

镉在褐指藻~海湾扇贝食物链中的传递以及遗传毒性的检测*

秦 松 林光恒

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

收稿日期 1991年1月5日

关键词 镉, 遗传毒性, 褐指藻, 海湾扇贝

提要 为了探究化学诱变剂镉在海洋食物链中的传递规律及其与人类健康的关系, 作者设计了从海洋浮游藻类——褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum* Bohlin)~海湾扇贝 (*Argopecten irradians* Lamarck) 的实验室食物链, 采用极谱分析方法研究了镉的传递, 并对贝肉(软体组织)灰样进行了紫露草微核(Trad-MCN)测定, 结果: (1)经过6d的传递实验, 处理组与对照组贝肉中镉的浓度均未超过对应组褐指藻中镉的浓度; 经过这条食物链的传递, 镉的浓度减少。(2)通过t测验发现, 两个高浓度处理组与对照组贝肉灰样之间的诱变性差异显著($P < 0.001$ 与 $P < 0.005$)。t值的大小与镉的浓度具有一致性关系, 说明镉的浓度越大, 诱变性越强。

* 国家自然科学基金资助项目。

本项工作蒙顾宏堪教授、郑严副研究员、刘明星高级工程师、田凤琴工程师多方配合, 特此致谢。

镉是海洋环境中典型的重金属污染物。它不仅是人类和哺乳类的生理毒剂^[4,5]和生化毒剂^[6],还具有“三致”作用,是一种化学诱变剂^[7,8]。随着海洋污染的日益严重,在海水(特别是近岸和河口区海水)和海产品中均能检测到一定量镉的存在^[9,10]。海洋初级生产力,如浮游单细胞藻类具有从海水中吸附、吸收和积累镉的能力^[11~14]。海洋动物体内积累的重金属主要来源于食物^[1,15,16]。海洋食物链被认为具有浓缩和放大重金属的作用^[15]。以海洋浮游藻类为起点的海洋食物链成为镉等重金属在海洋生态系统中运动的一条主要路线^[13,17]。Miramand^[18]以及王永元等^[1]都设计过从海洋浮游藻类到贻贝的实验室食物链,分别研究了钒-48和锌-65的传递规律。对重金属特别是镉这种既具生理生化毒性,又具遗传毒性的污染因子在海洋浮游藻类到重要的海洋经济动物——扇贝(Scallop)食物链中传递的研究,目前尚属空白。以往对重金属在食物链中传递的研究手段,仅限于同位素示踪,而且对积累化学诱变剂的海洋经济动物,尚未涉及遗传毒性的检测。为了研究镉这种具有多重毒性的重金属污染物从海洋浮游藻类到扇贝的传递规律,以及在扇贝体内积累的规律,探究与人类健康的关系,作者选择了在我国广泛养殖的海湾扇贝及其常用饵料——褐指藻,采用化学测定的手段对镉的传递规律进行了研究,并对贝肉灰样进行了遗传毒性的检测。

I. 材料与方法

I.1. 镉在褐指藻中的吸着与积累

在3只盛有灭菌的600mL海水培养基的三角烧瓶中,分别加入分析纯 $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ 0.023g, 0.114g与0.228g,摇动烧瓶使其完全溶解后,边摇动边各加入浓度为 3.2×10^6 个/mL的褐指藻(来自中国科学院海洋研究所八室饵料组)400ml,使各瓶藻液中镉离子的浓度分别为0.0001 mol/L, 0.0005 mol/L与0.0010 mol/L,并分别编号为T-1、T-2与T-3。另设不加 $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ 的对照C。

将4瓶藻液置LRH-150G型光照培养箱内18℃恒温培养,并给予人工光照(光强为2000 Lux)。8d后离心(1000转/min, 10min),藻沉淀用少许上清液冲洗后,再于3000转/min离心10min,所得沉淀置冰箱保存,并取少许稀释100倍后计数。

I.2. 镉从褐指藻到海湾扇贝的转移

由中国科学院海洋研究所中韩海珍品基地提供海湾扇贝幼贝,直径为0.5~1.0cm,分为C、T-1、T-2与T-34组,每组55只,于200mL海水(水温20℃左右)中通气培养。空腹1d。根据计数所得的褐指藻沉淀的浓度移取相应的体积,使其加入到200mL海水中后各组褐指藻的浓度均为 4×10^4 个/mL,换去相对应组的原有海水。每d更换一次,6d后收起各组幼贝,并将贝肉(软体组织)剖出,于冰箱冷冻室干燥保存。

I.3 镉的化学测定

将冷冻干燥的贝肉称重,放入石英坩埚中,置马福炉内在450℃下灰化8h。各组灰样均取出0.0020g进行遗传毒性检测,剩余灰样用0.10mL超纯级HCl酸化后,加入一定量无污染天然海水稀释,用高纯 NH_4OH 调pH为4.5,采用防吸附物理涂汞电极单池示差反向极谱法测定镉的含量^[2]。喂贝后剩余的褐指藻沉淀于80℃烘箱烘3h后称重,酸化后同法进行镉的测定。

