

# 单一与混合重金属在泥蚶体内的累积特征

霍礼辉<sup>1,2</sup>, 林志华<sup>2</sup>, 朱东丽<sup>3</sup>, 刘广绪<sup>4</sup>, 陈彩芳<sup>2</sup>

(1. 宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211; 2. 浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100; 3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003; 4. 浙江大学 动物科学学院, 浙江 杭州 310029)

**摘要:** 通过室内半静态暴毒实验, 在铜、铅、镉三种重金属的单一胁迫与两两联合胁迫条件下, 研究了繁殖期泥蚶(*Tegillarca granosa*)对重金属的富集规律。结果表明: 泥蚶对单一  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  的生物富集系数(BCF)分别为 210.16~1 178.66、128.15~603.84 和 198.84~659.37; 联合重金属胁迫条件下,  $\text{Cd}^{2+}$  对  $\text{Cu}^{2+}$  的富集具有一定的拮抗作用;  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  在泥蚶体内以可溶形式存在, 而  $\text{Pb}^{2+}$  以不溶形式存在;  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对泥蚶富集  $\text{Pb}^{2+}$  有一定的协同效应; 砂滤海水中的暂养的泥蚶, 其体内的重金属含量除  $\text{Cu}^{2+}$  外都较为稳定。

**关键词:** 泥蚶(*Tegillarca granosa*); 重金属; 联合胁迫; 生物富集系数

中图分类号: S917; X384

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)03-0054-07

近年来, 随着重金属在农业、工业生产过程中的大量使用, 重金属污染已经成为全球环境污染的一个重要问题<sup>[1]</sup>, 由于它在海洋环境中具有稳定、积累和不易消除等特点, 因此严重威胁着水生生物的生存、繁殖和发育。对于长期栖息在一定水域的滩涂贝类, 若遭遇水质污染, 其在滤食饵料的同时也会将水体中的重金属等污染物富集于体内, 导致体内重金属含量过高, 使贝类等水产品可能成为浓缩毒物的载体。吴新民等<sup>[2]</sup>调查发现河北省扇贝养殖区的水环境和底质环境的重金属污染在扇贝体内的积累, 对扇贝的食用安全造成了严重威胁, 韦钦胜等<sup>[3]</sup>发现, 在众多污染物中, 重金属污染已成为海产贝类食用安全的一个重大隐患。

据 2007 年和 2008 年的统计数据, 海产贝类养殖产量分别占海水养殖总产量的 76.02% 和 75.21%, 其中滩涂贝类约占贝类养殖总产量的 1/4<sup>[4]</sup>。贝类体内重金属含量超标的问题严重影响着贝类产品质量安全, 将制约贝类养殖产业的发展。泥蚶(*Tegillarca granosa*)是一种栖息于沿海滩涂的广温性双壳贝类, 在我国常见于山东以南沿海, 是山东、浙江、福建、广东等省的主要养殖对象。近年来, 泥蚶抽检发现  $\text{Cd}^{2+}$  超标现象较为普遍, 引起了消费者和政府主管部门的关注。开展重金属在亲贝体内的积累和释放规律研究, 对揭示重金属对生物的繁殖学及毒理学

效应, 以及重金属在软体贝类体内的分布、迁移和转化等具有更现实的意义。

然而, 由于贝类在繁殖季节的自然死亡率都比较高, 以往研究又集中在非繁殖季节进行<sup>[5-6]</sup>。本文运用半静态养殖方法, 研究繁殖季节亲贝对单一重金属的富集动力学特征, 两种重金属联合胁迫条件下泥蚶累积重金属的机制, 以及养殖在砂滤海水中的亲贝对重金属累积的变动规律, 以期通过相关分析, 揭示重金属在亲贝体内的累积及释放特征与机制, 为泥蚶等贝类产品质量安全监控研究提供借鉴和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

试剂: 分析纯硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )、硝酸铅( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ )、氯化镉( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )用蒸馏水分别配制成 1.000 g/L 的标准储备液。实验时用移液枪向实验水体中加入定量的标准储备液, 配制成实验所需的

收稿日期: 2011-01-22; 修回日期: 2011-03-11

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2009BADB7B02); 国家现代农业产业技术体系项目(nycytx-47)

