

三苯基氯化锡对黑褐新糠虾的毒性效应*

颜 天 李 钧 李正炎 滕文法 于仁诚 周名江

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 于 1992 年 7 月在青岛胶州湾西岸采集黑褐新糠虾,经实验室常年培养驯化后作为实验材料,研究了三苯基氯化锡(TPTC)的急性毒性效应及其对糠虾繁殖、生殖周期和种群的慢性毒性影响。结果表明,在急性毒性实验中,TPTC 对糠虾的半致死浓度为 $25 \times 10^{-9} \text{g/L}$ (24hLC_{50}) 和 $15 \times 10^{-9} \text{g/L}$ (48hLC_{50});慢性毒性实验结果表明,TPTC 能影响糠虾种群的世代繁殖, $2 \times 10^{-9} \text{g/L}$ 的 TPTC 能使糠虾首次生育的年龄延迟 3d,产幼总数比对照组减少 80% 以上, $1 \times 10^{-9} - 2 \times 10^{-9} \text{g/L}$ 的 TPTC 能导致糠虾生殖周期延长 3-4d,在生殖期内的死亡率上升 30% - 55%,暴露于 $0.25 \times 10^{-9} - 2.00 \times 10^{-9} \text{g/L}$ TPTC 中的糠虾其子代的在 $6 \times 10^{-9} \text{g/L}$ TPTC 中存活能力下降。可以认为, $1 \times 10^{-9} \text{g/L}$ 的 TPTC 可导致糠虾种群的衰亡。

关键词 三苯基氯化锡(TPTC) 黑褐新糠虾 毒性

学科分类号 X503.225

有机锡化合物是迄今为止人为引入海洋环境中毒性最大的物质之一。作为海洋防污涂料的主要活性成分,它们在本世纪 60 年代开始投放市场并得到了广泛的应用,不久人们便发现有机锡污染能导致贝类生长畸形及繁殖力衰退,甚至出现种群灭绝现象(Douglas *et al.*, 1993; Bryan *et al.*, 1986)。这些问题逐渐引起人们的关注,使有机锡污染研究成为海洋研究的热点之一。国内外关于有机锡的毒性研究已有一些报道(赵丽英, 1990a; Fent, 1992; Laughlin, 1989; Robert, 1987; 李钧等, 2000),多数集中于短期的急性毒性研究,而亚致死浓度下对生物长期的慢性毒性研究资料比较缺乏,尤其是对生物繁殖、生活史的影响研究不多。本文报告了三苯基氯化锡(TPTC)对黑褐新糠虾的急性毒性效应,以及亚致死浓度下对首次生育年龄、产幼数、生殖周期、亲代及子代活力等影响结果,以期为中国制订相应的有机锡水质标准提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

黑褐新糠虾(*Neomysis awatschensis*) (以下简称糠虾)于 1992 年 7 月采集于青岛胶州湾西岸,在实验室内驯化繁殖,长年培养。选择健康活泼的成熟个体,收集同批同日龄的糠虾幼体用于实验。

三苯基氯化锡(Triphenyltin Chloride, TPTC),分子式为 $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{SnCl}$,分子量为 385.5,纯度 > 99.99%,白色粉末,日本进口。用分析纯丙酮配制成 $500 \times 10^{-6} \text{g/L}$ 的

* 国家自然科学基金资助项目,99290600 号。颜 天,女,出生于 1969 年 1 月,副研究员, E-mail: tianyan@ms.qdio.ac.cn

TPTC 母液, 稀释至一定浓度后用于实验。

实验海水取自青岛胶州湾近岸 ($\text{pH}=8.1, S=32$), 先经沉淀、沙滤, 再经 4 层纱布过滤后作为实验用水。

1.2 方法与步骤

1.2.1 急性毒性 实验用烧杯经稀盐酸浸泡、去污粉洗涤后冲净。收集 (3 ± 1) d 的糠虾幼体, 逐尾分批随机移入盛有 800ml 海水的烧杯中, 每杯 10 尾, 暂养 1d 后, 加入一定量的 TPTC, 使其浓度分别为 0×10^{-9} 、 10×10^{-9} 、 15×10^{-9} 、 25×10^{-9} 、 40×10^{-9} 、 65×10^{-9} 、 100×10^{-9} g/L, 设置两个重复。实验温度为 $18-19^\circ\text{C}$, 实验进行 48h, 每天检查死亡数量, 挑出死亡个体, 对糠虾死亡率和 TPTC 浓度作线性回归求得 24h 和 48h 的半致死浓度 (LC_{50})。

