

汞、镉、硒对刺参(*Apostichopus japonicus*) 幼参的单一毒性与联合毒性*

孙振兴 王慧恩 王晶 刘金川 张婕 张莺 吴传艳

(鲁东大学生命科学学院 烟台 264025)

摘要 在水温 15.5—17.0 的静水条件下,以 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Se^{4+} 对刺参幼参进行了单一毒性和联合毒性实验。联合毒性实验采用等毒性配比法,并以 Marking 相加指数评价联合毒性效应。单一毒性实验结果表明, Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参急性毒性的 96h 半致死质量浓度(LC_{50})分别为 0.0912、4.6433 和 0.7413mg/L,三者对幼参的毒性大小依次为 $\text{Hg}^{2+} > \text{Se}^{4+} > \text{Cd}^{2+}$ 。 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参的最大容许质量浓度分别为 0.0009、0.0464、0.0074 mg/L。联合毒性实验结果表明,当 Hg^{2+} - Cd^{2+} 、 Hg^{2+} - Se^{4+} 以及 Cd^{2+} - Se^{4+} 分别以等毒性混合物共存时,它们对刺参幼参在 24h、48h、72h 和 96h 的联合毒性均为拮抗作用;当 Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三者以等毒性混合共存时,它们对刺参幼参在 24h、48h、72h 和 96h 的联合毒性仍为拮抗作用。讨论了 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参联合毒性效应的机制。

关键词 刺参, Hg^{2+} , Cd^{2+} , Se^{4+} , 急性毒性, 联合毒性

中图分类号 X171.5, Q959.269

汞(Hg)和镉(Cd)是水环境中常见的剧毒重金属污染物,硒(Se)是生物体必需的微量元素,是维持机体内谷胱甘肽过氧化物酶活性的重要因子,但过量的硒也会产生毒性效应。关于重金属和硒对水生生物的毒性及其相互作用,国内外已有研究主要集中在鱼虾类(Marino *et al.*, 2000; Espericueta *et al.*, 2001; 侯丽萍等, 2002; 高晓莉等, 2003; Verslycke *et al.*, 2003; 王春风等, 2005)。刺参(*Apostichopus japonicus*)是我国北方沿海重要的水产养殖动物,由于海洋环境污染,尤其是重金属污染对刺参养殖带来了潜在的威胁。有关重金属和硒对刺参的联合毒性作用,迄今国内外尚未见报道。本文中以刺参幼参为实验对象,探讨了 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参的单一毒性和联合毒性,以期研究重金属和硒对刺参的毒性效应机理、评价养殖水环境及刺参的健康养殖等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参购自烟台隆海

实业公司东口海珍品育苗场,为人工培育的6个月龄的幼参,平均伸展体长(4.06 ± 0.84)cm,平均体重(1.79 ± 0.89)g,幼参在室内大型水族箱中暂养3—5天后用于实验。

1.2 试剂与海水

试剂 HgCl_2 、 $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ 、 Na_2SeO_3 均为国产分析纯,用双蒸水配制母液,实验时用微量移液器加入海水中稀释至所需质量浓度。实验用海水 $\text{pH} = 8.10$,盐度为 28.4。经检测,海水中 Hg、Cd、Se 的本底值符合海水养殖用水水质标准(中华人民共和国农业部, 2001),各实验组的质量浓度值不包括海水本底值。

1.3 实验方法

1.3.1 单一毒性实验 根据预试验确定的 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 质量浓度范围,按等对数间距分别设置 9—12 个梯度的实验组,另设空白对照组。实验容器为 1L 烧杯,每只烧杯中放 10—12 只幼参,各实验组均设双样重复。采用 96h 静水试验法,实验期间水温为 15.5—17。实验管理及幼参死亡判断标准同孙振兴

* 山东省科技攻关计划项目, 2008GG10005023 号; 鲁东大学科研基金重点项目, L20073305 号。

通讯作者: 孙振兴, 教授, E-mail: sunzx@public.ytptt.sd.cn

收稿日期: 2008-04-19, 收修改稿日期: 2008-06-17

等(2007), 分别记录各实验组幼参的 24、48、72、96h 的死亡数。根据质量浓度的对数-死亡率概率单位, 用 StatPlus 2007 软件的 Probit Analysis(概率单位分析)建立回归方程, 分别求出 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 不同暴露时间的半致死质量浓度(LC_{50})及其 95% 置信区间。

