

汞和硒对剑尾鱼的急性毒性及其安全浓度评价

王春风, 方展强

(华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘要:用重金属汞(Hg^{+2})和硒(Se^{+4})对剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)进行急性毒性和联合毒性的实验。其目的在于评价水环境中 Hg^{+2} 和 Se^{+4} 对鱼类的影响,为制订渔业水质标准提供参考数据。结果表明: Hg^{+2} 对剑尾鱼的24、48、96 h的 LC_{50} 分别为1.71、1.35、0.84 mg/L; Se^{+4} 对剑尾鱼24、48、96 h的 LC_{50} 分别为17.91、12.59、6.64 mg/L;在浓度和毒性比都为1:1的条件下,24 h都表现联合作用,而48 h、96 h则为拮抗作用。剑尾鱼对Hg和Se的最大容许浓度分别为0.0084和0.064 mg/L。结果还表明:剑尾鱼幼体对Hg和Se敏感,是一种较理想的环境污染指示生物。

关键词:剑尾鱼; 汞; 硒; 联合毒性; 评价

中图分类号: 文献标识码:A 文章编号:1003-6504(2005)02-0032-03

重金属污染造成对人类生存环境的严重危害,因而日益引起人们对其的普遍关注。汞(mercury, Hg)是一种广泛分布于环境中的剧毒重金属,对人类健康具有潜在危害性;而微量必需元素硒(selenium, Se)则是维持生物体内谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性的重要因子,对于Hg和硒的毒性及相互作用,国内外已经有很多报道,但结论不一^[1-2]。剑尾鱼(*Xiphophorus helleri* Heckel)是一种热带淡水小型鱼类,其体型小,食性杂,便于实验室内饲养管理,其繁殖周期短,繁殖力强,且对污染物敏感,目前已被国内推荐作为一种较为理想的实验动物^[3-4]。本研究用重金属汞(Hg^{+2})和硒(Se^{+4})对剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)进行急性毒性和联合毒性的实验。其目的在于评价水环境中 Hg^{+2} 和 Se^{+4} 对鱼类的影响,探讨评价重金属Hg和非金属元素Se对生物体的毒性作用,为环保部门制定渔业水质标准提供有益的基础数据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

剑尾鱼幼鱼,体长为4.2~4.5 cm,由珠江水产研究所提供,在实验室水族箱驯养一周后进行实验。

1.2 实验药品

分别采用分析纯氯化汞($HgCl_2 \cdot 2H_2O$)和亚硒酸钠(Na_2SeO_3)配制成浓度为0.6 mg/L的二价汞离子和2 mg/L的四价硒离子溶液作为实验储备液,然后稀释成实验所需要的各级浓度。

1.3 实验条件

实验用水为充分曝气的自来水,水温为26~

28, pH值6.8~7.2。硬度约2.4度(德国度)。实验在38 cm × 26 cm × 36 cm的水族箱中进行,实验期间持续充气,不投喂饵料。每一水族箱中加入20 L药液,并各放入受试鱼10尾。

1.4 实验方法

1.4.1 单一毒性实验

根据预备实验结果,按等对数间距设6个浓度组,1个对照组,同时设1个平行组。每一浓度放鱼10尾,观察记录,随时捞出死亡个体,并记录各组暴露24 h、48 h和96 h的死亡数,用直线内插法,以浓度的常用对数为横坐标,死亡率的概率单位为纵坐标,求出各自的半数致死浓度(LC_{50}),并按照公式 $MPC = LC_{50} / 100$ 求出最大容许浓度。

1.4.2 联合毒性实验

在单一毒性实验基础上,分别按浓度1:1和毒性单位1:1设置6个浓度组进行联合毒性实验,分别设1个对照和平行组。观察记录24 h、48 h和96 h的死亡个体数目。

1.4.3 联合毒性评价方法

实验得到的单一毒性和联合毒性 LC_{50} 以后,用水生毒理联合效应Marking的相加指数法,分别求出Hg和Se对剑尾鱼的单一及混合物的 LC_{50} 。公式: $S = A_m / A_i + B_m / B_i + C_i / C_m$;式中,S为生物毒性相加作用之和, A_i 、 B_i 、 C_i 分别为实验毒物的毒性 LC_{50} , A_m 、 B_m 、 C_m 分别为混合物毒性中各毒物的毒性 LC_{50} 。若 $S \geq 1$ 时,相加指数 $AI = 1 / S - 1$; $S > 1$ 时, $AI = S - 1$ 。最后用相加指数(Additive Index) AI来评价毒物的联合效应, $AI > 0$ 时为协同作用; $AI = 0$ 时为相加作用; $AI < 0$ 时,为拮抗作用。

