食蚊鱼第 14、15 和 16 椎体脉棘的总长 ( $L$ ,  $\mu\text{m}$ )、投影长度 ( $P$ ,  $\mu\text{m}$ )、尾部尖端到脊柱的高度 ( $D$ ,  $\mu\text{m}$ ), 以及  $L:D$ 、 $P:D$  和  $P:L$  的比值来评价食蚊鱼骨骼形态变化。结果, 与对照点相比, 夏冬两季海珠涌和黄埔涌 4 个采样点成年雌性食蚊鱼的第 4 臀鳍条长度显著延长 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 第 4 与第 6 臀鳍条长度的比值明显增大 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 成年雌性食蚊鱼臀鳍显现形态雄性化的特征; 尽管 4 个采样点成年雄性食蚊鱼第 4 臀鳍条长度均显著小于对照点 ( $P < 0.01$ ), 但是所有采样点的成年雄性食蚊鱼第 4 与第 6 臀鳍条长度的比值则无明显差异 ( $P > 0.05$ )。与对照点 (REF) 相比, 夏冬两季海珠涌宝岗大道段 (BG)、洪德路段 (HD) 和黄埔涌苗艺路段 (MY) 采样点成年雌性食蚊鱼第 14、15、16 椎体脉棘的投影长度 ( $P$ ) 显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 海珠涌宝岗大道段 (BG), 黄埔涌赤岗路段 (CG) 和苗艺路段 (MY) 采样点成年雌性食蚊鱼的  $P:D$  比值显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 海珠涌宝岗大道段 (BG) 和洪德路段 (HD), 黄埔涌苗艺路段 (MY) 采样点成年雌性食蚊鱼的  $P:L$  比值也显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 成年雌性食蚊鱼的第 14、15、16 椎体脉棘出现了骨质增生, 增长, 并向前倾斜, 显示不同程度的形态雄性化特征。可是, 各采样点成年雄性食蚊鱼第 14、15、16 椎体脉棘的投影长度 ( $P$ )、 $P:D$  和  $P:L$  比值则没有明显变化 ( $P > 0.05$ )。结果表明, 广州河涌水体中的环境内分泌干扰物对食蚊鱼产生明显的形态雄性化效应。

**关键词:** 城市废水; 内分泌干扰物; 形态雄性化; 食蚊鱼; 广州河涌

中图分类号: Q494 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2015) 06-895-18

**基金项目** 广东省科技计划项目 (No. 2012B030800006), 广东高校城市水环境生态治理与修复工程技术研究中心建设项目 (No. 2012gezxA004);

\* 通讯作者, E-mail: fangzhq@scnu.edu.cn;

**第一作者介绍** 张晓婵, 女, 硕士研究生; 研究方向: 水生生物学; E-mail: 390267054@qq.com。

收稿日期: 2015-01-05, 修回日期: 2015-05-08 DOI: 10.13859/j.cjz.201506009

## Bone Morphogenetic Masculinization in Mosquitofish (*Gambusia affinis*) Exposed to Municipal Waste Water in Guangzhou Creek

ZHANG Xiao-Chan<sup>①</sup> WEN Ru-Shu<sup>②</sup> FANG Zhan-Qiang<sup>①\*</sup>

① Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Guangdong Higher Education, College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631; ② College of Life Science, Jiaying University, Meizhou 514015, China

**Abstract:** Skeletal development has dimorphism in mosquitofish (*Gambusia affinis*), and morphological specializations of the anal fin and the hemal spines on the 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, and 16<sup>th</sup> vertebrae in male mosquitofish are under androgenic control, therefore, it can be used as a biomarker to monitor the androgen pollution in water environment. Using the anal fin and hemal spine as morphology indicator, mosquitofish living in Haizhu Creek and Huangpu Creek were sampled and detected in order to assess the endocrine disrupting effects. We chose 4 sampling points including Baogang Avenue Section (BG), Hongde Section (HD) in Haizhu Creek, Chigang Section (CG), Miaoyi Section (MY) in Huangpu Creek of Guangzhou City according to the fish growth and fishing convenience (Fig. 1); at the same time, we set the center point of the lake in the South China Normal University as a reference site (REF), which is not subject to water pollution in urban areas. We measured the length of 4<sup>th</sup> anal fin ray, and the length ratio of 4<sup>th</sup> anal fin ray vs. 6<sup>th</sup> anal fin ray (Fig. 2 and 3), and used the total length ( $L$ ,  $\mu\text{m}$ ), perpendicular distance ( $P$ ,  $\mu\text{m}$ ), depth ( $D$ ,  $\mu\text{m}$ ),  $L/D$  ratios,  $P/D$  ratios,  $P/L$  ratios of the hemal spines on the 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, and 16<sup>th</sup> vertebrae in female and male mosquitofish as indicators to assess the modification of skeletal morphology (Fig. 4). The total number of collected mosquitofish amounted to 2 969, including 551 adult males, 568 larvae males, 765 adult females, 700 larvae females and 385 pregnant females. The population structure and sex ratio of mosquitofish at each sampling point from summer to winter were showed in Table 1. The results showed that compared with the reference site, significantly extended length of 4<sup>th</sup> anal fin rays in adult female mosquitofish collected from four sampling sites of Haizhu Creek and Huangpu Creek in summer and winter was observed ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); the length ratio of 4<sup>th</sup> anal fin ray vs. 6<sup>th</sup> anal fin ray was also significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); the anal fin rays displayed morphological masculinization in adult females. Although the 4<sup>th</sup> anal fin rays length in adult males collected from four sampling sites was significantly less than that in the reference site ( $P < 0.01$ ), the length ratio of 4<sup>th</sup> anal fin ray vs. 6<sup>th</sup> anal fin ray was not significantly different ( $P > 0.05$ ) (Fig. 5). Compared with the reference site (REF), the  $P$  value of the length of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spine in adult females collected from Baogang Avenue Section (BG), Hongde Section (HD) at Haizhu Creek, and Miaoyi Section (MY) at Huangpu Cerrk was significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) (Fig. 6). The  $P/D$  ratios of the length of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult females collected from Baogang Avenue Section (BG) at Haizhu Creek, and Chigang Section (CG), Miaoyi Section (MY) at Huangpu Creek were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); and the  $P/L$  ratios in adult females from Baogang Avenue Section (BG), Hongde Section (HD) at Haizhu Creek, and Miaoyi Section (MY) at Huangpu Cerrk were also significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) (Fig. 7). The 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines showed osteoarthritis, growth and anterior direction, showing different degrees of morphological masculinization in adult females (Fig. 8). However, the  $P$  value,  $P/D$  ratios and  $P/L$  ratios of the length of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult females

from each sampling sites did not change significantly ( $P > 0.05$ ) when compared with the reference site (REF) (Fig. 9 and 10). The results indicated that the environmental endocrine disruptors in water of Guangzhou Creek could produce the effect of morphological masculinization in female mosquitofish.

**Key words:** Municipal wastewater; Endocrine disrupting chemicals; Morphological masculinization; Mosquitofish (*Gambusia affinis*); Guangzhou creek

国内针对不同城市污水现状进行分析, 并对其特征进行治理的研究已有许多报道, 很多学者对生活废水排放主要进行宏观分析和简单的统计总量 (郑习健 1994, 陈明等 2007, 郭莉 2013)。近年则多开展对水中污染物的生物监测, 如运用斑马鱼 (*Danio rerio*) 作为动物模型进行的测试, 研究城市污水对斑马鱼鳃和肝组织的毒性作用、对胚胎和仔鱼的发育毒性影响 (吴玲玲等 2006, 张青碧等 2008, 刘在平等 2010, 甘海燕等 2013), 生活污水对稀有鮎鲫 (*Gobiocypris rarus*) 的毒性效应 (李莉等 2004) 等, 但这些研究主要以采集生活污水进行室内暴露为主, 原因是斑马鱼或稀有鮎鲫都不能在城市周边受污染的溪流或河涌中存活。食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 是一种原产北美洲的热带性卵胎生小鱼 (潘炯华等 1980), 其入侵性非常强, 因体形小、食性杂、繁殖周期短、产仔量大, 已广泛分布于我国华南各地水域, 尤其受污染的城市河涌中也可以生存, 因此可利用食蚊鱼作为指示生物监测城市水环境中可能存在的环境激素类物质污染现状。

食蚊鱼体细小, 长形而侧扁。背部稍隆起, 在背中部最高, 略呈弧形。食蚊鱼体背部呈橄榄褐色, 体侧大部分呈半透明灰色, 并常有光亮的淡蓝色, 腹部为银白色, 鳍无色或微带黄色, 在背鳍和尾鳍部散布一些小黑点 (潘炯华等 1980)。雄性食蚊鱼体长较小, 为 14.0 ~ 27.5 mm; 雌鱼体长 16 ~ 45 mm, 腹部圆, 无腹棱, 怀孕时在臀鳍上方有一显著黑斑, 称为孕斑。成体雄性食蚊鱼臀鳍的第 3、4、5 鳍条延长, 演化成为交接器, 第 4、5 变态鳍条末端具有数个小钩, 当雄鱼交接器插入雌鱼生殖孔时, 此小沟具有加强固着的作用 (潘炯华等

1980)。已有文献报道, 成体雌性食蚊鱼长期生活在被雄激素类物质污染的水体中会出现形态雄性化特征, 如臀鳍第 3 鳍条延长或分节数增加, 鱼体长减小, 体重下降, 胚胎数量减少 (Orlando et al. 2003, Larsson et al. 2002)。食蚊鱼椎体脉棘 (hemal spine) 的发育具有性别二态性, 成体雌性食蚊鱼椎体脉棘一般向后方弯曲, 以便支持鱼的肌肉组织, 而成体雄性食蚊鱼的第 14、15、16 椎体脉棘则是细长的并向前弯曲, 以便为交配期间的运动提供支持 (Rosen et al. 1953)。14、15、16 这 3 根脉棘会随着外界环境的激素水平而发生相应的变化。因此利用食蚊鱼臀鳍条长度变化和第 14、15、16 椎体脉棘的骨骼形态变化监测不同水域环境雄激素类物质污染的研究有重要的学术意义和应用价值。

