

## 铅、镉、汞对皱纹盘鲍幼鲍的急性毒性试验\*

22-26

隋国斌\*\*

杨 凤

孙丕海

雷衍之

(大连水产学院养殖系)

**摘 要** 在水温 14~16℃ 的条件下, 分别用铅、汞、镉溶液对皱纹盘鲍幼鲍(6 月龄) 进行急性毒性试验。结果表明: 毒性大小依次为汞 > 镉 > 铅。汞对幼鲍 24、48、96 h 的  $LC_{50}$  (半致死浓度) 分别为 0.282, 0.164, 0.123 mg/L。镉对幼鲍 24、48、96 h 的  $LC_{50}$  分别为 8.68, 7.10, 4.60 mg/L。铅浓度达到 10 mg/L 时, 水中出现沉淀, 幼鲍 96 h 无死亡现象。幼鲍对汞中毒和镉中毒的反应现象不同。汞和镉对幼鲍的联合急性毒性表现为拮抗作用。

**关键词** 铅; 镉; 汞; 毒性试验; 皱纹盘鲍

**中图分类号** X503.225

国内外对鲍鱼的研究多集中在多倍体、养殖生物学、人工育苗、营养与饵料及病害防治等问题上。关于重金属对鲍鱼毒性的研究较少, 仅见 Martin, M.<sup>[1]</sup>、Hunt<sup>[2]</sup>、刘士忠等<sup>[3]</sup>、中村良一<sup>[4]</sup>报道了铜、锌、钴等金属离子对鲍鱼的毒性。铅、镉、汞是常见的重金属污染物, 随着工业的发展, 其对海区的污染不容忽视, 而它们对鲍鱼毒性研究尚未见报道, 为此作者做了这方面的试验, 期望能对鲍鱼养殖业提供参考。水生生物早期发育阶段是生活周期对化学物质最敏感的阶段, 或者最敏感的阶段之一, 在该阶段预测的最大允许毒物浓度, 与全生活周期试验求得的最大允许毒物浓度对许多化学物质是一致的或者是相近的<sup>[5]</sup>。因此作者选用 6 月龄的皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 幼鲍作为实验生物。该龄的幼鲍正要从室内移向海区养殖, 此时幼鲍受环境影响较大。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验用鲍鱼

实验用鲍取自大连太平洋养殖公司。鲍龄 6 个月左右, 规格相近, 体长为  $(1.5 \pm 0.2)$  cm, 体重为  $(0.5 \pm 0.1)$  g。幼鲍在实验室水槽暂养一周以上。

### 1.2 器皿与药品

试验用容器为 20 L 圆玻璃缸。试验用水为大连黑石礁砂滤海水, 盐度为 30~32, pH8.0,  $COD_{Mn}$  0.90 mg/L, 总硬度 124 mg/L。试验用药  $Pb(NO_3)_2$ 、 $HgSO_4$ 、 $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$  皆为国产分析纯化学试剂。 $Pb(NO_3)_2$ 、 $HgSO_4$ 、 $CdCl_2$  母液用纯水分别加少

收稿日期: 1998-07-03

\* 该文系大连市科委资助项目

\*\* 隋国斌: 1973 年生, 男, 硕士研究生, 大连 116023

量  $\text{HNO}_3$ 、 $\text{HNO}_2$ 、 $\text{HCl}$  配制。

### 1.3 实验方法

单因子急性毒性实验采用静水实验法。为减少玻璃容器对重金属的吸附,实验前用对应的重金属溶液浸泡玻璃缸 24 h 以上。实验时每个玻璃缸放入 10.0 L 海水,重金属溶液加入水中,混合均匀。试验溶液重金属浓度设 7~10 个等浓度对数梯度。由于配制重金属溶液时用了少量酸,因此用 0.1 mol/L NaOH 调 pH 于海水相近。取 10 只幼鲍放在黑色波纹板上,然后把波纹板放入缸底。实验期间玻璃缸溶液冲空气,不投饵,24 h 换一次试验液。试验温度 14~16℃。幼鲍中毒后,多次刺激无反应判断为死亡,并在水中捞出。每一实验重复 2~3 次。

镉、汞联合毒性实验采用等毒性溶液法<sup>[5]</sup>,用 48 h  $\text{LC}_{50}$  (半致死浓度) 作为 1 个毒性单位。设置 6 组毒性单位都为 1 个的等毒性试验溶液,汞与镉毒性单位之比分别为 1.0:0.0, 0.8:0.2, 0.6:0.4, 0.4:0.6, 0.2:0.8, 0.0:1.0。其他方法及条件同上。实验重复 3 次。