2 结果与分析

基金项目:广东省科委科技攻关项目资助(2KB05402N)

作者简介:王春风(1978-),女,硕士,从事环境生物科学研究。

2.1 Hg 和 Se 对剑尾鱼的单一毒性

2.1.1 Hg 对剑尾鱼的毒性

剑尾鱼幼鱼对 Hg^{+2} 的毒性反应敏感。高浓度组中的实验鱼在投入药液后表现局促不安,快速游动,此后,体表逐渐分泌一层白色毛絮状粘液,其游动逐步减慢,其反应迟钝,最后不时作挣扎,躺卧死亡。由表 1 可以看出,剑尾鱼 96h 时的半致死浓度 (LC_{50}) 为 0.84 mg/L。可见,剑尾鱼对汞离子较敏感。关于 Hg 对水生生物毒性的研究已经有许多报道。由于受试生物及所处生活周期的不同,使得其结果也不尽相同。一般来说,幼体比成体敏感,胚胎期由于受卵膜的保护而不如幼体敏感。对南美白对虾的研究发现,胚后期虽然有约 20% 在蜕皮,但其 96h LC_{50} 仍高达 1.23mg/L,推测可能存在某种防御机制,如存在可活跃结合汞的金属硫蛋白^[2]。进入人体内的 Hg 可被氧化为一价汞离子与蛋白及其它活性物质中的巯基结合,形成较稳定的硫醇盐,使许多重要的含有巯基活性中心的酶(如细胞色素氧化酶,琥珀酸脱氢酶和乳酸脱氢酶等)失去活性而产生毒害。

表 1 Hg 和 Se 对剑尾鱼的单一毒性结果

污染物	暴露时间 (h)	概率单位 - 浓度 对数回归方程	相关系数 <i>r</i>	LC_{50}	
				(mg/L)	95%置信限
Hg	24	$y = 1.8x + 0.081$	0.993	1.71	2.364 - 1.236
	48	$y = 2.4x + 0.188$	0.992	1.35	1.720 - 1.058
	96	$y = 1.857x + 0.419$	0.982	0.84	1.108 - 0.639
Se	24	$y = 1.5x - 1.38$	0.956	17.91	26.405 - 12.143
	48	$y = 1.6x - 1.26$	0.988	12.59	18.119 - 8.747
	96	$y = 1.5x - 0.7333$	0.949	6.64	9.788 - 4.501

2.1.2 Se 对剑尾鱼的毒性

微量元素硒是维持谷胱甘肽过氧化物酶活性的重要因子。但生物体内含过高浓度的 Se 就会对机体造成危害,吸收入体内的 Se 由于能代替含硫化合物中的硫原子,并抑制体内的氧化过程而对多种酶和含硫氨基酸有抑制作用,从而产生毒害。本实验发现,当鱼体受到高浓度硒(Se^{+4})暴露时,会严重出现行为的变化,在高浓度组,剑尾鱼立即表现不安,剧烈游动,体表分泌一层白色粘液,然后身体失去平衡,最终躺卧水底死亡,死时尾部弯曲变形。

表 1 列出 24,48 及 96h 时 Se 对剑尾鱼的半致死浓度 (LC_{50}),分别是 Hg 浓度的 9~10 倍。对其他一些鱼类,如 salmonid 和 red seabream,也得到相类似的结果^[1-5]。

