

# 化学诱变剂在实验海洋食物链中的 流动以及遗传毒性的检测\*

## ——镉在褐指藻→中国对虾→欧 氏六线鱼实验食物链中的传递

秦松 林光恒

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

**提要** 于1989年3月—1989年9月, 利用极谱测定法研究了无机诱变剂Cd在3级实验食物(链从褐指藻经中国对虾至欧氏六线鱼)中的传递, 并对积累Cd的中国对虾和欧氏六线鱼肌肉和内脏灰样进行了紫露草微核测定。结果表明, Cd浓度在传递中依次减少; 经过6d喂食, Cd从褐指藻到中国对虾的传递比例为66.6%; 经过7d喂食, Cd从中国对虾到欧氏六线鱼的传递比例为29.9%。t测验发现, 处理组对虾内脏灰样与肌肉灰样之间诱变性差异显著( $P < 0.01$ ); 处理组与对照组对虾内脏灰样之间的诱变性差异亦显著( $P < 0.01$ )。

**关键词** Cd 遗传毒性 褐指藻 中国对虾 欧氏六线鱼

有学者认为, 以海洋浮游藻类为出发点的食物链, 是重金属污染物在海洋生态系统中运动的一条主要路线 (Fisher, 1985; Hardstedt-Romeo et al., 1980)。还有人认为, 海洋食物链具有浓缩和放大化学污染物, 包括重金属 (Bryan, 1971) 和有机物 (Robinson et al., 1967) 的作用。为此王永元等(1984)与 Miramand 等(1980)分别研究了Zn<sup>65</sup>和V<sup>48</sup>从海洋浮游藻类到贻贝的传递。作者自1989年起从化学诱变剂的角度, 用化学测定方法研究了Cd在海洋浮游藻类中的积累(秦松等, 1992)以及在浮游藻类→经济动物的2级(秦松等, 1991)、3级(Lin et al., 1991)实验食物链中的传递。本文报告于1989年3月—1989年9月进行的Cd在褐指藻→中国对虾→欧氏六线鱼食物链中的传递研究以及遗传毒性检测结果。

### 1 材料与方法

#### 1.1 Cd从褐指藻到中国对虾的传递

**1.1.1 对虾配合饵料制备** 用绞肉机绞碎500g鲮鱼脊肉, 拌入面粉、豆粉各250g, 混合均匀并分成3份, 各333g。在其中两份中分别加入T-2'组(即0.0005mol/L Cd<sup>2+</sup>处

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第2197号。国家自然科学基金资助, 3870360号。

本文曾在1990年国际环境诱变剂会议(上海)上进行过交流。

郑严副研究员、田凤琴工程师提供藻种, 顾宏堪教授、刘明星高级工程师协助进行极谱测定, 谨致谢忱。

收稿日期: 1991年3月20日, 接受日期: 1991年11月24日。

理组)和 C' 组(对照组)褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum* Bohlin) 藻粉(秦松,1992) 1.32g 和 1.60g, 充分混拌, 至藻粉绿色不能辨出。用绞肉机绞成条状, 再切成约 2cm 长度, 晾干后分别作为处理组和对照组中国对虾 *Penaeus chinensis* 饵料。

**1.1.2 对虾喂养实验** 从黄岛养殖场引入人工养殖对虾 50 尾, 平均全长 6.6cm, 平均重量 4.3g。分两组, 养在两只 3.5m<sup>3</sup> 玻璃钢圆桶中, 人工充气, 平均水温为 23℃, 每天换 1/3 海水。

空腹一天后开始投喂饵料, 采用逐个投入法, 即投入后见到对虾抱食, 方才续投, 直至桶底出现多余饵料, 并小心吸出。每天仅一次性投饵。

投喂 6 d 后, 将全部对虾捞出, 随机取出 10 条, 其余留待以之喂鱼。将取出的对虾去须、尾和壳后, 分为内脏(含消化道)和肌肉两部分。

**1.1.3 化学及生物测定** 将内脏、肌肉于 80℃ 烘 3h, 再进马福炉, 于 450℃ 灰化 8h。两种灰样各取 0.0040 g 用 0.1 ml 超纯级 HCl 酸化, 然后用无污染天然海水稀释, 用高纯 NH<sub>4</sub>OH 调 pH 至 4.5, 采用防吸附物理涂汞电极单池示差反向极谱法测定 Cd 的含量(顾宏堪等, 1974)。各取 0.0020g 灰样用 0.5ml 超纯级 HCl 溶解后, 参照马德修(1981)方法进行紫露草 4 分体微核测定, 并设置蒸馏水对照和 0.5ml HCl 溶剂对照。