### 1.4 记录与计算

试验开始后,观察幼鲍中毒反应。每 24 h 观察试验组和对照组幼鲍死亡数,计算死亡百分率,由死亡百分率在百分率与概率单位换算表中查出对应的概率单位,算出试验液浓度对数,并求出概率单位与试验液浓度对数的回归方程。 $\text{LC}_{50}$  根据概率单位法求出<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 中毒症状

幼鲍在铅浓度为 10mg/L 的海水中(铅已饱和) 96h 没有明显的中毒反应,而在较高浓度(96 h 内可致死)的汞、镉溶液中,中毒反应明显,但表现出现象不一样。

汞中毒试验开始几个小时后,幼鲍脱离波纹板,沿缸壁向水面爬,有半数以上爬到水面边缘,附着在缸壁上。随着时间延长,幼鲍附着力下降,脱离缸壁,在缸底翻身,最后死亡。

镉中毒试验开始数小时后,幼鲍脱离波纹板,附着在缸底的四处,随着中毒时间延长,附着力下降、翻身并逐渐死亡。而对照组的幼鲍附着在波纹板下无死亡现象。幼鲍在汞、镉中毒死亡后的现象也不一样。幼鲍在汞中毒死亡后,下足收缩,较硬,泛白,表面光滑,上足收缩,边缘与下足边缘平齐。幼鲍在镉中毒后,下足扁平,松弛,较软,表面有粘性,颜色较暗,上足未收缩,边缘伸出下足外。

从以上描述可以看出,镉、汞对幼鲍中毒现象明显不同。据文献 [6] 报道,汞、镉对生物有着不同的作用机理。镉对生物有害影响首先是使一定的活性传递机制受阻,肾受损伤,酶受危害以及内分泌系统受影响,使生物机能失调;汞能够引起中枢神经系统不可修复的损伤,汞能够和酶的巯基稳定结合,使酶失去活性,因而破坏了细胞

的基本功能和正常代谢,致使生物中毒。幼鲍对汞、镉中毒反应现象不同,可能是其对汞、镉不同中毒机理的一种外在反映。这在一定程度上暗示着中毒机理和外在中毒反应存在着一定的相关性。许多重金属对生物致毒机理是不同的<sup>[6]</sup>,生物中毒后的症状也很可能存在差异。但是许多学者在报道重金属对生物毒性试验中未指出中毒症状差异或指出没有差异<sup>[3,7,8]</sup>。当然,这不能排除实验生物中毒后的症状差别难以观察到的可能性,但生物在重金属中毒后的症状差异仍是试验中值得注意的。

## 2.2 铅、汞、镉对幼鲍的急性毒性

铅对幼鲍的毒性较小。当铅浓度达到 10mg/L 以上时,海水中已出现沉淀,96h 幼鲍无死亡现象,并且活力正常和对照组无明显差异。

汞和镉对幼鲍的毒性作用明显(表1)。汞对幼鲍的半致死浓度比镉小数十倍,可以看出汞对幼鲍的毒性比镉大得多,这与众多报道是一致的。由半致死浓度推导安全浓度有许多经验公式<sup>[5]</sup>,若采用经验公式  $96\text{ h LC}_{50} \times 0.01$ ,则汞、镉对幼鲍的安全浓度分别为 0.00123, 0.046 mg/L。汞、镉的国家渔业水质标准分别为 0.0005, 0.005 mg/L,本试验推导的安全浓度是标准的 2.46 倍和 9.20 倍。一般情况下,温度升高,重金属的毒性增强。本试验是在 14~16℃下进行的,如果在常温下进行,得出的安全浓度会更低,将与渔业水质标准更为接近。关于汞、镉、铅对生物毒性报道较多<sup>[3,7,8]</sup>,但由于不同生物、不同发育阶段、不同试验温度、水质和重金属的不同形态等其他试验条件对生物重金属的中毒水平影响较大,因此相互间中毒水平的比较有一定的难度。尽管如此,从试验结果及与渔业水质标准的比较上,仍可看出幼鲍对重金属有较强的耐受性。本试验仅以重金属的总投入量为依据。事实上重金属对生物的影响由其存在形态所决定,并受海水中的有机物、无机物、硬度、温度、pH、胶体、浮游生物所影响<sup>[9,10]</sup>。有关上述因素的影响,尚待进一步研究。