作者简介: 霍礼辉, (1986-)男, 安徽阜阳人, 硕士研究生, 主要从事贝类生理学及环境毒理学研究, E-mail: huolihui@yahoo.cn; 林志华, 通信作者, 博士, 研究员, 研究方向: 海洋贝类生物学, E-mail: zhihua9988@126.com

重金属浓度。检测中使用的 HNO<sub>3</sub> 和 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 均为优级纯。

仪器设备: Mars-5 微波消解仪、Mill—Q 超纯水装置、SpectrAA—Duo220FS 型火焰原子吸收分光光度计、SpectrAA—Duo220A 石墨炉原子吸收分光光度计等。

实验用水: 取自乐清湾, 经沉淀、砂滤后的海水, 盐度 16‰~19‰, pH 8.0±0.1, 水温 26.5℃±3℃, 溶解氧大于 8.5 mg/L。

实验生物: 泥蚶取自于浙江省海洋水产养殖研究所清江科研基地, 为 2 龄成熟亲贝。使用游标卡尺测量泥蚶个体的壳长, 选取大小均一的个体(壳长 2.6 cm±0.2 cm), 用砂滤海水冲洗并清除壳外附着物, 在砂滤海水中驯养 7 d 后开始实验。

### 1.2 重金属富集实验

重金属富集释放实验均在水体为 20 L 的水族箱中进行, 每个实验组放置泥蚶 50 只。根据急性毒性

预实验结果及相关参考文献确定重金属处理浓度, 并分别设 Cu, Pb, Cd 3 个单一重金属处理组, Cu×Pb, Cu×Cd, Pb×Cd 3 个重金属联合处理组与 1 个对照组, 共计 7 个实验组, 每个实验组设 3 个平行, 各组重金属浓度见表 1。实验过程中使用的海水均为砂滤海水, 为了消除容器壁吸附金属离子产生的影响, 实验所用水族箱均已预先用实验溶液浸泡处理 48 h。

实验过程采用半静态养殖, 每天早晨 8:00 取出泥蚶实验个体, 于不添加重金属的砂滤海水中投喂扁藻(*Tetraselmis Chui*)30 min, 扁藻浓度为 1.0×10<sup>4</sup>~4.0×10<sup>4</sup> 个/mL。投喂后的泥蚶个体放入新配制的重金属实验水体, 为避免重金属对环境的污染, 实验期间的废水均用金属离子螯合剂 EDTA 处理后排出。在实验第 0、5、10、15、20、25 和 30 天进行分批取样, 每个平行每次随机取出 5 只泥蚶个体, 每个实验组共计 15 个个体, 解剖后取软体组织, -20℃ 冷冻保存。

表 1 实验分组及浓度设计(μg/L)

Tab. 1 Experimental set-up (μg/L)

分组	处理	Cu		Pb		Cd	
		理论值	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值
1	Cu	30.0	26.5±3.3	—	—	—	—
2	Pb	—	—	60.0	56.8±2.2	—	—
3	Cd	—	—	—	—	50.0	45.6±2.7
4	Cu×Pb	30.0	27.1±2.2	60.0	57.5±1.9	—	—
5	Cu×Cd	30.0	27.4±2.6	—	—	50.0	45.9±2.7
6	Pb×Cd	—	—	60.0	57.0±2.5	50.0	46.8±1.6
7	对照 (砂滤海水)	—	1.0	—	2.7	—	0.14

注: “—”表示未有测定

### 1.3 重金属含量测定

取出冷冻保存的泥蚶软体组织, 解冻后匀浆, 称取 1.0 g 左右的匀浆组织, 加入 3.0 mL 95% HNO<sub>3</sub> 和 0.5 mL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 在 Mars-5 型微波消解仪中消解 1 h, 冷却之后定容到 25.0 mL。并使用超纯水代替样品作空白对照, 其他操作与样品处理一致。生物体各组织中重金属含量的测定均遵照 GB17378.6—2007《海洋监测规范》<sup>[7]</sup>, Pb 采用石墨炉原子吸收分光光度法, Cu 和 Cd 采用火焰原子吸收分光光度法。每实验组测定 3 个平行样, 所有测定结果均以湿重计。