I.4. 贝肉灰样遗传毒性的检测

将0.0020g灰样用0.50mL超纯HCl溶解后,设置蒸馏水对照C-1和0.50mL HCl溶剂对照C-2,参照马德修^[19]的方法进行紫露草四分体微核的测定。

II. 结果与讨论

化学测定的结果见表 1~2, 紫露草四分体微核的检测结果见表 3。

表 1 褐指藻中积累镉的浓度

Tab. 1 Cadmium concentrations in *phaeodactylum tricornutum*

分 组	藻中镉的浓度 (10^{-6})	生物浓缩系数 (B. C. F)	吸 着 率 (%)
C	737	/	/
T-1	5796	252	2
T-2	4972	44	0.40
T-3	8960	39	0.46

注: 生物浓缩系数=藻中镉的浓度/处理镉的浓度;
(B. C. F.=Biological Concentration Factor)
吸着率=藻中镉的量/处理镉量 $\times 100\%$

表 2 海湾扇贝贝肉中积累的镉的浓度

Tab. 2 Cadmium concentrations in soft part of *Argopecten irradians*

分 组	贝肉灰样中镉的量 (μg)	贝肉重量 (g)	贝肉中镉的浓度 (10^{-6})
C	29.2	0.049	595.0
T-1	45.5	0.040	1137.5
T-2	108.6	0.053	2049.0
T-3	51.2	0.044	1163.6

从表 1 中看出, 随着处理镉的浓度的增大, 生物浓缩系数下降, 吸着率也呈下降趋势。表 2 数据表明, 3 个处理组贝肉中镉的浓度高低顺序为: T-2 > T-3 > T-1, 这与表 3 中 t 值大小的顺序一致, 说明诱变性的强弱与镉的浓度的高低具有一致性关系, 镉的浓度越大, 诱变性越强。T-2 与 T-3 的诱变性与对照组 C 差异极显著 ($P < 0.001$ 与 $P < 0.005$), T-1 与 C 的差异不显著 ($P > 0.05$)。海湾扇贝与褐指藻中镉的浓度用图 1 直观表示。从图中可以看出镉的浓度在从褐指藻到海湾扇贝的传递中并未扩大。这个结论与 Young^[16] 在研究锌-65 和铁-59 在墨角藻到滨螺的传递、王永元等^[1] 研究锌-65 在褐指藻到紫贻贝的传递时得出的结论一致。

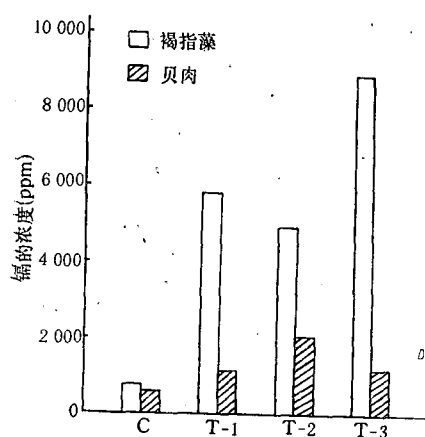


图 褐指藻与海湾扇贝中镉的浓度比较
Fig. 1 Comparison between cadmium concentrations in *Phaeodactylum tricornutum* and in soft part of *Argopecten irradians*

在讨论单细胞藻对镉等重金属的作用时, 可将吸附与吸收并称吸着 (sorption)^[11,13], 其中吸附起主导作用^[11,14]。单细胞藻具有较大的表面积和较小的体重, 而扇贝个体较大, 镉在褐指藻到扇贝的传递中浓度减少是不难理解的。迄今为止, 尚未有重金属沿实验室食物链扩大的证据。

已积累的资料表明, 褐指藻在低温保存后仍有很高的成活率^[3]。本实验中显微观察发现, 褐指藻沉淀经冰箱保存后, 再经海水稀释绝大部分细胞呈

表3 海湾扇贝肉灰样紫露草微核检测结果

Tab. 3 Results of Trad-MCN test of ashed soft part of *Argopecten irradians*

组 别	微核百分率 (%)	S. E.	t	显 著 性
C-1 (蒸馏水)	2.70	0.40	/	/
C-2 (0.5mL HCl)	2.69	0.40	/	/
C	3.74	0.77	/	/
T-1	4.72	0.94	1.81	P>0.050
T-2	8.54	1.64	6.30	P<0.001
T-3	7.38	1.41	5.51	P<0.005

常态。本实验采用将离心后的褐指藻沉淀稀释成相同浓度去喂各组扇贝的方法,既避免了用藻液去喂扇贝而造成的培养基中镉的引入,又保证了各组扇贝滤食相同量的褐指藻。王永元等^[1]将锌-65 标记的褐指藻离心后移入干净海水中,再用新藻液定期去喂贻贝,在保存的过程中藻中的锌-65 会不断排入到海水中,最后通过计算扣除由海水引入贻贝体内的锌-65。本实验定期将褐指藻沉淀稀释后换去原有培养介质,1d 更换一次,基本上可以避免从褐指藻排出的镉对扇贝的影响。

