

水温和余氯对泥蚶胚胎发育的毒性效应

陈琳^{1,2}, 滕爽爽², 朱爱意², 黄晓林², 肖国强^{1,2}

(1. 浙江海洋大学 国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江 舟山 316022; 2. 浙江省海洋水产养殖研究所 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室 温州市海洋生物遗传育种重点实验室, 浙江 温州 325005)

摘要: 为了研究三门湾海域温排水污染对水生动物发育的影响, 本实验通过室内模拟三门湾核电站温排水的余氯残留和温升效应, 研究了不同温度和不同游离余氯质量浓度耦合下对泥蚶(*Tegillarca granosa*)胚胎发育的影响。实验水温为 29 °C、32 °C 和 35 °C, 游离余氯质量浓度为 0.025、0.050、0.100、0.200、0.400 和 0.800 mg/L, 同时以砂滤海水为对照组, 选取 30 min 胚胎细胞组成、1 h 卵裂率、24 h D 型幼虫孵化率和幼虫畸形率等 4 个指标进行观察分析。结果表明, 单一温升情况下, 32 °C 对泥蚶 30 min 时细胞期发育有促进作用; 35 °C 抑制了泥蚶 30 min 时的细胞期发育, 泥蚶 1 h 卵裂率显著降低、无 D 型幼虫孵化。温度联合游离余氯情况下, 3 个温度下随着游离余氯质量浓度的增加, 泥蚶受精卵卵裂率均呈下降趋势, 游离余氯对泥蚶卵裂率影响的最低可观察效应浓度(LOEC)分别为 0.400、0.200 和 0.800 mg/L。29 °C 和 32 °C 下, 随着余氯质量浓度的升高, D 型幼虫孵化率呈下降趋势, 畸形率呈升高趋势; 两个温度下游离余氯对泥蚶 D 型幼虫孵化率和畸形率的最低可观察效应浓度(LOEC)分别为 0.100 和 0.050 mg/L。35 °C 下, D 型幼虫未孵出, 无最低可观察效应浓度(LOEC)。本研究不仅可以为三门湾核电站海水中余氯污染对该海域生物和生态环境的影响提供基础资料, 还可以为沿海电厂温排水排放标准提供理论指导意义。

关键词: 泥蚶(*Tegillarca granosa*); 胚胎发育; 水温; 游离余氯

中图分类号: X503.225 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)04-0025-09

DOI: 10.11759/hyxx20210807001

核电站原子核裂变产生的能量只有 30%~35% 转变为电能, 大量的废热通过冷却水排放到环境中, 使海洋生物受到升温幅度为 4 °C~12 °C 热冲击^[1]。为了防止污损生物在冷却系统内壁附着, 阻塞管道系统, 通常要对冷却海水作氯化处理。冷却水通过冷却系统后再排出, 其中的余氯亦随之排放到海洋环境中。热冲击和余氯直接或间接地影响到海水利用行业尤其是近海和河口区的水产资源及养殖业^[2-3]。

从 20 世纪 60 年代以来, 国内外研究者对海水中残留余氯的生态效应开展了大量研究^[4-18]。相比水生动物成体和幼体, 其早期胚胎发育阶段对余氯的毒性更加敏感^[19-20]。因此, 探究温排水对水生动物的影响有必要对其早期胚胎发育阶段进行探究。黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegelii*) 22 °C 下胚胎孵化率最高, 温度升高或下降, 孵化率均降低; 同时, 余氯质量浓度的升高, 导致胚胎孵化率下降^[21]; 大亚湾核电站余氯排放对合浦珠母贝(*Pinctada martensii*)受精卵卵裂率有抑制作用, 该抑制作用随着

余氯质量浓度升高而增大, 游离态余氯对卵裂的抑制强于化合态余氯^[22]; 鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*) 受精卵的孵化率随着水中的含氯量提升而降低^[23]; 次氯酸钠胁迫白鲢(*Coregonus clupeaformis*)胚胎发育的研究中, 从受精卵期开始胁迫, 胚胎死亡率显著升高; 从眼期开始胁迫, 胚胎死亡率没有显著升高, 表明受精卵更易受余氯毒性影响^[24]。

泥蚶(*Tegillarca granosa*) 属软体动物门(Mollusca)、双壳纲(Lamellibranchia)、列齿目(Taxodonta)、蚶科(Arcidae)、泥蚶属(*Tegillarca*), 是三门湾海区重要的经济物种之一。相比于有回避能

收稿日期: 2021-08-07; 修回日期: 2021-10-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD0900802, 2018YFD0901405-2); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-49)

[Foundation: The National Key Research and Development Program of China, Nos. 2020YFD0900802, 2018YFD0901405-2; China Agriculture Research System of MOF and MARA, No. CARS-49]

作者简介: 陈琳(1998—), 女, 湖南株洲人, 硕士研究生, 主要从事海水养殖生态相关研究, E-mail: 1163769119@qq.com; 肖国强(1978—), 通信作者, E-mail: xiaogq1978@163.com