1.2.2 慢性毒性 收集 (3 ± 1) d 的糠虾幼体, 逐尾随机加入各盛有 800ml 新鲜海水的烧杯中, 每杯 10 尾, 投喂卤虫及少量人工饵料, 暂养 2d 后, 加入 TPTC, 使其浓度分别为 0 、 0.25×10^{-9} 、 0.50×10^{-9} 、 1.00×10^{-9} 、 2.00×10^{-9} g/L, 设置两个重复。以后每天吸去底部粪便及剩余饵料, 重新投饵, 每 2 天更换一半培养液, 重新加入 TPTC 以保持相对恒定的实验浓度, 实验温度在 $18-20^\circ\text{C}$ 。待糠虾生长、发育、性成熟开始繁殖后, 每天计数新孵出幼体数量, 并挑出新生幼体, 部分用于对第二代存活影响的毒性试验, 即将各处理组的糠虾幼体置于 6×10^{-9} g/L 的 TPTC 溶液中, 记录其 24h、48h、72h、96h 的死亡率。实验至亲体不再产幼结束。

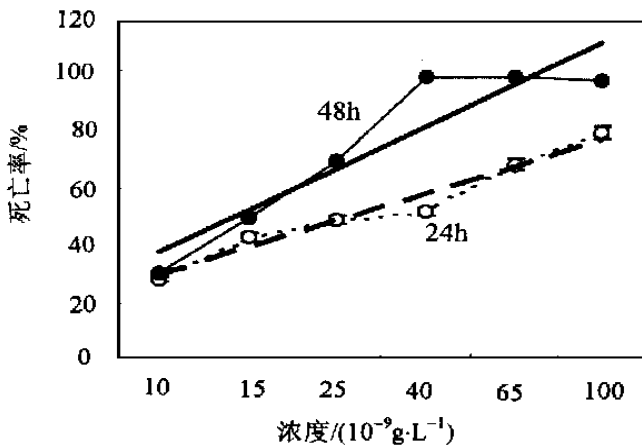


图 1 TPTC 对黑褐新糠虾存活的影响(24h 和 48h)

Fig. 1 The relationship between mortality rate of *N. avatshensis* and TPTC concentration at 24h and 48h

理组的糠虾幼体置于 6×10^{-9} g/L 的 TPTC 溶液中, 记录其 24h、48h、72h、96h 的死亡率。实验至亲体不再产幼结束。

2 实验结果

2.1 TPTC 对黑褐新糠虾的急性致死效应

实验结果见图 1, 在实验浓度范围内, 糠虾的死亡率 (Y) 与培养介质中 TPTC 浓度 (X) 的对数成正比。24h 和 48h 的回归方程及 LC_{50} 分别为:

$$24\text{h}: Y = -23.11 + 52.43 \lg X, \\ r = 0.986, LC_{50} = 25 \times 10^{-9} \text{ g/L}$$

$$48\text{h}: Y = -85.75 + 114.51 \lg X, \\ r = 0.995, LC_{50} = 15 \times 10^{-9} \text{ g/L}$$

2.2 TPTC 对黑褐新糠虾种群世代繁殖的影响

实验结果见表 1。

2.2.1 TPTC 对首次生育年龄的影响和对糠虾第一生殖周期产幼数的影响 从实验结果可以看出, 当 TPTC 浓度在 $0.25 \times 10^{-9} - 1.00 \times 10^{-9}$ g/L 时, 糠虾首次生育的年龄与对照组的无差异, 都在 41d 后开始产幼, 但暴露于 2×10^{-9} g/L 时, 其首次生育时的年龄比

表1 TPTC对黑褐新糠虾繁殖和亲虾存活的影响

Tab.1 The effects of TPTC on the reproduction and survival of parent *N. awatschensis*

TPTC 浓度 ($\times 10^{-9}$ g/L)	首次生育的 年龄(d)	第一生殖周期 产幼数(尾)	产幼总数(尾)	生殖间隔(d)	亲虾死亡率(%)
对照组	41	6.4	23.0	7—8	10
0.25	41	3.3	17.5	7—8	20
0.50	41	4.3	19.2	8—9	15
1.00	41	0.8	4.0	8—10	40
2.00	44	1.0	1.8	10—12	65

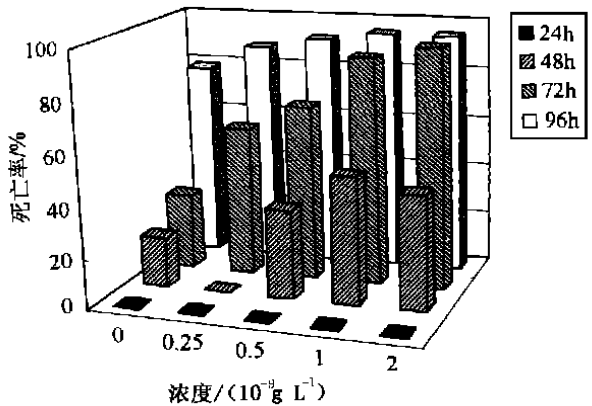
对照组的推迟了3d。TPTC对产幼数的影响在第一个生殖周期中就表现出来了,总的趋势是TPTC浓度越高,平均产幼数越少,当TPTC浓度在 1×10^{-9} — 2×10^{-9} g/L以上时,第一生殖周期内的产幼数不到对照组的六分之一。