1.3.2 联合毒性实验 采用等毒性配比法。即在单一急性毒性实验的基础上, 分别以 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 单一毒性的 96h LC_{50} 作为一个毒性单位, 按毒性单位 1:1 的比例混合, 以等对数间距分别设置 7—9 个不同的质量浓度组, 在与单一毒性实验相同的条件下, 分别进行 Hg^{2+} - Cd^{2+} 、 Hg^{2+} - Se^{4+} 、 Cd^{2+} - Se^{4+} 二元混合的联合毒性实验, 最后进行 Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三元混合的联合毒性实验。分别记录各实验组幼参的 24、48、72、96h 的死亡数, 并计算不同暴露时间下各组混合物中每种毒物的混合 LC_{50} 及其 95% 置信区间。

1.3.3 联合毒性的评价方法 以水生生物毒理联合效应的 Marking 相加指数法(侯丽萍等, 2002; 王春凤等, 2005), 评价联合毒性的大小。按下式分别求出 S 值:

$$S = (A_m/A) + (B_m/B) + (C_m/C)$$

式中, S 为生物毒性相加作用之和, A 、 B 、 C 为单一毒性的 LC_{50} 值; A_m 、 B_m 、 C_m 为混合毒性的 LC_{50} 值。根据 S 值求得相加指数(additive index, AI), 当 $S = 1$ 时, $AI = (1/S) - 1$; 当 $S > 1$ 时, $AI = S \times (-1) + 1$ 。以 AI 值评价混合毒物的联合毒性效应, $AI = 0$ 为毒性相加作用, $AI < 0$ 为拮抗作用, $AI > 0$ 为协同作用。

2 结果

2.1 三种毒物对刺参幼参的单一急性毒性作用

2.1.1 刺参幼参的中毒症状 刺参幼参在分别含有 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 的海水中出现的中毒反应基本相

似。在低剂量组, 24h 内幼参活动状况与对照组几乎无任何区别, 24h 后活动能力逐渐迟缓, 以后随着染毒时间的延长, 管足丧失吸附能力, 跌落烧杯底部, 身体卷曲收缩, 继而大多数个体丧失活动能力, 出现排脏现象, 少数个体的体表开始腐烂, 直至死亡。在高剂量组, 幼参对毒物反应敏感, 很快表现为身体急剧收缩, 跌落烧杯底部后, 身体剧烈摇摆呈挣扎状, 并相继出现排脏或体表腐烂, 最终死亡。但在分别含有上述 3 种毒物的海水中, 幼参中毒后的体表颜色变化明显不同, Hg^{2+} 中毒的幼参体色很快泛白, Se^{4+} 中毒的幼参体色呈暗红褐色, 而 Cd^{2+} 中毒的幼参体色变化不明显(图 1)。

2.1.2 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参的单一急性毒性作用 实验结果显示, 3 种毒性物质单独存在时, 均可对幼参产生毒性效应(表 1)。 $\text{Hg}^{2+} < 0.180\text{mg/L}$ 时, 24h 内幼参无死亡现象, 但从 48h 死亡率逐渐升高; 当 $\text{Hg}^{2+} = 0.180\text{mg/L}$ 时, 随着 Hg^{2+} 质量浓度的增加, 24h 内的死亡率迅速升高, 48h 的死亡率可达 100%。较低剂量的 Hg^{2+} (0.075—0.087mg/L) 虽然在 48h 内对幼参无致死效应, 但可使幼参出现中毒反应; 0.075 mg/L 实验组的幼参 96h 死亡率为 8.3%, 表明幼参对低剂量 Hg^{2+} 的毒性作用也较为敏感。另一方面, Hg^{2+} 的蓄积毒性效应往往导致幼参死亡率突然升高, 如 0.135mg/L 实验组的幼参虽然在 24h 无死亡, 但由于 Hg^{2+} 已在体内蓄积, 所以 48h 死亡率高达 79.2%。

$\text{Cd}^{2+} < 8.732\text{mg/L}$ 时, 在 24h 内对幼参的急性毒性效应不强烈, 低剂量组($< 4.232\text{mg/L}$)幼参无死亡, 质量浓度为 4.232—7.532mg/L 的各实验组在 24h 内对幼参的致死率基本都是 10%; 48h 幼参死亡率也未超过 50%, 可见幼参对低剂量的 Cd^{2+} 具有一定的耐受