本实验结果表明,镉经褐指藻到海湾扇贝的迁移,尽管浓度减少,但其污染的贝肉仍具显著的诱变效应,其诱变强度与镉的浓度具有一致性关系。可以进一步推知,经过海洋食物链传递的镉,其遗传毒性并未改变;海产品的诱变效果,与其化学诱变剂的含量有关。

参考文献

- [1] 王永元、周名江、肖余生、相振峻、滕文法, 1984. 锌-65 从三角褐指藻向紫贻贝传递的初步实验研究. 生态学报 4(3): 267~272.
- [2] 顾宏堪、刘明星, 1974. 物理涂汞电极单池示差反向极谱法在海水中的应用 II. 镉的测定分析. 分析化学 2(3): 179~182.
- [3] 郑严, 1978. 褐指藻沉淀浓缩滤纸吸附保种和高浓度藻液冰冻贮存. 海洋科学 2: 59~63.
- [4] Bousquet, W. F., 1979. Cardiovascular and renal effects of cadmium. Cadmium Toxicity. Macel Dekker Inc., 133-158.
- [5] MacFarland, H. N., 1979. Pulmonary effects of cadmium. Cadmium Toxicity. Macel Dekker Inc., 113-132.
- [6] Singhal, R. L. and Z. Merali, 1979. Biochemical toxicity of cadmium. Cadmium Toxicity. Macel Dekker Inc., 61-112.
- [7] Kazantzis, G., 1985. Mutagenic and carcinogenic effects of cadmium. Carcinogenic and mutagenic metal compounds. Cordon and Breach Science Publishers, pp. 387-398.
- [8] Malcolm, D., 1979. Cadmium as a carcinogen. Cadmium Toxicity. Macel Dekker Inc., pp. 173-180.
- [9] Lape, I. M., T. A. Egbe, G. E. Martin, C. Njock, F. Ikome and C. Mbi, 1986. Preliminary survey on mercury and cadmium levels in some marine fishery products. *Wkshop. Rep. Intergor. Oceanogr. Comm.* No. 41, Annex V. 2.
- [10] Wahbeh, M. I. and I. Mahasneh, 1985. Concentrations of zinc, manganese, copper, cadmium, magnesium and iron in ten species of algae and sea water from aqaba, Jordan. *Mar. Envir. Res.* 16:95-102.
- [11] Cossa, D., 1976. Sorption du cadmium par une population de la diatomée *Phaeodactylum tricornutum* en culture. *Mar. Biol.* 34:163-167.
- [12] Fisher, N. S., N. Bohe and J.-L. Teyssie, 1984. Accumulation and toxicity of Cd, Zn, Ag and Hg in four marine phytoplankters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 18:201-213.
- [13] Hardested-Romeo, M. and M. Gnassia-Barelli, 1980. Effect of complexation exudates on the accumulation of cadmium and copper by the haptophyceae *Cricosphaera elongata*. *Mar. Biol.* 59:79-84.
- [14] Romeo, M. and M. Gnassia-Barelli, 1985. Metal uptake by different species of phytoplankton in culture. *Hydrobiologia* 123:205-209.
- [15] Bryan, G. W., 1971. The effect of heavy metals (other than Hg) on marine and estuarine organisms. *Proc. Roy. Soc. London* 177B:389-410.

- [16] Young, M. L., 1975. The transfer of Zn^{65} and Fe^{59} along a *Fucus serratus* (L.)→*Littorina obtusata* (L.) food chain. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 55:583-610.
- [17] Fisher, N. S., 1985. Accumulation of metals by marine pico plankton. *Mar. Biol.* 87:137-142.
- [18] Miramand, P., J. C. Guary and S. W. Fowler, 1980. Vanadium transfer in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Biol.* 56:281-293.
- [19] Ma, T.-H., 1983. *Tradescantia* micronuclei (Trad-MCN) test for environment clastogens. In *Vitro Toxicity Testing of Environmental Agents*. Plenum, pp. 141-214.

TRANSFER OF CADMIUM FROM *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* BOHLIN TO ARGOPECTEN IRRADIANS LAMARCK AND ITS GENOTOXICITY

Qin Song and Lin Guangheng

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao, 266071)

Received: Jan., 5, 1991

Key Words: Cadmium, Genotoxicity, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, *Argopecten irradians* Lamarck

Abstract

The transfer of the chemical mutagen cadmium in marine food chains from the phytoplankton *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin to the economic animal-scallop *Argopecten irradians* Lamarck and the relationship with human health were studied using polarography analyses. Mutagenicity of ashed part of cadmium contaminated scallop was tested by a Trad-MCN test. The results are as follows:

1) Cadmium concentrations in soft part of both experimental scallops and controls did not exceed over those in the phytoplankton; cadmium concentration decreased in the transfer.

2) By using t test, mutagenicity of ashed soft part of scallops of two experimental groups containing high cadmium concentrations was more significant than that of controls ($P < 0.001$ and $P < 0.005$ respectively). The more the cadmium concentration, the higher the mutagenicity.