2.2 Hg 和 Se 对剑尾鱼的联合毒性

本研究分别用 Hg 和 Se 的等毒性和等浓度配比对剑尾鱼幼鱼进行实验,其结果表明,在 24h 内 Hg 和 Se 两种混合方式都表现为联合作用,而且等毒性混合表现的联合作用较显著;48h 和 96h 则都表现为拮抗作用(表 2),即 Se 在生物体内有保护机体免受 Hg 的毒害的作用。对于 Hg 和 Se 在生物体内的相互作用已有报道^[1-2],大多数得出的结论也为拮抗作用。但 Huckabee 等^[6]报道,当 Hg 和 Se 含量各为 1 mg/L 时,分别降低鲤鱼卵孵化率的 0.4% 和 0.6%,而当混合液浓度各为 1mg/L 时,其毒性明显增加,认为可能是两者与巯基的反应直接作用在外面的卵膜上故使毒性增强。Klaverkamp 等^[1]在鲑鱼卵实验中虽然没有发现 Hg 和 Se 之间明显的协同作用,但 Se 对鱼卵 Hg 中毒的保护作用也不明显,只有 Se 浓度高达 100mg/L 时,才对 Hg 毒害鲑鱼卵有明显的保护作用。Hg 进入机体后,可诱导一种汞结合蛋白,并且该蛋白的表达受 Hg 暴露时间的影响,短期暴露时,机体对 Hg 的耐受性与汞结合蛋白的表达成正比例^[7],机体内单独存在 Hg 时,表现出明显的毒性作用。Yoneda 等^[5-9]的研究发现,Hg 和 Se 共同进入生物体内,两者则可与血浆中某一特异蛋白(含硒蛋白)等比例结合,借此减少 Hg 的毒性,因此两者对生物体的毒性呈拮抗作用,也就是说,Se 的存在能降低了 Hg 对机体的毒性作用。Sasakura 等^[10]的研究指出,当 Se 在猫体内存在时,可被一种白蛋白选择性地隔离,其结合位点可能是在细胞内存在的二硫键,而形成 Se -白蛋白复合物。Hg 和 Se 在猫体内同时存在时,猫血清中单独的硒离子形式减少,而在体内的全血中形成了一种 Hg-Se 复合物,因此降低了 Hg 对机体的毒性作用。其研究结果还发现,当缺乏谷胱甘肽(GSH)时, Se -白蛋白复合物不与 Hg 反应。本实验中在 24h 内 Hg 和

表 2 Hg 和 Se 对剑尾鱼的联合毒性结果

Hg/Se 配比	暴露时间 (h)	概率单位 - 浓度对数 回归方程	相关系数 <i>r</i>	LC_{50} (mg/L) Hg 和 Se 浓度及 LC_{50} 95%置信限		相加指数	联合作用
				Hg	Se		
浓度比 1	24	$y = 0.8x - 0.62$	0.956	1.4(2.899 - 0.676)	0.7(1.450 - 0.338)	0.12	联合
	48	$y = 0.9x - 0.62$	0.988	1.24(2.367 - 0.65)	0.62(1.185 - 0.325)	-0.016	拮抗
	96	$y = 0.9x - 0.39$	0.949	0.98(1.871 - 0.52)	0.49(0.936 - 0.256)	-0.314	拮抗
毒性比 1	24	$y = 0.4x - 0.42$	0.970	0.97(0.97 - 0.97)	7.64(7.64 - 7.64)	0.006	联合
	48	$y = 0.357x - 0.186$	0.970	0.80(0.80 - 0.80)	6.40(6.40 - 6.40)	-0.101	拮抗
	96	$y = 0.571x - 0.391$	0.990	0.66(0.66 - 0.66)	5.18(5.18 - 5.18)	-0.566	拮抗

Se 表现为联合作用,表现为增加对机体毒性,这可能是由于 Hg 与 Se 被机体组织吸收的速度不同,而汞硒复合物的形成存在一定的时间效应,而所存在的这一过程致使两者毒性大于相加作用。

2.3 剑尾鱼对 Hg 和 Se 的最大容许(安全)浓度

本研究中,Hg 和 Se 对剑尾鱼 96h 的半致死浓度分别为 0.84mg/L 和 6.64mg/L(表 1)。在国家环保局 1986 制订的《生物技术检测规范(水环境部分)》中将化学物质对鱼类的毒性分级分为 5 个等级^[11]: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。按此标准,Hg 对剑尾鱼的毒性属于剧毒,Se 对剑尾鱼的毒性属于高毒,可见 Hg 在极低浓度时即可产生毒害影响。虽然 Se 为机体必须微量元素,但在较高浓度时也会产生强烈的毒性效应,故需补硒的动物或人体都要严格控制用量。Marino 等^[12]提出以 100 作为防护系数依据公式:MPC = LC₅₀/100 得到某毒物得最大容许浓度(式中 MPC = The maximum permissible limit of concentration,即最大容许浓度),近年国内一些学者已有采用^[13]。按此公式,剑尾鱼对 Hg 和 Se 的最大容许浓度分别为 0.0084 和 0.064mg/L。其中 Hg 的最大容许浓度比我国制订的淡水渔业水质标准规定的最高容许浓度要大得多,可见利用急性毒性试验来监测和评价重金属污染还存在一定缺陷,由于生物在亚致死浓度毒物中的生理反应主要表现在分子水平上^[14]。故继续深入到分子水平进行研究是十分必要的。

