

# $Cd^{2+}$ 与 $Zn^{2+}$ 的联合效应对马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)受精率的影响\*

邓云翠 王 辉 李艳红 朱晓闻 罗明明 王亚男

(广东海洋大学水产学院 湛江 524025)

**提要** 采用中心组合设计和响应曲面法在实验室条件下研究了 $Cd^{2+}$ 与 $Zn^{2+}$ 对马氏珠母贝受精率的影响。 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 的浓度范围分别为 0.030—20mg/L、0.100—20mg/L。结果表明： $Cd^{2+}$ 与 $Zn^{2+}$ 两因子对马氏珠母贝受精率的一次效应极显著( $P < 0.01$ )； $Cd^{2+}$ 与 $Zn^{2+}$ 两因子一次互作效应极显著( $P < 0.01$ )。经响应曲面法分析，随着 $Cd^{2+}$ 与 $Zn^{2+}$ 浓度的增加受精率呈下降趋势，当 $Zn^{2+}$ 浓度在最低浓度(0.100mg/L)时，受精率随着 $Cd^{2+}$ 浓度的上升而下降；当 $Cd^{2+}$ 浓度在最低浓度(0.030mg/L)时，受精率随 $Zn^{2+}$ 浓度的上升而先下降后升高。本实验建立了马氏珠母贝受精率与 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 间关系的模型方程( $R^2 = 0.996$ ,  $Adj.R^2 = 0.987$ ,  $Pred.R^2 = 0.887$ ,  $P < 0.01$ )并可用于预测 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 对马氏珠母贝受精率的影响。

**关键词** 马氏珠母贝, 受精率,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$

**中图分类号** Q789

近几十年来，随着世界工业的发展，海洋污染日趋严重，重金属污染是其中之一(张丽岩等, 2010)，重金属对海洋中的生物的生长存活以及繁殖等都造成影响。海洋中镉(Cd)、锌(Zn)等重金属污染及其对水生生物和人类的影响已变得十分突出，因此研究重金属对生物生理生化及遗传发育等方面影响具有重要意义。镉的化学性质和锌相似，在自然界常与锌同时存在，在天然水中镉主要存在于沉积物和悬浮物中(赵素达, 1999)。镉与含有羧基、氨基特别是巯基的蛋白质结合会导致许多酶活性受到影响，镉还是实验动物强有力的畸形剂，在发育早期予以处理则引起露脑畸形(Kultima *et al*, 2006)，并且会阻滞胚胎的发育(Fernández *et al*, 2003)。锌是维持正常生命活动不可缺少的元素，但是锌在自然界中是非降解性的污染物质，且易被海洋生物富集(Brereton *et al*, 1973)，海洋生物对锌的富集能力很强，海水中锌浓度过高将对生物产生毒害，影响生物生长发育(朱丽

岩等, 1999)。

目前关于重金属对海洋生物繁殖影响的研究主要有，用重金属处理海洋多毛类线虫精子会使受精率下降，而用不同重金属处理其卵子并没有阻止受精(Gopalakrishnan *et al*, 2008)；海胆配子接触到镉会降低受精率，而且精细胞对镉的处理更加敏感(Arizza *et al*, 2010)；用不同浓度的 $Cd^{2+}$ 处理海胆的受精卵发现，随着浓度的升高骨骼分化会受到抑制或出现畸形(Pagano *et al*, 1982)。双壳贝类是体外受精，无任何类型的保护，繁殖是否成功不仅受到精子、卵子质量的影响，而且也与外界环境密切相关。马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)，又称合浦珠母贝，是生产珍珠的贝类(王爱民等, 2010)。从目前国内外的研究看，海洋贝类研究过多的侧重于重金属对其的急性毒性作用(李玉环等, 2006；刘亚杰等, 1995；周凯等, 2007)以及海水水质评估方面(Quiniou *et al*, 2007)，关于重金属对海洋贝类受精率影响研究较少(薛明等，

\* 广东省教育厅工程中心建设项目, GCZX-A0909 号; 广东省科技厅科技计划重大专项, 2010B020201014 号; 科技部国家星火计划项目, 2011GA780001 号。邓云翠, E-mail: dengyuncui@163.com