2.2.2 TPTC对糠虾产幼总数的影响 TPTC能减少糠虾的产幼总数量,且TPTC浓度越高,糠虾在整个生殖期内的产幼总数就越少。当TPTC浓度为 1×10^{-9} g/L时,产幼总数减少了80%;当浓度为 2×10^{-9} g/L时,产幼总数只有对照组的8%。

2.2.3 TPTC对生殖间隔的影响 实验结果发现,TPTC能导致糠虾生殖周期紊乱,生殖间隔拉长。对照组中,糠虾的生殖间隔为7—8d。经 0.25×10^{-9} — 0.50×10^{-9} g/L的TPTC处理的糠虾,生殖间隔略有延长。当TPTC浓度为 1×10^{-9} g/L时,生殖间隔比对照组延长1—2d;当浓度为 2×10^{-9} g/L时,生殖间隔为10—12d,比对照组的延长了3—4d。

2.2.4 TPTC对糠虾繁殖期内亲虾死亡率的影响 TPTC能影响糠虾在生殖期内的存活。当TPTC浓度在 0.25×10^{-9} — 0.50×10^{-9} g/L时,糠虾在生殖期内的死亡率比对照组略有升高。浓度为 1×10^{-9} g/L时,死亡率为40%,是对照组的4倍。当TPTC浓度为 2×10^{-9} g/L时,大部分糠虾在生殖期内死亡,死亡率为65%,为对照组的6.5倍。

2.2.5 TPTC对第二代糠虾存活的影响 TPTC能影响到第二代糠虾的生活力和健康状况。当TPTC浓度大于 1×10^{-9} g/L时,发现有几个第二代糠虾幼体在出生后即死亡。毒性实验表明,在TPTC慢性毒性实验中产生的糠虾幼体在 6×10^{-9} g/L的TPTC试验液中的死亡率几乎都高于对照组(图2)。

图2 有机锡(6×10^{-9} g/L)对第二代黑褐新糠虾存活的影响Fig.2 The effect of TPTC at 6×10^{-9} g/L on mortality of the 2nd generation of *N. awatschensis*

3 讨论与结论

3.1 目前国际上用作防污涂料的有机锡主要是三丁基氯化锡(TBTC),因而关于TBTC

的毒性研究报道比较多,而对 TPTC 研究的相对较少。通常 TBTC 毒性略大于 TPTC,而 TPTC 相对较难降解,但陈天乙等(1993)在做轮虫毒性试验时发现 TPTC 的毒性是 TBTC 的二倍多。考虑到中国的防污涂料主要以 TPTC 作为活性成分,因此本文选用 TPTC 进行研究。

3.2 研究表明,当 TPTC 浓度超过 1×10^{-9} g/L 时,糠虾在生殖期内的死亡率比对照组高 4—6 倍,说明长期受 TPTC 的毒害,糠虾体质变弱,多数已不能承受生殖的能量负荷。长期暴露于 TPTC 中的糠虾,其后代对 TPTC 没有表现出适应现象,相反,它们对 TPTC 的反应比对照组更敏感,这说明 TPTC 对糠虾的毒性很可能存在一个阈值,长期受 TPTC 作用的糠虾,其子代体内已积累了一定数量的 TPTC,因此更容易达到该阈值而死亡。

3.3 实验结果表明, 0.25×10^{-9} — 2.00×10^{-9} g/L 的 TPTC 能导致糠虾在整个生殖期内的产幼数减少,当 TPTC 浓度为 1×10^{-9} g/L 时,糠虾总产幼数只有对照组的 17%,当 TPTC 浓度为 2×10^{-9} g/L 时,其总产幼数只有对照组的 8%。假设糠虾各个世代对 TPTC 的敏感性一致,自然条件下的糠虾对 TPTC 的反应与实验室内一致,那么据此推测,当自然水域环境中的 TPTC 浓度超过 1×10^{-9} g/L 时,3 年后糠虾种群数量只有原来的 1%,这说明 1×10^{-9} g/L 的 TPTC 就可能会导致糠虾种群的衰退和消亡。赵丽英(1990b)发现青岛胶州湾水体中总锡含量为 65.6—209.0 ng/L,另外水体有机锡含量占总锡量的 70% 以上,冬季时可高达 90%。据此推测,胶州湾局部海域中有机锡含量已超过 0.1×10^{-9} g/L,这说明胶州湾内已存在有机锡污染问题。世界上许多国家都已制订了法律法规控制有机锡污染,而中国到目前为止还没有相应的控制措施。因此在中国急需制订有机锡的海水水质标准或渔业水质标准,定期监测有机锡的污染状况,颁布相应的法律法规控制有机锡的污染,以保护中国的海洋生态环境和渔业生产免受有机锡污染的危害。

