

# Cd<sup>2+</sup>对青蛤(*Cyclina sinensis*)的毒性 及蓄积过程研究\*

张丽岩 宋欣 高玮玮 潘鹤婷 潘宝平

(天津师范大学生命科学学院 细胞遗传与分子调控天津市重点实验室 天津 300387)

**提要** 利用水生动物急性毒性实验方法,在 6 个浓度下 Cd<sup>2+</sup>对青蛤的急性毒性进行测定,经回归分析后,得到 Cd<sup>2+</sup>对青蛤 96h 半致死浓度为 20.09mg/L,安全浓度为 0.201mg/L。分别对半致死浓度和安全浓度下 Cd<sup>2+</sup>在青蛤体内不同组织的蓄积情况进行了分析。结果表明,在半致死浓度条件下,168h 青蛤各组织 Cd<sup>2+</sup>的含量依次为肌肉>内脏团>鳃;而在安全浓度下,其结果为内脏团>鳃>肌肉,内脏团对于 Cd<sup>2+</sup>富集能力远高于肌肉。讨论了青蛤的养殖环境及产品检验等问题。

**关键词** 青蛤, 镉, 半致死浓度, 重金属蓄积

**中图分类号** Q789

青蛤(*Cyclina sinensis* Gmelin, 1791)的肉质鲜美,营养丰富,并具有广温性分布和抗污染能力强等特点,是我国沿海一种重要的经济滩涂贝类(庄启谦, 2001)。此外,由于青蛤生活在近高潮区和中潮区的泥沙滩中,营滤食性埋栖生活,主要通过滤水作用摄食海水中的浮游生物和有机碎屑(王兴强等, 2006),故极易受到环境重金属的污染。

近年来,随着合金冶炼、陶瓷、电镀、颜料等工业的迅猛发展,我国近岸海域水质金属镉(Cd<sup>2+</sup>)的污染日趋加重。作为一种生物体非必需元素,镉在自然界不仅会直接威胁到动植物的生存,还会通过食物链的富集作用间接危害人体健康(刘宗平, 2005)。有关水生生物受重金属污染情况报道很多(David *et al.*, 1979; FANG *et al.*, 2003; 徐韧等, 2007),但对于镉在青蛤体内不同组织的蓄积情况尚未见正式报道。本研究在检测 Cd<sup>2+</sup>对青蛤成贝的半致死浓度和安全浓度基础上,分别测定不同浓度下镉在青蛤主要器官部位的蓄积情况,为青蛤的养殖环境条件及水产品安全提供有价值的实验数据,同时为探索青蛤的应激反应机制提供重要的参数。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

青蛤(*Cyclina sinensis*)于 2009 年 4 月采自天津大港海滨滩涂,选择成体及形态指标没有显著差异的个体(高玮玮等, 2009),于人工海水中暂养 7 天。海水密度为 1.020—1.030g/m<sup>3</sup>,水温为(18±2),曝氧条件:24h 换水一次,换水率 50%,每日投喂 5‰小球藻,选择闭壳反应灵敏个体进行实验。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 Cd<sup>2+</sup>对青蛤的急性毒性实验** 依据预实验结果,参照周永欣等(1989)的等对数间距法选择适宜的药品浓度梯度,设置两组平行试验,并设置一个空白对照组,每组投放 20 个体。将青蛤饲养于不同浓度镉离子的海水中,静水实验,24h 换水一次,换水率 50%,期间不投喂;在 24h、48h、72h、96h 分别统计每实验组青蛤死亡个体数,计算 Cd<sup>2+</sup>对青蛤的半致死浓度和安全浓度。

**1.2.2 Cd<sup>2+</sup>在青蛤体内的蓄积实验** 将实验青蛤暴露于半致死浓度和安全浓度 Cd<sup>2+</sup>的海水中,各设

\* 天津市科委应用基础与前沿技术重点项目资助, 09JCZDJ19300 号; 天津市科委应用基础研究面上项目资助, 06YFJMJC 11800 号。张丽岩, 硕士研究生, E-mail: liyan\_chang@yahoo.cn

通讯作者: 潘宝平, 博士, 教授, E-mail: panbaoping@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-06-20, 收修改稿日期: 2009-08-15

置两组平行试验。静水实验, 24h 换水一次, 换水率为 50%, 期间不投喂。分别在 10 个预设时间点取样, 解剖分离出青蛤鳃、肌肉、内脏团置于真空冷冻干燥机 (German, FD-1C-50) 干燥, 电子天平即时称重。样品加入浓硝酸和高氯酸, 加热消化至白烟散尽为止, 稀硝酸溶解沉淀, 加蒸馏水定容至 10ml。利用 ICP 光电直读光谱仪 (USA, Leeman-LABS) 测定 Cd<sup>2+</sup> 浓度。