广州市海珠区 (北纬 23°3' ~ 23°16', 东经 113°14' ~ 113°23') 四周被珠江广州河段前、后航道环绕, 区域总面积 90.40 km<sup>2</sup>。区内河网密布, 主要水系包括了西北部的海珠涌、东北部的黄埔涌、南部的赤沙滘 3 个水网系统。海珠涌主流全长 5 830 m; 黄埔涌全长 7 800 m, 是防洪、排涝、灌溉的重要河涌 (陈冠浩等 2000)。随着几十年来广州城市的发展, 大量生活污水和工厂废水直接排放到海珠涌和黄埔涌中, 从而导致水质严重污染。广州市环境保护局于 2013 年 6 月起公布广州主要河涌水质监测情况, 监测数据表明海珠涌和黄埔涌不同时期水质都属劣 V 类, 河涌受到极其严重的污染。近年已有学者对以广州市为中心的珠江三角洲城乡的水域进行监测, 在检测点的水体中检出 1,4 雄烯二酮 (androstadienedione, ADD)、雄烯二酮 (androstenedione, AED)、羟甲雄烷吡唑

(stanozolol) 等雄激素类物质 (谢勇平 2010, 侯丽萍 2011), 并推断由以上这些雄激素类物质引起成年雌性食蚊鱼发生形态雄性化的效应。因此, 本研究拟通过调查生长在广州海珠涌和黄埔涌中食蚊鱼的臀鳍条形态及椎体脉棘形态的变化, 探讨广州河涌城市污水暴露对食蚊鱼骨骼形态发育的雌、雄激素效应, 从而评价广州市河涌是否已受到雄激素类物质的污染。本结果可为环境保护有关部门提供有科学价值的数据和资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样点设置及水质监测

根据食蚊鱼生长情况和捕鱼的便利性, 本研究选择广州市华南师范大学校区内的中心湖作对照点 (REF), 同时, 在广州市海珠涌中下游宝岗大道段 (BG)、洪德路段 (HD) 和黄埔

涌中下游赤岗路段 (CG)、苗艺路段 (MY) 选取了 4 个采样点 (图 1)。REF 为不受城市废水污染的地点。在对照点采集的食蚊鱼先在实验室驯养两周后进行实验, 驯养鱼用水为曝气除氯后的自来水。

### 1.2 样本采集及处理

**1.2.1 食蚊鱼采集** 本研究为期 1 年, 包括夏季及冬季两个季节。食蚊鱼采集分别于 2013 年 6 月 (夏季) 和 2012 年 12 月 (冬季) 进行, 在不同的采样点用大型鱼网随机捕捞。采集的食蚊鱼放入编号的大型塑料桶中, 每个塑料桶盛装 10 L 原采样点的河涌水, 并在桶中放入适量的水草, 以减少食蚊鱼在运输过程中造成的损伤。食蚊鱼于当日运回实验室并进行各组实验。采集食蚊鱼的同时, 使用 GPS 测定采样点的位置, 并使用水质监测仪 (YSI556MPS) 测定各采样点的水质参数, 包括 pH、电导性

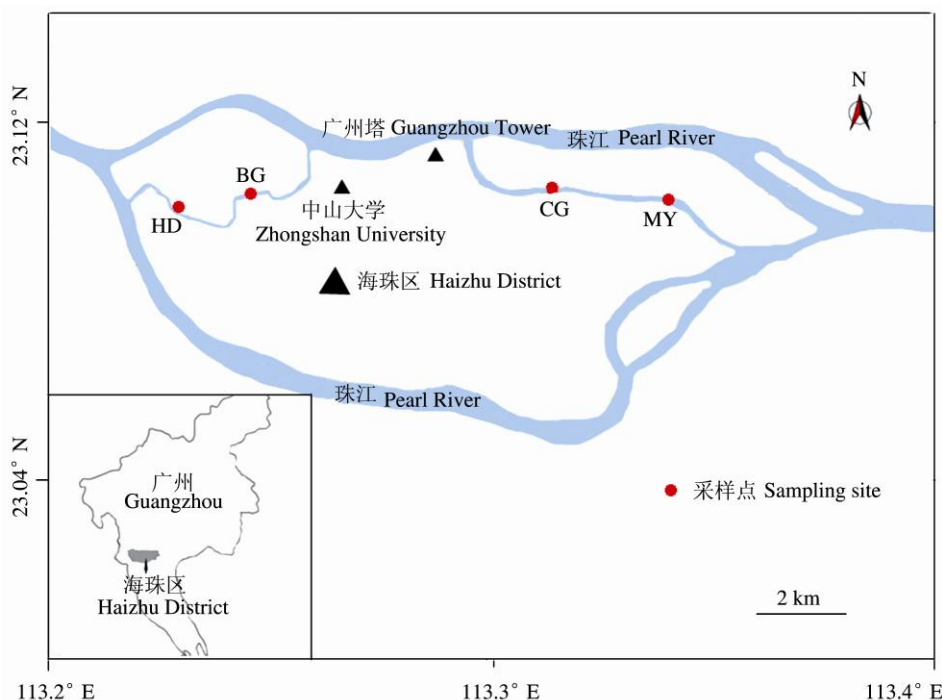


图 1 广州海珠涌和黄埔涌的采样点

Fig. 1 The sampling sites in the Haizhu Creek and Huangpu Creek, Guangzhou

BG. 宝岗大道段; HD. 洪德路段; CG. 赤岗路段; MY. 苗艺路段。

BG. Baogang Avenue Section; HD. Hongde Section; CG. Chigang Section; MY. Miaoyi Section.

(conductivity)、溶解氧 (dissolved oxygen)、水温 (water temperature) 和水质分级 (water quality classification)。

**1.2.2 性别鉴定** 正常的雌、雄个体鉴别及其性成熟的鉴定参照 Leusch 等 (2006) 的方法：未成年雄性，臀鳍的第 3 鳍条长度延长，基部宽度加宽，但生殖足未发育完全；成年雄性，鳍条生殖足端部出现钩和肘；未成年雌性，体长  $< 20$  mm，臀鳍的第 3 鳍条长度未延长，基部宽度未加宽；成年雌性，体长  $\geq 20$  mm，臀鳍的第 3 鳍条长度未延长，基部宽度未加宽；怀孕雌鱼，腹部下端出现黑色孕斑。由于本研究中雌性食蚊鱼受到城市废水的影响出现一定的雄性化现象，臀鳍的第 3 鳍条有所延长，故为了避免雄性化作用对性别区别造成干扰，本文参考正常的雌雄鉴别方法外，同时把臀鳍的第 3 鳍条长度延长且交接器具有钩状结构的食蚊鱼定义为成熟的雄性食蚊鱼，臀鳍的第 3 鳍条长度延长但不带钩状结构的且体长  $\geq 20$  mm 的定义为雄性化的雌性食蚊鱼。食蚊鱼成体雄性和成体雌性的臀鳍和第 14、15、16 椎体脉棘的一般形态见图 2。

### 1.3 食蚊鱼骨骼处理方法

**1.3.1 骨骼处理** 冰浴将鱼处死后拍照，然后将食蚊鱼样品浸泡在纯水中 1 d，以通过逆渗透

的方式来水化组织，再用 1% 的 KOH 处理 4 ~ 5 d，每天换液，然后在体视显微镜下小心地剥去鱼皮及肉质部分，使其只剩下骨骼，用 1% 的茜素红 S 染色 30 min 左右，再放入 KOH 中浸泡 10 min，小心去除剩余的肉和杂质，清理好骨骼标本，在甘油中保存，待标本处理完全后在显微镜上用数码相机 (Canon EOS 500D) 进行拍照。

**1.3.2 食蚊鱼臀鳍条数据采集** 取骨骼处理后的食蚊鱼标本，在体视显微镜下拍照，用图像处理软件 Adobe Photoshop CS4 中的距离测量工具进行相关指标的测量 (图 3)，参照谢勇平 (2010) 的测量方法修改而成，测量食蚊鱼的臀鳍第 4 鳍条长度及第 4 与第 6 臀鳍条长度的比值。

**1.3.3 骨骼形态参数计算** 采用图像处理软件 Adobe Photoshop CS4 中的距离测量工具测定骨骼照片的相关指标。参照 Rawson 等 (2006) 描述的测量方法，所测量的指标包括第 14、15、16 椎体脉棘总长，记录为 14L、15L、16L (图 4a)；第 14、15、16 椎体脉棘的投影长度，记录为 14P、15P、16P (图 4b)；第 14、15、16 椎体脉棘尾部尖端到脊柱的高度，记录为 14D、15D、16D (图 4c)。根据测量的指标分别计算第 14、15、16 椎体脉棘投影长度与椎体脉棘尾

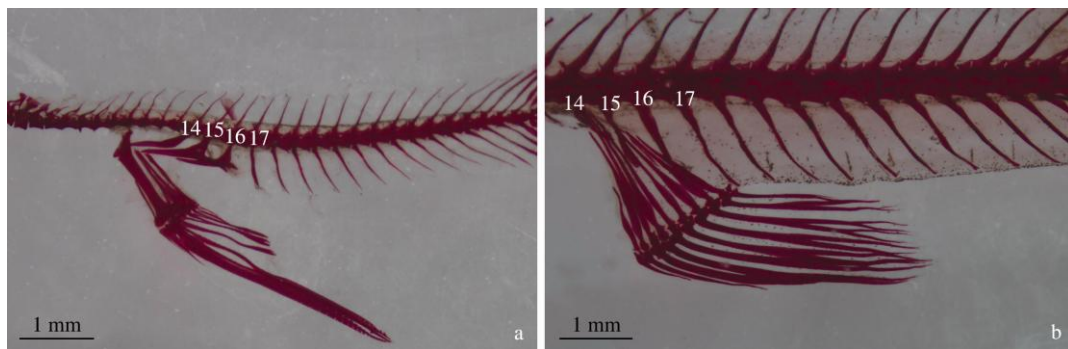


图 2 食蚊鱼成体雄性和成体雌性的臀鳍和第 14、15、16 椎体脉棘的骨骼形态

Fig. 2 Skeleton morphology of the anal fin and the hemal spines on the 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, and 16<sup>th</sup> vertebrae in adult male and female mosquitofish

a. 成体雄性食蚊鱼；b. 成体雌性食蚊鱼；14、15、16、17 表示第 14、15、16、17 椎体脉棘。

a. Adult male mosquitofish; b. Adult female mosquitofish; 14, 15, 16, 17 show the 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines.