3 结论

Hg⁺²对剑尾鱼的毒性较大,对剑尾鱼 24、48、96 h 的 Lc₅₀ 分别为 1.71、1.35、0.84mg/L; 剑尾鱼对 Se⁺⁴ 比较敏感,Se⁺⁴对剑尾鱼 24、48、96 h 的 LC₅₀ 分别为 17.91、12.59、6.64mg/L。Hg 和 Se 联合作用在 24h 时皆为协同作用,而在 48、96h 为拮抗作用,表明其作用受时间影响。本研究中剑尾鱼对 Hg⁺²和 Se⁺⁴ 的最大容许浓度(MPC)分别为 0.0084 和 0.064mg/L。

[参考文献]

[1] Klaverkamp J F, Macdonald W A, Lillie W R, et al. Joint toxicity of mercury and selenium in salmonid eggs [J]. *Archive of Environmental Contamination and Toxicity*, 1983,12:415-419.
 [2] Frias - Espericueta M G, Voltolina D, Osuna-lopez J L. Acute toxicity of cadmium, mercury and lead to white leg

shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) post larvae[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity*, 2000,67: 580-586.
 [3] 吴淑勤,石存斌,欧阳冰,等. 维生素缺乏对水生实验动物 剑尾鱼的影响[J]. *中国实验动物学杂志*,1996, 6 (3):129-133.
 [4] 方展强,张凤君,郑文彪,等. 多氯联苯对剑尾鱼 Na⁺ / K⁺-ATPase 活性的影响[J]. *水产学报*,2004,28(1):89-92.
 [5] Takayanagi K. Acute toxicity of waterborne Se(), Se(),Sb() and Sb() on red seabream(*Pargus major*) [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity*, 2001,66:808-813.
 [6] Huckabee W, Griffith N A. Toxicity of mercury and selenium to the eggs of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Trans Amer Fish Soc*, 1974, 103:822-828.
 [7] Garcia E M, Reyes R E. Synthesis pattern of an Hg-binding protein in *Acetabularia calyculus* during short-term exposure to mercury[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity*, 2001,66:357-364.
 [8] Yoneda S, SuZuki K T. Detoxification of mercury by selenium by binding of equimolar Hg-Se complex to a specific plasma protein[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1997,143: 274-280.
 [9] Yoneda S, SuZuki K T. Equimolar Hg-Se complex binds to selenoprotein P[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 1997,231:7-11.
 [10] Sasakura H, Suzuki K T. Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/ sulfide and selenoprotein P[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1998,71:159-162.
 [11] 国家环境保护局. 生物监测技术规范(水环境部分) [S]. 北京:国家环境保护局,1986.95.
 [12] Marino Balsa J C, Poza E, Vazquez E, et al. Comparative toxicity of dissolved metals to earl larval stages of *Palaemon serratus*, *Maja squinado* and *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda) [J]. *Archive of Environmental Contamination and Toxicity*,2000,39:345-351.
 [13] 姚庆祯,臧维玲,戴习林,等. 铜、镉、敌敌畏和甲胺磷对南美白对虾幼虾的急性致毒及相互关系[J]. *上海水产大学学报*,2003,12(2):117-122.
 [14] Lorenzon S, Francese M, Ferrero E A. Heavy metal toxicity and differential effects on the hyperglycemic stress response in the shrimp *palaemon elegans*[J]. *Archive of Environmental Contamination and Toxicity*,2000,39:167-176.

(收稿:2003-10-28;修回:2003-12-08)



tion; biodegradation

Screening and Generation of 3-chloroacetaldehyde Precursor

ZHANG Wei-qing, ZOU Hui-xian

(College of Environment, State Key Laboratory
of Pollution Control and Resource,
Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0029-03 EA

Abstract: Malic acid, tartaric acid, citric acid and various amino acids were selected to be chlorinated in laboratory representative of organic acid and amino acid of low molecular weight. 3-chloroacetaldehyde was determined by GCMS and the concentration was detected with GC-ECD to screen precursor. The impact of various factors was discussed on the formation of 3-chloroacetaldehyde.