力的鱼类和虾类,泥蚶这种活动能力弱的附着类生物更容易受到温排水的影响,更不会主动迁移逃离温排水污染区产卵,故在早期胚胎发育阶段尤其容易受到温排水胁迫,且容易被卷吸进冷却系统内或随风浪或海流漂移至温排水排放区^[25]。泥蚶成贝和稚贝均有较完善的生理构造和自我保护机制,较泥蚶受精卵更有利于抵御外界恶劣环境,本研究以三门湾主要经济养殖动物泥蚶的受精卵为对象,分析温度、游离余氯及两种因子交互作用对泥蚶受精卵发育的影响,根据三门湾核电站温排水前期调查结果,设置本实验温度和游离余氯梯度开展研究。本研究可望为中国沿海电厂温排水温度和残留余氯质量浓度限值提供基础数据支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用的泥蚶二龄亲贝为泥蚶水产新品种“乐清湾1号”群体,由浙江省海洋水产养殖研究所清江基地提供。选择活力良好且性腺饱满的个体用于实验。

次氯酸钠(NaClO)和40%甲醛溶液(CH₂O)购自国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯试剂,用蒸馏水配成1.5 mg/mL的游离余氯母液,实验时按照终浓度稀释。

1.2 实验方法

实验设置3个水温条件:29℃、32℃和35℃,均由加热棒水浴控温;在每个水温条件下设0、0.025、0.050、0.100、0.200、0.400和0.800 mg/L总计7个游离余氯质量浓度条件,其中以游离余氯为0 mg/L的过滤海水为对照,每组设3个平行,实验在500 mL烧杯中进行,实验试液总量为500 mL,各组预先调节好水温,再加入游离余氯母液。阴干加流水刺激诱导亲贝排放受精卵,将开始排放的亲贝挑出来分开雌雄,取再次排放的精卵混合受精,迅速收集受精卵进行实验。由于游离余氯衰减较快,故实验期间各组12 h时再添加一次游离余氯母液,添加量按照终浓度及烧杯中试液量计算。受精30 min、1 h、24 h后,吸取烧杯内30 mL含受精卵的海水(吸取前搅拌吹打均匀),移入装有1 mL 8%甲醛溶液的50 mL尖头离心管内固定,分别用于统计各组胚胎细胞组成、卵裂率、D型幼虫孵化

率和D型幼虫畸形率。

1.3 余氯测定方法

采取法国PONSEL便携式水质分析仪(Multy8302)及其配套试剂测定海水中的余氯的含量(国家环境保护标准HJ586-2010^[26],DPD法,量程0.1~6 mg/L)。

1.4 数据处理

所得数据使用平均值±标准差(Mean±SD)表示,采用SPSS 22.0统计软件的Tukey或Dunnnett's T3多重比较方法分析各组卵裂率、胚胎细胞组成、D型幼虫孵化率和D型幼虫畸形率是否具有显著性差异,当 $P<0.05$ 时统计具有显著性差异;当方差齐性时采用Tukey进行多重比较,当方差不齐时采用Dunnnett's T3进行多重比较。以单因素方差分析(One-way analysis of variance, ANOVA)检验相同温度下不同游离余氯质量浓度对卵裂率、胚胎细胞组成、D型幼虫孵化率和D型幼虫畸形率的显著性差异, $P<0.05$ 为差异显著。以双因素方差分析Two-way ANOVA (SPSS 22.0)检验温度、游离余氯这两个因素相互作用是否显著影响泥蚶胚胎发育, $P<0.05$ 为差异显著。而后采用OriginPro和Excel进行画图。

通过毒性试验确定化学物质对生物的最低可观察浓度效应(lowest observed effect concentration, LOEC)通常是开展毒理学研究的重要目的。本研究根据OECD的方法^[27],确定游离余氯对泥蚶受精卵卵裂率的LOEC值,即各温度条件下的实验组卵裂率与该温度条件下的对照组卵裂率进行单因素方差分析,与对照组具有显著性差异($P<0.05$)实验组中最低的余氯质量浓度即为LOEC值。

2 结果

2.1 温度对泥蚶胚胎发育的影响

由表1可知,泥蚶30 min胚胎细胞组成中,35℃时受精卵所占比例显著升高($P<0.05$);32℃和35℃时2细胞所占比例显著升高($P<0.05$);32℃和35℃时4细胞所占比例显著降低($P<0.05$);32℃时8细胞所占比例显著升高($P<0.05$)。35℃时卵裂率显著降低($P<0.05$)。35℃时D型幼虫孵化率显著降低($P<0.05$),胚胎未发育到D型幼虫阶段,停留在担轮幼虫阶段;32℃时,D型幼虫畸形率显著升高($P<0.05$)。

表 1 温度对泥蚶胚胎发育的影响

Tab. 1 Effect of temperature on the development of *T. granosa* embryo

温度	30 min 胚胎细胞组成/%				1 h 卵裂率/%	24 hD 型 幼虫孵化率/%	24 hD 型 幼虫畸形率/%
	受精卵	2 细胞	4 细胞	8 细胞			
29 °C	13.0±3.2 ^a	3.8±0.9 ^a	80.0±6.0 ^a	0 ^a	92.2±3.1 ^a	96.2±1.8 ^a	10.8±1.7 ^a
32 °C	11.0±0.1 ^a	15.5±1.4 ^b	33.5±6.8 ^b	37.0±6.2 ^b	91.3±5.6 ^a	93.0±2.9 ^a	19.5±2.0 ^b
35 °C	26.1±4.7 ^b	39.2±7.9 ^b	23.7±8.6 ^b	6.2±2.3 ^a	77.6±3.6 ^b	0 ^b	—