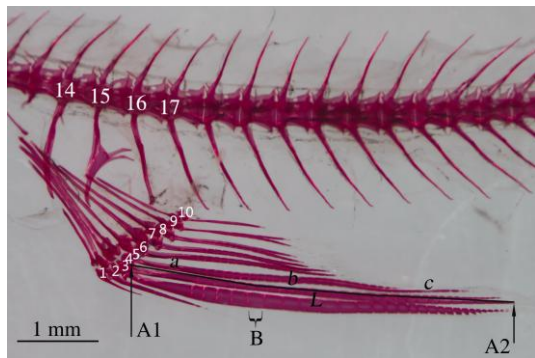


图3 臀鳍的测量和计算方法

Fig. 3 The measurement and calculation of female mosquitofish

1 ~ 10为臀鳍鳍条的编号, 食蚊鱼的臀鳍共有10根鳍条, 从左到右依次为第1 ~ 10鳍条; 在测量鳍条长度时, 以A1至A2间的距离为第4臀鳍条长度, 计算方法 $L = a + b + c$ 。B示一个分节。

1 to 10 show the serial number of anal fin rays. There are 10 rays in mosquitofish anal, from left to right are numbered 1 to 10 rays. In the measurement of the length of fins, the distance between A1 to A2 is the length of fourth anal fin ray, and the calculation method is  $L = a + b + c$ . B shows a section.

部尖端到脊柱高度之比, 即  $14P : 14D$ 、 $15P : 15D$ 、 $16P : 16D$ , 投影长度与总长之比, 即  $14P : 14L$ 、 $15P : 15L$ 、 $16P : 16L$ , 总长与椎体脉棘尾部尖端到脊柱高度之比, 即  $14L : 14D$ 、 $15L : 15D$ 、 $16L : 16D$ 。

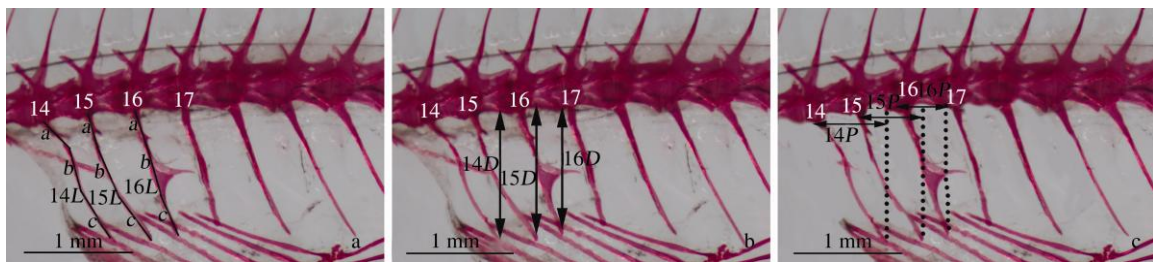


图4 食蚊鱼的骨骼测量

Fig. 4 The skeletal morphology of mosquitofish

a. 椎体脉棘的总长 $L$  ( $L = a + b + c$ ); b.  $D$ 是指从椎体脉棘的尖点到脊椎骨的垂直距离; c. 垂线距 $P$ 是椎体脉棘末端与支点的投影距离(椎体脉棘的前方方向为正值, 后方方向为负值); 14、15、16、17表示第14、15、16、17椎体脉棘。

a. Total length of hemal spine  $L$  ( $L = a + b + c$ ); b. Depth ( $D$ ) measured from the distal tip of the spine to the vertebral column; c. Perpendicular distance ( $P$ ) from the point of attachment to the tip of each spine (positive where the spines were anteriorly directed and negative where the spines were posteriorly directed); 14, 15, 16, 17 show the 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup>, 17<sup>th</sup> hemal spines.

## 1.4 数据处理

所有数据用 SPSS Statistics 19.0 处理, 以平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 的形式表示。臀鳍第 4 鳍条长度,  $14L$ 、 $15L$ 、 $16L$ ,  $14P$ 、 $15P$ 、 $16P$ ,  $14D$ 、 $15D$ 、 $16D$  与鱼体长有高度相关性, 故采用协方差分析 (COANOVA) 对数据进行统计分析, 使用体长为共变量, 最后, 用 LSD 对以上结果进行验后多重比较。

## 2 结果

### 2.1 各采样点的水质参数

夏季及冬季各采样点的 pH 均处于正常范围 (6 ~ 9) 内, 变化不大 (表 1)。鱼类正常生长所需溶解氧为 5 mg/L 及以上, 对照点夏季和冬季溶解氧均高于 5 mg/L (表 1), 可见对照点中氧气充足, 适于食蚊鱼正常生长。而采样点中只有苗艺采样点 (冬季) 的溶解氧高于 5 mg/L, 其余采样点溶解氧处于 1 ~ 3 mg/L (表 1), 供氧不足。

电导率是衡量溶液离子浓度的一个综合性指标。一般情况下, 溶液所含的酸、碱、盐越多, 电导率就越高。在水环境中, 电导率通常跟其溶解的盐有关, 因此能够作为溶液含盐量的一个参考, 用于判断水体的干净程度。对照

表 1 各采样点水质的理化指标

Table 1 Water quality parameters at the sampling sites

采样点 Sampling point	位置 Location	季节 Season	pH	电导性 (μs/cm) Conductivity	溶解氧 (mg/L) Dissolved oxygen	水温 (℃) Water temperature	水质分级 Water quality classification
对照点 Reference site (REF)	23°08'562"N 113°20'975"E	夏 Summer	8.31 ±0.05	204 ±3.77	9.76 ±0.13	28.35 ±0.58	I
		冬 Winter	6.81 ±0.05	234 ±2.17	10.91 ±0.15	18.35 ±0.38	I
宝岗大道段 Baogang Avenue Section (BG)	23°05'687"N 113°15'632"E	夏 Summer	7.37 ±0.07	295 ±1.77	2.36 ±0.33	28.65 ±0.41	IV
		冬 Winter	6.60 ±0.01	335 ±2.38	1.16 ±0.28	17.52 ±0.31	V
洪德路段 Hongde Section (HD)	23°06'108"N 113°14'904"E	夏 Summer	7.64 ±0.07	306 ±1.21	2.31 ±0.35	28.65 ±0.41	IV
		冬 Winter	6.80 ±0.01	326 ±1.11	1.31 ±0.33	17.38 ±0.61	V
赤岗路段 Chigang Section (CG)	23°05'938"N 113°20'486"E	夏 Summer	7.65 ±0.08	359 ±3.86	1.85 ±0.21	28.87 ±0.76	V
		冬 Winter	6.80 ±0.01	379 ±2.68	3.66 ±0.25	20.08 ±0.37	IV
苗艺路段 Miaoyi Section (MY)	23°05'947"N 113°20'670"E	夏 Summer	7.69 ±0.02	549 ±3.83	2.89 ±0.43	29.09 ±0.25	IV
		冬 Winter	6.89 ±0.02	447 ±2.73	5.11 ±0.43	21.40 ±0.15	IV

数据用“平均数 ± 标准差”的形式表示。Data in this table are expressed as Mean ± SD.

点的电导率最低，金属离子和酸根离子的含量相对比较低（表 1），水质较为纯净。而采样点中苗艺采样点电导率较高，金属离子和酸根离子的含量相对较高，水体的导电率较大。其余采样点的电导率在 300 ~ 400 μs/cm 左右波动（表 1）。

2.2 采样点食蚊鱼种群构成特征

本次在对照点采集的食蚊鱼 696 尾，从海珠涌宝岗大道段、海珠涌洪德路段、黄埔涌赤岗路段和黄埔涌苗艺路段各个采样点所采集食蚊鱼的数量分别为 412、350、990 和 521 尾。所采集的食蚊鱼的总数量达 2 969 尾，其中包括成年雄性 551 尾，未成年雄性 568 尾；成年雌性 765 尾，未成年雌性 700 尾，以及怀孕雌鱼 385 尾。夏、冬两季各采样点食蚊鱼的种群结构和性别比例见表 2。

2.3 受污染河涌中成年雌性食蚊鱼臀鳍形态的变化

本研究中，选取成年雌性食蚊鱼的第4臀鳍条长度和第4与6鳍条长度比值两个指标作为其形态雄性化程度的研究终点。与对照点（REF）相比，夏季海珠涌宝岗大道段（BG）和洪德路段（HD）、黄埔涌赤岗路段（CG）和苗艺路段（MY）4个采样点成年雌性食蚊鱼第4臀鳍条长度延长显著（ $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ），但冬季除了黄埔涌苗艺路段外，其他采样点食蚊鱼的第4臀鳍条长度变化不明显（ $P > 0.05$ ）（图5a）。与对照点相比，夏冬两季广州海珠涌宝岗大道段和洪德路段采样点成年雌性食蚊鱼第4与6臀鳍条长度比值显著上升（ $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ），但除了冬季苗艺路段外，黄埔涌赤岗路段和苗艺路段成年雌性食蚊鱼第4与6臀鳍条长度比值变

表 2 各采样点食蚊鱼种群构成特征

Table 2 Proportion of mosquitofish sampled at each site

采样点 Sampling point	季节 Season	雄性 Male				雌性 Female				总数 (尾) Total mantissa (ind)	怀孕雌鱼 Pregnant females mantissa	
		成体 Adult		幼体 Larvae		成体 Adult		幼体 Larvae			数量 (尾) Quantity (ind)	比例 (%) Proportion (%)
		数量 (尾) Quantity (ind)	比例 (%) Proportion (%)	数量 (尾) Quantity (ind)	比例 (%) Proportion (%)	数量 (尾) Quantity (ind)	比例 (%) Proportion (%)	数量 (尾) Quantity (ind)	比例 (%) Proportion (%)			
对照点 Control point (REF)	夏 Summer	52	15.76	47	14.24	135	40.91	96	29.09	330	107	32.42
	冬 Winter	37	16.02	23	9.96	105	45.45	66	28.57	231	28	12.12
宝岗大道段 Baogang Avenue Section (BG)	夏 Summer	52	20.64	58	23.02	60	23.81	82	32.54	252	22	12.40
	冬 Winter	23	18.85	25	20.49	53	43.44	21	17.21	122	16	13.11
洪德路段 Hongde Section (HD)	夏 Summer	31	17.51	52	29.38	55	31.07	39	22.03	177	22	12.4
	冬 Winter	36	26.09	24	17.39	68	49.28	10	7.25	138	13	9.42
赤岗路段 Chigang Section (CG)	夏 Summer	68	11.28	198	32.84	106	17.58	231	38.31	603	80	13.27
	冬 Winter	104	38.24	50	18.38	82	30.15	36	13.24	272	35	12.87
苗艺路段 Miaoyi Section (MY)	夏 Summer	67	22.87	63	21.50	59	20.14	104	35.49	293	46	15.70
	冬 Winter	81	48.80	28	16.87	42	25.30	15	9.04	166	16	9.64

表中“比例”指此类鱼占总数量的比率；怀孕雌鱼数量不包含在雌性成体鱼总数中。

In this table “proportional” means the ratio of the number of such fish/the total number of fish; The number of pregnant females is not included in the number of adult female fish.