Key words: 3-chloroacetaldehyde; precursor; drinking water; disinfection by-products in drinking water; GCMS; GC-ECD

Evaluation on Acute Toxicity and Safety Concentration of Mercury and Selenium to Swordtail Fish,

Xiphophorus helleri

WANG Chun-feng, FANG Zhan-qiang

(College of Life Science, South China Normal University,
Guangzhou 510631)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0032-03 EA

Abstract: The acute and joint toxicity test to swordtail fish, *Xiphophorus helleri* was conducted to evaluate the impact of mercury and selenium on fishes. Results showed LC₅₀ of divalent mercury to swordtail fish were 0.84, 1.35, 1.71mg/L in 24h, 48h and 96h respectively, while LC₅₀ of tetravalent selenium to swordtail fish were 6.64, 12.59, 17.91mg/L respectively. The joint toxicity of two toxicants to swordtail fish was synergistic in 24h and antagonistic in 48h and 96h, both were treated as ratio 1:1 of toxicity and concentration. The maximum permissible limit of concentration (MPC) Hg and Se was 0.0084 and 0.064mg/L respectively.

Key words: *Xiphophorus helleri*; mercury; selenium; acute toxicity; evaluation

Impact of Acclimation on Microbial Degradation of Rogor

SHEN Qi-ying, LIU Huan, ZHANG Ying-jun

(Department of Chemical Engineering,
Beijing Petrochemical Industry College)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0035-03 EA

Abstract: Seven microbes that had some degradability to Rogor was separated and acclimated from soils fertilized with Rogor in a district of Beijing, with Rogor as only carbon source and energy source. Results showed that different acclimation has obvious impact on degradability of microbe, and the degradability of microbe acclimated with large dose has advantageous over that acclimated with gradual addition.

Key words: Rogor; microbe; acclimation; degradation

Characteristics of Sediment Pollution and Eutrophication Status of Changdang Lake

LI Yong¹, WANG Chao¹, ZHU Liang¹,

CAO Shuo-qun², YU Zhi-min²,

WANG Tao², ZHANG Yue-qing²

(1. College of Environment Science and Engineering,
Hohai University, Nanjing 210098;

2. Water Supply Company of Jintan, Changzhou 213200)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0038-03 EA

Abstract: Based on analysis of sediment and water samples of Changdang Lake, results showed that pollution load of COD, TN and TP, which were released from sediments, accounted for 16%, 25% and 21% respectively of the total pollution load importing into the Lake. As a result, eutrophic status of the Lake was deteriorating in recent years. The water in west and south part was in eutrophication status, and TN, TP in centre of lake increased obviously. To control eutrophication, some countermeasures were proposed to protect the Lake.

Key words: Changdang Lake; sediment pollution; eutrophication

Database Design for Hanjiang Water Pollution Control Information System

HOU Guo-xiang¹, LIN Kun-quan¹,

ZHANG Yu¹, PENG Sheng-hua²

(1. College of Traffic Science and Engineering, Huazhong
University of Science and Technology, Wuhan 430074;

2. Yangtze River Water Resource Conservation Bureau,
Wuhan 430051)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0041-02 EA

Abstract: The control information system for Hanjiang River water pollution was developed using MapObjects technology. The isomeric data model was used in the design of GIS database, which was in conformity with characteristics of the valley and was fitter to managing the information. The system realizes an efficient and concentrated management of water pollution information, and can forecast and evaluate the valley's water pollution by making integrative use of computer information technology, which can provide information for setting down strategies of water pollution prevention and control.

Key words: Hanjiang River; water pollution; isomeric database

Study on Descend Mutual-circular Material Flow of Industrial Eco-chain Based on Industrial Metabolism

XU Da-wei¹, WANG Zi-yan¹, LI Ya-wei²

(1. The 21st Century Development Centre,

Dalian University of Technology, Dalian 116024;

2. College of Civil Engineering and Water Conservancy,
Dalian University of Technology, Dalian 116024)

Abstract ID: 1003-6504(2005)02-0043-03 EA

Abstract: System analysis and modelling method was used to describe industrial ecosystem and industrial eco-chain based on