通讯作者: 王 辉, 教授, E-mail: whh524@sina.com

收稿日期: 2011-04-10, 收修改稿日期: 2011-06-23

2004)。以上研究多为在单个因子条件下进行的,而忽略了因子之间的互作效应,这与水生生物的生存环境不符。同时,这些研究只是对某一个离子的几个孤立的水平点进行分析,并未建立模型方程,这就使得实验结果缺乏可靠的预测性。响应曲面分析方法(response surface methodology, RSM)是一种多变量建模方法,该方法通过与适当的实验设计结合,可以综合分析两个或者两个以上实验因子和影响效应之间的定量关系。采用中心组合设计(central composite face-centered design, CCF)和响应曲面法在实验室条件下研究  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  对马氏珠母贝受精率的联合影响尚未见报道,本实验通过建立可靠的回归模型,研究了  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  对马氏珠母贝受精率的联合影响,旨在为海洋资源保护和马氏珠母贝受精过程中对海水含  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的浓度要求提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用亲贝为处于繁殖期的马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*),取自广东省湛江市雷州乌石养殖基地。将成贝从养殖基地运回,从中挑选出性腺饱满、大小均匀、平均壳长( $5 \pm 0.5$ )cm 的贝,分在 50L 的塑料桶中暂养 3d。暂养水体为砂滤海水,桶内放置相同通气量的气石通气以保持桶内溶氧充足,暂养期间定时(早上 8:00, 下午 17:30)投喂小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa* Chick)。

### 1.2 实验设计

本实验采用中心组合实验设计(CCF),  $\text{Cd}^{2+}$  0.030—

20.000mg/L,  $\text{Zn}^{2+}$  0.100—20.000mg/L, 两种离子的最低、最高浓度结合 1997 年我国颁布的海水水质标准(国家环境保护局等, 1998)中二类海水对  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  浓度的要求及预实验来确定。采用该设计形式时,  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  在上述范围内各取 3 个水平。各水平的编码值分别为-1、0、1。整个实验设计包括 11 个  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  组合(表 1)。因子点数 4 个,轴点数 4 个,星号臂为 1,中心点重复 3 次,整个实验重复 1 次。实验进行时将 1—11 组  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的浓度调至表 1 的对应浓度。

### 1.3 实验条件及方法

实验在 1000ml 烧杯中进行,每个烧杯中的  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{Zn}^{2+}$  浓度按表 1 设置。实验用水为过滤海水,盐度为 30,温度为 28℃;海水中原始的  $\text{Cd}^{2+} < 3 \times 10^{-4}$  mg/L,  $\text{Zn}^{2+} < 2 \times 10^{-3}$  mg/L。实验开始前用氨水将海水 pH 调至  $8.5 \pm 0.2$ 。所用  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CdCl}_2$  均为国产分析纯试剂,先用超纯水将其配成 1000mg/L 的母液,实验时再用过滤海水按需稀释。

选取性腺饱满的雌雄亲贝,雌雄比例为 3:1,洗刷干净,剖出生殖腺体,将雌、雄生殖腺体分置于两个塑料篮子里,用过滤海水冲洗干净,放置于阴凉处。按每 1 个生殖腺体用 200ml 过滤海水的比例,将水盛到两个 2L 的小桶中,在水中用手挤压生殖腺体,为了减少不同个体生殖细胞成熟度不同造成的误差,挤压腺体时可轻轻搅动将配子充分混匀,让生殖细胞均匀分散到水中。将小桶中的精、卵细胞液用 100 目的筛绢网袋过滤两次,过滤好的精卵细胞液等量分配到不同浓度的  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  溶液的烧杯中,静置 30min,在显微镜下计数。

表 1 实验设计与结果  
Tab.1 Experimental design and results

组别	编码值		$\text{Cd}^{2+}$ (mg/L)	$\text{Zn}^{2+}$ (mg/L)	受精率(%)
	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$			
1	1	0	20.000	10.050	44.57±0.22
2	0	1	10.015	20.000	39.58±0.15
3	0	0	10.015	10.050	31.96±1.55
4	-1	-1	0.030	0.100	62.50±1.20
5	0	0	10.015	10.050	29.49±0.33
6	-1	1	0.030	20.000	20.43±1.42
7	-1	0	0.030	10.050	17.53±0.40
8	1	-1	20.000	0.100	17.29±0.24
9	1	1	20.000	20.000	11.94±0.25
10	0	-1	10.015	0.100	21.43±0.60
11	0	0	10.015	10.050	30.40±0.14