注: 因 D 型幼虫畸形率=(畸形 D 型幼虫数÷总 D 型幼虫数)×100%, 总 D 型幼虫数为 0 时, D 型幼虫畸形率无法计算, 用—表示(表 3 同); 同列同一项目肩标不同字母表示差异显著($P<0.05$)

2.2 温度和余氯联合对 30 min 胚胎细胞组成的影响

由图 1 可知, 29 °C 条件下, 游离余氯质量浓度为 0.1 mg/L 时, 4 细胞所占比例显著减少($P<0.05$), 游离

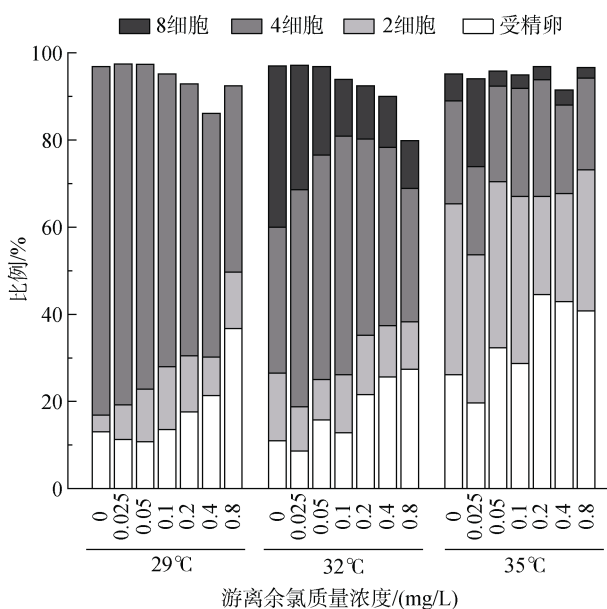


图 1 3 个温度下游离余氯胁迫对泥蚶 30 min 胚胎细胞组成的影响

Fig. 1 Effects of free residual chlorine on embryonic cell composition of *T. granosa* at 3 temperatures for 30 minutes

表 2 温度和游离余氯对泥蚶胚胎发育的影响

Tab. 2 Effects of temperature and free residual chlorine on the embryonic development of *T. granosa*

影响因素	双因素方差分析结果(P 值)						
	30 min 胚胎细胞组成				1 h 卵裂率	24 h 型幼虫 孵化率	24 h 型幼虫 畸形率
	受精卵	2 细胞	4 细胞	8 细胞			
温度	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.005
游离余氯	0.000**	0.029*	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**
温度×游离余氯	0.012*	0.001*	0.000**	0.078	0.079	0.000**	0.234

注: *. 差异显著($P<0.05$); **. 差异极显著($P<0.01$)

余氯对胚胎发育存在一定的滞后作用。32 °C 条件下, 游离余氯质量浓度为 0.05 mg/L 时, 8 细胞比例显著降低; 游离余氯质量浓度为 0.1 mg/L 时, 4 细胞比例显著增加, 游离余氯质量浓度为 0.8 mg/L 时, 4 细胞比例显著降低。35 °C 条件下, 各浓度组胚胎相对于 29 °C 和 32 °C 都滞后发育。

不同温度条件下不同游离余氯质量浓度对泥蚶 30 min 胚胎细胞组成的影响进行双因素方差分析(表 2), 结果显示温度会显著影响游离余氯对泥蚶 30 min 胚胎细胞组成中受精卵、2 细胞和 4 细胞造成的比例变化, 温度和游离余氯质量浓度之间存在协同作用。

2.3 温度和余氯联合对泥蚶受精卵卵裂率的影响

由图 2 可知, 29 °C、32 °C 和 35 °C 条件下, 随着游离余氯质量浓度的增加, 泥蚶受精卵卵裂率均呈下降趋势。29 °C 下, 0.4 mg/L 游离余氯质量浓度组卵裂率显著降低; 32 °C 下, 0.2 mg/L 游离余氯组卵裂率显著降低; 温度提升, LOEC 值降低, 可能是由于产生了升温耦合毒性。35 °C 下, 0.8 mg/L 游离余氯质量浓度组卵裂率显著降低, 从对照组可知, 卵裂率受该温度(35 °C)影响较大, 该温度下对照组卵裂率较 29 °C 和 32 °C 显著下降(表 1)。此时, 温度是影响泥蚶受精卵卵裂率的主要因子。

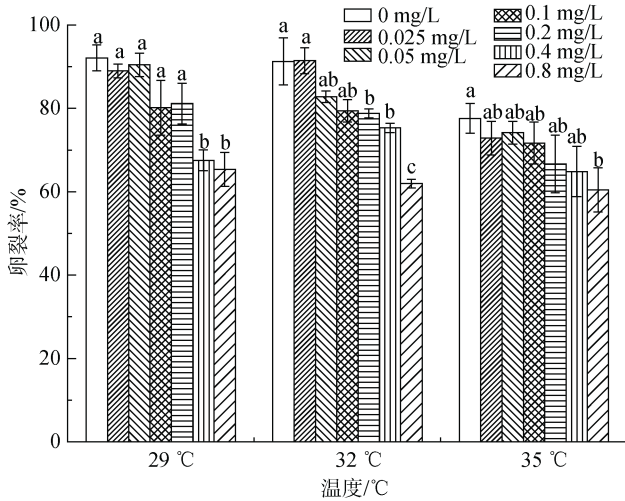


图2 温度和游离余氯胁迫下泥蚶受精卵卵裂率

Fig. 2 Influence of temperature and free residual chlorine on the cleavage rate of fertilized eggs of *T. granosa*