3.4 众所周知,小白鼠一直被用作陆地上毒理学试验的标准生物。然而到目前为止,海洋污染的毒性试验还没有找到统一的标准生物。美国环保局已将巴西拟糠虾(*Mysidopsis bahia*)作为一种毒性测试的标准试验生物。这种糠虾在中国没有分布,而与其相近的黑褐新糠虾为中国沿海的常见种,是一种广温、广盐、生活力强、生活周期短的小型甲壳类动物,易采集,可在实验室内连续世代培养。关于黑褐新糠虾的生物学特性已有人详细研究过(郑严,1982,1984)。通过本文的毒性实验,作者认为可以尝试将黑褐新糠虾作为中国海洋环境科学研究与管理中的毒性测试标准试验生物。

参 考 文 献

李 钧,于仁诚,李正炎等,2000. 三苯基氯化锡(TPTC)对孔石莼光合作用及生长影响的初步研究. 海洋与湖沼, 31(4): 404—407

陈天乙,于仁诚,孙红文,1993. 有机锡对轮虫的毒性及 QSAR 分析. 海洋通报, 12(6): 35—39

郑 严,1982. 黑褐新糠虾生物学的研究 I. 种群和生殖特点. 海洋与湖沼, 13(1): 66—76

郑 严,1984. 黑褐新糠虾生物学的研究 II. 生活史的研究. 海洋与湖沼, 15(4): 287—298

赵丽英,1990a. 有机锡对海洋微藻的毒性效应. 青岛海洋大学学报, 20(4): 125—131

赵丽英,1990b. 胶州湾水体浮游生物和沉积物中的锡. 青岛海洋大学学报, 20(4): 132—142

Bryan G W, Gibbs P E, 1986. The decline of the gastropod, *Nucella lapillus* around southwest England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. J Mar Biol Assoc U K, 66: 611—640

- Douglas E W, Evans S M, Frids C L J *et al*, 1993. Assessment of Zmposex in the ologwhelk *Nucella lapillus* (L.) and tributyltin along the northwest coast of England. *Znvert Reprod Deval*, 24: 143—148
- Fent K, 1992. Embryo toxic effects of tributyltin on the minnows *Phoxinus phoxinus*. *Environ Pollut*, 76: 187—194
- Laughlin R B, 1989. Acute toxicity of tributyltin to early life history stages of the hard shell clam *Mercenaria mercenaria*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 42: 352—358
- Robert M H, 1987. Acute toxicity of tributyltin chloride to embryos and larvae of bivalve molluscans: *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 39: 1 012—1 019

ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF TRIPHENYLTIN TO *NEOMYSIS AWATSCHENSIS*

YAN Tian, LI Jun, LI Zheng-yan, TENG Wen-fa,
YU Ren-cheng, ZHOU Ming-jiang
(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

Abstract *Neomysis awatschensis* was collected from the western coast of Jiaozhou Bay, Qingdao, July 1992 and acclimated in our laboratory. Active, healthy mysids at age of 3 ± 1 day were used in the experiments to study acute toxicity of organotin TPTC (Triphenyltin chloride), the main composition of antifouling paints, and its effects on the reproduction of *Neomysis awatschensis*. The results show that TPTC is highly toxic to *Neomysis awatschensis* with 24h LC_{50} being 25×10^{-9} g/L and 48h LC_{50} being 15×10^{-9} g/L. Apparently, TPTC can defer sexual maturity and the release of the initial brood of *N. awatschensis*. The generation time was prolonged from 41 to 44 days when the mysids were under 2×10^{-9} g/L TPTC stress. TPTC increases the mortality rate of the parent shrimp by 4 and 6.5 times during the breeding period and decreases the number of the young produced by 86% and 90% when parent mysids are exposed to organotin at the concentrations of 1×10^{-9} g/L and 2×10^{-9} g/L, respectively. At TPTC concentration of 6×10^{-9} g/L, the mortalities of young misids which parents were exposed to TPTC at 0.25×10^{-9} — 2×10^{-9} g/L were significantly higher than that of control. We concluded that TPTC can destroy the population of *Neomysis awatschensis* at 1×10^{-9} g/L.

Key words Triphenyltin chloride(TPTC) *Neomysis awatschensis* Toxicity

Subject classification number X503.225