### 1.4 数据处理

运用 Excel 2003 进行简单的数据处理, 对于单一重金属的富集实验, 生物富集系数 BCF<sup>[8]</sup>用以下公式计算得到:

$$BCF = \frac{C_A}{C_W}$$

式中: C<sub>A</sub> 为实验开始后各个取样时间点生物体内重金属的含量, 单位 mg/kg, C<sub>W</sub> 为水体污染物浓度, 单位 mg/L。

运用 SPSS13.0 对单一和联合重金属胁迫条件下的累积结果进行显著性分析, 并对砂滤海水中养殖

的泥蚶体内重金属的变化趋势进行显著性分析。

## 2 结果

### 2.1 泥蚶对单一重金属的生物富集

由图 1 可知, 在 30 d 富集实验过程中, 泥蚶对

$\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  三种重金属均有较高的累积能力, 且泥蚶对三种重金属离子的最大累积浓度相近, 其生物富集系数依次为: 210.16~1 178.66、128.15~603.84 和 198.84~659.37, 即 3 种重金属离子在泥蚶体内生物富集系数(BCF)为:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$ 。

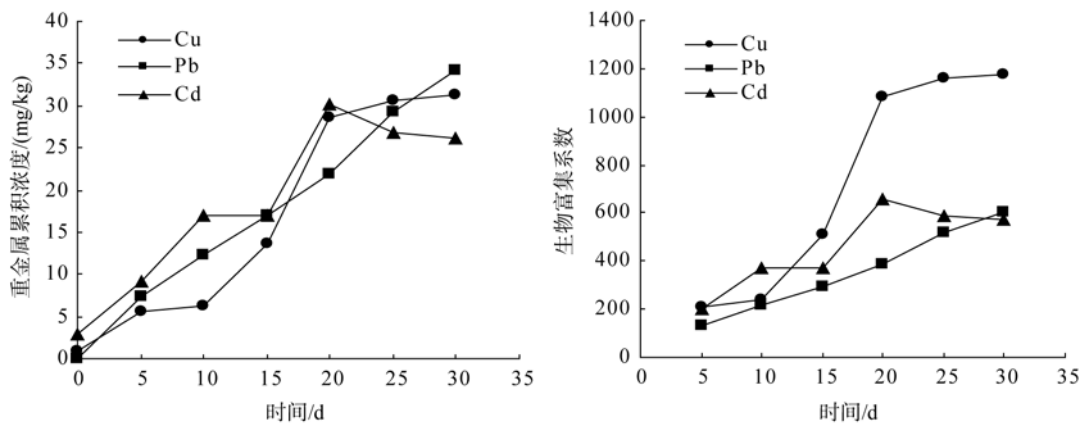


图 1 泥蚶对重金属的生物富集趋势与生物富集系数(BCF)

Fig. 1 *T. granosa* bioaccumulation tendency and bioconcentration factors of heavy metals

### 2.2 联合重金属在泥蚶体内富集水平研究

图 2(a)中, 单一  $\text{Cu}^{2+}$  胁迫与  $\text{Cu} \times \text{Pb}$  联合胁迫条件下, 泥蚶对  $\text{Cu}^{2+}$  的富集能力相当, 差异性不显著 ( $P > 0.05$ ), 而在  $\text{Cu} \times \text{Cd}$  联合胁迫的水体中, 泥蚶对  $\text{Cu}^{2+}$  的富集能力远低于前两者, 达到差异显著水平 ( $P < 0.05$ )。可以认为, 在对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸收富集方面,  $\text{Cu}^{2+}$  与  $\text{Pb}^{2+}$  之间相互影响很小, 而 Cd 明显拮抗  $\text{Cu}^{2+}$  的富集。

图 2(b)中, 单一 Pb 胁迫、 $\text{Cu} \times \text{Pb}$  联合胁迫和  $\text{Pb} \times \text{Cd}$  联合胁迫对泥蚶富集  $\text{Pb}^{2+}$  的能力差异性不显