### 1.4 计算公式及数据处理

计算公式 受精率 = 受精卵数/卵子数 × 100%

数据处理 采用 SAS (v9.13, SAS Institute Inc., North Carolina, U.S)软件进行统计分析, 以 Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两个因子为自变量, 马氏珠母贝受精率为因变量, 拟建立受精率、Cd<sup>2+</sup>和 Zn<sup>2+</sup>之间的回归模型:

$$Y = b_0 + b_1C + b_2Z + b_{12}C \times Z + b_{11}C^2 + b_{22}Z^2 + b_{112}C^2 \times Z + b_{122}C \times Z^2 +$$

式中,  $Y$  为响应变量(受精率或其变换值);  $C$  为 Cd<sup>2+</sup>,  $Z$  为 Zn<sup>2+</sup>;  $b_0$  为常数项,  $b_1$ 、 $b_2$  分别为 Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的一次效应,  $b_{11}$ 、 $b_{22}$  分别为 Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的二次效应,  $b_{12}$  为 Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>间的互作效应,  $b_{112}$ 、 $b_{122}$  分别为 Cd<sup>2+</sup>的二次效应与 Zn<sup>2+</sup>互作效应及 Zn<sup>2+</sup>的二次效应与 Cd<sup>2+</sup>互作效应; 为残差, 并假定其服从均数为 0 的正态分布。采用 ANOVA 方法检验模型的显著性, 并给出几种决定系数以辅助确定模型的拟合优度。模型中的各项效应采用最小二乘法进行估计并采用  $F$  统计量进行显著性检验。其结果可通过响应曲面图来清晰展示, 显著水平设定为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 模型建立及显著型检验

方差分析结果(表 2)表明: 方程模型极显著( $P < 0.01$ ), 模型决定系数  $R^2$  为 0.996, 矫正决定系数 Adj.  $R^2$  为 0.987, 预测决定系数 Pred. $R^2$  为 0.887; Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两因子对马氏珠母贝受精率的一次效应影响极显著( $P < 0.01$ ); Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两因子互作时对马氏珠母贝受精率的影响极显著( $P < 0.01$ ), 其中 Cd<sup>2+</sup>对受精率

的影响较 Zn<sup>2+</sup>大; Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两个因子的二次效应对马氏珠母贝受精率的影响不显著( $P > 0.05$ ); Cd<sup>2+</sup>的二次效应与 Zn<sup>2+</sup>互作时对马氏珠母贝受精率的影响极显著( $P < 0.01$ ); Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的二次效应互作时对马氏珠母贝受精率的影响极显著( $P < 0.01$ )。

### 2.2 系数估计

实验得出的马氏珠母贝受精率的实际的(即非编码)回归方程为:

$$Y = 63.87 - 6.34C - 7.29Z + 0.2C^2 + 0.26Z^2 - 1.06C \times Z - 0.02C^2 \times Z - 0.03C \times Z^2$$

式中,  $C$  代表 Cd<sup>2+</sup>,  $Z$  代表 Zn<sup>2+</sup>。

表 3 显示 95% 置信区间预测模型的最高值为 33.963, 最低估计值为 28.491; Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的一次效应与马氏珠母贝的受精率呈负相关; Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两因子互作效应极显著( $P < 0.01$ )。

### 2.3 响应曲面分析

从响应曲面图(图 1A)、高线图(图 1B)、表 1 中可以看出, 当 Cd<sup>2+</sup>浓度为 0.030mg/L, Zn<sup>2+</sup>浓度为 0.100mg/L 时, 马氏珠母贝的受精率最高(62.50%); 当 Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>均处于最高浓度(20mg/L)时, 马氏珠母贝的受精率降至低端(11.94%)。即随着 Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>浓度的增加马氏珠母贝的受精率呈下降趋势。图 1A、图 1B 显示 Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对受精率的影响不是简单的线性关系, 二者对受精率的影响是互作效应, 且随浓度不同而发生变化。当 Zn<sup>2+</sup>浓度在最低浓度(0.100mg/L)时, 受精率随着 Cd<sup>2+</sup>浓度的上升而下降; 当 Cd<sup>2+</sup>浓度在最低浓度(0.030mg/L)时, 受精率随 Zn<sup>2+</sup>浓度的上升而先降低后升高再下降。