化不显著 ( $P > 0.05$ ) (图5b)。生活在广州受城市废水污染河涌中的成年雌性食蚊鱼臀鳍出现形态雄性化的现象。与正常的成年雌性食蚊鱼的第4臀鳍条长度相比,雄性化的成年雌性食蚊鱼其第4臀鳍条长度明显增长,第4与6臀鳍条长度比值显著增大。

## 2.4 受污染河涌中成年雄性食蚊鱼臀鳍形态的变化

除了冬季黄埔涌苗艺路段 (MY) 采样点

以外,夏冬两季海珠涌及黄埔涌其他各个采样点的成年雄性食蚊鱼第4臀鳍条长度值均显著小于对照点 (REF) ( $P < 0.01$ ) (图5c),但是,与对照点相比,夏冬两季海珠涌及黄埔涌所有采样点的成年雄性食蚊鱼第4与6臀鳍条长度比值则无明显差异 ( $P > 0.05$ ) (图5d)。

## 2.5 受污染河涌中成年雌性食蚊鱼椎体脉棘形态的变化

与对照点 (REF) 相比,夏冬两季海珠涌



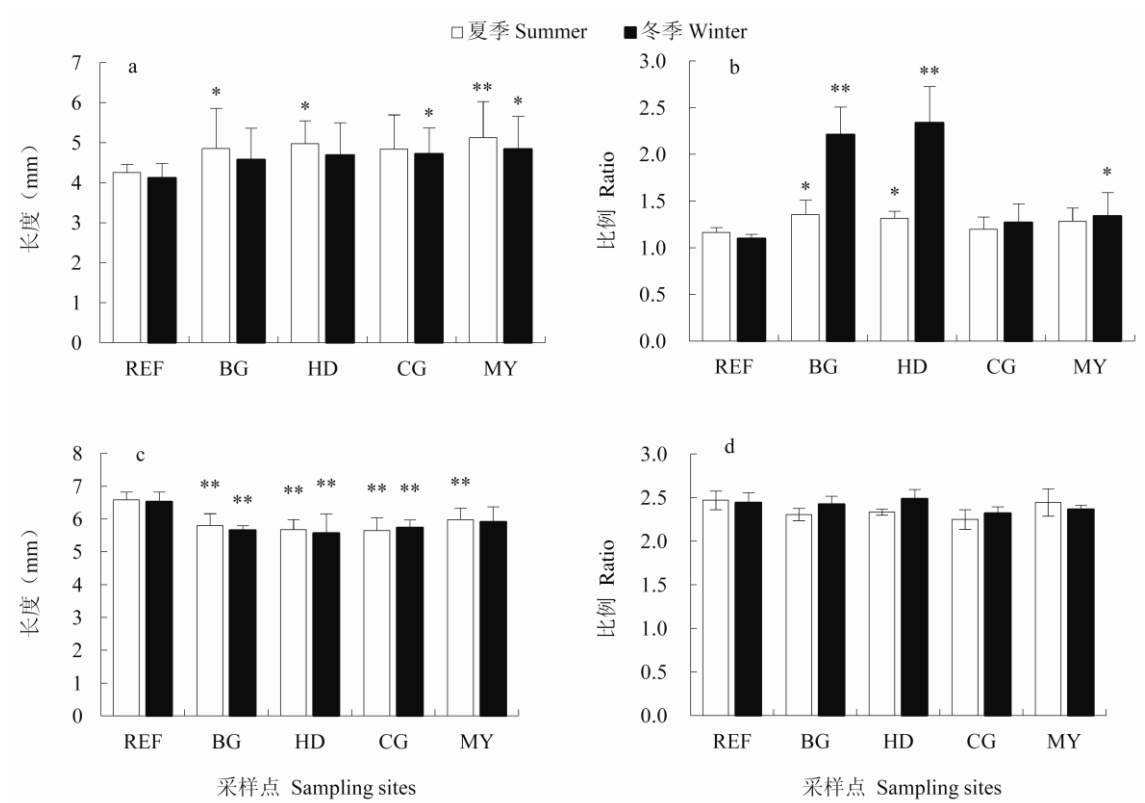


图5 不同采样点成体雌性和雄性食蚊鱼第4臀鳍条长度及第4第6鳍条长度比例

Fig. 5 The 4<sup>th</sup> anal fin rays length and 4<sup>th</sup>/6<sup>th</sup> length ratio in adult female and male mosquitofish at different sampling sites

a. 成体雌性食蚊鱼第4臀鳍条长度; b. 成体雌性食蚊鱼第4与6臀鳍条长度比例; c. 成体雄性食蚊鱼第4臀鳍条长度; d. 成体雄性雌性食蚊鱼第4臀鳍条与第6臀鳍条长度比例; REF. 对照点; BG. 海珠涌宝岗大道段; HD. 海珠涌洪德路段; CG. 黄埔涌赤岗路段; MY. 黄埔涌苗艺路段。同一季节, 不同采样点与对照点之间, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异显著极显著。成年雌性食蚊鱼和雄性食蚊鱼的样本数(尾)分别是 765 和 551。

a. The 4<sup>th</sup> anal fin rays length in adult female mosquitofish; b. The 4<sup>th</sup>/6<sup>th</sup> length ratio in adult female mosquitofish; c. The 4<sup>th</sup> anal fin rays length in adult male mosquitofish; d. The 4<sup>th</sup>/6<sup>th</sup> length ratio in adult male mosquitofish; REF. Reference point; BG. Baogang avenue section; HD. Hongde section; CG. Chigang section; MY. Miaoyi section. Comparisons between the different sampling sites and reference site in the same season, \* show significant difference ( $P < 0.05$ ); Comparisons between different sampling sites and reference site in the same season, \*\* show very significant difference ( $P < 0.01$ ). Number of samples (mantissa) of adult female and male mosquitofish is 765 and 551, respectively.

及黄埔涌各个采样点成年雌性食蚊鱼的 14L、15L、16L 值差异不明显 ( $P > 0.05$ ) (图 6a, b)。除了夏季黄埔涌赤岗路段 (CG) 采样点的 14D 值明显增加 ( $P < 0.05$ ) 以外, 夏冬两季其他所有采样点的 14D、15D、16D 值也没有明显差异 ( $P > 0.05$ ) (图 6c, d)。在夏季, 除了黄埔涌赤岗路段 (CG) 的 14P 值与对照点 (REF)

相比差异不明显 ( $P > 0.05$ ) 以外, 海珠涌宝岗大道段 (BG)、洪德路段 (HD) 和黄埔涌苗艺路段 (MY) 的 14P、15P、16P 值与对照点 (REF) 相比差异显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 在冬季, 除了海珠涌宝岗大道段 (BG) 和黄埔涌赤岗路段 (CG)、苗艺路段 (MY) 的 14P 值与对照点 (REF) 相比差异不明显 ( $P > 0.05$ ) 外, 海