著 ( $P > 0.05$ ), 最大富集水平相近, 但在富集过程中,  $\text{Cu} \times \text{Pb}$  联合胁迫和  $\text{Pb} \times \text{Cd}$  联合胁迫条件下, 能使  $\text{Pb}^{2+}$  更快地达到最大富集水平, 而单一 Pb 胁迫则呈稳步增加的趋势。在此过程中,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  有诱导泥蚶富集  $\text{Pb}^{2+}$  的效应。

图 2(c)中, 单一 Cd、 $\text{Cu} \times \text{Cd}$  和  $\text{Pb} \times \text{Cd}$  三种胁迫条件下, 泥蚶富集  $\text{Cd}^{2+}$  的速度较为一致, 在 20 d 左右达到富集的最大水平, 之后都有一定的回落, 与单一 Cd 胁迫相比, 后两者条件下泥蚶体内累积的  $\text{Cd}^{2+}$  下降速度更快, 达到差异显著水平 ( $P < 0.05$ )。

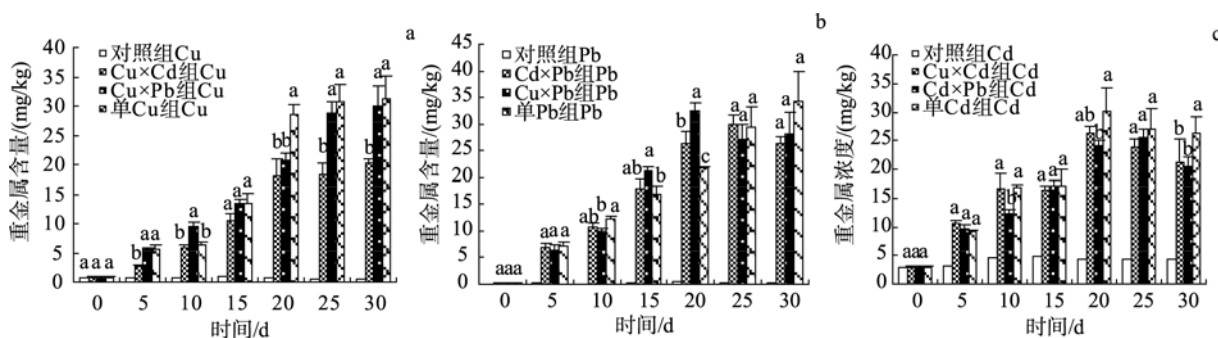


图 2 不同时间、不同重金属单一与联合胁迫作用下泥蚶体内  $\text{Cu}^{2+}$ (a)、 $\text{Pb}^{2+}$ (b)、 $\text{Cd}^{2+}$ (c) 的含量

同一时间对富集含量进行显著性分析, 不同字母代表差异显著 ( $P < 0.05$ )

Fig. 2 *T. granosa* accumulated  $\text{Cu}^{2+}$ (a),  $\text{Pb}^{2+}$ (b), and  $\text{Cd}^{2+}$ (c) in the presence of single and cross-stress, one-way ANOVA of tested heavy metals concentrations at the same exposure time Different letters (a, b, and c) indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) between two groups

### 2.3 泥蚶对砂滤海水中重金属累积释放变动趋势

由图3可知: 在30 d的养殖实验中, 生活在砂滤海水中的泥蚶, 其体内三种重金属含量都维持在较低水平, 且波动性较小。Cu<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>的平均含量分别为0.71, 0.22 和4.0 mg/kg, 其中Cu<sup>2+</sup>和Pb<sup>2+</sup>的含量低于《中华人民共和国农业行业标准无公害食品: 水产品中有毒有害物质限量》<sup>[9]</sup>中的要求, 而Cd<sup>2+</sup>的含量则高于国家限量标准(Cu 50 mg/kg, Pb 1.0 mg/kg, Cd 1.0 mg/kg, 以湿重计)。显著性分析发现, 泥蚶体内Cu<sup>2+</sup>的含量在20 d后出现显著性下降( $P < 0.05$ ); Pb在体内的含量略有上升, 但未发生显著性变化( $P > 0.05$ ); 泥蚶体内的Cd<sup>2+</sup>在实验开始后逐渐上升的趋势( $P < 0.05$ ), 10 d后基本达到稳定, 此后无显著性变化( $P > 0.05$ )。