同一温度不同游离余氯质量浓度下, 不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

Different letters indicate significant differences during different concentrations of free residual chlorine at the same temperature ($P < 0.05$)

表3 温度和游离余氯胁迫下泥蚶D型幼虫孵化率与畸形率

Tab. 3 Influence of temperature and free residual chlorine on the hatching and malformation rates of *T. granosa* type-D larvae

游离余氯 质量浓度/(mg·L ⁻¹)	D型幼虫孵化率/%			D型幼虫畸形率/%		
	29 °C	32 °C	35 °C	29 °C	32 °C	35 °C
0	96.1±1.8 ^a	93.0±2.9 ^a	0	10.8±1.7 ^a	19.5±2.0 ^a	—
0.025	94.6±3.4 ^a	89.3±6.4 ^a	0	29.8±8.2 ^{ab}	36.0±7.0 ^{ab}	—
0.05	91.1±3.0 ^a	88.1±2.8 ^a	0	46.4±4.5 ^b	59.2±1.8 ^b	—
0.1	36.2±9.4 ^b	24.8±3.9 ^b	0	100 ^c	100 ^c	—
0.2	0	0	0	—	—	—
0.4	0	0	0	—	—	—
0.8	0	0	0	—	—	—

注: 同列同一项目肩标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

不同温升条件下不同游离余氯质量浓度对泥蚶D型幼虫孵化率、D型幼虫畸形率的影响进行双因素方差分析(表2), 结果显示温度会显著影响游离余氯对泥蚶D型幼虫孵化的抑制效应, 温度和游离余氯质量浓度之间存在协同作用; 温度不会显著影响游离余氯对泥蚶D型幼虫致畸效应, 温度和游离余氯质量浓度之间不存在协同作用。

3 讨论

3.1 温度对泥蚶胚胎发育的影响

温度是影响贝类受精卵孵化的重要因素, 不同的

不同温度条件下不同游离余氯质量浓度对泥蚶受精卵卵裂率的影响进行双因素方差分析(表2), 结果显示温度和游离余氯质量浓度之间不存在协同作用, 温度不会显著影响游离余氯对泥蚶受精卵卵裂率的抑制效应。

2.4 温度和余氯联合对泥蚶D型幼虫孵化率与畸形率的影响

由表3可知, 29 °C和32 °C条件下, 随着游离余氯质量浓度的升高, D型幼虫孵化率呈下降趋势, 畸形率呈升高趋势; 游离余氯质量浓度为0.1 mg/L时, D型幼虫孵化率显著降低($P < 0.05$); 游离余氯质量浓度为0.05 mg/L时, 畸形率也显著升高($P < 0.05$), 可见D型幼虫对余氯敏感, 即使0.1 mg/L质量浓度下泥蚶受精卵有80%左右的卵裂率(图2)。但也无法继续发育成正常的D型幼虫。当温度为29 °C和32 °C, 游离余氯质量浓度为0.2、0.4和0.8 mg/L时, 胚胎未孵化成D型幼虫; 35 °C条件下, 所有浓度组别泥蚶受精卵均无法发育成D型幼虫。

贝类受精卵孵化所要求的温度条件不同, 并对温度的适应范围也有明显的差异^[28]。至今, 国内外多位学者已针对温度对贝类受精卵孵化的影响开展了大量的研究, 这些工作为水产养殖业提供了理论指导和科学依据。皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)胚胎发育的最适合温度为22 °C~24 °C^[29]; 波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)胚胎发育最适合的温度为30 °C^[30]; 青蛤(*Cyclina sinensis*)胚胎发育最适合的温度为26 °C~30 °C^[31]; 毛蚶(*Scapharca subcrenate*)胚胎发育最适合的温度为25 °C~30 °C^[32]; 紫彩血蛤(*Nuttallia olivacea*)胚胎发育最适合温度为15 °C~20 °C^[33]; 泥蚶(*Tegillarca*

granosa)的最适温度为 25 °C~31 °C^[34]。

在单一温度对泥蚶胚胎发育影响实验中,选取卵裂率、30 min 胚胎细胞组成、24 h D 型幼虫畸形率、24 h D 型幼虫畸形率作为指标进行衡量,来评定温度对泥蚶胚胎发育的影响。该结果与温度对其他贝类胚胎发育的影响基本一致^[35]。兰国宝等^[34]研究认为水温的升高有助于提高贝类胚胎发育的速度,当水温在 21 °C 时,从受精卵发育到 D 型幼体需要近 60 h,而当水温在 31 °C~33 °C 时,胚胎发育达 D 型幼虫仅需要 12~13 h。本研究发现 32 °C 条件下泥蚶胚胎发育速度明显快于 29 °C, 30min 时, 29 °C 对照组, 4 细胞占比 80.0%; 32 °C 对照组, 4 细胞占比 33.5%, 8 细胞占比 37.0%; 35 °C 对照组, 2 细胞占比 39.2%, 4 细胞占比 23.7%。35 °C 发育较慢。这与孙虎山等^[33]研究认为“高温”可使紫彩血蛤胚胎畸形、滞育,且胚胎的畸形、滞育现象随温度的升高而加重相符。给胚胎适当的温度补偿,有利于胚胎中一些蛋白质的表达,提高酶的活性,加速发育;但温度过高容易使细胞程序性死亡,导致胚胎畸形,也会导致酶活性降低,降低新陈代谢活动,使胚胎滞育^[35]。