表 2 模型的方差分析

Tab.2 Analysis of variance for the adequacy of the model

来源	平方和 SS	均方 MS	F 值	P 值
模型	2163.631	309.090	110.044	0.0013
Cd <sup>2+</sup>	365.581	365.581	130.156	0.0014
Zn <sup>2+</sup>	164.711	164.711	58.642	0.0046
Cd <sup>2+</sup> ×Zn <sup>2+</sup>	337.090	337.090	120.013	0.0016
(Cd <sup>2+</sup> ) <sup>2</sup>	3.021	3.021	1.076	0.3759
(Zn <sup>2+</sup> ) <sup>2</sup>	6.790	6.790	2.417	0.2178
(Cd <sup>2+</sup> ) <sup>2</sup> ×Zn <sup>2+</sup>	584.087	584.087	207.950	0.0007
Cd <sup>2+</sup> ×(Zn <sup>2+</sup> ) <sup>2</sup>	968.044	968.044	344.649	0.0003
残差	8.426	2.809		
失拟	5.305	5.305	3.400	0.2065
纯误差	3.121	1.560		

注: 决定系数  $R^2 = 0.996$ , 矫正决定系数 Adj. $R^2 = 0.987$ , 预测决定系数 Pred. $R^2 = 0.887$

表3 回归方程系数及95%置信区间估计  
Tab.3 The coefficient estimate and 95% confidence interval

因子	系数估计	标准误	95%置信区间	
			下限	上限
截距	31.227	0.860	28.491	33.963
$Cd^{2+}$	13.520	1.185	9.749	17.291
$Zn^{2+}$	9.075	1.185	5.304	12.846
$Cd^{2+} \times Zn^{2+}$	9.180	0.838	6.513	11.847
$(Cd^{2+})^2$	-1.092	1.053	-4.443	2.259
$(Zn^{2+})^2$	-1.637	1.053	-4.988	1.714
$(Cd^{2+})^2 \times Zn^{2+}$	-20.930	1.451	-25.549	-16.311
$Cd^{2+} \times (Zn^{2+})^2$	-26.945	1.451	-31.564	-22.326

注:表中系数估计的值为编码值

### 3 讨论

#### 3.1 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 对马氏珠母贝受精率的一次效应

有研究指出,精子运动活力可间接反映精子的受精能力精子活力与受精率密切相关,在人工授精时,为了获得高的受精率,必须使精子具有较强的活力(Toth *et al.*,

1991)。研究人员先后报道了当精子用  $Cd^{2+}$ 处理后受精率会下降(Arizza *et al.*, 2010; Gopalakrishnan *et al.*, 2008; Pagano *et al.*, 1982),  $Cd^{2+}$ 可以通过影响精子各种代谢酶的活性(徐莉春等, 2000),  $Cd^{2+}$ 通过与巯基结合或通过竞争性替代作用,置换出细胞内金属依赖性酶类,特别是抗氧化酶系中的金属辅基,降低机体抗氧化酶的活性,使机体清除自由基的能力下降导致精子能量代谢障碍和 ATP 供给不足,造成精子活力降低。 $Cd^{2+}$ 还能明显抑制精子的特异标志酶——乳酸脱氢酶同工酶的活力(张峰等, 2003),因此随着  $Cd^{2+}$ 浓度的升高,受精率显著下降。另一方面,当机体内  $Zn^{2+}$ 过高时精子计数和精子活动率也会明显下降(卿笃兴等, 2009)。本实验显示  $Cd^{2+}$ 与  $Zn^{2+}$ 两因子对马氏珠母贝受精率的一次效应影响极显著( $P < 0.01$ );  $Cd^{2+}$ 与  $Zn^{2+}$ 两因子互作时对马氏珠母贝受精率的影响极显著( $P < 0.01$ ),本实验结果与缢蛏受精率与锌离子浓度呈线性负相关的研究结果(许振祖等, 1989)及海洋多毛类线虫精子受  $Cd^{2+}$ 与  $Zn^{2+}$ 等重金属处理后受

