

20<sup>#</sup> 燃料油、苯酚、硫化钠对四角蛤蜊  
胚胎及幼体发育的毒性效应

中国水产科学研究院东海水产研究所

一九八七年一月

## 20<sup>#</sup>燃料油、苯酚、硫化钠对四角蛤蜊

### 胚胎及幼体发育的毒性效应

#### 提 要

本文研究了20号燃料油、苯酚和硫化钠对四角蛤蜊(*Macra veneriformis* Reeve) 胚胎及幼体发育急性毒性与十天存活试验。结果表明：对胚胎发育的48小时EC<sub>50</sub>值依次为5.80、6.18、2.06毫克/升；对幼虫的96小时LC<sub>50</sub>值分别为6.37、7.92、3.02毫克/升；对幼体毒性96小时LC<sub>50</sub>值为29.0、23.76、3.85毫克/升。从毒性效应值可看出，硫化物毒性为最大，胚胎的敏感性大于幼体期。以幼体存活反应为毒性标准，20号燃料油的未觉察反应浓度(NEC)和最低觉察反应浓度(LOEC)为0.087~0.290毫克/升，苯酚为0.24~0.72毫克/升，硫化钠为0.117~0.390毫克/升。

随着我国对外贸易日益发展，在我国沿海碰撞、触礁沉船事件时有发生。有害有毒物质排放于海水中，必将污染水体，破坏水产资源。如今海洋生物学家以水生生物测定 (bioassay) 成为重要测试手段，其中牡蛎和蛤蜊胚胎常用来测定河口及海洋环境中各种化学和环境因子效应 [7, 8, 10, 11, 12, 13]。国内陈金堤等也有报道 [2]。

一九八四年五月十一日凌晨三时，巴拿马籍《海利》轮与我国《金线泉》轮相撞。沉船《海利》号内载主要有毒物质有：燃料油、苯酚、硫化钠等。这些有害物质对海水生物的毒性问题，美国环保局 (EPA) 于 1976 年和 1980 年已编制了部份资料 [4, 9]。但国内尚未见到系统报道。为了对东海区养殖贝类作危害程度的评价，我们选用四角蛤蜊 (*Macra veneriformis* Reeve) 为受试材料，观察受精、胚胎、存活等生物学指标，现将试验结果综述于下。

## 一、材料与方 法

1、材料 实验材料取自江苏省如东县东凌海区。实验于四角蛤蜊繁殖期 (5月上旬至6月中旬) 进行。试验所用海水经暗沉淀、过滤、曝气后使用。

2、毒物 20<sup>#</sup> 燃料油难溶于水，需先经超声波乳化。用红外测油仪 (柳本 Oil-102 型) 测定其含量。配制成各试验浓度。苯酚、硫化钠以分析纯试剂配制工作液。标定后再稀释成系列试验浓度。

3、条件 胚胎和幼体毒性试验：盐度 22.71‰，PH

7.92~8.10、溶解氧6.32~8.00毫克/升、氨氮0.16毫克/升、水温 $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。幼体存活试验：盐度27.45‰、PH 8.35、溶解氧6.56~7.02毫克/升、氨氮0.16毫克/升、水温 $21 \sim 23^{\circ}\text{C}$ 。

4、方法 参照美国的《水和废水标准检验法》〔36〕和日本的《新编水质污染调查指南》〔5〕进行。胚胎实验的受精卵采用人工受精法获得，实验密度控制在20—30个受精卵/毫升，48小时后记下正常的和不正常的幼虫数目。幼虫实验从担轮幼虫开始。取活动能力强的幼虫；幼体急性毒性自D型中期开始受毒。密度均为20个幼体/毫升左右。96小时后记下死亡与成活数。试验分5—7个浓度组，两个平行，必要时重复实验。试验液每8小时换水一次。试验水温在精密恒温器内保持。每份每次随机测定200个样品数。幼体存活率试验，密度为6个幼体/毫升左右，每12小时换水一次，幼体以异胶藻（*Heterogloea* sp.）为饵料。投饵量约5—10万个细胞/毫升。试验浓度按各自的 $\text{LC}_{50}$ 乘上0.3、0.1、0.03、0.01、0.003及0.001倍作为系列浓度，每二天测定一次，共六次。每份样品随机测定100个幼体，以死亡作为判断指标。全部试验均用玻璃烧杯，水体50毫升。