表1 铅、汞、镉对幼鲍的急性毒性试验结果\*

重金属 种类	暴露时间 /h	概率单位-浓度 对数回归方程	相关系数 r	n	LC <sub>50</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	LC <sub>50</sub> 95%置信限 浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )
汞	24	$Y = 6.832 + 3.334X$	0.967	6	0.282	0.215~0.369
	48	$Y = 10.878 + 7.479X$	0.971	5	0.164	0.143~0.188
	96	$Y = 15.145 + 11.15X$	0.974	5	0.123	0.108~0.139
镉	24	$Y = -7.232 + 13.034X$	0.996	7	8.68	8.14~9.24
	48	$Y = -4.536 + 11.202X$	0.994	5	7.10	6.47~7.74
	96	$Y = 0.332 + 7.041X$	0.988	5	4.60	3.76~5.63
铅	96	铅浓度为 10 mg/L (已饱和), 鲍 96 h 无死亡				

\* 试验温度为 14~16℃

实验结束后,把存活下来的幼鲍放入水槽中继续养殖,和未受镉、汞中毒正常的幼鲍一样管理。3 个月后发现此批幼鲍死亡 20% 左右,而正常的幼鲍几乎无死亡。由此可见,实验后存活下来的幼鲍,有的个体尽管在实验后短时间内未死亡,但受到了致命的不可恢复创伤。

在一般情况下, 海水中汞、镉、铅浓度都比较低, 鲍的生长不会受到影响。但在靠近工厂易受重金属污染的海区, 有必要对海区进行监测。一方面可避免对鲍等其他养殖业造成危害; 另一方面, 由于鲍对重金属有较强的耐受性, 海区若受轻微污染, 鲍的生长可能不受影响, 但重金属会富集在其体内, 食用后会对人造成危害。

### 2.3 汞、镉对幼鲍的联合急性毒性

实验结果见图 1。各组毒性单位相同, 都为 1 个单位, 但除 1.0:0.0 和 0.0:1.0 组 (单因子毒性溶液) 幼鲍死亡率为 50% 外, 其他组 (双因子毒性溶液) 幼鲍死亡率都小于 50%。实验结果表明, 汞、镉对幼鲍的 48 h 联合急性毒性表现为拮抗作用。关于汞、镉对生物的联合毒性作用, 各文献报道不一致。据文献 [5] 报道, 镉和汞在急性实验中表现为相加作用, 在亚急性实验中表现为协同作用。安育新等<sup>[11]</sup>报道汞、镉对蒙古裸腹蚤有联合作用, 其毒性增强。Joseph, W. R. 等<sup>[12]</sup>报道汞和镉对崎岖鱼腥藻生物量的联合影响是拮抗。关于重金属间对生物联合作用表现为拮抗的例子很多, 如 Hg - Cu, Cd - Se, Cd - Zn, Fe - Mn, Cu - Hg, Cu - Au, Cu - Mo, Cu - Zn, Cu - Cd<sup>[13]</sup>, Se - Hg, Cd - Fe, Se - As, Se - Cu, Cu - Fe, Fe - Zn, Hg - Zn, Ca - Zn<sup>[14]</sup>。但关于重金属拮抗机理报道较少, 这主要由于机理相当复杂, 研究具有很大的难度。Joseph WR<sup>[12]</sup>对实验结果解释为汞、镉的拮抗作用可能是由于二者竞争同一吸附位点所致。由于汞对吸附位点结合力较强, 首先结合了位点, 使镉得不到无障碍的位点而不能达到预期的影响。Joseph, W. R.<sup>[12]</sup>的解释是从重金属对生物作用的一般机理出发, 如重金属能与酶的许多基团结合, 从而破坏酶的活性; 重金属能与细胞膜的磷酸中氧配位, 改变细胞的通透性; 此外重金属还能与核酸结合, 破坏遗传结构等等。因此该解释有一定的道理, 但没有考虑到镉对生物作用的特性。据文献 [14], 镉在生物体内可强烈诱导出金属硫蛋白, 金属硫蛋白浓度 6 小时后可达最高峰, 且随投喂镉量的增加而增加; 金属硫蛋白有大量巯基, 对金属的结合能力很强, 能与周围的金属结合; 贝类中发现金属硫蛋白的存在; 汞比镉对巯基有更强烈的结合能力。因此, 笔者认为汞、镉对鲍的拮抗机理可能是由于镉在鲍体内诱导出大量的金属硫蛋白, 汞比镉优先与金属硫蛋白结合, 这样就掩蔽了汞的毒性, 使其不能发挥预期的影响。据文献 [14], 小白鼠在汞中毒以前, 喂少量的镉可以降低汞的毒性。这也可能由于上述机理所致。

王华和方厚生同志参与了本实验部分工作, 在此一并致谢!