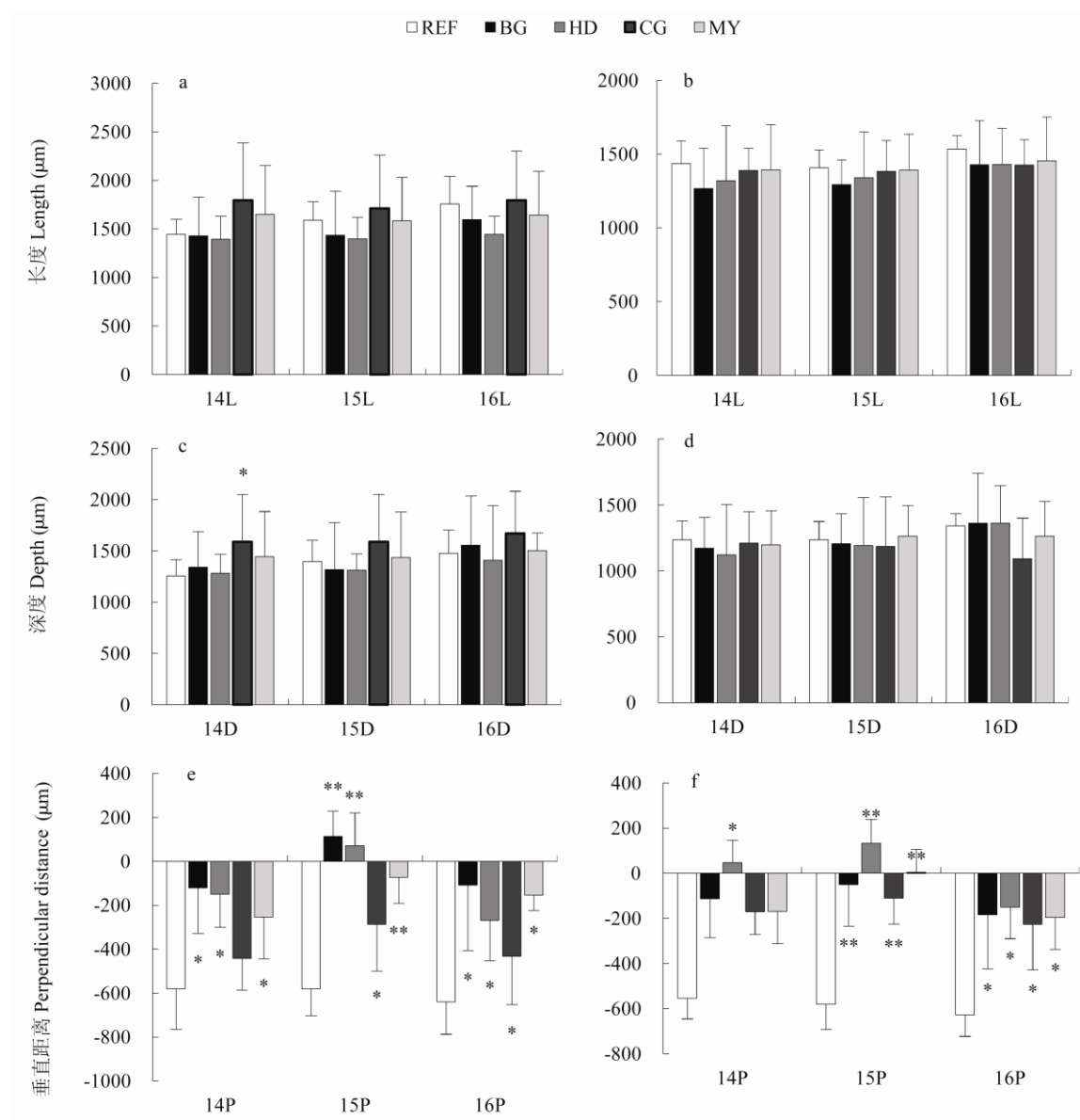


图 6 不同采样点成年雌性食蚊鱼第 14、15、16 椎体脉棘的长度

Fig. 6 The length of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult female mosquitofish at different sampling sites

a. *L* 值 (夏季); b. *L* 值 (冬季); c. *D* 值 (夏季); d. *D* 值 (冬季); e. *P* 值 (夏季); f. *P* 值 (冬季); REF. 对照点; BG. 海珠涌宝岗大道段; HD. 海珠涌洪德路段; CG. 黄埔涌赤岗路段; MY. 黄埔涌苗艺路段. L. 椎体脉棘的总长; P. 椎体脉棘末端与支点的投影距离; D. 椎体脉棘末端与支点的垂直距离. 同一季节, 不同采样点与对照点之间的比较, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异显著极显著. 成年雌性食蚊鱼样本数 (尾) 765.

a. *L* value (Summer); b. *L* value (Winter); c. *D* value (Summer); d. *D* value (Winter); e. *P* value (Summer); f. *P* value (Winter); REF. Reference point; BG. Baogang avenue section; HD. Hongde section; CG. Chigang section; MY. Miaoyi section. Comparisons between different sampling sites and reference site in the same season, \* show significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* show very significant difference ( $P < 0.01$ ). Adult female mosquitofish samples (mantissa) 765.

珠涌洪德路段 (HD) 的  $14P$ ，海珠涌宝岗大道段 (BG) 和洪德路段 (HD)、黄埔涌苗艺路段 (MY) 的  $15P$  和  $16P$  值差异显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) (图 6e, f)。

与对照点 (REF) 相比，夏季除了海珠涌洪德路段 (HD) 采样点成年雌性食蚊鱼的  $14P : 14D$  和  $16P : 16D$  差异不明显 ( $P > 0.05$ ) 以外，其他所有采样点的  $14P : 14D$ 、 $15P : 15D$  和  $16P : 16D$  差异显著或十分显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )；在冬季，除了海珠涌洪德路段 (HD) 和黄埔涌苗艺路段 (HY) 的  $14P : 14D$ 、海珠涌洪德路段 (HD) 的  $15P : 15D$  和海珠涌洪德路段 (HD) 和黄埔涌苗艺路段 (HY) 的  $16P : 16D$  差异不明显 ( $P > 0.05$ ) 以外，其他所有采样点的  $14P : 14D$ 、 $15P : 15D$  和  $16P : 16D$  的差异都显著或十分显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) (图 7a、b)。与对照点相比，夏冬两季所有采样点的  $14L : 14D$ 、 $15L : 15D$  和  $16L : 16D$  差异都不明显 ( $P > 0.05$ ) (图 7c, d)。在夏季，与对照点 (REF) 相比，除了黄埔涌赤岗路段 (CG) 的  $14P : 14L$ 、 $15P : 15L$ 、 $16P : 16L$  和海珠涌洪德路段 (HD) 的第  $16P : 16L$  差异都不明显 ( $P > 0.05$ ) 以外，其他采样点的  $14P : 14L$ 、 $15P : 15L$ 、 $16P : 16L$  差异都显著或十分显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )；在冬季，除了黄埔涌赤岗路段 (CG) 和黄埔涌苗艺路段 (MY) 的  $14P : 14L$  和  $16P : 16L$  差异不明显 ( $P > 0.05$ ) 以外，其他所有采样点的  $14P : 14L$ 、 $15P : 15L$ 、 $16P : 16L$  差异都显著或十分显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) (图 7e, f)。

以上结果显示，与对照点相比，广州城市废水各采样点的成年雌性食蚊鱼的第 14、15、16 椎体脉棘出现了不同程度上的变异，其中  $P$ 、 $P : D$  和  $P : L$  均显著或十分显著增加，显示出形态雄性化的征状。

图 8a 显示正常成熟雌性食蚊鱼骨骼形态，每根椎体脉棘的长度差异不大，且均向后倾斜。图 8b ~ h 显示不同程度雄性化的雌性食蚊鱼骨骼的形态。雄性化的雌性食蚊鱼出现了雄性食

蚊鱼的第二性征，第 14、15、16 椎体脉棘出现了骨质增生，增长，并向前倾斜；而正常的雌鱼不具备这种结构。第 15 根椎体脉棘最敏感，变化最明显，其次为第 16 椎体脉棘，而第 14 椎体脉棘变化最小。第 14、15、16 椎体脉棘向后增生，表明食蚊鱼受污染严重。

## 2.6 受污染河涌中成年雄性食蚊鱼椎体脉棘形态的变化

夏冬两季海珠涌和黄埔涌各采样点成年雄性食蚊鱼的  $L$ 、 $D$  和  $P$  值与对照点 (REF) 相比均没有明显差异 ( $P > 0.05$ ) (图 9)。夏季及冬季差异不明显，不具备季节性差异 ( $P > 0.05$ )。

夏冬两季海珠涌及黄埔涌各个采样点成年雌性食蚊鱼的  $P : D$ 、 $L : D$  和  $P : L$  比值与对照点 (REF) 相比差异也都不明显 ( $P > 0.05$ ) (图 10a ~ f)。

## 3 讨论

### 3.1 广州河涌中城市废水污染对食蚊鱼臀鳍条发育的影响

在形态学上食蚊鱼具有明显的两性差异，雄性食蚊鱼较小，且具有由臀鳍延伸而成的交接器，即生殖足。正常情况下，食蚊鱼的臀鳍由 10 条鳍条组成，同时每条鳍条都分成若干节 (Orlando et al. 2007)。在国外已有关于食蚊鱼雄性化现象的报道。Howell 等 (1980) 首次报道了生活在美国的佛罗里达河下游造纸厂废水出水口附近水域的食蚊鱼出现了雄性化特征，臀鳍的发育和食蚊鱼的繁殖习性发生了变化。随后，国外大量野外和实验室实验证实了造纸废水能引起食蚊鱼产生雄性化效应 (Drysdale et al. 1989, Hodson et al. 1992, McMaster et al. 1991, Bortone et al. 1999, Larsson et al. 2002)，导致长期生活在造纸废水中雌性食蚊鱼的臀鳍条延长、分节数增加。国内近期也有相关的报道，生活在珠江三角洲地区一些河流的成年雌性食蚊鱼受雄激素物质干扰出现了形态雄性化的现象。如生活在东莞寒