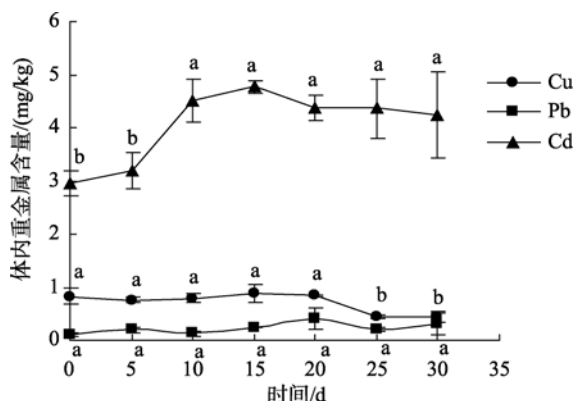


图3 砂滤海水中泥蚶体内累积重金属变化趋势

Fig. 3 The variation of heavy metals in *T. granosa* with the increase of treatment time

## 3 讨论

### 3.1 重金属在泥蚶体内富集特征

生物富集系数(BCF)是描述化学物质在生物体内累积趋势的重要指标, 一般通过生物组织中化合物的浓度与溶解在水中的浓度之比获得, 也可以认为是生物对化合物的吸收速率与生物体内化合物净化速率之比。研究发现泥蚶对三种重金属都有较高的富集能力, 其BCF大小依次为: Cu<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup> > Pb<sup>2+</sup>, 与其他研究的结果<sup>[5-6,10]</sup>有一定的差异。分析认为, 贝类累积重金属的水平受到众多因素的影响, 如贝类个体大小、生长速度、繁殖状态、物种、温度、pH、季节变化等<sup>[11-13]</sup>; 同时, 不同的计算方法, 得到

的结果也有一定的差异, 本文主要是根据贝类体内重金属浓度与水体中重金属浓度的比值获得BCF, 以求真实地反应贝类生物体从重金属污染水体累积重金属的能力。

黄玉瑶等<sup>[14]</sup>指出, 生物体内重金属含量与机体中的脂肪含量有密切关系, 一般脂肪含量高的部位累积的重金属就多, 实验选取的泥蚶为繁殖前期的亲贝, 生殖腺中的生殖细胞含有大量供精卵发育的脂类物质, 故泥蚶对三种重金属的生物富集系数都较高。同时发现, Cu<sup>2+</sup>的生物富集系数高于Pb<sup>2+</sup>和Cd<sup>2+</sup>, 分析认为: 首先, Cu是生物体一种必需金属元素, 在很多酶活性中扮演重要角色<sup>[15]</sup>, 而且有研究指出必需金属元素在生物体内往往有较高的累积水平<sup>[12]</sup>; 其次, 重金属的累积与体内MT等金属结合蛋白和金属结合基团有较为密切的关系, 泥蚶对Cu<sup>2+</sup>的生物富集系数较大, 主要是泥蚶对相对较低浓度的Cu<sup>2+</sup>有较高的累积能力, 金属结合蛋白和金属结合基团等在累积低浓度的Cu<sup>2+</sup>发挥重要作用, Vasák等<sup>[16]</sup>进行的体外实验亦发现, MT中大量巯基与重金属结合能力顺序依次为: Hg<sup>2+</sup> > Cu<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, Bi<sup>3+</sup> > Cd<sup>2+</sup> > Pb<sup>2+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Co<sup>2+</sup>, 即Cu<sup>2+</sup>与MT的巯基有更高的结合能力, 可以在体内达到较高的累积水平。