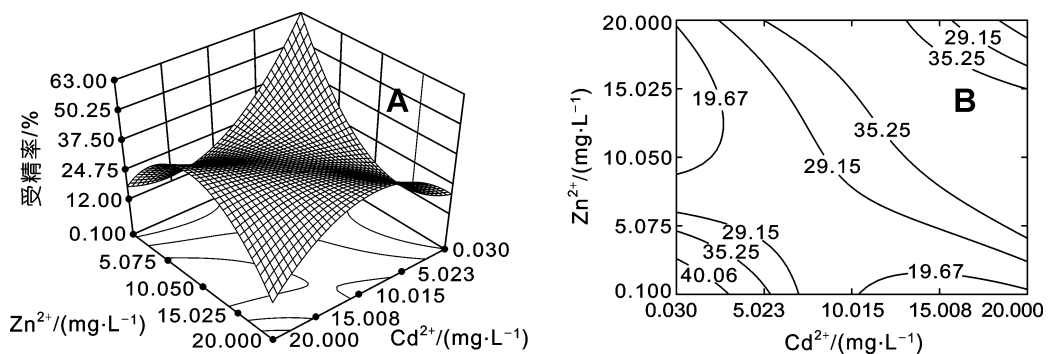


图1  $Cd^{2+}$ 与  $Zn^{2+}$ 对马氏珠母贝受精率影响的响应曲面图(A)和高线图(B)  
Fig.1 Response surface (A) and contour plot (B) of the effects of  $Cd^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  on fertilization in *P. martensii*

受精率降低的研究结果(Gopalakrishnan *et al.*, 2008)相符。

表1表明  $Cd^{2+}$ 与  $Zn^{2+}$ 的一次效应与马氏珠母贝的受精率呈负相关,随着  $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 浓度的增加受精率呈下降趋势。其可能原因是受精作用会导致  $Ca^{2+}$ 内流或胞内  $Ca^{2+}$ 库释放,瞬时提高精子和卵子胞内  $Ca^{2+}$ 浓度,从而启动精子的顶体反应和卵子的皮层反应(Darszon *et al.*, 1999),  $Cd^{2+}$ 可以通过钙离子通道进入细胞后抑制钙泵的功能(王随心等, 2011)进而影响受精率。另一方面,  $Zn^{2+}$ 对卵子有直接毒性作用,  $Zn^{2+}$ 可破坏膜性结构的脂质双层分子的生理性稳态,破坏卵胶膜保护作用使细胞表面的糖蛋白含量发生改变(卿笃兴等, 2009),从而影响马氏珠母贝的受精率。本实验中  $Cd^{2+}$ 对受精率的影响大于  $Zn^{2+}$ ,与其它研究(刘亚杰等, 1995)发现  $Cd^{2+}$ 对扇贝的作用大于  $Zn^{2+}$ 的结果相符。

#### 3.2 $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 对马氏珠母贝受精率的互作效应

海水中存在多种重金属,各种水生生物一生中都会受到多种重金属联合作用的综合影响,重金属间

的相互作用有拮抗、协同、相加等类型。国内外有研究指出锌、镉是代谢拮抗物, 摄入大量的锌有助于动物免受镉的毒性影响(Martínez *et al.*, 1999), 若用锌预先处理机体可减轻镉的毒性影响(Fernández *et al.*, 2003; Kultima *et al.*, 2006), Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>间存在互作效应(侯丽萍等, 2002)。但是这些研究结果仅揭示了Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>间的简单互作, 并没有深入探究其高级互作。

本实验结果显示 Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>两因子互作效应极显著( $P < 0.01$ ); 除了简单互作两因子间还存在高级互作, Cd<sup>2+</sup>的二次效应与 Zn<sup>2+</sup>互作, Cd<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的二次效应互作均对马氏珠母贝受精率的影响极显著( $P < 0.01$ )。从图 1 中可以看出, 当 Zn<sup>2+</sup>浓度在最低浓度(0.100mg/L)时, 受精率与 Cd<sup>2+</sup>浓度呈负相关; 当 Cd<sup>2+</sup>浓度在最低浓度(0.030mg/L)时, 受精率随 Zn<sup>2+</sup>浓度的上升而先下降后提高再下降。本次实验中镉、锌之间的互作说明低浓度的 Zn<sup>2+</sup>对高浓度的 Cd<sup>2+</sup>作用不明显, 当 Zn<sup>2+</sup>浓度上升到一定程度时能有效减小 Cd<sup>2+</sup>的毒性作用。出现这种影响可能原因主要是: 第一, 镉的化学性质与锌相似(赵素达, 1999), 机体在吸收重金属的过程中, Zn<sup>2+</sup>可以与 Cd<sup>2+</sup>竞争进入细胞, 使进入细胞的 Cd<sup>2+</sup>量减少从而降低 Cd<sup>2+</sup>的毒性。在 Zn<sup>2+</sup>量多时, 当 Zn<sup>2+</sup>可以祛除结合在酶中的 Cd<sup>2+</sup>, 从而防止相关酶失去活性。第二, Cd<sup>2+</sup>对机体的毒性作用与金属硫蛋白(MT)密切相关, 因为金属硫蛋白的含量决定 Cd<sup>2+</sup>能否对机体造成损害, 而锌恰恰是金属硫蛋白合成的原始诱导物(Waalkes, 2003), Zn<sup>2+</sup>可能通过增加 MT 的水平来使 Cd<sup>2+</sup>以金属硫蛋白复合物的形式存在, 从而降低 Cd<sup>2+</sup>对受精率的影响。