图 1 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 急性中毒后刺参幼参的体色变化

Fig.1 The changes in body color of *A. japonicus* juveniles after acute Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} poisoning
a. Hg^{2+} 中毒后的幼参; b. Cd^{2+} 中毒后的幼参; c. Se^{4+} 中毒后的幼参

能力。当 Cd^{2+} 8.732mg/L 时, 对幼参的急性毒性效应较为强烈, 幼参 24h 死亡率超过 50%。

低剂量 Se^{4+} 对幼参的毒性效应较为缓慢, Se^{4+} 1.500mg/L 时, 幼参在 24h 无死亡, 48h 死亡率低于 50%。高剂量 Se^{4+} 对幼参的毒性效应较为迅速, 当 Se^{4+} 2.300 mg/L 时, 24h 内幼参逐渐死亡, 48h 死亡率几乎 100%。 Se^{4+} 对幼参的致死效应还表现出明显的

跳跃性变化, 如 Se^{4+} 为 0.740mg/L 时, 48h 幼参尚无死亡, 但 72h 幼参死亡率即达到 29.2%; 又如 Se^{4+} 质量浓度为 3.100mg/L 时, 幼参死亡率从 24h 的 14.7% 陡然增至 48h 的 100%, 这种跳跃性变化反映了随着 Se^{4+} 的暴露时间延长, 其对幼参的蓄积毒性效应增强。

利用表 1 数据进行回归分析的结果表明, Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 不同暴露时间下幼参死亡率的概率单位(y) 与毒物质量浓度的对数(x) 的关系均为直线回归, 根据直线回归方程求出的 LC_{50} 值见表 2。从表 2 中可以看出, 在 3 种毒性物质中, Hg^{2+} 的 LC_{50} 值最小, Se^{4+} 次之, Cd^{2+} 的 LC_{50} 值较大。因此, 3 种毒性物质对幼参的毒性大小依次为 $\text{Hg}^{2+} > \text{Se}^{4+} > \text{Cd}^{2+}$ 。

2.2 三种毒物对刺参幼参的联合毒性作用

2.2.1 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 二元混合物对幼参的联合毒性

在 Hg^{2+} - Cd^{2+} 、 Hg^{2+} - Se^{4+} 以及 Cd^{2+} - Se^{4+} 两两之间按毒性单位 1:1 混合的情况下, 它们对幼参的联合毒性效应分别如表 3 所示。从计算所得结果可以看出, 当 Hg^{2+} - Cd^{2+} 共存时, 其 96h LC_{50} 值, Hg^{2+} 为 0.1075mg/L, Cd^{2+} 为 2.9135mg/L; 其 24 h、48 h、72 h 和 96h 的 AI 值均小于零, 显示联合毒性为拮抗作用。

当 Hg^{2+} - Se^{4+} 共存时, 其 96h LC_{50} 值, Hg^{2+} 为 0.0470mg/L, Se^{4+} 为 0.8309mg/L; 其 24h、48h、72h 和 96h 的 AI 值均为负值, 联合毒性也是拮抗作用。

当 Cd^{2+} - Se^{4+} 共存时, 其 96h LC_{50} 值, Cd^{2+} 为 2.3915mg/L, Se^{4+} 为 1.5557mg/L; 其 24h、48h、72h 和 96h 的 AI 值也均为负值, 表明联合毒性仍为拮抗作用。由此可见, Hg^{2+} - Cd^{2+} 共存、 Hg^{2+} - Se^{4+} 共存以及 Cd^{2+} - Se^{4+} 共存时, 互相削弱了其对幼参的毒性。

2.2.2 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 三元混合物对幼参的联合毒性

Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三者以毒性单位 1:1:1 混合的情况下, 它们对刺参幼参的联合毒性效应见表 4。从表 4 可以看出, Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三者共存时, 其 96h LC_{50} 值, Hg^{2+} 为 0.0457mg/L, Cd^{2+} 为 1.2577mg/L, Se^{4+} 为 0.8079mg/L; 暴露 24h、48h、72h 和 96h 的 AI 值均小于零, 其联合毒性呈现为拮抗作用, 说明 Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三者共存时, 其各自的毒性都被削弱了。

3 讨论

3.1 关于 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对幼参的单一毒性

从本文结果看, Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对幼参的 96h LC_{50} 值分别为 0.0912、4.6433、0.7413mg/L, 3 种毒性

表 1 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参的急性毒性

Tab.1 Acute toxicity of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} on *A. japonicus* juveniles