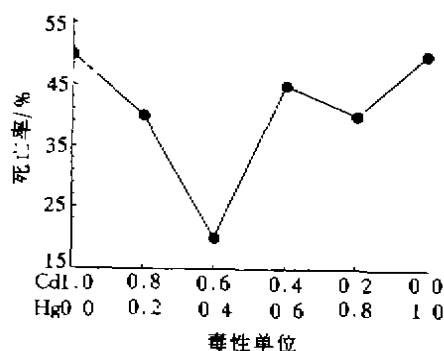


图 1 汞、镉对皱纹盘鲍幼鲍的联合急性毒性作用

## 参 考 文 献

- 1 Martin M, Stephenson M D, Martin J H. Copper toxicity experiments in relation to abalone deaths observed in a power plant cooling water. Calif Fish Game, 1977, 63(2):95
- 2 Hunt J W, Anderson B S. Sublethal effects of zinc and municipal effluents on larvae of the red abalone *Haliotis rufescens*. Mar Biol, 1989, 101(4):545 ~ 552
- 3 刘士忠, 潘智韬, 程国宝. 铜、锌离子对皱纹盘鲍幼体毒性的初步研究. 浙江水产学院学报, 1987, 6(1):31 ~ 38
- 4 中村良一. 化学形式和摄入途径对鲍鱼积累放射性钴的影响. 日本水产学会志, 1982, 48(11):1639 ~ 1644
- 5 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性实验方法. 北京: 农业出版社, 1989, 1 ~ 157
- 6 王俊, 张义生. 化学污染物与生态效应. 北京: 中国环境科学出版社, 1993, 156 ~ 225
- 7 蓝伟光, 陈霓. Hg, Cu, Cd, Zn 对真鲷仔鱼的急性毒性研究. 海洋科学, 1991(5):56 ~ 59
- 8 刘亚杰, 王笑月. 锌、铜、铅、镉金属离子对海湾扇贝稚贝的急性毒性试验. 水产科学, 1995, 14(1):10 ~ 12
- 9 袁有宪, 曲克明. 海水中痕量金属元素对海洋生物作用研究的进展. 水产学报, 1995, 19(3):250 ~ 257
- 10 刘清, 王子健, 汤鸿霄. 重金属形态与生物毒性有效性关系的进展. 环境科学, 1996, 17(1):89 ~ 92
- 11 安育新, 何志辉. 海水中四种重金属对蒙古裸腹蚤的毒性. 水产学报, 1991, 5(4):273 ~ 281
- 12 Joseph W R, Thomas E J, Barbara W. The toxicological response of the alga *Anabaena flos-aquae* to cadmium. Arch Environ Contam Toxicol, 1984(3):143 ~ 151
- 13 况琪军. 重金属对藻类的致毒效应. 水生生物学报, 1996, 20(3):277 ~ 283
- 14 下破敬一郎. 生物体与重金属. 北京: 中国环境科学出版社, 1985, 166 ~ 225

## The Acute Toxicity Tests of Pb, Hg and Cd to Larvae of *Haliotis Discus Hannai* Ino

Sui Guobin   Yang Feng   Sun Peihai   Lei Yanzhi

(Department of Aquaculture, DFLU)

**Abstract** The acute toxicity of mercury (as  $\text{HgSO}_4$ ), cadmium (as  $\text{CdCl}_2$ ) and lead (as  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) to larvae of abalone (six months old) was studied with the static test method at 14 ~ 16 °C. The results show that the toxicity sequence of three heavy metals to larvae of abalone is  $\text{Hg} > \text{Cd} > \text{Pb}$ . The  $\text{LC}_{50}$  (median lethal concentration) of 24, 48 and 96 h for Hg to larval abalone are 0.282, 0.164 and 0.123 mg/L respectively. The  $\text{LC}_{50}$  of 24, 48 and 96 h for Cd to larval abalone are 8.68, 7.10 and 4.60 mg/L respectively. No abalone was lethal in 10 mg/L Pb seawater (the Pb solution was saturated) for 96 h. The toxic symptoms of Hg and Cd to abalone are different. The combined toxicity of Hg and Cd to abalone shows antagonism.

**Key words** Pb; Cd; Hg; acute toxicity; larvae of *Haliotis discus hannai*