

两种有机毒物在对虾养殖中的毒性效应研究

殷浩文 陆继红

(上海市环境保护科学研究所, 200233)

收稿日期 1991年7月19日

关键词 重复循环生物检测, 对虾, 氯苯, 对氯硝基苯, 应用系数

提要 采用重复循环生物检测法, 比较氯苯对氯硝基苯在中国对虾养殖中的毒性效应。获得毒物的剂量——反应率回归方程。氯苯 96h— LC_{50} 为 1.72×10^{-6} , 对氯硝基苯为 2.14×10^{-6} 根据最小致死剂量、应用系数, 建设养殖用水标准分别为氯苯 0.01×10^{-6} , 对氯硝基苯 0.004×10^{-6} 。

氯苯、对氯硝基苯是毒性较大的芳香族卤代化合物。在毒理学研究中, 它们对高等动物的毒性已有较多的文献报道^[1,2]。目前为止, 它们对无脊椎动物的毒性研究很少有文献记载。为制定与对虾养殖相适应的环境水质标准, 就氯苯、对氯硝基苯对中国对虾的毒性效应进行了急性毒性实验研究。

1 试验方法

对虾属海产甲壳类动物, 对盐度、溶解氧非常敏感, 其中盐度的影响在发育早期甚为明显。自然生长的对虾盐度适应范围为 9~45, 人工养殖虾可降至 5 左右。氯苯和对氯硝基苯系难生化降解的有机物, 其生化比仅为 1.3% 左右。根据试验生物与药品的特性, 采用重复循环式生物检测方法 (Recirculation bioassays) 进行 96h 急性毒性试验^[6,7]。用微型循环水泵保持水族箱内水流及溶解氧。

2 试验设备、材料及结果

2.1 设备

(1) 水族箱 30cm×18cm×22cm; (2) 充氧泵 AD-4; (3) 循环泵 DD-28/58; (4) 台秤 TN-100, 尺; (5) 软质纱网; (6) 酸度计 pH 4B; (7) 温、盐、电导仪 SDT-33; (8) 溶氧仪 YSI-58; (9) 塑料筒; (10) 玻璃器皿若干。

2.2 试验材料

急性毒性试验是为人工养殖对虾提供水质参考标准, 选择养殖塘内 5~6cm 仔虾。置于塑料桶内, 不喂食, 驯化期间连续充氧。氯苯试验的对虾长 6.9 ± 0.10 cm, 平均重 2.9g; 对氯硝基苯试验长度为 5.98 ± 0.09 cm, 平均重 2.15g。

2.3 试验设计

试验设平行双样, 水族箱容量 10L。对氯硝基苯试验每个浓度级放 20 尾仔虾, 氯苯试验放 10 尾。试验用水直接取自养殖塘, 与驯化水相同, 水质分析见表 1。

① 承蒙华东师大生物系堵南山教授指导, 谨致谢意。

表 1 毒性试验用水水质分析

Tab. 1 Analysis of test water for acute toxicity test

试验	参数					
	溶解 氧 ($\times 10^{-6}$)	氧饱 和度 (%)	盐度	pH	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	电导 率 (Ω/cm)
预备试验	10.58	131.5	5.6	8.95	27	80×100
氯苯	7.30	88.5	5.6	7.53	24	100×100
对氯硝基苯	7.27	88.0	4.8	8.33	23	86×100

采用循环泵 2~3h 循环 60min, 维持水族箱溶解氧 4×10^{-6} 。试验设双空白对照, 助溶剂 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 对照浓度为实验中所使用的最大浓度 10×10^{-6} 。4~8h 记录一次仔虾中毒症状反死亡数, 每日 4 次测定溶解氧、pH、水温、电导、盐度等参数, 并水温、溶解氧调整水循环次数及时间。试验期间不喂食。

2.4 急性毒性试验

两种毒物母液用化学纯试剂配制。氯苯分子量 112.56, 对氯硝基苯分子量 157.56, 母液浓度均为 500×10^{-6} , 试验按 96h 进行(表 2, 3)。