5、数据处理 实验数据全部用数理统计处理〔1〕。

## 二、结 果

### 1、对四角蛤蜊胚胎发育的影响

结果见表1。从表1看出：48小时内，硫化钠对胚胎发育的

毒性最大， $EC_{50}$  为 2.06 毫克/升；20<sup>#</sup> 燃料油次之，为 5.80 毫克/升；苯酚再次为 6.18 毫克/升。从回归方程的  $b$  值来看，硫化钠的  $b$  值最大，苯酚的  $b$  值最小。这表明，四角蛤蜊胚胎种群对硫化钠的敏感性差异程度最小，而苯酚的敏感性差异较大。

表 1 各毒物对四角蛤蜊胚胎发育的毒性

| 毒 物                 | 回归方程           | 相关系数  | 48小时 $EC_{50}$<br>(毫克/升) | 95%置信限<br>(毫克/升) |
|---------------------|----------------|-------|--------------------------|------------------|
| 20 <sup>#</sup> 燃料油 | $Y=2.66+3.06X$ | 0.999 | 5.80                     | 5.33~6.31        |
| 苯 酚                 | $Y=3.65+1.71X$ | 0.997 | 6.18                     | 5.42~7.05        |
| 硫化钠                 | $Y=3.51+4.74X$ | 0.998 | 2.06                     | 1.96~2.16        |

## 2、对四角蛤蜊幼虫发育的影响

结果见表 2。从表 2 看出：硫化钠对幼虫的毒性最大，96 小时  $LC_{50}$  为 3.02 毫克/升；20<sup>#</sup> 燃料油为 6.73 毫克/升，次之；苯酚为 7.92 毫克/升，为最小。这三种毒物对幼虫毒性顺序与胚胎结果是一致的，但是与胚胎结果的不同之处，苯酚与 20<sup>#</sup> 燃料油的  $b$  值较为接近，四角蛤蜊的幼虫种群对苯酚、20<sup>#</sup> 燃料油的敏感性差异都很小，只要两者的浓度达到幼虫死亡的临界浓度以上的水平，则幼虫种群的死亡率都随浓度的提高而显著上升。

表2 各毒物对四角蛤蜊幼虫发育的毒性

| 毒 物                 | 回归方程           | 相关系数  | 96小时 $LC_{50}$<br>(毫克/升) | 95%置信限<br>(毫克/升) |
|---------------------|----------------|-------|--------------------------|------------------|
| 20 <sup>#</sup> 燃料油 | $Y=2.15+3.44X$ | 0.998 | 6.73                     | 6.24~7.26        |
| 苯 酚                 | $Y=1.63+3.75X$ | 0.999 | 7.92                     | 7.45~8.41        |
| 硫化钠                 | $Y=3.99+2.10X$ | 0.985 | 3.02                     | 2.77~3.30        |

### 3. 对四角蛤蜊幼体的毒性

#### (1) 急性试验

结果见表3。从表3中96小时 $LC_{50}$ 值分析,各毒物仍以硫化钠毒性最大为3.85毫克/升,苯酚毒性次之为23.76毫克/升,20<sup>#</sup>燃料油毒性最小为29.0毫克/升。它们毒性顺序与胚胎、幼虫有所不同。另外,从 $LC_{50}$ 值可明显看出幼体对各污染物具有一定的抗性。

表3 各毒物对四角蛤蜊幼体急性毒性的比较

| 毒 物                 | 回归方程           | 相关系数  | 96小时 $LC_{50}$<br>(毫克/升) | 95%置信限<br>(毫克/升) |
|---------------------|----------------|-------|--------------------------|------------------|
| 20 <sup>#</sup> 燃料油 | $Y=1.92X+2.19$ | 0.993 | 29.0                     | 25.33~33.20      |
| 苯 酚                 | $Y=3.70X-0.09$ | 0.998 | 23.76                    | 22.50~25.09      |
| 硫化钠                 | $Y=2.02X+3.82$ | 0.996 | 3.85                     | 3.51~4.22        |

## (2) 存活

试验自受精二天后发育为 D 型幼体开始致毒。观察 10 天。每 2 天测定各组存活反应。为检验各毒物不同浓度下存活反应的显著性。曾进行卡方检验。结果见表 4。若以存活为毒性标准。未觉察反应浓度 (NOEC) 和最低觉察反应浓度 (LOEC) 列于表 5。表 5 说明: 20<sup>#</sup> 燃料油对四角蛤蜊的亚急性阈限在 0.087 ~ 0.290 毫克/升范围内; 苯酚的亚急性毒性阈限在 0.24 ~ 0.72 毫克/升范围之内; 硫化钠阈限在 0.117 ~ 0.390 毫克/升范围之内。