### 1.3 数据处理

实验所得数据输入 MS Excel 2007 进行初步计算, 参考熊治廷 (2000) 的方法, 利用 SPSS 17.0 软件进行回归分析, 确定半致死浓度 (LC<sub>50</sub>) 和区间估值。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cd<sup>2+</sup>对青蛤的急性毒性

实验结果 (表 1) 表明, 海水中 Cd<sup>2+</sup> 浓度与受试青蛤死亡率呈正相关。24h 内各实验组青蛤死亡率较低, 随着实验时间增加, 各浓度组青蛤死亡率均呈上升趋势。低浓度实验组 (10mg/L) 中死亡率较低; 而高浓度实验组 (316.23mg/L) 中青蛤死亡率明显上升且在 96h 死亡率达 100%。对照组全部健康存活, 无死亡个体。

表 1 不同浓度 Cd<sup>2+</sup> 海水中青蛤死亡情况

Tab.1 Mortality of *C. sinensis* exposed to different concentrations of Cd<sup>2+</sup>

浓度 (mg/L)	受试生物数	累计死亡个体数				96h 死亡率 (%)
		24h	48h	72h	96h	
10.00	20	0	1	3	6	30
19.95	20	1	3	8	10	50
39.81	20	2	7	10	14	70
79.43	20	3	7	12	17	85
158.49	20	5	9	14	19	95
316.23	20	6	11	15	20	100
0.00	20	0	0	0	0	0

经 SPSS 17.0 软件计算得出, 96h 受试青蛤死亡率概率单位和 Cd<sup>2+</sup> 浓度对数的相关性方程为  $y = 1.832x + 2.613$  ( $R^2 = 0.999$ ,  $P < 0.01$ )。96h 半致死浓度 LC<sub>50</sub> = 20.09mg/L, 95% 置信区间 13.614—29.648mg/L。鉴于镉属于性质稳定的、能在生物体内积累的化学物质, 故采用应用系数 0.01, 计算出安全浓度为 0.201mg/L。

### 2.2 半致死浓度下 Cd<sup>2+</sup>在青蛤体内的蓄积分析

在半致死浓度 LC<sub>50</sub> (20.09mg/L) 胁迫 168h 实验中, 青蛤的表现基本闭壳, 活动减少。随着胁迫时间的延长, 青蛤各组织对镉蓄积量逐渐增加。如表 2 所示, 鳃组织的镉含量自 6h 起就处于同时段内较高水平,

但随着时间增加蓄积量升高较为缓慢; 在肌肉组织中, 镉含量在 48h 内处于相对较低水平 [(140.52±6.93)μg/g 以内], 但在 72h 表现出显著升高 [(331.88±15.63)μg/g] 并在 168h 达到峰值 [(555.33±12.70)μg/g], 为各组织含量最大值; 内脏团中镉含量上升比较平稳, 未表现出骤升情况。

### 2.3 安全浓度下 Cd<sup>2+</sup>在青蛤体内的蓄积分析

在安全浓度 (0.201mg/L) 下, 青蛤体内镉含量随时间增加总体均呈上升趋势。其中鳃和内脏团中自 6h 起即可检出明显含量, 而随后二者表现出不同的蓄积趋势: 72h 内, 鳃蓄积量大于内脏团, 而自 96h 以后, 内脏团镉含量上升速度明显加快且在 168h 达到峰值 (22.70±2.05)μg/g; 而在肌肉组织中镉的蓄积量较少, 168h 时最高值仅为 (4.83±1.27)μg/g。具体如表 3 所示。

表 2 半致死浓度 (20.09mg/L) 下青蛤各组织 Cd<sup>2+</sup> 含量  
Tab.2 Cd<sup>2+</sup> content in organizations of *C. sinensis* at LC<sub>50</sub> (20.09mg/L)

处理时间 (h)	青蛤各组织部位 Cd 含量 (μg/g)		
	鳃	肌肉	内脏团
6	45.00±2.77	9.87±1.67	36.38±4.40
12	164.08±15.28	31.35±4.03	123.97±9.39
24	199.33±10.13	45.88±2.98	163.22±17.11
36	218.80±17.24	69.06±6.81	224.48±17.17
48	253.38±14.53	140.52±6.93	245.91±18.75
72	291.31±19.35	331.88±15.63	267.47±18.27
96	335.44±16.55	347.48±17.03	380.36±15.12
120	376.61±19.75	423.87±20.53	431.32±19.96
144	389.74±18.75	489.35±20.60	462.75±19.54
168	429.78±17.07	555.33±12.70	515.65±22.73

