

二硝基重氮酚对紫贻贝及刺参毒性的研究

崔可铎

(中国科学院海洋研究所)

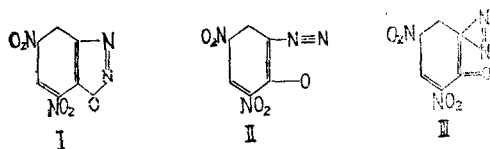
曲年受 林颖 车平川 王天祥

(山东省烟台地区环境保护研究所)

二硝基重氮酚是一种重氮化合物，是一种与雷汞有同等价值不含重金属的起爆药，世界各国多用做雷管和火帽。在生产该产品的过程中，所排放的废水能污染环境。我们研究二硝基重氮酚对贻贝和海参的毒性，旨在为废水的排放标准提供科学依据。

一、材料和方法

1. 试验药物：为工业用的二硝基重氮酚(dinitrodiazophenol)。它是二硝基重氮苯或重氮氧化物，一般简称为DDNP，其结构式如下图。该药品能刺激人体的中枢神经，长期接触能致肝癌。在生产操作中能使皮肤染色，手指溃疡。



二硝基重氮酚结构图

I 为环状结构式，II 为重氮盐结构式，III 为酯式结构式。

2. DDNP母液的配制：称取1g DDNP，用过滤海水慢慢溶解，稀释至1000ml的量瓶内，配成1000ppm的黄色母液，放置24小时后，再配成不同浓度的试验用液。

3. 活材料驯养：紫贻贝 (*Mytilus edulis* Linne)，采自烟台地区海水养殖试验场，选择大小均匀健康的个体，体长约3.7cm，体重为4.7g。剪去足丝，洗净，培养24小时后取用。

刺参 (*Stichopus Japonicus* Selenka) 采自烟台近海，体长约20—40cm，放于实验室培养使其生活正常，然后进行人工受精，培养出不同阶段的幼虫或幼体。

4. 成体试验：取驯养的紫贻贝成体20个，分别置于不同浓度的DDNP试验用液1000ml中培养，观察24、48、96小时受毒后成体的忍耐程度和对排放精、卵的影响。

刺参的幼体，由人工受精培养到1—3cm再进行毒性试验。

5. 幼虫试验：取驯养后的成熟紫贻贝成体，以升温法刺激贻贝进行人工受精，24小时发育成担轮幼虫，48小时发育成面盘幼虫。将单位数量的担轮幼虫放于不同浓度的DDNP试验用液中培养，观察24、48、96小时致毒后对发育的影响。

刺参的毒性试验是取人工培养的囊胚期、原肠期、耳状期等不同的发育阶段进行的。

在幼虫试验中，每24小时换液一次，采用25#筛绢虹吸法过滤去旧液，再加相应浓度的新鲜的试验用液。

6. 试验条件：试验用水为两次沙滤的清洁海水。培养液的几项理化指标，测定后取平均值，其范围为：pH为8.0，加药后为7.6；盐度为33.5‰；溶解氧为8.6mg/l；温度为10—13℃。

自1977—1979年，先后进行多次试验，试验设空白对照，每组做两个平行样并进行重复。

二、结 论

1. 对紫贻贝成体的影响：DDNP为0.5、

1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ppm 和 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0ppm 的两组，其受毒后的结果列于表 1。

表 1 DDNP 对紫贻贝成体的影响
(Δ为排精或卵)

浓度 (ppm)	组别	致毒时间 (小时)		24		48		72		96	
		存活个数		存活个数		存活个数		存活个数		存活个数	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
对照		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
2.5		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
5.0		20	20	20 ^Δ	20	19	20	19	20		
7.5		20	20	20	20 ^Δ	20	20	20	20		
10.0		20 ^Δ	20 ^Δ	20	19 ^Δ	20	19	20	19		
12.5		20	20	20	20 ^Δ	20	20	20	20		
15.0		20	19	20	19	20 ^Δ	19 ^Δ	20	19		