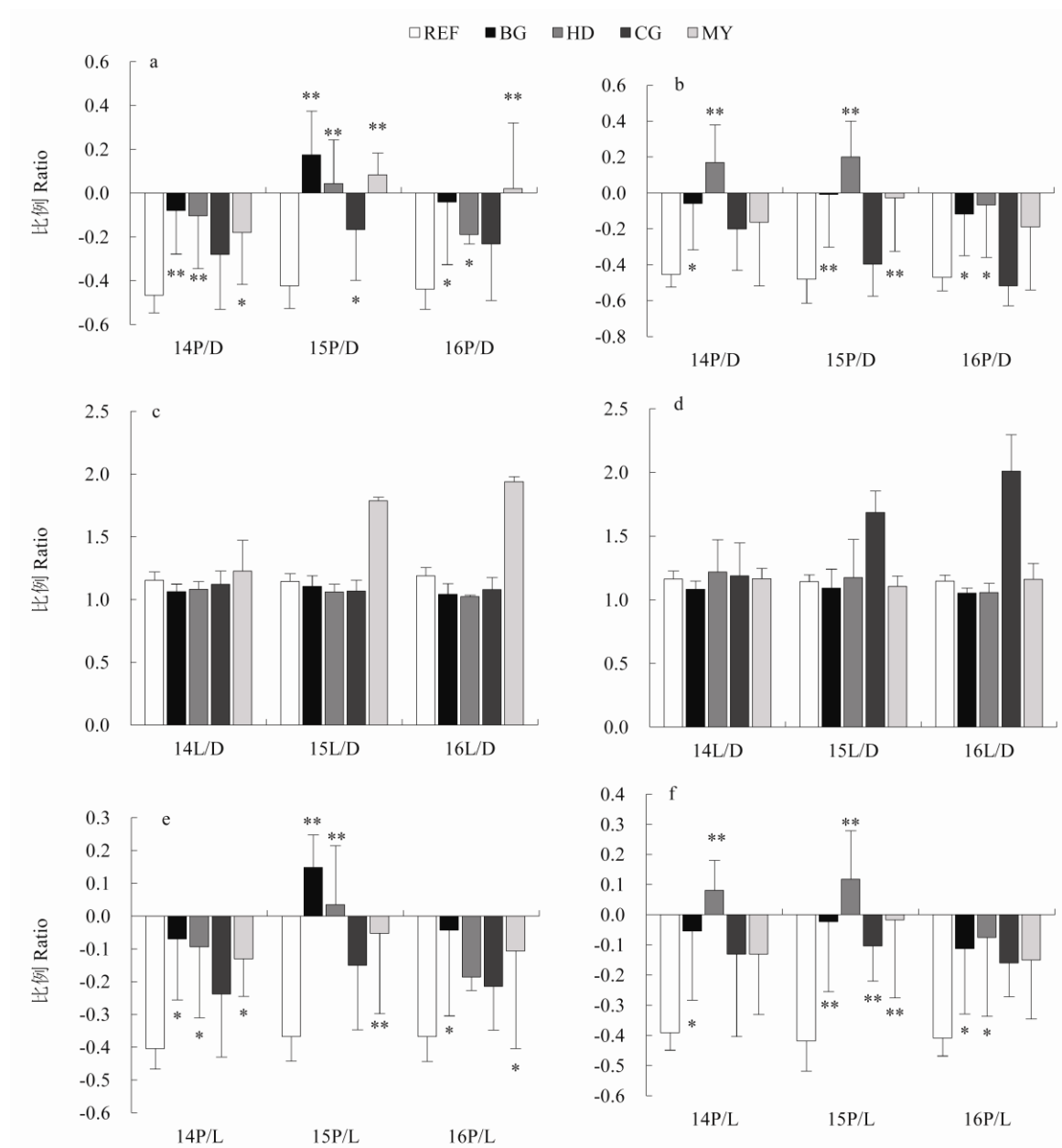


图 7 不同采样点成年雌性食蚊鱼第 14、15、16 椎体脉棘长度比例

Fig. 7 The length ratio of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult female mosquitofish at different sampling sites

a. P/D值 (夏季); b. P/D值 (冬季); c. L/D值 (夏季); d. L/D值 (冬季); e. P/L值 (夏季); f. P/L值 (冬季); REF. 对照点; BG. 海珠涌宝岗大道段; HD. 海珠涌洪德路段; CG. 黄埔涌赤岗路段; MY. 黄埔涌苗艺路段. L. 椎体脉棘的总长; P. 椎体脉棘末端与支点的投影距离; D. 椎体脉棘末端与支点的垂直距离. 同一季节, 不同采样点与对照点之间的比较, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异显著极显著. 成年雌性食蚊鱼样本数 (尾) 765.

a. P/D value (Summer); b. P/D value (Winter); c. L/D value (Summer); d. L/D value (Winter); e. P/L value (Summer); f. P/L value (Winter); REF. Reference point; BG. Baogang avenue section; HD. Hongde section; CG. Chigang section; MY. Miaoyi section. Comparisons between different sampling sites and reference site in the same season, \* show significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* show very significant difference ( $P < 0.01$ ). Adult female mosquitofish samples (mantissa) 765.

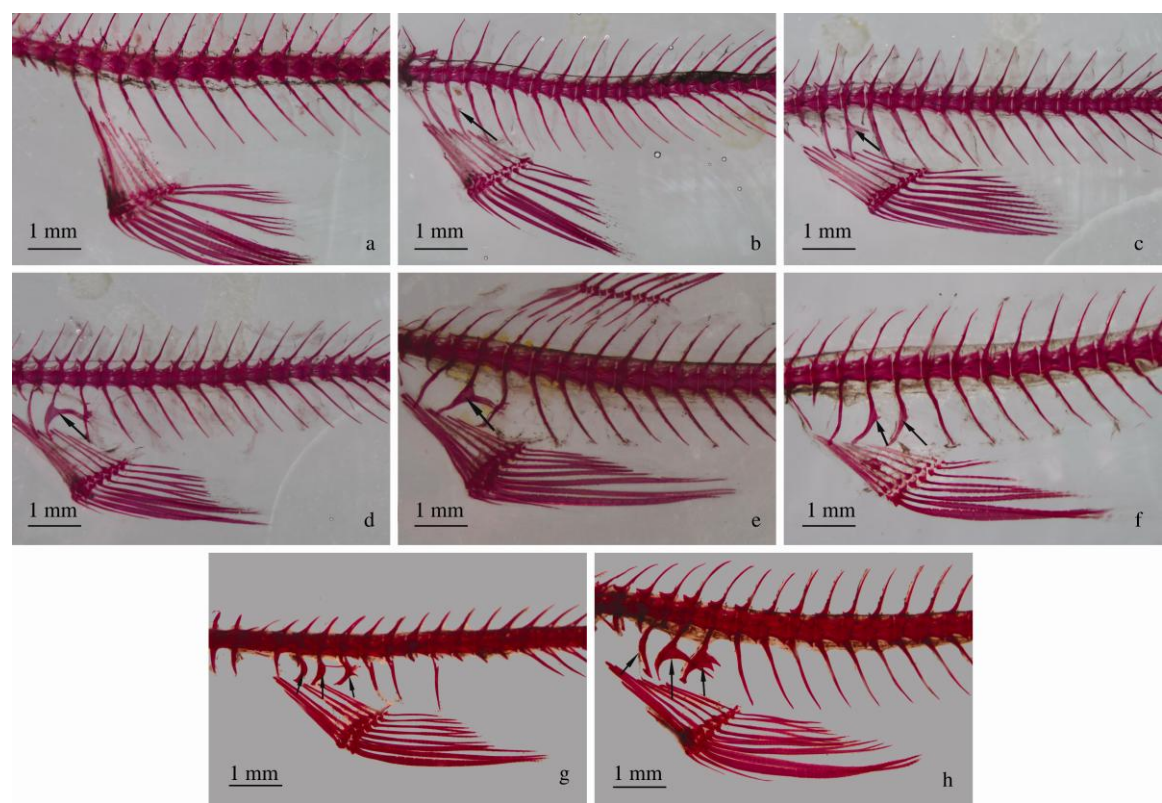


图 8 不同采样点成体雌性食蚊鱼骨骼形态变化

**Fig. 8 The skeleton morphogenetic changes in adult female mosquitofish at different sampling sites**  
a. 对照点正常成体雌性食蚊鱼；b ~ d. 黄埔涌雄性化的成体雌性食蚊鱼；e ~ h. 海珠涌雄性化的成体雌性食蚊鱼。箭头示骨骼向前倾斜及增生。成年雌性食蚊鱼样本数（尾）765。  
a. Normal adult female mosquitofish at the reference site; b - d. Masculinized adult female mosquitofish in Huangpu Creek; e - h. Masculinized adult female mosquitofish in Haizhu Creek. Arrow means the modification of skeletal morphology in masculinized adult female mosquitofish. Adult female mosquitofish samples (mantissa) 765.

溪河、四会市邓村河及广州市石牌涌、猎德涌中的成年雌性食蚊鱼较之在参照点的雌鱼，其第 3 臀鳍条的分节数显著增多，第 4 第 6 鳍条长度比值显著增大（谢勇平 2010，侯丽萍 2011，Wen et al. 2013）。成年雌性食蚊鱼长期生活在受环境雄激素类物质污染的水体中，其个体发育出现了形态雄性化的现象。表明食蚊鱼臀鳍长度变化和第 3 臀鳍条的分节数、第 4 与 6 鳍条长度的比值可以作为检测水环境中雌、雄激素类物质污染的生物标志物。

本研究与上述结果相一致。生活在受城市废水严重污染的海珠涌和黄埔涌采样点成年雌性食蚊鱼的第 4 臀鳍条长度延长，第 4 与 6 鳍

条长度的比值显著增大。海珠涌宝岗大道段和洪德路段采样点食蚊鱼第 4 臀鳍条增长，其第 4 与 6 鳍条长度比值高达 2，发生的形态雄性化特征十分明显；此外，该两采样点成年雌性食蚊鱼的骨骼形态发育变化明显，第 14、15、16 椎体脉棘向前弯曲，也显示其发生了形态雄性化现象。这些发现表明，广州海珠涌水体中存在诱导成年雌性食蚊鱼出现形态雄性化的雄激素类物质，而后续工作应该对该河涌的水样作长期监测，以确定其雌/雄激素的类型和含量。本研究还发现，虽然除了冬季黄埔涌苗艺路段（MY）采样点以外，夏冬两季海珠涌及黄埔涌其他各个采样点的成年雄性食蚊鱼第 4 臀鳍