**1.2 Cd 从中国对虾到欧氏六线鱼的传递** 由中国科学院海洋研究所海洋水族培育楼提供欧氏六线鱼 (*Hexagrammos otakii*) 6 条, 处理组和对照组各 3 条, 分别养在两只 3.5m<sup>3</sup> 玻璃钢圆桶中, 人工充气, 平均水温约 24℃, 每天换 1/3 海水。适当遮光并放置少量人工礁。各组每天投入 2—3 条对虾或对虾切块。第 2 天早晨捞出未食对虾、虾块及残渣, 共喂食 7d。

7 d 后将鱼捞出, 刮皮去鳞、去骨后, 分为内脏(含消化道)和肌肉两部分, 分别于 80℃ 烘 3h 后, 进马福炉于 450℃ 灰化 8h。取 0.0040g 鱼肉灰样和 0.0009g 鱼内脏灰样酸化后, 同上进行极谱测定, 各取 0.0020g 同上进行微核测定。

## 2 结果

极谱测定结果见表 1。Cd 在各级生物中积累的浓度见图 1。据作者(秦松等, 1992)报道, 处理组褐指藻培养基中 Cd<sup>2+</sup> 剂量为 56 μg/g (0.0005 mol/L), 处理组和对照组褐指藻 (T-2' 组和 C' 组) 中积累的 Cd 浓度用平行组 T-2 组和 C 组的浓度表示, 分别为 340 μg/g 和 14 μg/g。图 1 显示的结果表明, 不论处理组还是对照组, Cd 浓度均在从褐指藻经中国对虾到欧氏六线鱼的传递中依次减少。

表 1 中国对虾和欧氏六线鱼肌肉和内脏中 Cd 浓度

Tab. 1 Cadmium concentrations in muscles and internal organs of the prawn *Penaeus Chinensis* and the fish *Hexagrammos otakii*

样品(干)	虾肌肉		虾内脏		鱼肌肉		鱼内脏	
	对照组	处理组	对照组	处理组	对照组	处理组	对照组	处理组
Cd 浓度(μg/g 干重)	0.55	3.41	2.29	18.09	0.40	1.87	0.12	0.08

喂食期间,处理组对虾共投喂饵料 129g,饵料中 Cd 浓度为  $1.34\mu\text{g/g}$ ,含 Cd  $172.86\mu\text{g}$ ,假设每条对虾进食量相同,则 10 条用于解剖的对虾约吃进  $2/5$  的饵料(约合  $69.14\mu\text{g}$  Cd)。根据灰样浓度和重量计算,虾肉和内脏灰样中含 Cd 分别为  $20.24\mu\text{g}$  与  $25.80\mu\text{g}$ ,

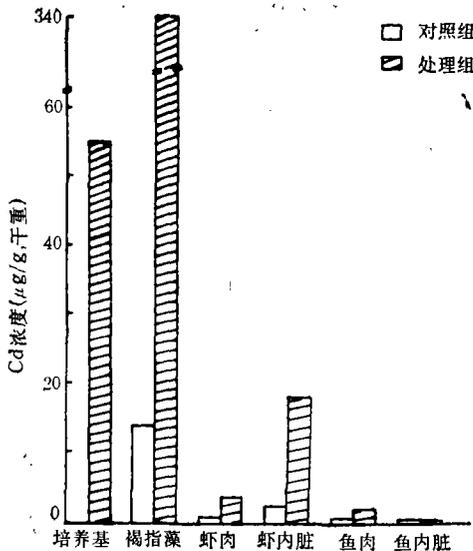


图 1 Cd 在褐指藻→中国对虾→欧氏六线鱼实验食物链各级生物中积累的浓度

Fig. 1 Cadmium concentrations in organisms of the experimental marine food chain from *Phaeodactylum tricornutum* to *Penaeus chinensis* and to *Hexagrammos otakii*