### 3.3 模型的建立及其意义

响应曲面法的最大优点在于通过响应曲面分析得到拟合度较高的模型方程。然而, 国内外大部分关于重金属对受精率影响的研究, 并没有建立起可靠的模型进行预测, 只是对重金属离子的几个孤立的水平点进行分析(侯丽萍等, 2002; Arizza *et al.*, 2010)。本研究建立了受精率与两种离子间的回归模型。方差分析(表 2)结果显示, 各因素对模型影响极显著( $P < 0.01$ ), 说明建立的模型有极显著统计学意义; 模型失拟检验结果表明该回归模型恰当( $P > 0.05$ )。模型拟合度很高并具有很好预测效果, 可用于实际预测 Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对马氏珠母贝受精率的影响。

本次实验成功预测了 Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对马氏珠母贝受精率的影响。在其它离子对马氏珠母贝受精率的影响方面, 喻达辉等(1999)研究表明, Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>浓度等于

或大于 3%才会对马氏珠母贝的配子产生影响, 而常规离子 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>等只有高达 3%的浓度以及 pH 为 10.5 时才会对马氏珠母贝的配子细胞产生影响, 本实验过程中阴离子 Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>及常规离子含量均小于 3%, 因此可以忽略它们对本实验产生的影响。但是海水中其它复杂成分是否会对马氏珠母贝的受精率产生影响, 有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 王爱民, 王 嫣, 顾志峰等, 2010. 马氏珠母贝(*Pinctada martensii*) 2 个地理群体杂交子代的杂种优势和遗传变异. 海洋与湖沼, 41(1): 140—147
- 王随心, 张玉华, 李向阳等, 2011. 重金属生殖细胞毒性研究进展. 环境与健康杂志, 28(4): 367—372
- 朱丽岩, 吕建发, 1999. 锌对虾夷扇贝和刺参幼体的毒性效应. 海洋通报, 18(4): 34—37
- 刘亚杰, 王笑月, 1995. 锌、铜、铅、镉金属离子对海湾扇贝稚贝的急性毒性实验. 水产科学, 14(1): 10—12
- 许振祖, 陈金堤, 1989. Zn<sup>2+</sup>对缢蛏胚胎和幼虫的效应及 EDTA 解毒作用. 台湾海峡, 8(2): 150—155
- 李玉环, 林 洪, 王 锋等, 2006. 镉对海湾扇贝的急性毒性研究. 齐鲁渔业, 23(7): 39—40
- 张 峰, 郭 峰, 马文领, 2003. 镉对雄性生殖腺毒性作用的研究进展. 白求恩军医学院学报, 1(3): 170—172
- 张丽岩, 宋 欣, 高玮玮等, 2010. Cd<sup>2+</sup>对青蛤(*Cyclina sinensis*)的毒性及蓄积过程研究. 海洋与湖沼, 41(3): 418—421
- 国家环境保护局, 国家技术监督局, 1998. GB3097-1997 海水水质标准. 北京: 中国标准出版社, 15—16
- 周 凯, 么宗利, 来琦芳等, 2007. 重金属 Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>对青蛤幼贝的致毒效应. 海洋渔业, 29(1): 63—67
- 赵素达, 1999. 海洋重金属污染及其对海藻的毒害作用. 青岛教育学院学报, 1: 40—42
- 侯丽萍, 马广智, 2002. 镉与锌对草鱼种的急性毒性和联合毒性研究. 淡水渔业, 32(3): 44—46
- 徐莉春, 王沐沂, 2000. 镉对大鼠精子运动能力影响的体外实验研究. 环境与健康杂志, 17(2): 67—69
- 卿笃兴, 吴 诚, 文利新等, 2009. 高锌毒性研究进展. 湖南畜牧兽医, 3: 4—6
- 喻达辉, 江世贵, 1999. 海水主要离子在合浦珠母贝精子激活中的作用. 海洋学报, 21(6): 134—137
- 薛 明, 柯才焕, 周时强等, 2004. 重金属对波部东风螺早期发育的毒性及 EDTA 的解毒效果. 热带海洋学报, 23(1): 44—50
- Arizza V, Di Fazio G, Celi M *et al.*, 2010. Cadmium, copper and tributyltin effects on fertilization of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). Italian Journal of Animal Science, 8(2): 839—841
- Brereton A, Lord H, Thornton I *et al.*, 1973. Effect of zinc on growth and development of larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biology, 19(2): 96—101
- Darszon A, Labarca P, Nishigaki T *et al.*, 1999. Ion channels in