毒性物质	质量浓度 (mg/L)	累积死亡率(%)			
		24h	48h	72h	96h
Hg^{2+}	CK	0	0	0	0
	0.075	0	0	0	8.3
	0.087	0	0	16.7	37.5
	0.100	0	12.5	29.2	66.7
	0.115	0	20.8	58.3	79.2
	0.135	0	79.2	83.3	100.0
	0.180	25.0	85.4	100.0	100.0
	0.240	18.8	100.0	100.0	100.0
	0.320	54.2	100.0	100.0	100.0
	0.420	62.5	100.0	100.0	100.0
Cd^{2+}	CK	0	0	0	0
	2.432	0	0	20.0	30.0
	3.232	0	10.0	30.0	40.0
	4.232	10.0	20.0	30.0	40.0
	4.932	10.0	20.0	20.0	40.0
	5.632	10.0	20.0	30.0	50.0
	6.532	0	40.0	65.0	70.0
	7.532	10.0	40.0	70.0	80.0
	8.732	60.0	70.0	70.0	100.0
	10.032	80.0	90.0	100.0	100.0
Se^{4+}	CK	0	0	0	0
	0.480	0	0	4.2	12.5
	0.640	0	0	16.7	29.2
	0.740	0	0	29.2	50.0
	0.840	0	8.3	33.3	62.5
	0.980	0	8.3	37.5	75.0
	1.120	0	12.5	50.0	95.8
	1.300	0	29.2	100.0	100.0
	1.500	0	41.7	95.8	100.0
	2.300	12.5	95.8	100.0	100.0
3.100	14.7	100.0	100.0	100.0	
4.200	23.5	100.0	100.0	100.0	
5.600	58.3	100.0	100.0	100.0	

注: CK 表示对照组

表 2 3 种毒性物质对刺参幼参急性毒性作用的分析
Tab.2 The regression of acute toxification of three poisons to *A. japonicus* juveniles

毒性物质	暴露时间(h)	直线回归方程	R	n	P	LC ₅₀ (mg/L)	LC ₅₀ 的 95%置信区间(mg/L)
Hg ²⁺	24	y = 3.0927x + 6.4957	0.8990	5	< 0.01	0.3351	0.2349—0.5303
	48	y = 9.1341x + 13.0760	0.9248	4	< 0.10	0.1303	0.0972—0.1746
	72	y = 10.3524x + 14.9319	0.9944	4	< 0.01	0.1100	0.1032—0.1180
	96	y = 11.7055x + 16.9582	0.9816	4	< 0.02	0.0912	0.0892—0.1006
Cd ²⁺	24	y = 4.8701x + 0.3080	0.7514	7	< 0.05	8.9312	7.7096—12.1854
	48	y = 4.4433x + 1.2349	0.9227	8	< 0.001	7.1196	6.2125—8.7567
	72	y = 2.5517x + 3.0041	0.8265	8	< 0.01	5.9271	4.7945—8.3545
	96	y = 2.4243x + 3.3969	0.8724	7	< 0.01	4.6433	3.2084—6.3005
Se ⁴⁺	24	y = 3.2699x + 2.5232	0.9037	4	< 0.100	5.6796	4.6785—9.7827
	48	y = 6.7966x + 3.8430	0.9469	6	< 0.005	1.5161	1.3972—1.6868
	72	y = 6.6165x + 5.2377	0.9372	8	< 0.001	0.9464	0.8141—1.1056
	96	y = 7.0383x + 5.9474	0.9777	6	< 0.001	0.7413	0.6805—0.8003

表 3 Hg²⁺、Cd²⁺、Se⁴⁺二元混合物对刺参幼参的联合毒性
Tab.3 The joint toxicity of binary mixture of Hg²⁺, Cd²⁺ and Se⁴⁺ on *A. japonicus* juveniles