3.2 温度和余氯联合对泥蚶胚胎发育的影响

在已有的研究中,谷宇婷等^[37]研究了温升联合海洋酸化对皱纹盘鲍受精和胚胎发育的影响,结果表明温升会加剧海洋酸化对皱纹盘鲍受精和胚胎发育造成的负面影响;王云彪等^[38]研究了温度对 Pb、Cd、Hg、Cu 胁迫下秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)毒性的影响,结果表明,Cu 和 Hg 胁迫 24 h 下,随着环境温度的升高,秀丽隐杆线虫 LC₅₀ 值与繁殖力降低,温升增加了重金属的毒性;在温度联合其他污染物对生物毒性影响研究中,温度作为一个非常重要的生态因子,不仅与生物的生命活动、生理代谢息息相关,而且对其他污染物物理化学性质有一定的影响作用,从而间接对生物产生影响。温度越高,通常会增大另一物质对生物的毒性,例如温度的升高可以引起水体可利用形式的重金属活性增强及浓度的增加,进而引起该污染物的毒性增加^[39]。本研究中,29 °C 时,造成泥蚶受精卵卵裂率显著性降低的游离余氯质量浓度为 0.4 mg/L; 32 °C 时,造成泥蚶受精卵卵裂率显著性降低的游离余氯质量浓度为 0.2 mg/L,在 29 °C~32 °C 下,游离余氯对泥蚶受精卵卵裂率影响的最低可观察效应浓度(LOEC)随着温度的升高而降低,也验证了该理论。

32 °C 时,造成泥蚶受精卵卵裂率显著性降低的游离余氯质量浓度为 0.2 mg/L; 35 °C 时,造成泥蚶受精卵卵裂率显著性降低的游离余氯质量浓度为 0.8 mg/L; 在 32 °C~35 °C 下,游离余氯对泥蚶受精卵卵裂率影响的最低可观察效应浓度(LOEC)随着温度的升高而升高,表明在 32 °C~35 °C 下,游离余氯毒性并未随着水温升高而增大。这点与温度联合其他污染物导致污染物毒性随着水温升高而增大不同,推测这与游离余氯易衰减的特性有关,随着温度的升高,游离余氯衰减的越快,从而影响了游离余氯的毒性。游离余氯的毒性效应与温度之间的非线性关系反映出温度联合游离余氯对泥蚶胚胎发育毒性效应的复杂性^[40]。相似情况在晁敏等^[21]的研究中也有出现过,在 22 °C~30 °C 内,游离余氯的毒性并未随着水温升高而增加,22 °C 下毒性最强,26 °C 下毒性最弱,研究者推测是由于随着温度的增加,游离余氯的衰减和转化为非毒形式的速度加快,从而影响了氯的毒性。

本研究表明 0.2 mg/L 质量浓度下,已无 D 型幼虫孵化; 0.1 mg/L 质量浓度下, D 型幼虫畸形率为 100%。三门湾核电站邻近海域游离余氯质量浓度为 0.01~0.18 mg/L,会对泥蚶的胚胎发育产生影响,长期如此,三门湾核电站邻近海域泥蚶数量将会剧减。此外,从三门湾沿岸核电工业的发展来考虑,余氯排放量有可能增加,邻近海域余氯污染情况可能还会变化,因此有必要采取一定的措施来遏制这一严峻形势。

4 结论

在本研究设置的温度范围内(29 °C~35 °C), 32 °C 促进了泥蚶 30 min 时细胞期发育、对泥蚶受精卵卵裂率、D 型幼虫孵化率没有显著性影响, D 型幼虫畸形率显著性降低; 35 °C 抑制了泥蚶 30 min 时的细胞期发育、使泥蚶受精卵卵裂率显著降低、无 D 型幼虫孵化。

温度联合游离余氯情况下, 3 个温度下随着游离余氯质量浓度的增加,均抑制了泥蚶 30 min 时细胞期发育,泥蚶受精卵卵裂率均呈下降趋势,游离余氯对泥蚶受精卵卵裂率影响的最低可观察效应质量浓度(LOEC)分别为 0.400、0.200、0.800 mg/L。29 °C 和 32 °C 下,随着浓度的升高, D 型幼虫孵化率呈下降趋势,畸形率呈上升趋势,两个温度下游离

余氯对泥蚶D型幼虫孵化率和畸形率的最低可观察效应质量浓度(LOEC)分别为 0.100 和 0.050 mg/L。35 °C下, D型幼虫未孵出, 无最低可观察效应浓度(LOEC)。