从表 1 可知，贻贝成体对 DDNP 有相当的忍受能力，并且能排放精卵。但是足丝的分泌和附着发生异常，在 4.0ppm 以上，足丝被染成黄色，很少附着。

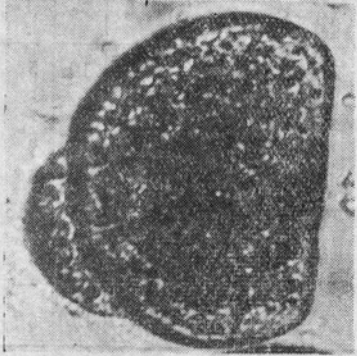
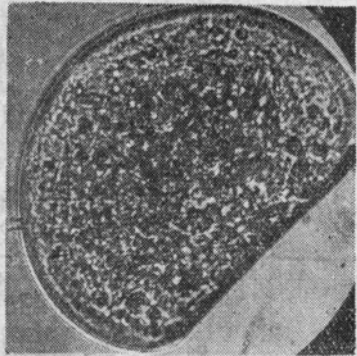
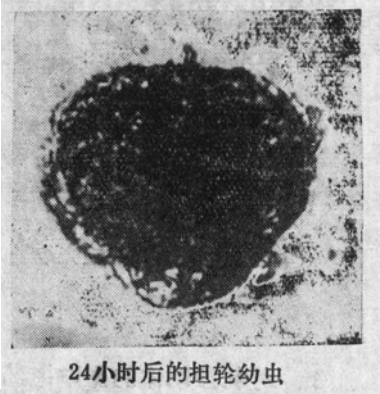
2 · 对紫贻贝幼虫发育的影响：采用发育

表 2 DDNP 对紫贻贝幼虫发育的影响

浓度 (ppm)	致毒时间 (小时)	48	96
对照		面盘幼虫，正常	面盘幼虫，健壮活泼
3.0		同对照	同对照
3.25		同对照	面盘幼虫畸形，D 型直线较壳边弯曲呈月牙状
4.15		面盘幼虫，担轮幼虫各半	畸形，月牙状弯曲更明显
5.25		担轮幼虫，部分面盘幼虫	解体，担轮幼虫畸形；面盘体小，畸形
6.60		担轮幼虫	解体，没有面盘幼虫，担轮幼虫解体
8.30		担轮幼虫	解体，担轮幼虫，畸形更多

正常的担轮幼虫，1977 年 10—11 月做了 2.5—15.0ppm 六个浓度的试验，幼虫密度约为 1600 个/ml。1979 年 4 月重复试验的结果见表 2。

结果表明，2.5—3.0ppm 能正常发育(图 1)；3.25ppm、48 小时仍为正常，96 小时后部分出现畸形，D 型直线较壳边弯曲呈



48小时的面盘幼虫
图 1 紫贻贝幼虫的正常发育

月牙状(图 2)；4.15—5.25ppm、48 小时后明显看出对发育的抑制作用；6.60—10.0ppm、96 小时不能发育变态，但部分担轮幼虫能以畸形的

形态存活着,最后腐烂解体,12.5—15.0ppm使担轮幼虫全部死亡(图3)。

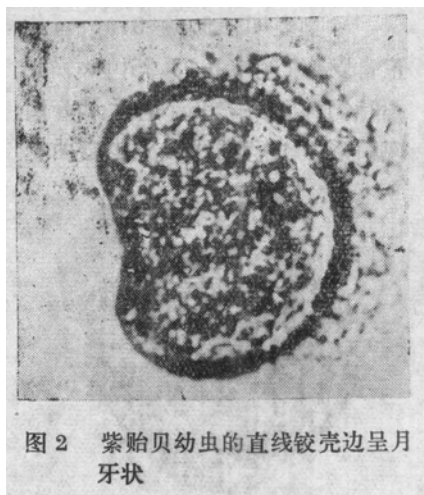


图2 紫胎贝幼虫的直线铰壳边呈月牙状

3. 对刺参幼体的影响: 药物为0.5、2.5、7.5、10.0、12.5ppm和5.0、7.5、10.0、12.5、15.0ppm的两组,每个浓度放养刺参幼体5或10个,结果见表3。

表3 DDNP对刺参幼体的影响
(△表示体缩,刺缩)

浓 度 (ppm)	致毒时间 (小时)		24		48		72		96	
	组 别		存活个数		存活个数		存活个数		存活个数	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
对照	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
0.5	5	—	5	—	5	—	5	—	5	—
2.5	5	—	5	—	5	—	5	—	5	—
5.0	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
7.5	5	8	5	8 [△]	5	8 [△]	5	8 [△]	5	8 [△]
10.0	5 [△]	10 [△]	5 [△]	10 [△]	5 [△]	8 [△]	4 [△]	5 [△]	5 [△]	5 [△]
12.5	—	10 [△]	—	10 [△]	—	5 [△]	—	5 [△]	—	5 [△]
15.0	5 [△]	10 [△]	5 [△]	8 [△]	5 [△]	5 [△]	5 [△]	5 [△]	5 [△]	5 [△]