毒物配比 A-B	暴露时 间(h)	混合 LC ₅₀ 及其 95%置信区间(mg/L)			S	AI	作用 方式
		A _m	B _m				
Hg ²⁺ -Cd ²⁺ 1 : 1	24	0.3481(0.3153—0.4075)	9.3580(8.4816—10.9486)		2.0864	- 1.0864	拮抗
	48	0.2564(0.2309—0.2892)	6.9036(6.2204—7.7817)		2.9371	- 1.9371	拮抗
	72	0.1586(0.1396—0.1895)	4.2817(3.7736—5.1083)		2.1635	- 1.1635	拮抗
	96	0.1075(0.0988—0.1251)	2.9135(2.6793—3.3816)		1.7643	- 0.7643	拮抗
Hg ²⁺ -Se ⁴⁺ 1 : 1	24	0.3148(0.2705—0.4085)	5.5656(4.7824—7.2216)		1.9194	- 0.9194	拮抗
	48	0.1866(0.1626—0.2364)	3.2989(2.8748—4.1810)		3.6077	- 2.6077	拮抗
	72	0.0848(0.0729—0.1058)	1.4992(1.2886—1.8694)		2.3549	- 1.3549	拮抗
	96	0.0470(0.0433—0.0506)	0.8309(0.7659—0.8947)		1.6176	- 0.6176	拮抗
Cd ²⁺ -Se ⁴⁺ 1 : 1	24	8.8459(7.9311—10.2934)	5.8153(5.2115—6.7712)		2.0143	- 1.0143	拮抗
	48	4.8780(4.2313—5.7765)	3.1951(2.7678—3.7894)		2.7925	- 1.7925	拮抗
	72	3.1925(2.7471—3.8077)	2.0837(1.7899—2.4902)		2.7404	- 1.7404	拮抗
	96	2.3915(2.0601—2.7021)	1.5557(1.3376—1.7604)		2.6137	- 1.6137	拮抗

表 4 Hg²⁺、Cd²⁺、Se⁴⁺共存对刺参幼参的联合毒性
Tab.4 The joint toxicity of Hg²⁺ with Cd²⁺ and Se⁴⁺ to *A. japonicus* juveniles

毒物配比 A-B-C	暴露时 间(h)	混合 LC ₅₀ 及其 95%置信区间(mg/L)			S	AI	作用 方式
		A _m	B _m	C _m			
Hg ²⁺ -Cd ²⁺ -Se ⁴⁺ 1 : 1 : 1	24	0.1633(0.1533—0.1759)	4.4085(4.1391—4.7456)	2.8875(2.7097—3.1101)	1.4893	- 0.4893	拮抗
	48	0.0826(0.0747—0.0903)	2.2462(2.0345—2.4517)	1.4603(1.3209—1.5957)	1.9127	- 0.9127	拮抗
	72	0.0532(0.0443—0.0590)	1.4579(1.2185—1.6121)	0.9404(0.7830—1.0421)	1.7234	- 0.7234	拮抗
	96	0.0457(0.0407—0.0529)	1.2577(1.1244—1.4496)	0.8079(0.7199—0.9351)	1.8440	- 0.8440	拮抗

物质中, Hg²⁺的毒性最大, Se⁴⁺的毒性次之, Cd²⁺的毒性较小。参照化学物质对鱼类的毒性分级标准(张志杰等, 1991), LC₅₀ < 1mg/L 为剧毒, LC₅₀ = 1—100mg/L 为高毒, LC₅₀ = 100—1000mg/L 为中等毒性, LC₅₀ =

1000—10000mg/L 为低毒; LC₅₀ > 10000mg/L 为微毒或无毒。根据此标准, Hg²⁺和 Se⁴⁺对刺参幼参的毒性属于剧毒, Cd²⁺对幼参的毒性属于高毒。

各种重金属对不同水生动物的毒性因生物种类

及其个体大小而异,还与水环境的理化因子、生物体对重金属的耐受程度以及实验条件等有关。关于汞和硒对水生动物单一毒性的研究表明, Hg^{2+} 和 Se^{4+} 对剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)的 96h LC_{50} 分别为 0.84 mg/L 和 6.64mg/L (王春凤等, 2005); 对卤虫(*Artemia salina*) 的 24h LC_{50} 分别为 26.9mg/L 和 56.8mg/L (修瑞琴等, 1992), 说明 Hg^{2+} 的毒性大于 Se^{4+} 的毒性。关于汞和镉对水生动物的单一毒性, Espericueta 等(2001)的实验结果表明, Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)仔虾的 96 h LC_{50} 分别为 1.23 mg/L 和 2.49 mg/L; Verslycke 等(2003)对一种新糠虾(*Neomysis integer*)的实验显示, Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对其 96 h LC_{50} 分别为 0.007mg/L 和 0.318mg/L, 均表明 Hg^{2+} 的毒性大于 Cd^{2+} 的毒性。本实验中 Hg^{2+} 对幼参的毒性大于 Se^{4+} 或 Cd^{2+} 的毒性, 与上述研究结果相似。同时可以看出, 刺参幼参对 Hg^{2+} 的敏感程度仅次于新糠虾, 对 Se^{4+} 的敏感程度高于剑尾鱼和卤虫, 但对 Cd^{2+} 的敏感程度低于两种虾。