### 3.2 联合重金属在泥蚶体内富集规律

研究发现, 除了在Cu×Cd联合胁迫作用下, 泥蚶对Cu<sup>2+</sup>的富集能力显著下降外, 其他重金属联合作用时, 泥蚶对相应重金属的富集能力无显著变化, 即说明Cd<sup>2+</sup>对Cu<sup>2+</sup>的富集具有一定的拮抗作用。一般认为无脊椎动物是通过不溶化作用(insolubilization)来实现对重金属的解毒功能<sup>[17]</sup>, 即通过细胞膜将金属转运到可隔离和贮存金属的细胞内微粒组织中, 以不溶形式存在<sup>[18]</sup>。然而, Marigómez等<sup>[19]</sup>发现, Cd<sup>2+</sup>和Cu<sup>2+</sup>等少数金属离子在贻贝和蛤仔体内主要是以可溶形式存在, 其他大多数金属以不溶形式存在。在泥蚶的富集实验中, 当Cu<sup>2+</sup>和Cd<sup>2+</sup>共存时, 两种重金属都能够同时与起不溶化作用的基团结合, 然而Cd<sup>2+</sup>的浓度高于Cu<sup>2+</sup>, 高浓度的Cd<sup>2+</sup>能够与相关基团有更多的结合机会, 从而达到较高的累积水平。其他一些研究亦表明, Cd<sup>2+</sup>可以通过与含羧基、氨基、特别是含巯基的蛋白分子结合来抑制线粒体中多种酶的活性, 而且Cd<sup>2+</sup>还可以干扰生物体必需金属元素Cu<sup>2+</sup>、Co<sup>3+</sup>和Zn<sup>2+</sup>等在体内的代谢从而产生毒副作用<sup>[20]</sup>。Pb<sup>2+</sup>在泥蚶体内可能主要以不溶形式存在,

在细胞膜表面和其他部位有特定的吸附位点,与  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  不存在竞争吸附关系<sup>[21]</sup>。

在富集过程中,  $\text{Cu} \times \text{Pb}$  胁迫和  $\text{Pb} \times \text{Cd}$  胁迫作用下, 泥蚶对  $\text{Pb}^{2+}$  的富集速率明显高于单一  $\text{Pb}^{2+}$  作用组, 并在 20 d 左右达到最大富集水平。可以推断,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对泥蚶富集  $\text{Pb}^{2+}$  有诱导效应。该现象可以用重金属之间的协同效应来解释, 即当几种金属共存时, 细胞膜通透性增加, 因而重金属离子进入细胞内的速率增加, 导致  $\text{Pb}^{2+}$  的富集速率加快。如  $\text{Cd}^{2+}$  可与膜蛋白的巯基、羧基、磷酸基、咪唑和氨基等作用, 改变其结构和稳定性, 从而改变膜的通透性<sup>[22]</sup>;  $\text{Cu}^{2+}$  可使肝脏溶酶体膜磷脂发生氧化反应, 导致溶酶体膜破裂, 水解酶大量释放, 而引起肝组织坏死<sup>[23]</sup>, 进一步加快重金属向软体组织的转运累积。

无论在任一胁迫条件下, 泥蚶对  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  三种重金属的累积量都随着时间的增加而增大, 且在 20 d 左右即可达到最大富集水平, 这也是许多贝类重金属富集实验周期选择 15 ~ 30 d 的原因<sup>[5-6,24]</sup>。在达到最大富集水平后, 泥蚶体内各种重金属含量都有不同程度的下降。推测认为, 随着染毒时间的增加, 重金属对泥蚶机体各组织器官造成不同程度的损伤, 降低了累积重金属的能力, 而联合重金属的危害作用更大。Evnas 等<sup>[25]</sup>研究也发现重金属能够引起鱼类肝脏坏死、鳃上皮增生、融合、毛细血管扩张、水肿等各种组织病理变化, 与本文推测有很好的吻合性。

### 3.3 砂滤海水中重金属在泥蚶体内的累积

当前贝类体内重金属含量超标问题日益受到人们的关注。人们在贝类富集重金属实验的基础上, 开展贝类的重金属释放规律研究<sup>[5,10]</sup>, 试图探索贝类产品净化途径。然而, 生活在自然海区中的贝类, 其体内重金属含量很少能够达到较高的累积水平, 探讨低浓度水平重金属的累积释放规律将有助于当前贝类重金属净化问题的解决。