- sperm physiology. *Physiological Reviews*, 79(2): 481—502
- Fernández E L, Gustafson A L, Andersson M *et al*, 2003. Cadmium-induced changes in apoptotic gene expression levels and DNA damage in mouse embryos are blocked by zinc. *Toxicological Sciences*, 76(1): 162—170
- Gopalakrishnan S, Thilagam H, Raja P V, 2008. Comparison of heavy metal toxicity in life stages (spermiotoxicity, egg toxicity, embryotoxicity and larval toxicity) of *Hydroides elegans*. *Chemosphere*, 71(3): 515—528
- Kultima K, Fernández E L, Scholz B *et al*, 2006. Cadmium-induced gene expression changes in the mouse embryo, and the influence of pretreatment with zinc. *Reproductive Toxicology*, 22(4): 636—646
- Martínez M, Del Ramo J, Torreblanca A *et al*, 1999. Effect of cadmium exposure on zinc levels in the brine shrimp *Artemia parthenogenetica*. *Aquaculture*, 172(3—4): 315—325
- Pagano G, Esposito A, Giordano G G, 1982. Fertilization and larval development in sea urchins following exposure of gametes and embryos to cadmium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 11(1): 47—55
- Quiniou F, Damiens G, Gnassia-Barelli M *et al*, 2007. Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae. *Environment International*, 33(1): 27—33
- Toth G P, Stober J A, Zenick H *et al*, 1991. Correlation of sperm motion parameters with fertility in rats treated subchronically with epichlorohydrin. *Journal of Andrology*, 12(1): 54—61
- Waalkes M P, 2003. Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1—2): 107—120

## COMBINED EFFECTS OF Cd<sup>2+</sup> AND Zn<sup>2+</sup> ON THE FERTILIZATION RATE IN *PINCTADA MARTENSII* (DUNKER)

DENG Yun-Cui, WANG Hui, LI Yan-Hong, ZHU Xiao-Wen, LUO Ming-Ming, WANG Ya-Nan  
(Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang, 524025)

**Abstract** Using the central composite face-centered design (CCF) and response surface methodology, the combined effects of Cd<sup>2+</sup> (0.030—20.000mg/L) and Zn<sup>2+</sup> (0.100—20.000mg/L) on the fertilization rate in *Pinctada martensii* were studied under laboratory conditions. The results showed that the effects of two factors Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> on the fertilization rate in *P. martensii* were highly significant ( $P < 0.01$ ), and effect of Cd<sup>2+</sup> was more significant than that of Zn<sup>2+</sup>. The interaction between the two factors was also highly significant ( $P < 0.01$ ). Based on the response surface plots, it was found that with the increased concentration of Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup>, the fertilization rate was decreased. When Zn<sup>2+</sup> concentration was at its lowest level (0.100mg/L), the fertilization rate decreased with the increased Cd<sup>2+</sup> concentration. When Cd<sup>2+</sup> concentration was at its lowest level (0.030mg/L), the fertilization rate was first decreased and then increased as the concentration of Zn<sup>2+</sup> increased. The model equation of the fertilization rate towards Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> was established, with  $R^2 = 0.996$ ,  $Adj.R^2 = 0.987$  and  $Pred.R^2 = 0.887$  ( $P < 0.01$ ). The model equation could be practically used for forecasting the effects of Cd<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> on the fertilization rate in *P. martensii*.

**Key words** *Pinctada martensii* (Dunker), Fertilization rate, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>