表 3 安全浓度 (0.201mg/L) 下青蛤各组织 Cd<sup>2+</sup> 含量  
Tab.3 Cd<sup>2+</sup> content in organizations of *C. sinensis* at safe concentration (0.201mg/L)

处理时间 (h)	青蛤各组织部位 Cd 含量 (μg/g)		
	鳃	肌肉	内脏团
6	1.75±1.24	0.01±0.01	1.92±0.63
12	4.96±0.89	1.01±0.10	3.03±0.55
24	7.72±1.74	1.85±0.29	4.57±0.35
36	8.25±0.56	1.77±0.07	4.64±0.75
48	8.47±0.68	2.22±0.36	5.92±0.56
72	10.38±0.55	2.71±0.50	9.31±0.79
96	12.78±0.89	3.38±0.18	13.56±0.96
120	13.16±0.66	3.67±0.59	15.77±1.37
144	14.48±1.02	3.84±0.57	18.06±1.40
168	18.04±0.92	4.83±1.27	22.70±2.05

### 3 讨论

重金属污染是我国多年来渔业生产环境面临的重要问题,也是公众关心的海产品安全的热门话题。 $Cd^{2+}$ 对于水生贝类属高毒性物质,前人的相关研究认为,贝类对重金属  $Cd^{2+}$ 的吸收主要是经过鳃、体表离子交换、进食及高亲和力的重金属与蛋白质的结合等途径,其毒性主要表现为取代原有金属离子与生物体内大分子结合,从而表现为对生物体酶活性的影响以及一定的致突变性(赵红霞等,2004)。

周凯等(2007)在对青蛤幼贝的镉胁迫实验中,得到96h半致死浓度  $LC_{50} = 14\text{mg/L}$ ;本研究中  $Cd^{2+}$ 对青蛤成贝的96h半致死浓度  $LC_{50}$ 为  $20.09\text{mg/L}$ ,说明青蛤成贝比幼贝对镉有较强的耐受力。参考李玉环等(2006)利用镉对5月龄海湾扇贝胁迫实验结果,其96h的  $LC_{50}$ 仅为  $3.45\text{mg/L}$ 。说明不同双壳类对金属镉的承受力差别较大,海湾扇贝对环境中的镉比青蛤更为敏感。

本研究中在半致死浓度( $20.09\text{mg/L}$ )下,在72h之前各组织对镉的蓄积量依次内脏团>鳃>肌肉。可能与贝类肝脏的解毒作用和金属硫蛋白的诱导作用有关。金属硫蛋白(简称MTs)是一类广泛存在于生物体内的低分子量、能被金属诱导表达的金属结合蛋白(Hamer,1986),它参与众多生物过程,包括一些生物所需元素如铜、锌的贮存和有毒金属的排除。而鳃组织中蓄积量高可能与其直接与海水接触且血流丰富有关。在72h后,青蛤肌肉组织对镉的蓄积量剧增,最终蓄积量依次为肌肉>内脏团>鳃。推测此情况可能与过多的重金属镉超过了金属硫蛋白的合成速度和结合能力时,抑制酶活性或使酶失活,重金属与大分子蛋白结合,引起青蛤肌肉的急性中毒反应有关。

本研究中青蛤在安全浓度( $0.201\text{mg/L}$ )条件下,在长时间(168h)内镉的蓄积趋势依次内脏团>鳃>肌肉,该结果与王凡等(2007)对栉孔扇贝10日曝露实验以及李玉环等(2008)对海湾扇贝49日同类实验结论一致。此外,青蛤在72h前体内各组织对镉的蓄积量依次为鳃>内脏团>肌肉,笔者认为鳃蓄积量上升较快与鳃作为呼吸器官与直接海水大面积接触,进行离子交换和吸附作用较多有关;而内脏团中的蓄积需要通过循环系统的运输以及金属硫蛋白(MTs)的结合作用完成,故蓄积作用时间较长。