试验证明,2.5—5.0ppm幼参尚能正常生活,身体舒张,棘刺锐利;7.5ppm大多数幼参身体收缩,刺钝缩,24小时出现解体 and 死亡;10.0—12.5ppm、96小时后,大部分幼参刺缩,体表腐烂,死亡率达50%。

4. 对刺参胚胎发育的影响: 取各个发育阶段进行毒性试验,浓度为0.05、0.15、0.25、



图3 紫胎贝幼虫的解体、腐烂、死亡

0.40、0.50、2.5、10.0、15.0ppm,另设对照组。每次换水后投饵一次,饵料为扁藻(*Platgmonas* sp.),每缸加150—200ml,密度为38万/ml,结果见表4—6。

表4表明,受精卵经过正常的卵裂进入囊胚期,囊胚期在各浓度中,24小时后进入原肠后期,发育正常,但随时间的延长、浓度的增高出现畸形,144小时约占80—100%。

表5表明,不同浓度的DDNP对原肠期发育的影响是很明显的。0.05和0.15ppm、55小时即出现畸形;2.5ppm、5小时即100%出现畸形。

表6表明,0.15ppm、45小时,有33%的耳状幼虫变态形成樽形幼虫,发育正常;0.25ppm、21小时,幼虫出现畸形,约占0.8%;0.40ppm、21小时,畸形达13.3%,69小时达33%;2.5ppm畸形比例为50%。幼虫出现畸形发育的比例与毒物浓度的增高和接触时间的延长呈正相关。

三、讨 论

1. 对紫胎贝的毒性: 试验结果中,DDNP虽然没有使胎贝成体发生死亡,但对其某些功能产生不良影响。胎贝成体在室内培养时,能很快重新分泌足丝附着,恢复正常生活。在2.5ppm、96小时,足丝分泌尚属正常,能够附着;5.0ppm、96小时使足丝分泌减弱,附着能力降低。在试

表4 DDNP对刺参囊胚期发育的毒性影响(%)

致毒时间 (小时) 浓度 (ppm)	0	24	48	72	96	120	144	168	192—196
对照	正常	进入原肠期	正 常	正常	正常	畸形10	畸形17	畸形33	—
0.15	正常	进入原肠期	正 常	进入小耳	畸形7	进入中耳	畸形14	畸形11	畸形23
0.25	正常	进入原肠期	进入小耳	进入初耳	进入中耳	畸形17	进入中耳	畸形100	畸形62
0.40	正常	进入原肠期	进入初耳	进入小耳	畸形21	畸形100	进入中耳	畸形81	畸形88
0.50	正常	进入原肠期	进入原肠后期9	进入小耳	进入中耳	畸形38	畸形100	畸形100	畸形67

表5 DDNP对刺参原肠期发育的毒性影响(%)

致毒时间 (小时) 浓度 (ppm)	0	8	55	77	101	125	173
对照	正常	正 常	正 常	绝大部分正常	绝大部分正常	解体50	
0.05	正常	正 常	畸形11	畸形64	畸形74	畸形81	
0.15	正常	正 常	畸形25	畸形89	畸形50	畸形75	畸形82
0.25	正常	畸形76	畸形50	畸形80	畸形100	畸形90	畸形100
0.40	正常	畸形20	畸形25	畸形90	畸形90	畸形80	畸形91
0.50	正常	畸形33	畸形50	畸形7	畸形90	畸形100	
2.50	正常	5小时畸形100	22小时畸形100	47小时畸形100			
10.00	正常	48小时畸形100					
15.00	正常	4小时畸形100					

表6 DDNP对刺参耳状期发育的毒性影响(%)

致毒时间 (小时) 浓度 (ppm)	0	21	45	68	93
对照	正常	正常	正常	正常	正常
0.15	正常	正常	畸形33	正常	正常
0.25	正常	畸形0.8	畸形20	正常	正常
0.40	正常	畸形13.3	正常	畸形33	畸形33
0.50	正常	—	畸形14	畸形40	—
2.50	正常	畸形6.6	畸形17	畸形50	

验过程中,成熟的贻贝有排精卵的现象,这也是一种DDNP使环境发生异常的刺激作用。

DDNP对贻贝幼虫发育的抑制并使其畸形以及使细胞腐烂的作用是很明显的。结果表明,3.25ppm、48小时和3.0ppm、96小时不产生影响,而4.15ppm、48小时能使一半的幼虫发育变态,一半虽进入面盘幼虫,但后期的发育