3.2 关于 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参安全质量浓度的评价

水环境中的汞、镉、硒等毒性物质不仅对刺参有着极大的毒害作用, 而且还会影响水中其它生物的正常生长和发育、影响水环境中产出的生物的食品安全等。因此, 在水产养殖中严格控制水环境中各类毒性物质的质量浓度是非常重要的。按照 Marino 等(2000)推荐的最大容许质量浓度(maximum permissible concentration, MPC)公式: $MPC = LC_{50} \times 0.01$, 根据 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对幼参 96h LC_{50} 计算出三者的 MPC 值分别为 0.0009、0.0464、0.0074mg/L。本实验中将幼参分别置于含有上述最大容许质量浓度的 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 海水中, 验证结果显示, 幼参均能正常生活, 至 168h 未出现中毒症状, 也无一死亡, 说明本文中计算的 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对幼参的 LC_{50} 和 MPC 值是符合实际的。

与我国现行的海水养殖水质标准《无公害食品海水养殖用水水质》中汞 0.0002mg/L, 镉 0.005 mg/L, 硒 0.02mg/L 的指标(中华人民共和国农业部, 2001)相比, 除了硒的 MPC 值符合现行标准的要求外, 汞和镉的 MPC 值均大于现行标准, 这意味着在汞和镉含量超标的海水中刺参也能正常存活和生长, 这是一个值得注意的问题。考虑到毒性物质的蓄积效应和养殖刺参的食品安全, 作者认为, 不应简单地将 MPC 值等同于安全质量浓度, MPC 值仅仅表示生物

对某种毒性物质的最大容许程度, 随着人们食品安全意识的提高, 应当对“安全质量浓度”这一概念赋予新的含义, 即还应包括在该质量浓度下养殖生产出的生物的食品安全程度。因此, 在生产实际中应按照现行水质标准, 严格控制养殖用海水的水质, 不应在超标海水中进行养殖, 并加强对养殖刺参产品中汞和镉含量的检测, 以防止重金属超标。

3.3 关于 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对幼参的联合毒性效应

重金属之间、重金属与非金属元素之间对生物体的毒性效应可以表现为相加作用、拮抗作用或协同作用。其作用机理大多与金属硫蛋白的生物合成有关, 最近的研究表明, Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 等重金属离子主要抑制借助分子伴侣进行的蛋白质折叠和装配(Sharma *et al*, 2008)。此外, 重金属与非金属元素的相互作用, 还与形成金属配位体的结合态有关, 这一点可明显地呈现出重金属与非金属元素间的拮抗作用(Gailer *et al*, 2000)。众所周知, 在高等动物中, 硒对汞的毒性具有拮抗作用。关于汞和硒对水生动物的联合毒性, 许多研究也表明二者为拮抗作用。Wang 等(2001)用体外培养的斑原海豚(*Stenella plagiodon*)肾细胞实验发现, Na_2SeO_3 能有效地降低 HgCl_2 对海豚肾细胞的伤害, 硒对汞有明显的拮抗作用。王春凤等(2005)用等毒性混合的 Hg^{2+} 与 Se^{4+} 对剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)的联合毒性实验表明, 48h 和 96h 都表现为拮抗作用。本文中 Hg^{2+} - Se^{4+} 对刺参幼参的拮抗作用与上述报道相同。有关硒与无机汞毒性的拮抗机制, 研究表明, 自由 Hg^{2+} 离子不会单独存在于富含氯化物的媒介中, 而是以 HgCl_4^{2-} 的形式存在, 而且 Hg^{2+} 离子和其他金属离子会受制于它们与巯基化合物(特别是二硫化硒)之间的反应, 通常汞与硒先直接以 Hg-Se 胶体的形式结合, 然后再与特定的蛋白质结合成无活性的化合物, 即 Hg-Se-S-蛋白质, 以此减少汞的毒性, 即硒的存在降低了汞对机体的毒性作用(Gailer *et al*, 2000)。