表 2 中国对虾的氯苯毒性试验存活率

Tab. 2 Survival rates of *Penaeus chinensis* in Monochlorobenzene toxicity test

试验时间	浓度($\times 10^{-6}$)					
	空白 助溶 剂对照	0.01	0.10	0.32	1.00	18.33
24	100	100	100	100	100	60
48	100	100	90	90	90	40
72	100	100	90	80	80	10
96	100	100	90	80	70	10

毒性试验的 96h-- LC_{50} 计算方法很多, 冠氏法、回归法、两点法等。一般认为回归法精度较高。在具体试验中还要视所获数据的完整性, 选取适当的方法。本实验中采用回归法求取 96h-- LC_{50} , 得剂量-反应率方程如下氯苯

$$y = 4.74 + 1.10x, r = 0.9929 \quad (1)$$

$$96\text{h} - \text{LC}_{50} = 1.72\text{mg/L}$$

对氯硝基苯

$$y = 4.82 + 0.54x$$

$$96\text{h} - \text{LC}_{50} = 2.14\text{mg/L}, r = 0.9954 \quad (2)$$

方程中 x 为死亡率的概率单位, y 是浓度的对数值。 r 代表浓度比值。

表 3 中国对虾的对硝基氯苯毒性试验存活率

Tab. 3 Survival rates of *Penaeus chinensis* P-chloronitrobenzene toxicity test

试验时间(h)	浓度($\times 10^{-6}$)					
	空白 助溶 剂对照	0.004	0.01	0.33	0.10	7.05
24	100	100	100	95	95	90
48	100	100	100	95	90	80
72	100	100	90	90	80	40
96	100	100	90	85	75	40

2.5 分析

96h 毒性试验的剂量-反应率方程的斜率可表示某化合物毒作用带的宽、窄, 氯苯和对氯硝基苯的斜率分别为 1.10 和 0.54。后者的致死作用带要宽得多。方程(1), (2)在 1.39×10^{-6} (死亡率为 46%)处相交(图)。交点两侧相对毒性的大小恰好相反。在 1.39×10^{-6} 以下, 相同的浓度, 氯苯的死亡率要低于对氯硝基苯。 1.39×10^{-6} 以上, 氯苯的毒性大于对氯硝基苯。这是由于两种毒物的作用特性和甲壳类动物生理生化特点不同引起的。

氯苯具有明显的神经毒性, 有麻醉、刺激作用。它不具有血液毒性。猫在 1200×10^{-6} (5.5mg/L) 以下就有显著的被麻醉现象, 3700×10^{-6} (17mg/L) 时 7h 即能引起急性中枢神经麻痹而致死, 甲壳类的神经系统已有分化, 有脑及躯干神经, 氯苯对其同样有抑制作用。 18.33×10^{-6} 浓度下, 仔虾开始明显呈兴奋状态, 战栗和痉挛, 100min 后活动几乎停止, 沉于箱底,

MARINE SCIENCES, No. 1, Jan., 1993

96h 死亡率为 90%。

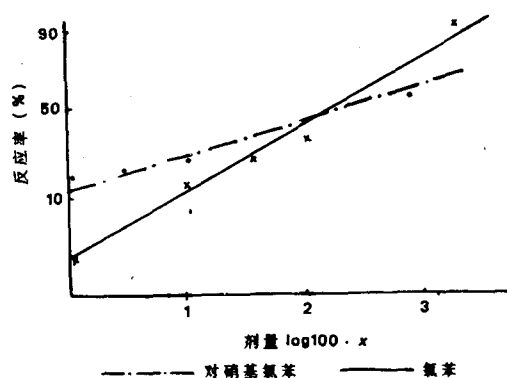


图 1 两种毒物对数剂量-反应率关系

Fig. 1 Relationship between logarithmic dose-response curves of two organic toxicants

对氯硝基苯具典型的血液毒性,也有文献记载^[2]。它是氯硝苯三种异构体中毒性较小的一种。急性死因是生成高铁血红蛋白,并经皮肤吸收造成。高等动物的血红蛋白由珠蛋白和血红素组成,血红素中的铁原子以配位键与肽链上的组氨酸相连,由非极性氨基酸之间形成的键把它固定在肽链的一定位置上,脱氧血红蛋白中的铁原子为 2 价,与氧结合时接近 3 价,氧在组织中释放后恢复 2 价。要完成这个可逆的氧还反应须保证血红素的稳定性与疏水性。氯硝基苯正是破坏了这种可逆反应,生成高铁血红蛋白,失去了携氧功能。