参考文献:

- [1] GEOFFREY G, EICHHOL Z (李国鼎译). 核动力的环境问题[M]. 北京: 原子能出版社, 1985.
GEOFFREY G, EICHHOL Z. Environmental issues of nuclear power[M]. Beijing: Atomic Energy Press, 1985.
- [2] 许炼烽, 兰方勇, 童红云, 等. 滨海火电厂温排水对牡蛎生长和品质的影响[J]. 海洋环境科学, 1991, 2: 6-11.
XU Lianfeng, LAN Fangyong, TONG Hongyun, et al. Effects of warm drainage on growth and quality of oyster in coastal thermal power plant[J]. Marine Environmental Science, 1991, 2: 6-11.
- [3] 廖一波, 陈全震, 曾江宁, 等. 我国 4 种重要海水经济鱼类热忍受研究[J]. 海洋环境科学, 2007, 5: 458-460.
LIAO Yibo, CHEN Quanzhen, ZENG Jiangning, et al. Study on heat tolerance of four commercial important fishes[J]. Marine Environmental Science, 2007, 5: 458-460.
- [4] HAMILTON D H, FLEMER D A, KEEFE C W. Power plants: Effects of chlorination on estuarine primary production[J]. Science, 1970, 169: 197-198.
- [5] EPPLEY R W, RENGER E H, WILLIAMS P M. Chlorine reactions with seawater constituents and the inhibition of photosynthesis of natural marine phytoplankton[J]. Estuarine and Coastal Marine Science, 1976, 4: 147-161.
- [6] HEATH A G. Toxicity of intermittent chlorination to freshwater fish: Influence of temperature and chlorine form[J]. Hydrobiologia, 1977, 56: 39-47.
- [7] MIDDAGH D P, DEAN J M, DOMEY R G, et al. Effect of thermal stress and total residual chlorination on early life stages of the mummichog *Fundulus heteroclitus*[J]. Marine Biology, 1978, 46(1): 1-8.
- [8] MARGREY L S, BURTON D T, HALL L W. Seasonal temperature and power plant chlorination effects on estuarine invertebrates[J]. Achievement Environmental Contamination Toxicology, 1981, 10: 691-703.
- [9] BROOKS A S, BARTOS J M. Effects of free and combined chlorine and exposure duration on rainbow trout, channel catfish, and emerald shiners[J]. Transactions of the American Fisheries Society (1900), 1984, 113(6): 786-793.
- [10] 林可椒, 严安生, 高宏伟. 余氯对鳊鱼苗的急性毒性试验[J]. 淡水渔业, 1991, 4(3): 24-25.
LIN Kejiao, YAN Ansheng, GAO Hongwei. Acute toxicity of residual chlorine to *Siniperca chuatsi* fry[J]. Freshwater Fisheries, 1991, 4(3): 24-25.
- [11] 黄洪辉, 张穗, 陈浩如, 等. 余氯对大亚湾海区平鲷和黑鲷幼鱼的毒性研究[J]. 热带海洋, 1999, 3: 38-44.
HUANG Honghui, ZHANG Sui, CHEN Haoru, et al. Toxicity of residual chlorine to juvenile *Rhabdosargus sarba* and *Acanthopagrus schlegelii* in daya Bay[J]. Tropic Oceanology, 1999, 3: 38-44.
- [12] 江志兵, 曾江宁, 陈全震, 等. 热冲击和加氯后亚热带海区浮游植物细胞数量的动态变化[J]. 植物生态学报, 2008, 6: 1386-1396.
JIANG Zhibing, ZENG Jiangning, CHEN Quanzhen, et al. Dynamic change of phytoplankton cell density after thermal shock and chlorination in a subtropical bay in china[J]. Journal of Plant Ecology, 2008, 6: 1386-1396.
- [13] MA Z, GAO K, LI W, et al. Impacts of chlorination and heat shocks on growth, pigments and photosynthesis of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2011, 397(2): 214-219.
- [14] 柏育材. 余氯对海洋生态系统供给功能影响的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
BAI Yucai. The study of impact of residual chlorine on supply function of marine ecosystem services[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011.
- [15] 陈冲, 张文帅, 郭景静, 等. 电厂温排水对两种蚤类的毒性及生殖影响[J]. 海洋环境科学, 2014, 33(5): 735-738.
CHEN Chong, ZHANG Wenshuai, GUO Jingjing, et al. The toxicity and reproduce effect of thermal discharge from power plant on two fleas[J]. Marine Environmental Science, 2014, 33(5): 735-738.
- [16] 金施, 孙岳, 徐兆礼, 等. 余氯对小球藻的影响以及损失评估[J]. 生态学报, 2014, 34(19): 5425-5433.
JIN Shi, SUN Yue, XU Zhaoli, et al. Effects of residual chlorine discharge in water on the growth of phytoplankton[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(19): 5425-5433.
- [17] 吴杨平, 陈爱华, 张雨, 等. 余氯对大竹蛭稚贝的毒性及半致死浓度研究[J]. 水产科技情报, 2018, 45(3): 158-161.
WU Yangping, CHEN Aihua, ZHANG Yu, et al. Study on toxicity and semi-lethal concentration of residual chlorine to *sinonovacula solonvacula* larvae[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2018, 45(3): 158-161.
- [18] 晁敏, 王云龙, 沈新强. 水温 and 余氯对黑棘鲷仔鱼存活的影响[J]. 海洋科学, 2011, 35(12): 48-55.
CHAO Min, WANG Yunlong, SHEN Xinqiang. Effects of temperature and residual chlorine on the survival of black progry *Acanthopagrus schlegelii* larvae[J]. Marine