如果不计对虾须、尾和壳中所含 Cd, 则所剖对虾共含 Cd  $46.04\mu\text{g}$ 。在本实验投喂 6 d 之后, Cd 从褐指藻到中国对虾的传递比例为  $46.04/69.14 \times 100\% = 66.6\%$ 。在喂鱼 6 d 过程中, 处理组鱼共吃进对虾折合 8 条, 其中含 Cd 约为  $8/10 \times 46.04 = 36.83\mu\text{g}$ 。计算可知, 鱼肉和内脏灰样中分别含 Cd  $10.83\mu\text{g}$  与  $0.17\mu\text{g}$  (合重为  $11.00\mu\text{g}$ ), 如果鱼中含 Cd 量视为二者之和, 则 Cd 从中国对虾到欧氏六线鱼的传递比例为:  $11.00/36.83 \times 100\% = 29.9\%$ 。紫露草微核测定结果见表 2。通过显著性  $t$  检验, 处理组对虾内脏与虾肉灰样之间的诱变性差异显著 ( $P < 0.01$ ), 处理组与对照组对虾内脏灰样之间的差异亦显著 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论与结语

#### 3.1 Cd 的传递及诱变性 Bryan(1971)

在综述重金属对海洋和河口生物毒性作用时指出, 消化系统的吸收是体内重金属的重要来源, 重金属在海洋食物链中可能被浓缩以致影响这些生物的生理状态。本研究结果表明, 外界引入海水中的 Cd, 被褐指藻浓缩后, 在从褐指藻经中国对虾到欧氏六线鱼的传递中浓度依次减少, 但中国对虾内脏中蓄集的 Cd 具有显著的诱变效应。

**3.2 关于生物放大作用** 王永元等(1984)在研究  $\text{Zn}^{65}$  从褐指藻到贻贝 *Mytilus edulis* 的传递时发现,  $\text{Zn}^{65}$  的含量并未扩大; Young (1975) 研究  $\text{Zn}^{65}$  和  $\text{Fe}^{59}$  从墨角藻 *Fucus serratus* 到滨螺 *Littorina obtusata* 的传递时得出的结论与之相似。Westernhagen 等(1978)对 Cd 在实验室模拟生态系统中运动规律的研究结果表明, 积累于鲈鱼 *Pleuronectes platessa* 肝和鳃中的 Cd 的浓度, 低于贻贝 *M. edulis* 体内的浓度。结合本文的结果, 提示重金属能被海洋食物链生物放大的论断尚缺乏充分的资料依据, 有待进一步实验去探究。

**3.3 关于传递比例** 王永元等(1984)研究  $\text{Zn}^{65}$  从褐指藻到贻贝的传递时得出, 实验第 1, 3, 5d 的传递比例分别为 14.4%, 5.8% 和 6.2%。Miramand 等(1980)研究  $\text{V}^{51}$  从海洋浮游藻类到贻贝 *M. galloprovincialis* 的传递时得出的传递比例约低于 7%; Jennings 等(1979)得出的  $\text{Cd}^{109}$  从卤虫 *Artemia salina* 到蟹 *Carcinus maenas* 的传递比例为 10%。而王永元等(1984)的甲基汞从扁藻 *Platymonas* sp. 到卤虫 *A. salina* 的传递实

表 2 中国对虾和欧氏六线鱼肌肉和内脏灰样的紫露草微核测定结果

Tab. 2 Results of the Trad-MCN test of ashed parts of *Penaeus chinensis* and *Hexagrammos otakii*

检测材料		MCN/100 四分体	S.E.	处理组与对照组差异的 t 值	内脏与肌肉差异的 t 值
对照	蒸馏水	3.80	0.40	—	—
	0.5ml HCl	3.31	0.64	—	—
虾肉灰样	对照组	3.98	0.63	—	—
	处理组	4.01	0.73	0.07	—
虾内脏灰样	对照组	4.14	1.73	—	0.30
	处理组	8.83	1.69	5.37 <sup>1)</sup>	6.29 <sup>1)</sup>
鱼肉灰样	对照组	5.07	0.81	—	—
	处理组	6.16	0.74	2.23	—
鱼内脏灰样	对照组	5.60	0.41	—	1.37
	处理组	6.74	1.07	2.44	1.01

1)  $P < 0.01$ 。

验得出高达 70% 的传递比例。这种传递比例的明显差别可能与实验的金属、传递的途径有关,另外可能与金属的测定方法(放射性测定与化学测定)和计算方法(作者的直接推算法, Miramand 的半对数曲线求算法)有关。各位作者的实验条件(如不同的进食量,实验时间的长短)不同可能也是造成传递比例差异的重要原因。在本实验条件下, Cd 从褐指藻到中国对虾以及从中国对虾向欧氏六线鱼的传递都是较显著的。