养殖实验采用的砂滤海水,  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  三种金属的含量分别为 1.0  $\mu\text{g/L}$ 、2.7  $\mu\text{g/L}$  和 0.14  $\mu\text{g/L}$ , 其中  $\text{Cu}$  和  $\text{Cd}$  浓度符合《海水水质标准》(GB3097-1997)<sup>[26]</sup> 一类水质标准,  $\text{Pb}$  浓度达到二类水质标准, 总体水质较好。研究发现, 养殖在砂滤海水中的泥蚶, 其体内  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 20 d 后出现显著的下降, 解剖发现, 这些泥蚶生殖腺中的生殖细胞出现明显的退化, 而  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  则没有类似的下降现象, 说明  $\text{Cu}^{2+}$  在贝类的生殖过程中扮演重要角色, 与脂类物质亦有

较密切的关系。 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  的含量仅在实验开始时有逐渐上升的趋势, 之后基本达到动态平衡, 说明泥蚶暂养到新的水体环境中, 会有一些的应激反应, 产生部分 MT 等金属蛋白, 结合水体中的金属, 累积在体内, 达到一个新的稳态平衡, 低浓度的重金属则较难排除体外。

陈海刚等<sup>[27]</sup>研究亦发现蓄积在菲律宾蛤仔、近江牡蛎和翡翠贻贝体内的高浓度  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Hg}^{2+}$  在前期有明显下降, 但之后的含量基本维持在一个稳定的浓度水平未有显著变化, 而  $\text{Cd}^{2+}$  在 3 种贝类体内的含量始终未有明显改变。这可能是部分重金属并未富集于生物体内, 而是吸附于体表的一些结构以及黏液层等, 称之为假富集, 前期的释放主要是这部分重金属被净化, 累积于体内的重金属则与生物大分子基团, 以及特殊的结合位点结合, 较难排出体外。Rainbow<sup>[28]</sup>指出, 海洋生物对重金属的富集取决于金属进出生物体的速率, 相对速率的变化决定了生物对特定金属的积累和排出。李学鹏等<sup>[5]</sup>指出平衡状态下生物体内金属含量随着外部水体金属暴露浓度的增大而增大, 且基本呈正相关关系。因此, 保护海洋水体环境, 加强重金属的污染防治势在必行。

#### 参考文献:

- [1] Chandran R, Sivakumar A A, Mohandass S, et al. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP, 2005, 140 (3, 4): 422-426.
- [2] 吴新民, 郑向荣, 郝艳娟, 等. 重金属对扇贝养殖环境及食用安全影响的研究, 河北渔业, 2010, (10): 10-14.
- [3] 韦钦胜, 孙丕喜, 徐宗军, 等. 贝类养殖环境安全评价及其监控体系技术研究的探讨, 海洋开发与管理, 2010, 27(3): 48-51.
- [4] 农业部渔业局. 2009 年中国渔业年鉴[K]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [5] 李学鹏, 励建荣, 段青源, 等. 泥蚶对重金属铜、铅、镉的生物富集动力学[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 592-601.
- [6] 张少娜, 孙耀, 宋云立, 等. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)对 4 种重金属的生物富集动力学特性研究[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(5): 438-445.