与脊椎动物不同的是甲壳类中氧载体(呼吸蛋白)与血红素不同。这些载体溶解于血浆中,对虾血液中含许多变形细胞、血浆含血兰蛋白,血青素分子的卟啉环上是铜原子,分子量 $0.5 \times 10^6 \sim 10^7$,全由较小的单体构成聚合物,尚无证据证实铜原子与血红素的铁原子以相同的机理运输氧^[8]。另外,对虾的几丁质外骨骼使毒物的体表吸收较困难。由于靶器官性质的变化导致毒性的改变,很可能是甲壳类动物的对氯硝基苯 96h- LC_{50} 高于氯苯的原因。但是,从

最小致死剂量(MLC)为 0.01×10^{-6} 分析,对氯硝苯的这种毒性改变似乎不具有质的变化,而仅变为一种缓慢而持久的毒性。实验中还观察到两种毒物对浮游生物也有明显的毒作用。按照海洋污染问题专家联合组织(IMCO/FAO/UNESCO/WHO)1969 年推荐的标准^[4],急性毒性的阈浓度在 1×10^{-6} 以下为极毒化合物。氯苯(MLC: 0.1×10^{-6}),对氯硝基苯(MLC: 0.01×10^{-6})对中国对虾而言,其毒性均属此类。

3 结论

3.1 氯苯 96h- LC_{50} 为 1.72×10^{-6} ,对氯硝基苯为 2.14×10^{-6} 。它们的 MLC 分别是 0.1×10^{-6} 和 0.01×10^{-6} 。后者的低浓度毒性大于前者且毒作用带宽、作用缓慢。

养殖水质标准一般利用 FA 乘 96h- LC_{50} 求得。建议中国对虾养殖用水标准为氯苯 0.01mg/L,对氯硝基苯 0.004mg/L。我国渔业标准中对氯硝基苯为小于 0.1mg/L,而三氯苯、四氯苯分别为 0.02mg/L 和 0.06mg/L。这并非专指对虾养殖。美国、苏联近年公布的以卫生毒理学为依据的标准氯苯小于 0.02mg/L,硝基氯苯小于 0.05mg/L。这与本文建议值较接近。

参考文献

- [1] 堀口博,1978。公害与毒物、危险物。石油化学工业出版社,359~360。
- [2] 周海钧等,1983。生物检定统计法。人民卫生出版社,182~193。
- [3] White, A. P. Handler, & E. L. Smith, 1973. Principles of biochemistry (fifth edition). McGraw-Hill, Inc. 626-628。
- [4] National Academy of Science and National Academy of Engineering. U. S., 1972. Water Quality. Government Printing Office, Washington, D. C. 22-33。
- [5] S. R. Hanxsen, and R. R. Garton, 1982. Avility of Standard Toxicity Tests to Predict the Effect of the Insecticide D-flubenzuron on Laboratory Stream Communities Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 1 273-1 288。

TOXIC EFFECT OF TWO ORGANIC TOXICANTS ON *PENAEUS CHINENSIS*

Yin Haowen and Lu Jihong

(Shanghai Research Institute of Environmental Protection, Shanghai 200233)

Received: July, 1991

Key Words: Recirculation bioassays; *Penaeus chinensis*; 96h-LC₅₀; Monochloro-benzene; P-chloronitrobenzene.

Abstract

Using recirculation bioassays, the toxic effects of monochlorobenzene and p-chloronitrobenzene had been compared on *Penaeus chinensis* cultivation. The two dose-regression equations were obtained from these equations, 96h-IC₅₀ for monochlorobenzene is 1.72×10^{-6} and for p-chloronitrobenzene is 2.14×10^{-6} . The standard concentration of monochlorobenzene and p-chloronitrobenzene was 0.01×10^{-6} and 0.004×10^{-6} respectively for *Penaeus chinensis*.