多为畸形。6.25ppm以上的浓度能抑制全部的幼虫发育,10.0ppm使全部的幼虫解体死亡。

2. 对海参的毒性: DDNP对刺参幼体的生长和幼虫的发育有一定的影响。7.5ppm使大多数幼体收缩,刺钝缩,24小时有的解体和死亡。胚胎期在不同浓度中,24小时都能进入原肠期,这是由于与药物接触的时间短和卵膜的保护作用所致。当进入到原肠期后受药品的影响极为明显,这是由于消化器官出现并开始摄食,对药物的直接接触而显示出的一定反应。

总之,DDNP5.0ppm影响成体贻贝分泌足丝,没有发生腐烂和死亡的,其贝壳有相当的保护作用。7.5ppm使幼参的身体萎缩,刺钝。4.15ppm抑制贻贝的胚胎发育,而影响刺参胚胎发育的浓度就更低。由此可见,成体较幼体有更大的忍受性,胚胎对药物有更高的敏感性。所以,在研究某种污染物质的毒性时,

(下转第40页)

不同背景光强明适应过程结果表明,不论适应光的强弱,敏感度变化只有一种类型,即随明适应时间延长,敏感度逐渐下降,这相当于杨雄里等结果中的D型变化^[1]。这一结果为明适应过程中敏感变化的讨论提供了一些资料。

为了观察背景光对网膜敏感性的影响,测定了在不同强度背景光下引起振幅为50 μ v的反应的刺激光强,即辨增阈。刺激光波长为523毫微米和623毫微米,背景光为白光。图10表明,当 $\log I_B \leq -5.58$ 时,辨增阈随背景光增强变化不大; $\log I_B$ 从-7.43增至-5.58, 辨增

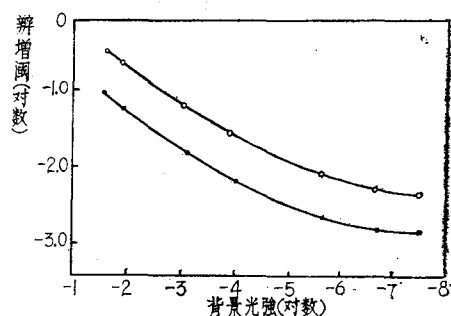


图10 无针乌贼辨增阈曲线
○—○表示刺激光波长为623nm
●—●表示刺激光波长为523nm

阈 $\log I_T$ 的变化仅为0.25—0.30对数单位。但当 $\log I_B > -5.58$ 时, $\log I_T$ 与 $\log I_B$ 的关系符合韦伯法则(Weber law), 即 $d(\log I_T) = \alpha d(\log I_B)$ 。常数 α 对于523毫微米和623毫微米均为0.6, 两曲线并无交叉的趋势。这结果提示乌贼的网膜可能只有单一的感受系统。

参 考 文 献

- [1] 杨雄里等, 1978, 生物化学与生物物理学报, 10 (1); 15—26。
- [2] 蔡浩然、马万禄编, 视觉分子生理学基础。27—31, 130—132。
- [3] Daw, N. W. and A. L. J. Pearlman, 1974 Gen. Physiol. p63, p22。
- [4] Hamasaki, D. I. 1968 Vision Res., 8: 246—258。
- [5] Бызов, А. А., Орлов, О. Ю., и И. А. Ртина, 1962. Биофизика 7 (3): 322—327。



(上接第23页)

应采用不同种类的生物或同一种生物的不同发育阶段或不同的生长期全面地测定,再确定安全浓度和排放标准,就更为准确。

从多次的实验结果看,DDNP的毒性比Hg、Cu等低¹⁾²⁾,不是剧毒药物,其毒性的表现主要是腐蚀作用,使动物的体表发生腐烂。DDNP对淡水鱼类的毒性也是腐蚀作用³⁾。其性质也不象DDT和六六六那样稳定。

参 考 文 献

- [1] Brown, B. E. and R. C. Newell, 1972. Mar. Biol. 16:108—118。

- [2] Bayne, B. L., 1976. Mar. Poll. Bull 7 (12):217—218。
- [3] Cunnigam, P. A. and M. R. Tripp, 1975. Mar. Biol. 31:311—20。
- [4] Dillon, T. M. and J. M. Neff, 1978. Mar. Environ. Res. 1:67—77。
- [5] Phillip, J. H., 1976. Mar. Biol. 38(1): 59—65。

- 1) 崔可铎, 吴玉霖等, 1979. 非洲鲫鱼对汞积累的实验研究(未刊稿)。
- 2) 吴玉霖, 崔可铎等, 1979. 毛蚶对汞积累和排出的实验研究(未刊稿)。
- 3) 曲年受, 崔可铎等, 1980. 二硝基重氮酚对淡水鱼类的毒性试验(未刊稿)。