- Sciences, 2011, 35(12): 48-55.
- [19] HALL L W, BURTON D T, MARGREY S L, et al. The effect of acclimation temperature on the interactions of chlorine, ΔT and exposure duration to eggs, prolarvae and larvae of striped bass, *Morone saxatilis*[J]. *Wat Res*, 1983, 3(17): 309-317.
- [20] WANG J T, CHEN M H, LEE H J, et al. A model to predict total chlorine residue in the cooling seawater of a power plant using iodine colorimetric method[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2008, 9(4): 542-553.
- [21] 晁敏, 王云龙, 沈新强. 水温和余氯对黑棘鲷胚胎发育的影响[J]. *环境科学研究*, 2011, 24(5): 559-563.
CHAO Min, WANG Yunlong, SHEN Xinqiang. Effects of water temperature and residual chlorine on the embryonic development of *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2011, 24(5): 559-563.
- [22] 张穗, 黄洪辉, 陈浩如, 等. 大亚湾核电站余氯排放对邻近海域环境的影响[J]. *海洋环境科学*, 2000, 2: 14-18.
ZHANG Sui, HUANG Honghui, CHEN Haoru, et al. Environmental effects of residual chlorine discharged from daya bay nuclear power station on the adjacent waters[J]. *Marine Environmental Science*, 2000, 2: 14-18.
- [23] 钟幼平, 庞志强, 宋振荣. 鲈鱼受精卵及仔鱼对电解处理海水的适应性研究[J]. *福建水产*, 36(6): 471-474.
ZHONG Youping, PANG Zhiqiang, SONG Zhenrong. The adaptability of perch (*Lateolabrax japonicas*) seedlings to electrolysis treatment seawater[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 36(6): 471-474.
- [24] CHRISTOPHER T, CHARLOTTE M, SHAYENTHIRAN S, et al. Developmental effects of the industrial cooling water additives morpholine and sodium hypochlorite on lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*)[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2017, 36(7): 1955-1965.
- [25] JIANG Z B, ZENG J N, CHEN Q Z, et al. Potential impact of rising seawater temperature on copepods due to coastal power plants in subtropical areas[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2009, 368(2): 196-201.
- [26] 中华人民共和国环境保护部. HJ 586-2010. 水质游离氯和总氯的测定 N, N-二乙基-1, 4-苯二胺分光光度法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
Ministry of Environmental Protection, PRC. HJ 586-2010. Water quality-Determination of free chlorine and total chlorine-Spectrophotometric method using N, N-diethyl-1, 4-phenylenediamine[S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2010.
- [27] OECD. Guideline for Testing of chemicals, 212: Fish short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages[S]. Paris: OECD, 1998.
- [28] 王如才. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 海洋大学出版社, 1993.
WANG Rucai. Science of marine shellfish culture[M]. Qingdao: Ocean University Press, 1993.
- [29] 郭德强. 温度对皱纹盘鲍早期胚胎发育的影响及盐度诱导三倍体初探[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
GUO Deqiang. Effect of temperature on the early embryonic development of *Haliotis discus hannai* and study on triploid induction by different salinity treatment[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [30] 司和, 宋志明, 唐贤明, 等. 温度和盐度对波纹巴非蛤胚胎、幼虫及稚贝发育的影响[J]. *水产科学*, 2018, 37(2): 255-258.
SI He, SONG Zhimin, TANG Xianming, et al. Effect of temperature and salinity on development of embryo, larvae and juveniles of clam *Paphia undulata*[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(2): 255-258.
- [31] 王丹丽, 徐善良, 尤仲杰, 等. 温度和盐度对青蛤孵化及幼虫、稚贝存活与生长变态的影响[J]. *水生生物学报*, 2005, 5: 495-501.
WANG Danli, XU Shanliang, YOU Zhongjie, et al. The effects of temperature and salinity on the incubation of *Cyclina sinensis* and survival, growth and metamorphosis of *C. sinensis* larvae and juveniles[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 5: 495-501.
- [32] 沈伟良, 尤仲杰, 施祥元. 温度与盐度对毛蚶受精卵孵化及幼虫生长的影响[J]. *海洋科学*, 2009, 33(10): 5-8.
SHEN Weiliang, YOU Zhongjie, SHI Xiangyuan. The influence of temperature and salinity on zygote's hatching rate and larval growth of *Scapharca subcrenata*[J]. *Marine Sciences*, 2009, 33(10): 5-8.
- [33] 孙虎山, 王为纲, 王宜艳, 等. 温度对紫彩血蛤胚胎及幼虫发育的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 1997, 2: 54-58.
SUN Hushan, WANG Weigang, WANG Yiyang, et al. The effects of temperature on embryonic development and growth of larvae of *Nuttalla olivacea*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1997, 2: 54-58.
- [34] 兰国宝, 聂振平, 赖彬. 温度对泥蚶胚胎发育、幼体生长发育及变态的影响[J]. *广西科学*, 1999, 4(6): 307-310.
LAN Guobao, NIE Zhenping, LAI Bin. Effect of temperature upon embryonic and larval development and metamorphosis of *Tegillarca granosa*[J]. *Guangxi Sciences*, 1999, 4(6): 307-310.
- [35] 黄洋, 黄海立, 吕广焯, 等. 温度和盐度分别对尖紫蛤胚胎发育的影响[J]. *海洋科学*, 2011, 35(10): 117-122.
HUANG Yang, HUANG Haili, LYU Guangchao, et al. Respective effects of temperature and salinity on embryonic development of *Soletellina acuta*[J]. *Marine*