硒对几乎所有重金属元素的毒性都能够产生拮抗作用。关于硒对镉的毒性具有拮抗作用的机理, 研究表明, SeO_3^- 与 CdCl_2 并不直接起反应, 在生物体内 SeO_3^- 被代谢变为 Se_2^- , 然后 Se_2^- 与 Cd^{2+} 络合, 并以 1:1 的比例与特定的蛋白质结合, 形成 Cd-Se-蛋白络合物, 镉在络合物中不具有生物活性而降低了其毒性(Sharaky *et al*, 2007)。由上述可知, Hg^{2+} - Se^{4+} 、 Cd^{2+} - Se^{4+} 二元混合物以及 Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三元混合物对刺参幼参的毒性呈拮抗作用的关键是硒的存在。

有关汞与镉二元混合物对生物联合毒性的报道尚不多见, 当 Hg^{2+} - Cd^{2+} 共同作用于草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)胚胎时, 其联合毒性呈相加作用; 而 Hg^{2+} - Cd^{2+} 共同作用于鲤鱼(*Cyprinae carpio*)仔鱼时, 其联合毒性却呈拮抗作用(卢健民等, 1995)。还有研究表明, 给小鼠腹腔注射 Hg^{2+} - Cd^{2+} 联合染毒, 对小鼠外周血淋巴细胞 DNA 的损伤作用明显大于 Hg^{2+} 或 Cd^{2+} 单独染毒(胡晓磐等, 2004)。本实验中 Hg^{2+} - Cd^{2+} 对刺参幼参的联合毒性呈拮抗作用, 其原因可能是由于不同重金属离子与金属硫蛋白的亲合力或螯合饱和度存在差异(王志铮等, 2007), 也可能是由于各种重金属离子的质量浓度水平及质量浓度组合关系不同(Feron *et al*, 2002; 周启星等, 2003)。

由于毒性物质对生物体的联合毒性效应与生物种类、生物年龄大小与性别、毒物种类与剂量、染毒时间、受体靶器官、元素间的配比、化合物的存在形式、环境介质的理化性质等多种因素有关, 因此, 当水环境中存在两种或两种以上毒性物质时, 重金属之间、重金属与非金属元素之间的相互作用机制远比单一毒物的作用复杂得多, 其联合毒性机制今后有必要进行深入研究。

4 结论

Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Se^{4+} 对刺参幼参单一急性毒性作用时, 它们对幼参的 96h LC_{50} 分别为 0.0912、4.6433 和 0.7413mg/L, 三者对幼参的毒性大小依次为 $\text{Hg}^{2+} > \text{Se}^{4+} > \text{Cd}^{2+}$, 其中, Hg^{2+} 和 Se^{4+} 对幼参的毒性属于剧毒, Cd^{2+} 对幼参的毒性属于高毒。

当 Hg^{2+} - Cd^{2+} 、 Hg^{2+} - Se^{4+} 以及 Cd^{2+} - Se^{4+} 分别以毒性单位 1:1 的二元混合物共存时, 它们对刺参幼参在 24h、48h、72h 和 96h 的联合毒性效应, 均为毒性相互削弱的拮抗作用。

当 Hg^{2+} - Cd^{2+} - Se^{4+} 三者以毒性单位 1:1:1 混合共存的情况下, 它们对刺参幼参在 24h、48h、72h 和 96h 的联合毒性效应仍为拮抗作用。

刺参养殖水环境中往往有多种毒性物质共存, 其联合毒性作用既可能是毒性的相加作用, 也可能是小于相加作用的拮抗作用, 或者是大于相加作用的协同作用。因此, 评价刺参养殖水环境, 不仅要考虑毒性物质对刺参的单一毒性, 而且应重视多种毒物的联合毒性效应, 这对指导刺参健康养殖有着更加现实的意义。