这里特别值得指出的是,本实验得到  $Cd^{2+}$ 对青蛤的安全浓度( $0.201\text{mg/L}$ )远远高于国家农业部发布

的《无公害食品标准——淡水海水养殖水质》中规定的  $0.005\text{mg/L}$ (农业部,2001),并且青蛤在此安全浓度下生存正常,生活无异样,没有出现死亡个体。但其体内镉蓄积量最低的肌肉组织已达到  $(4.83 \pm 1.27)\mu\text{g/g}$ ,近50倍于国家规定的《农产品安全质量无公害水产品安全要求》中的  $0.1\mu\text{g/g}$ (国家质量监督检验检疫总局,2001)。另外,青蛤为双闭壳肌种类,其肌肉占总重量的比例较小,安全浓度下其主要可食部内脏团镉的蓄积量能够达到  $(22.70 \pm 2.05)\mu\text{g/g}$ ,该结果应引起青蛤规模化养殖及水产品检验部门的足够重视。

### 参 考 文 献

- 王凡,赵元凤,吕景才等,2007. 栉孔扇贝对铜、铅、镉的累积效应. 水产科学,26(2): 63—66
- 王兴强,曹梅,阎斌伦等,2006. 青蛤的生物学及其繁殖. 水产科学,25(6): 312—316
- 庄启谦,2001. 中国动物志,软体动物门,双壳纲,帘蛤科. 北京: 科学出版社,236—241
- 刘宗平,2005. 环境重金属污染物的生物有效性. 生态学报,25(2): 273—278
- 农业部,2001. 无公害食品标准(淡水海水养殖水质), NY 5051-2001
- 李玉环,林洪,2006. 镉对海湾扇贝的急性毒性研究. 海洋水产研究,27(6): 80—83
- 李玉环,黄海,王佃伟,2008. 海湾扇贝体内重金属镉的富集和消除规律的研究. 微量元素与健康研究,25(5): 30—33
- 国家质量监督检验检疫总局,2001. 农产品安全质量无公害水产品安全要求, GB 18406.4-2001
- 周凯,么宗利,来琦芳等,2007. 重金属  $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 对青蛤幼贝的致毒效应. 海洋渔业,29(1): 63—67
- 周永欣,章宗涉,1989. 水生生物毒性试验方法. 北京: 农业出版社,109—191
- 赵红霞,周萌,詹勇等,2004. 重金属对水生动物毒性的研究进展. 中国兽医杂志,40(4): 39—41
- 徐韧,杨颖,李志恩,2007. 海洋环境中重金属在贝类体内的蓄积分析. 海洋通报,26(5): 117—120
- 高玮玮,袁媛,潘宝平等,2009. 青蛤(*Cyclina sinensis*)贝壳形态性状对软体部重的影响分析. 海洋与湖沼,40(2): 166—169
- 熊治廷,2000. 环境生物学. 武汉: 武汉大学出版社,134—137
- David W Engel, Bruce A Fowler, 1979. Factors Influencing Cadmium Accumulation and Its Toxicity to Marine Organisms. Environmental Health Perspectives, 28: 81—88
- FANG Zhan-qiang, CHEUNG R Y H, WONG M H, 2003. Heavy metals in oysters, mussels and clams collected from coastal sites along the Pearl River Delta, South China. Journal of Environmental Sciences (China), 15(1): 9—24
- Hamer D H, 1986. Metallothionein. Annual Review of Biochemistry, 55: 913—951

## ACUTE TOXICITY TEST AND ANALYSIS ON ACCUMULATION OF CADMIUM (Cd<sup>2+</sup>) TO THE CLAM *CYCLINA SINENSIS*

ZHANG Li-Yan, SONG Xin, GAO Wei-Wei, PAN He-Ting, PAN Bao-Ping  
(College of Life Sciences, Tianjin Key Laboratory of Cyto-Genetical and Molecular Regulation,  
Tianjin Normal University, Tianjin, 300387)

**Abstract** To determine the acute toxicity Cd<sup>2+</sup> to *Cyclina sinensis*, six concentrations of Cd<sup>2+</sup> were tested. The 96-h half lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and the safe concentration of Cd<sup>2+</sup> for *C. sinensis* were 20.09mg/L and 0.201mg/L, respectively. In addition, we determined Cd<sup>2+</sup> accumulation in *C. sinensis* at both the LC<sub>50</sub> and the safe concentration. At the LC<sub>50</sub> and 168h after the addition of Cd<sup>2+</sup>, various tissue contents of Cd<sup>2+</sup> followed the order of muscle > visceral mass > gill; while at the safe concentration, the order was visceral mass > gill > muscle. The Cd<sup>2+</sup> accumulating capacity of the visceral mass is much higher than that of the muscles. Our data may serve as a reference to evaluate Cd<sup>2+</sup> distribution in *C. sinensis* farms and *C. sinensis*-based seafood products.

**Key words** *Cyclina sinensis*, Cadmium, Semi-lethal concentration (LC<sub>50</sub>), Safe concentration, Accumulation