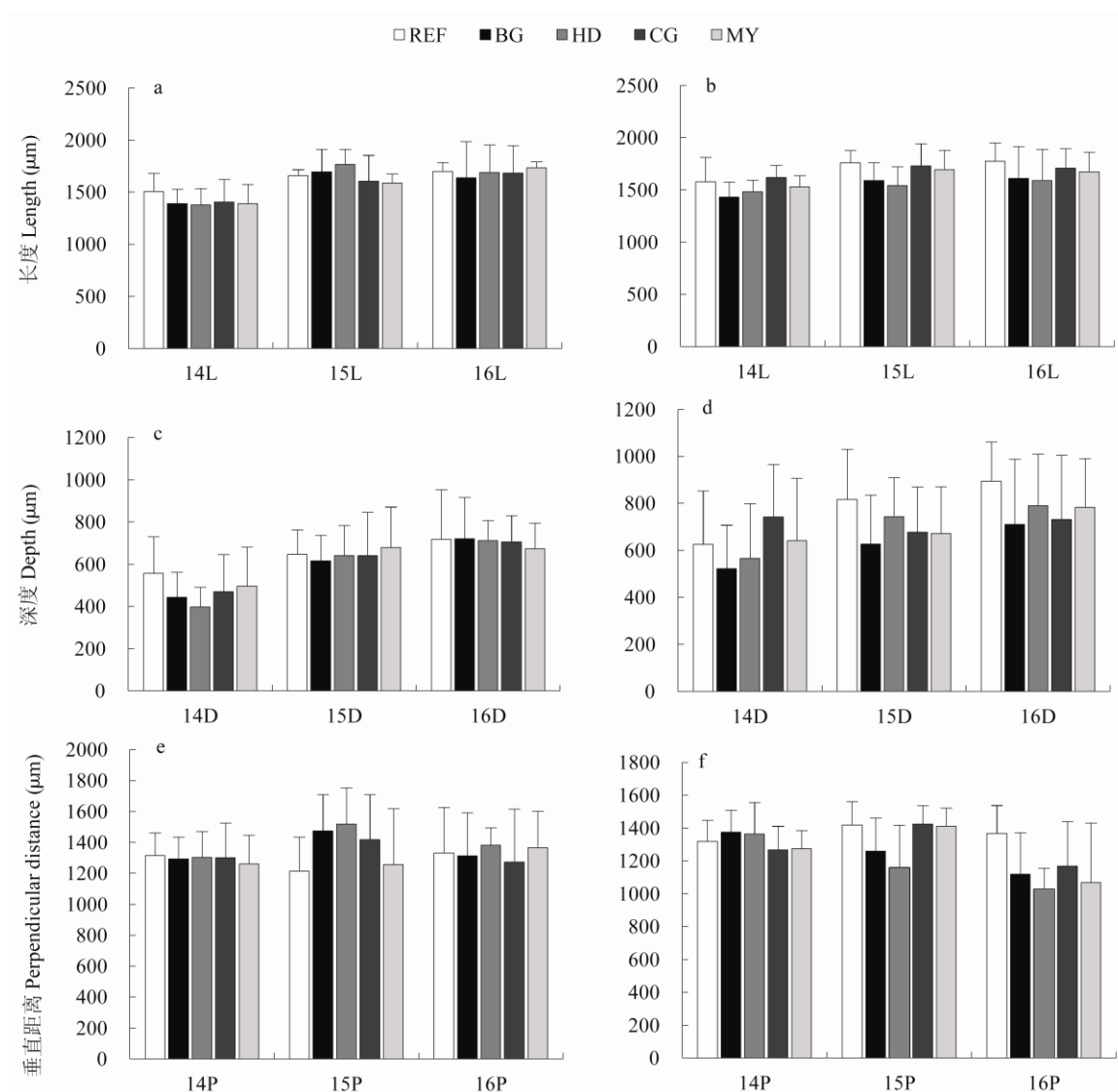


图9 不同采样点成年雄性食蚊鱼第14、15、16椎体脉棘的长度

Fig. 9 The length of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult male mosquitofish at different sampling sites

a. L值 (夏季); b. L值 (冬季); c. D值 (夏季); d. D值 (冬季); e. P值 (夏季); f. P值 (冬季); REF. 对照点; BG. 海珠涌宝岗大道段; HD. 海珠涌洪德路段; CG. 黄埔涌赤岗路段; MY. 黄埔涌苗艺路段. L. 椎体脉棘的总长; P. 椎体脉棘末端与支点的投影距离; D. 椎体脉棘末端与支点的垂直距离. 同一季节, 不同采样点与对照点之间的比较, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异显著极显著. 成年雄性食蚊鱼样本数 (尾) 551.

a. L value (Summer); b. L value (Winter); c. D value (Summer); d. D value (Winter); e. P value (Summer); f. P value (Winter); REF. Reference point; BG. Baogang avenue section; HD. Hongde section; CG. Chigang section; MY. Miaoyi section. Comparisons between different sampling sites and reference site in the same season, \* show significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* show very significant difference ( $P < 0.01$ ). Adult male mosquitofish samples (mantissa) 551.



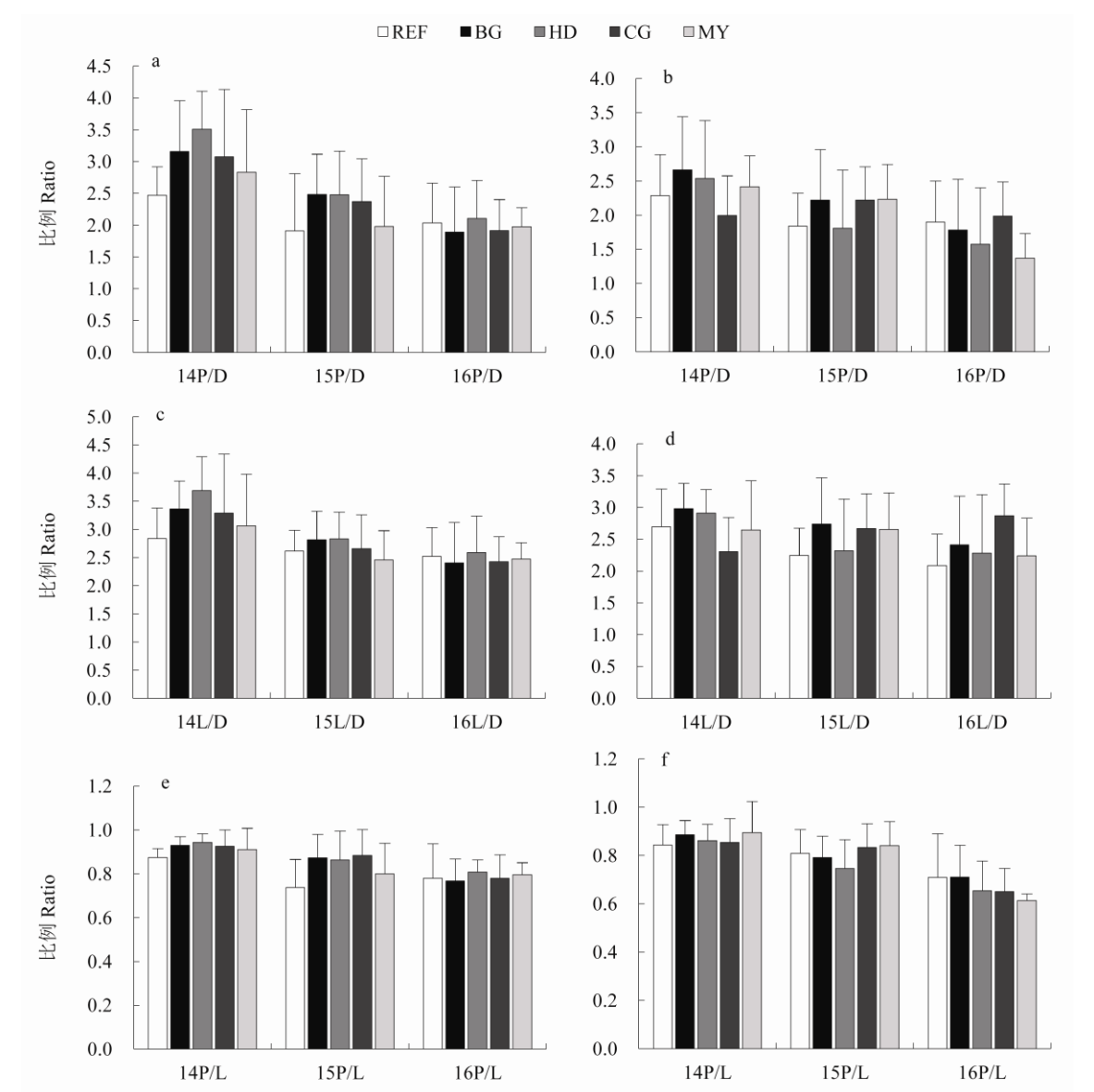


图 10 不同采样点成年雄性食蚊鱼第 14、15、16 椎体脉棘长度比例

**Fig. 10 The length ratio of 14<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup> hemal spines in adult male mosquitofish at different sampling sites**  
a. P/D值 (夏季); b. P/D值 (冬季); c. L/D值 (夏季); d. L/D值 (冬季); e. P/L值 (夏季); f. P/L值 (冬季); REF. 对照点; BG. 海珠涌宝岗大道段; HD. 海珠涌洪德路段; CG. 黄埔涌赤岗路段; MY. 黄埔涌苗艺路段; L. 椎体脉棘的总长; P. 椎体脉棘末端与支点的投影距离; D.椎体脉棘末端与支点的垂直距离。同一季节, 不同采样点与对照点之间的比较, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异显著极显著。成年雄性食蚊鱼样本数 (尾) 551。  
a. P/D value (Summer); b. P/D value (Winter); c. L/D value (Summer); d. L/D value (Winter); e. P/L value (Summer); f. P/L value (Winter); REF. Reference point; BG. Baogang avenue section; HD. Hongde section; CG. Chigang section; MY. Miaoyi section. Comparisons between different sampling sites and reference site in the same season, \* show significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* show very significant difference ( $P < 0.01$ ). Adult male mosquitofish samples (mantissa) 551.

条长度值均显著小于对照点,但是,与对照点相比,夏冬两季海珠涌及黄埔涌所有采样点的成年雄性食蚊鱼第4与6臀鳍条长度比值则无明显差异。这表明河涌中可能除了存在雄激素类物质以外也可能存在雌激素类物质。不少研究已经证明,城市废水成分十分复杂,存在多种雌激素/雄激素物质的相互作用。Schiffer等(2001)发现污水中同时存在雄激素和雌激素及雄激素或雌激素的混合物。Blankvoort等(2005)利用生物法在污水中同时检出雌激素和雄激素,并提出雌酮(estrone, E1)的存在强化了雄激素的活性,雌激素和雄激素的相互作用增强了对生物的内分泌干扰作用。Kortenkamp(2007)研究表明,同类内分泌干扰物之间(雄激素之间或雌激素之间)肯定能强化联合作用,但对于雌、雄激素间的相互作用机制还不清楚。本研究的结果暗示,海珠涌和黄埔涌中也可能存在雌激素或类雌激素化合物,对食蚊鱼的内分泌系统产生了干扰,抑制了雄性食蚊鱼的发育,造成臀鳍条变短变软,交配时雄鱼的精子不能及时输送到雌鱼体内。但这也将有待后续工作对河涌水质的检测,获得可能存在的雌激素类型和含量的相关数据,再深入研究其具体的作用机制,从而彻底了解水体环境激素对生物的联合效应。

### 3.2 广州河涌城市废水污染对食蚊鱼椎体脉棘发育的影响

有研究表明,鱼的性别分化受外源激素的影响。雄性食蚊鱼的第14、15、16椎体脉棘的发育受雄激素控制,这一过程需要雄激素浓度继续增加,这种调控同时也影响臀鳍条的发育和延长(Turner 1942)。Rosa-Molinar等(1994)调查了雄性食蚊鱼及其近缘种椎体脉棘的发展,发现其发育与激素存在相关关系。把雄性食蚊鱼暴露于100 ng/L雌二醇中,雄鱼的第14、15、16椎体脉棘发育延迟(Doyle et al. 2002)。生活在珠江三角洲地区的东莞、四会邓村、广州市城市废水中的食蚊鱼的椎体脉棘发生了变异,第14、15、16椎体脉棘的 $P$ 、 $D$ 值及 $P$  :