- Sciences, 2011, 35(10): 117-122.
- [36] 薛凌展. 环境和营养因子对四倍体栉孔扇贝胚胎及早期幼虫的影响[D]. 福州: 福建师范大学, 2008.
XUE Lingzhan. Effect of the change of environmental factors and nutritious factors on embryo and early larvae of tetraploid *Chlamys ferrerii*[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2008.
- [37] 谷宇婷. 海洋酸化对鲍及其杂交种受精和胚胎发育的影响[D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
GU Yuting. Effects of ocean acidification on fertilization and embryonic development of abalones and their hybrids[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.
- [38] 王云彪, 侯晓丽. 温度对 Pb、Cd、Hg、Cu 胁迫下线虫毒性及 HSP90 表达的影响[C]//中国生理学会第九届全国青年生理学工作者学术会议论文摘要. 北京: 中国生理学会, 2011.
WANG Yunbiao, HOU Xiaoli. Effects of temperature on nematode toxicity and HSP90 expression under Pb, Cd, Hg and Cu stress[C]//Abstract of the 9th National Symposium on Young Physiologists of Chinese Physiological Society. Beijing: Chinese Physiological Society, 2011.
- [39] 武艳华. 不同温度下汞对草鱼的毒理学影响[D]. 重庆: 西南大学, 2016.
WU Yanhua. Effects of different temperature on mercury-induced toxicology in *Ctenopharyngodon idella*[D]. Chongqing: Southwest University, 2016.
- [40] 尹伊伟, 温晓艳, 吕颂辉, 等. 不同温度下氯对水生生物的毒性及制订渔业水质标准的探讨[J]. 生态科学, 1992, 2: 41-49.
YIN Yiwei, WEN Xiaoyan, LV Songhui, et al. Toxicity of chlorine to aquatic organisms at different temperatures and the formulation of fishery water quality standards[J]. Ecological Science, 1992, 2: 41-49.

Toxic effects of water temperature and residual chlorine on embryonic development of *Tegillarca granosa*

CHEN Lin^{1, 2}, TENG Shuang-shuang², ZHU Ai-yi², HUANG Xiao-lin²,
XIAO Guo-qiang^{1, 2}

(1. Zhejiang Ocean University, National Engineering Research Center For Marine Aquaculture, Zhoushan 316022, China; 2. Zhejiang Mariculture Research Institute; Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bioresource; Wenzhou Key Laboratory of Marine Biological Genetics and Breeding, Wenzhou 325005, China)

Received: Aug. 7, 2021

Key words: *Tegillarca granosa*; embryonic development; water temperature; free residual chlorine

Abstract: To investigate the effects of warm drainage pollution in Sanmen Bay on the development of aquatic animals, the influence of free residual chlorine on the embryonic development of *Tegillarca granosa* under different temperature conditions was studied through laboratory simulations. Three different water temperatures were set at 29 °C, 32 °C, and 35 °C, and six different gradients of free residual chlorine concentration were set at 0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.400, and 0.800 mg/L. Simultaneously, filtered seawater was taken as the control. The influence of thermal drainage on the embryonic development of *T. granosa* was analyzed by counting the change of the embryonic cell composition, cleavage rate, D-shaped larva hatching rate, and malformation rate. The results of a single temperature rise revealed that 32 °C promoted cell development for 30 minutes after fertilization, whereas 35 °C inhibited cell development for 30 minutes after fertilization. The 1 h cleavage rate was significantly decreased, and the D-shaped larva hatching rate was zero at 35 °C. Under the condition of temperature combined with free residual chlorine, the cleavage rate decreased along with the elevated concentration of free residual chlorine, and the lowest observed effect concentration (LOEC) values of free residual chlorine to the cleavage rate of *T. granosa* were determined to be 0.400, 0.200, and 0.800 mg/L at 29 °C, 32 °C, and 35 °C, respectively. The D-shaped larva hatching rate decreased, and the malformation rate increased along with the elevated concentration of free residual chlorine at 29 °C and 32 °C, respectively. The LOEC values of free residual chlorine to the hatching rate of *T. granosa* D-type larvae and the malformation rate were determined to be 0.100 mg/L and 0.050 mg/L, respectively. The D-shaped larva hatching rate was zero, and there was no LOEC value at 35 °C. This study provides not only basic data for the impact of residual chlorine pollution on the biological and ecological environment in the Sanmen Bay Nuclear Power Plant but also theoretical guidance for formulating the discharge standard of warm water drainage of coastal power plants.

(本文编辑: 谭雪静)