**3.4 关于海产品的遗传毒性** 紫露草微核检测的结果表明,不论与对照组对虾内脏灰样还是与处理组虾肉灰样相比,处理组对虾内脏灰样均有显著的诱变效应 ( $P < 0.01$ )。这说明,对虾内脏蓄集 Cd 的能力很强。食用对虾肉(海米或虾仁)要比食用整虾安全,比食用虾制品,如虾脑酱更为安全。

## 参 考 文 献

- 马德修, 1981, 秦松译, 1991, 用于现场监测和诱变剂筛选的紫露草微核生物测定法和花粉管染色单体畸变测试法, 海洋科学译报, 1: 112—118。
- 王永元等, 1984, 镉-65 从三角褐指藻向紫贻贝传递的初步研究, 生态学报, 4: 267—272。
- 秦松、林光恒, 1991, 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, 海洋科学, 6: 52—56。
- 秦松、林光恒, 1992, 化学诱变剂在实验海洋食物链中的流动以及遗传毒性的检测 I. 无机诱变剂镉(I)镉在褐指藻中的吸着与积累, 癌变·畸变·突变, 4(4): 1—5。
- 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分析中的应用 I. 镉的分析, 分析化学, 2: 179—182。
- Bryan, G. W., 1971, The effect of heavy metals (other than Hg) on marine and estuarine organisms, Proc. Roy. Soc. London, 177B: 389—410。
- Fisher, N. S., 1985, Accumulation of metals by marine picoplankton, Mar. Biol., 87: 137—142。
- Hardstedt-Romeo, M. and Gnassia-Barelli, M., 1980, Effect of complexation exudates on the accumulation of cadmium and copper by the haptophyceae *Cricosphaera elongata*, Mar. Biol., 59: 79—84。
- Jennings, J. R. and Rainbow, P. S., 1979, Studies on the uptake of cadmium by the crab *Gracilior maenas* in the laboratory I. Accumulation from seawater and a food source, Mar. Biol., 50: 131—139。

- Lin, G., Qin, S. and Tseng, C. K., 1991, Cadmium flux and genotoxicity in an experimental marine food chain, *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **9**: 292—299.
- Miramand, P. et al., 1980, Vanadium transfer in the mussel *Mytilus galloprovincialis*, *Mar. Biol.*, **56**: 281—293.
- Robinson, J. et al., 1967, Organochlorine residues in marine organisms, *Nature*, **214**: 1307—1311.
- Westernhagen, H. et al., 1978, Fate and effects of cadmium in an experimental marine ecosystem, *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, **31**: 471—484.
- Young, M. L., 1975, The transfer of Zn<sup>65</sup> and Fe<sup>59</sup> along a *Fucus serratus* (L.)→*Littorina obtusata* (L.) food chain, *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **55**: 583—610.

## FLUX OF CHEMICAL MUTAGENS THROUGH AN EXPERIMENTAL MARINE FOOD CHAIN AND THEIR GENOTOXICITY——

### TRANSFER OF CADMIUM IN THE LAB FOOD CHAIN *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM*→*PENAEUS CHINENSIS*→*HEXAGRAMMOS OTAKII*\*

Qin Song, Lin Guangheng

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071)

#### ABSTRACT

In order to investigate the flux of cadmium, the inorganic mutagen through 3-trophic level marine food chains and the harm it might do to human health, we devised a phytoplankton based experimental marine food chain (from *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin to the prawn *Penaeus chinensis* Osbeck, and to the fish *Hexagrammos otakii* Jordan et Starks) and studied its flux using polarography analysis from Mar., 1989 to Sep. 1989. Genotoxicity of ashed part of cadmium contaminated prawns and fish was determined by a Trad-MCN test. The results are as follows:

Cadmium concentration decreased in the transfers from *P. tricornutum* to *P. chinensis* and from the latter to *H. otakii*. The transfer coefficient of cadmium in the first flux (six days of feeding) was 66.6% and in the second (seven days of feeding) was 29.9%.

*t* tests showed mutagenicity of ashed internal organs of experimental prawns was significantly higher than that of ashed muscles, and also significantly higher than that of ashed internal organs of the controls ( $P < 0.01$ ).

**Key words** Cadmium Genotoxicity *Phaeodactylum tricornutum* *Penaeus chinensis* *Hexagrammos otakii*

\* Contribution No. 2197 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.