$D$ 都发生了改变,揭示了污水中存在雌、雄激素类物质(Xie et al. 2010, Hou et al. 2011, Wen et al. 2013)。因此,食蚊鱼第14、15、16椎体脉棘的形态变化可作为监测水环境中雌/雄激素物质污染的生物标志物。

本研究发现,与对照点相比,受城市废水严重污染的海珠涌和黄埔涌中生活的成体雌性食蚊鱼第14、15、16椎体脉棘出现了不同程度的变异。其中 $P$ 值、 $P$  :  $D$ 和 $P$  :  $L$ 均在统计学水平上呈显著性增加,表现出形态雄性化的特征。 $P$ 、 $D$ 和 $L$ 值及两两的比值是研究内分泌干扰物效应的一项非常有价值的测量指标(Rawson et al. 2006)。本研究中默认雄鱼 $P$ 值大于零,因此,按其坐标测量,正常的成体雌性食蚊鱼的 $P$ 值均小于零,形态雄性化的雌鱼 $P$ 值增加。 $P$ 值增加表明雌鱼的椎体脉棘出现不同程度向前弯曲,当 $P$ 值大于0表明椎体脉棘向前移动超过垂线。在本研究中,我们发现 $P$ 值是一个能更理想地反映雄激素物质作用的生物标志物,较 $D$ 和 $L$ 值能更好地反映雄激素物质的作用。而 $P$  :  $D$ 值的增加,则意味着椎体脉棘倾斜的角度发生变化,逐渐向雄性化转化。

雌性食蚊鱼若长期生活在受城市废水(可能含有雄激素或类雄激素化合物)污染的河涌中,骨骼的生长将受水体中雄激素或类雄激素化合物的影响,造成第14、15、16椎体脉棘出现形态雄性化转变,脉棘的发育出现增厚、增长,并向前倾斜,雄性化的雌性食蚊鱼因此显示雄性食蚊鱼的第二性征。Rawson等(2008)详细地观察了食蚊鱼的近缘种*Gambusia holbrooki*的骨骼发育过程,发现雄鱼的第16椎体脉棘最先发育,紧随其后的是第14和第15椎体脉棘;将雄鱼暴露于雌激素化合物中,发育会变得缓慢。在本研究中我们则发现,成体雌性食蚊鱼的第15椎体脉棘对污染物(雄激素或类雄激素化合物)最敏感,其次为第16椎体脉棘,最后为第14椎体脉棘。对海珠涌和黄埔涌各采样点成体雄性食蚊鱼样本观察的结果表明,第15椎体脉棘的发育对水体的污染物(雄

激素或类雄激素化合物)最为敏感,相对第14和第16椎体脉棘来说,第15椎体脉棘最先出现变化,并向后增生钩状骨质样组织(图8)。椎体脉棘增生钩状骨质样组织的现象在食蚊鱼近缘种雄性*G. holbrooki*的早期发育过程中已被Rawson等(2006)所观察和报道,由此可见,这是雌鱼雄性化过程其骨骼的正常发育过程。可以推断广州城市河涌中成体雌性食蚊鱼的椎体脉棘长出的这些结构,是由于废水中雄激素或类雄激素化合物的长期毒性作用,诱导了雌鱼发生了雄性化发育的结果。

## 参 考 文 献

- Blankvoort B M G, Rodenburg R J T, Murk A T J, et al. 2005. Androgenic activity in surface water samples detected using the AR-LUX assay: indications for mixture effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(2): 263–272.
- Bortone S A, Cody R P. 1999. Morphological masculinization in Poeciliid females from a paper mill effluent receiving tributary of the St. Johns River, Florida, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(2): 150–156.
- Doyle C J, Lim R P. 2002. The effect of 17 $\beta$ -estradiol on the gonopodial development and sexual activity of *Gambusia holbrooki*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(12): 2719–2724.
- Drysdale D T, Bortone S A. 1989. Laboratory induction of intersexuality in the mosquitofish, *Gambusia affinis*, using paper mill effluent. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(4): 611–617.
- Hodson P V, Thivierge D, Levesque M C, et al. 1992. Effects of bleached kraft mill effluent on fish in the St. Maurice River, Quebec. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(11): 1635–1651.
- Hou L P, Xie Y P, Ying G G, et al. 2011. Developmental and reproductive characteristics of western mosquitofish (*Gambusia affinis*) exposed to paper mill effluent in the Dengcun River, Sihui, South China. *Aquatic Toxicology*, 103(3/4): 140–149.
- Howell W M, Black D A, Bortone S A. 1980. Abnormal expression of secondary sex characters in a population of mosquitofish, *Gambusia affinis holbrooki*: evidence for environmentally-induced masculinization. *Copeia*, 1980(4): 676–681.
- Kortenkamp A. 2007. Ten years of mixing cocktails: A review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environmental Health Perspectives*, 115(Suppl 1): 98–105.
- Larsson D G, Friln L. 2002. Male-biased sex ratios of fish embryos near a pulp mill: temporary recovery after short-term shutdown. *Environmental Health Perspectives*, 110(8): 739–742.
- Leusch F D L, Chapman H F, Kay G W, et al. 2006. Anal fin morphology and gonadal histopathology in mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) exposed to treated municipal sewage effluent. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50(4): 562–574.
- McMaster M E, van Der Kraak G J, Portt C B, et al. 1991. Changes in hepatic mixed-function oxygenase (MFO) activity, plasma steroid levels and age at maturity of a white sucker (*Catostomus commersoni*) population exposed to bleached Kraft mill effluent. *Aquatic Toxicology*, 21(3/4): 199–217.
- Orlando E F, Bass D E, Caltabiano L M, et al. 2007. Altered development and reproduction in mosquitofish exposed to pulp and paper mill effluent in the Fenholloway River, Florida USA. *Aquatic Toxicology*, 84(4): 399–405.
- Orlando E F, Binczik G A, Thomas P, et al. 2003. Reproductive seasonality of the male Florida gar, *Lepisosteus platyrhincus*, Orange Lake, Florida USA. *General and Comparative Endocrinology*, 131(3): 365–371.
- Rawson C A, Lim R P, Warne M St. J. 2008. Skeletal morphology and maturation of male *Gambusia holbrooki* exposed to sewage treatment plant effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3): 453–461.
- Rawson C A, Lim R P, Warne M St. J, et al. 2006. The effect of 17 $\beta$ -estradiol on the development of modified hemal spines in early life-stage *Gambusia holbrooki*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(2): 253–262.
- Rosen D E, Gordon M. 1953. Functional anatomy and evolution of male genitalia in Poeciliid fishes. *Zoologica*, 38(1): 1–47.
- Rosa-Molinar E, Hendricks S E, Rodriguez-Sierra J F, et al. 1994.

- Development of the anal fin appendicular support in the western mosquitofish, *Gambusia affinis affinis* (Baird and Girard 1854): A reinvestigation and reinterpretation. *Acta Anatomica*, 151(1): 20–35.
- Schiffer B, Daxenberger A, Meyer K. 2001. The fate of trenbolone acetate and melengestrol acetate after application as growth promoters in cattle: environmental studies. *Environmental Health Perspectives*, 109(11): 1145–1151.
- Turner C L. 1942. Morphogenesis of the gonopodial suspensorium in *Gambusia affinis* and the induction of male suspensorial characters in the female by androgenic hormones. *Journal of Experimental Zoology*, 91(2): 167–193.
- Wen R S, Xie Y P, Wan C X, et al. 2013. Estrogenic and androgenic effects in mosquitofish (*Gambusia affinis*) from municipal effluent contaminated streams in Guangzhou, China. *Aquatic Toxicology*, 132/133: 165–172.
- Xie Y P, Fang Z Q, Hou L P, et al. 2010. Altered development and reproduction in western mosquitofish (*Gambusia affinis*) found in the Hanxi river, Southern China. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (11): 2607–2615
- 陈冠浩, 王名其. 2000. 广州市海珠区志 (1991 - 2000). 广州: 广东人民出版社, 1–12.
- 陈明, 任仁, 王子健, 等. 2007. 北京工业废水和城市污水环境激素污染状况调查. *环境科学研究*, 20(6): 1–7.
- 甘海燕, 杨竹青, 王自蕊, 等. 2013. 城市生活污水对斑马鱼肝脏组织结构和 *NF- $\kappa$ B* 基因表达的影响. *江西农业大学学报*, 35(1): 179–183.
- 郭莉. 2013. 综合废水和环境水样遗传毒性评价新方法研究. 大连: 大连理工大学硕士学位论文, 12–28.
- 侯丽萍. 2011. 造纸废水致食蚊鱼内分泌干扰及生态毒理效应的研究. 广州: 华南师范大学博士学位论文, 114–123.
- 李莉, 马陶武, 吴振斌. 2004. 生活污水对稀有鮎鲫的毒性效应研究. *水生生物学报*, 28(1): 40–44.
- 刘在平, 张松林. 2010. 城市污水对斑马鱼胚胎的影响. *生态环境学报*, 19(12): 2911–2915.
- 潘炯华, 苏炳之, 郑文彪. 1980. 食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 的生物学特性及其灭蚊利用的展望. *华南师范大学学报: 自然科学版*, 12(1): 118–138.
- 吴玲玲, 陈玲, 张亚雷. 2006. 菲对斑马鱼鳃和肝组织结构的影响. *生态学杂志*, 26(5): 688–692.
- 谢勇平. 2010. 东莞城市废水致寒溪河食蚊鱼内分泌干扰效应的研究. 广州: 华南师范大学硕士学位论文, 60–70.
- 张青碧, 甘仲霖, 韩知峡, 等. 2008. 城市生活污水对水生动物斑马鱼的发育毒性研究. *现代预防医学*, 35(23): 4568–4569.
- 郑习健. 1994. 珠江广州河段底泥中汞铜铅的污染及其与有机质硫化物积累的关系. *热带亚热带土壤科学*, 3(3): 132–137.