参 考 文 献

- 王志铮, 王伟定, 杨 阳等, 2007. 4 种重金属离子对彩虹明樱蛤(*Moerella iridescens*)的急性致毒效应. 海洋与湖沼, 38(4): 373—378
- 王春风, 方展强, 2005. 汞和硒对剑尾鱼的急性毒性及其安全浓度评价. 环境科学与技术, 28(2): 32—34
- 中华人民共和国农业部, 2001. 中华人民共和国农业行业标准: NY5052-2001, 无公害食品 海水养殖用水水质. 北京: 中国标准出版社, 1—5
- 卢健民, 简玉华, 李怀明, 1995. 重金属对草鱼胚胎及鲤鱼苗的毒性研究. 水产学杂志, 8(1): 55—62
- 孙振兴, 陈书秀, 陈 静等, 2007. 四种重金属对刺参幼参的急性致毒效应. 海洋通报, 26(5): 80—85
- 张志杰, 张维平, 1991. 环境污染生物监测与评价. 北京: 中国环境科学出版社, 69—70
- 周启星, 程 云, 张倩茹等, 2003. 复合污染生态毒理效应的定量关系分析. 中国科学(C 辑), 33(6): 566—573
- 胡晓磐, 周建华, 时夕金等, 2004. 汞、镉、铅联合染毒对小鼠 DNA 损伤的研究. 苏州大学学报(医学版), 24(5): 595—597
- 修瑞琴, Dave G, 1992. 硒及 6 种重金属离子对卤虫的毒性实验研究. 卫生研究, 21(6): 298—300
- 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
- 高晓莉, 齐凤生, 罗胡英等, 2003. 铜、汞、铬对泥鳅的急性毒性和联合毒性实验. 水利渔业, 23(2): 63—64
- Espericueta F M G, Voltolina D, Osuna L J I, 2001. Acute toxicity of cadmium, mercury and lead to whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity, 67(4): 580—586
- Feron V J, Groten J P, 2002. Toxicological evaluation of chemical mixtures. Food and Chemical Toxicology, 40(6): 825—839
- Gailer J, George G N, Pickering I J *et al*, 2000. Structural basis of the antagonism between inorganic mercury and selenium in mammals. Chemical Research in Toxicology, 13(11): 1135—1142
- Marino B J C, Poza E, Vazquez E *et al*, 2000. Comparative toxicity of dissolved metals to early larval stages of *Palaemon serratus*, *Maja squinado* and *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda). Archive of Environmental Contamination and Toxicity, 39(3): 345—351
- Sharaky A S E, Newairy A A, Badreldeen M M *et al*, 2007. Protective role of selenium against renal toxicity induced by cadmium in rats. Toxicology, 235(3): 185—193
- Sharma S K, Goloubinoff P, Christen P, 2008. Heavy metal ions

are potent inhibitors of protein folding. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372(2): 341—345

Verslycke T, Vangheluwe M, Heijerick D *et al*, 2003. The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity. *Aquatic*

Toxicology, 64(3): 307—315

Wang A, Barber D, Pfeiffer C J, 2001. Protective effects of selenium against mercury toxicity in cultured Atlantic spotted dolphin (*Stenella plagiodon*) renal cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41(4): 403—409

SINGLE AND JOINT TOXICITY OF MERCURY, CADMIUM AND SELENIUM ON JUVENILE SEA CUCUMBER *APOSTICHOPUS JAPONICUS*

SUN Zhen-Xing, WANG Hui-En, WANG Jing, LIU Jin-Chuan, ZHANG Jie, ZHANG Ying, WU Chuan-Yan

(College of Life Science, Ludong University, Yantai, 264025)

Abstract The single and joint toxicity of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} to the juveniles of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* are tested in still water at water temperature of 15.5—17 . The joint toxicity tests are determined using equitoxic ratio mixing, and the effects of joint toxicity are evaluated with the Marking's additive index. The results indicate that the median lethal concentrations (LC_{50}) of acute toxicity of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} at 96 hours to the juvenile are 0.0912, 4.6433 and 0.7413 mg/L, respectively. The toxicity sequence of the three poisons to the juveniles ranged as $Hg^{2+} > Se^{4+} > Cd^{2+}$. The maximum permissible concentrations of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} on the juvenile are 0.0009, 0.0464 and 0.0074mg/L, respectively. The results of joint toxicity test show that when the juvenile are exposed to equitoxic mixtures, the joint toxicities of Hg^{2+} with Cd^{2+} , Hg^{2+} with Se^{4+} , and Cd^{2+} with Se^{4+} at 24, 48, 72 and 96 hours are all antagonistic. The joint toxicity are antagonistic too if Hg^{2+} , Cd^{2+} and Se^{4+} are together with equitoxic mixture for 24, 48, 72 and 96 hours. Furthermore, the paper also discusses the possible mechanism of the joint toxicity acting on juvenile *A. japonicus*.

Key words Sea cucumber *Apostichopus japonicus*, Hg^{2+} , Cd^{2+} , Se^{4+} , Acute toxicity, Joint toxicity