- [7] GB17378.6-2007, 海洋监测规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [8] Li X B, Jia L Z, Zhao Y L, et al. Seasonal bioconcentration of heavy metals in *Onchidium struma* (Gastropoda:Pulmonata) from Chongming Island, the Yangtze Estuary, China[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(2): 255-262.
- [9] NY 5073-2006, 无公害食品: 水产品中有毒有害物质限量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [10] 王晓丽, 孙耀, 张少娜, 等. 牡蛎对重金属生物富集动力学特性研究[J]. 生态学报, 2004, 24 (5): 1086-1090.
- [11] 励建荣, 李学鹏, 王丽, 等. 贝类对重金属的吸收转运与累积规律研究进展[J]. 水产科学, 2007, 26(1): 51-55.
- [12] Stewart F M, Thompson D R, Furness R W, et al. Seasonal variation in heavy metal levels in tissues of common guillemots, *Uria aalge* from northwest Scotland[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1994, 27(2): 168-175.
- [13] 沈盎绿, 马继臻, 平仙隐, 等. 褶牡蛎对重金属的生物富集动力学特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 783-788.
- [14] 黄玉瑶. 内陆水域污染生态学原理与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 77.
- [15] Lehtonen K K, Leiniö S. Effects of exposure to copper and malathion on metallothionein levels and acetylcholinesterase activity of the mussel *Mytilus edulis* and the clam *Macoma balthica* from the Northern Baltic Sea[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 71(3): 489-496.
- [16] Vasák M. Metal removal and substitution in vertebrate and invertebrate metallothioneins[J]. Methods Enzymol, 1991, 205: 452-458.
- [17] Geffard A, Amiard-Triquet C, Amiard J C. Do seasonal changes affect metallothionein induction by metals in mussels *Mytilus*, *Mytilus edulis*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 61(2): 209-220.
- [18] Nassiri Y, Rainbow P S, Amiard-Triquet C, et al. Trace metal detoxification in the ventral caeca of *Orchestia gammarellus*(Crustacea:Amphipoda)[J].Marine Biology, 2000, 136: 477-484.
- [19] Marigómez I, Soto M, Cajaraville M P. Morphofunctional patterns of cell and tissue systems involved in metal handling and metabolism[M]// Cajaraville M P. Cell Biology in Environmental Toxicology. Bilbo: University of the Basque Country Press Service, 1995: 89-134.
- [20] Zamuda C D, Wright D A, Smucker R A. The importance of dissolved organic compounds in the accumulation of copper by the American oyster, *Crassostrea virginica* [J].Marine Environmental Research, 1985, 16: 1-12.
- [21] Vranken G, Tiré C, Heip C. The toxicity of paired metal mixtures to the nematode *Monhystera disjuncta* (Bastian, 1865) [J].Marine Environmental Research,1988, 26(3): 161-179.
- [22] 杨亚琴, 贾秀英. Cu~(2+), Zn~(2+)和 Cd~(2+)对蟾蜍蝌蚪的联合毒性[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12 (3): 356-359.
- [23] 王俊, 张义生. 化学污染物与生态效应[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1993.
- [24] 陈海刚, 贾晓平, 林钦, 等. 混合暴露条件下近江牡蛎对重金属的积累与释放特征[J]. 应用生态学报, 2008, 19(4): 922-927.
- [25] Evans C W, Hills J M, Dickson J M J. Heavy metal pollution in Antarctica: a molecular ecotoxicological approach to exposure assessment[J]. Journal of Fish Biology, 2000, 57: 8-19.
- [26] GB 3097-1997, 海水水质标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [27] 陈海刚, 林钦, 蔡文贵, 等. 3种常见海洋贝类对重金属 Hg、Pb 和 Cd 的积累与释放特征比较[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1163-1167.
- [28] Rainbow P S. The Signification of Trace Metal Concentration in Marine Invertebrates [M]. Boca Raton: Lewis Publisher, 1993.

## Accumulation characteristics of heavy metals in *Tegillarca granosa* under single or combined stress exposure

HUO Li-hui<sup>1,2</sup>, LIN Zhi-hua<sup>2</sup>, ZHU Dong-li<sup>3</sup>, LIU Guang-xu<sup>4</sup>, CHEN Cai-fang<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences and Bio-Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wangli University, Ningbo 315100 China; 3. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003 China; 4. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029 China)

**Received:** Jan., 22, 2011

**Key words:** *Tegillarca granosa*; heavy metal; combined stress; bioconcentration factors

**Abstract:** A semi-static exposure toxicity test was conducted under laboratory-controlled conditions to study the accumulation characteristics and mechanisms of heavy metals (Cu, Pb, and Cd) in brood stock of *Tegillarca granosa* in the presence of single or combined heavy metals. The bioconcentration factors (BCF) of Cu, Pb, and Cd were 210.16~178.66, 128.15~603.84 and 198.84~659.37 respectively. The value of Cu in *T. granosa* was higher than those of Pb and Cd; In the presence of combined heavy metal, a competitive adsorption relationship existed between Cu and Cd. The localization of Cu and Cd was in soluble fraction, whereas Pb was located in insoluble fraction. A synergistic relationship existed between Cu and Cd; and the accumulation of Cu was related to process of breed and lipid; the accumulation of heavy metals was closely bound to the binding sites and metal-binding proteins, therefore, heavy metals except Cu were a stable condition in *T. granosa* with time expansion in sand filtered seawater.

(本文编辑: 康亦兼)