表 4 四角蛤蜊的存活率在各毒物不同浓度中的  $X^2$  检验

| 毒 物             | 系列浓度<br>(毫克/升) | 生物数 死亡率<br>(个) (%) | $X^2$ 检 验<br>( $P < 0.05$ ) |
|-----------------|----------------|--------------------|-----------------------------|
| 对照组             | 0              | 100 30             |                             |
| 20 <sup>#</sup> | 8.7            | 100 89             | 差别有显著意义                     |
| 燃<br>料<br>油     | 2.9            | 100 78             | "                           |
|                 | 0.87           | 100 72             | "                           |
|                 | 0.29           | 100 69             | "                           |
|                 | 0.087          | 100 39             | 差别无显著意义                     |
|                 | 0.029          | 100 32             | "                           |
| 苯               | 7.2            | 100 94             | 差别有显著意义                     |
|                 | 2.4            | 100 88             | "                           |
|                 | 0.72           | 100 56             | "                           |
|                 | 0.24           | 100 43             | 差别无显著意义                     |
|                 | 0.072          | 100 37             | "                           |
|                 | 0.024          | 100 35             | "                           |
| 硫<br>化<br>钠     | 1.17           | 100 92             | 差别有显著意义                     |
|                 | 0.39           | 100 87             | "                           |
|                 | 0.117          | 100 41             | "                           |
|                 | 0.039          | 100 37             | 差别无显著意义                     |
|                 | 0.012          | 100 32             | "                           |
|                 | 0.004          | 100 29             | "                           |

表 5 用存活毒性标准评价各毒物  
对四角蛤蜊的 NOEC 和 LOEC

单位：毫克/升

| 毒 物     | 未觉察反应浓度<br>N O E C | 最低觉察反应浓度<br>L O E C |
|---------|--------------------|---------------------|
| 20# 燃料油 | 0.087              | 0.290               |
| 苯 酚     | 0.24               | 0.72                |
| 硫化钠     | 0.117              | 0.390               |

### 三、讨 论

1. 从表 6 毒性比较，在整个实验中四角蛤蜊胚胎期的 48 小时  $EC_{50}$  值为最小，与日本学者大久保勝夫所报道，贝类卵发生对各种毒物极为敏感一致。若把幼虫或幼体期的受毒时间均缩短与胚胎期相同的实验时间（48 小时），那么它们的  $LC_{50}$  值还会提高，使不同发育阶段对毒物的敏感性差异更为显著，这也符合早期发育阶段的敏感性大于后期阶段的普遍规律。导致以上差异性，是由于胚胎发育到幼体，幼体开始向外摄食，生活活动能力增强，解毒机能日趋完善，更能适应环境变化。为了保护水产资源，遵循最敏感的原则，应以胚胎期为最敏感的生活阶段来预测毒物对贝类长期影响的效应。

表 6 三种毒物对四角蛤蜊胚胎和幼体的毒性比较

(毫克/升)

| 毒物                  | 胚胎期            | 幼虫期            | 幼体期            |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|
|                     | 48小时 $EC_{50}$ | 96小时 $LC_{50}$ | 96小时 $LC_{50}$ |
| 20 <sup>#</sup> 燃料油 | 5.80           | 6.73           | 29.0           |
| 苯 酚                 | 6.18           | 7.92           | 23.76          |
| 硫化钠                 | 2.06           | 3.02           | 3.85           |

2、在 Patin (1979) 著作中, 列举了石油对软体动物的毒性资料。从大量测定结果表明, 其毒性差异较大, 且阈浓度幅度也大。如角巨蜆 (*Crassostrea angulata*) 幼体阈浓度为 1~1000 毫克/升。加上油类组成复什, 有上千种理化特性的有机物, 故难以制定一个适用所有油类的基准值。倘使采用美国 EPA (1976) 对油和石油产品所推荐的, 以最低 96 小时  $LC_{50}$  值的 0.01 倍作为基准, 那么四角蛤蜊胚胎期急性值乘上 0.01, 即可求得 0.058 毫克/升。与这次幼体存活反应中 NOEC 值较接近。

3、McKee 和 Wolf (1963) 综述世界各国文献之后得出结论, 当含酚浓度为 200 微克/升时不会影响鱼类和水生生物。又据 EPA (1980) 的水质基准文件中报道, 海洋生物在 5800 微克/升浓度中会发生中毒。这些效应值与我们这次测试的结果也较为接近。

4、美国 EPA ( 1976 ) 的海水评价标准为 2PPb ( 以  $H_2S$  计 )，而我们测得的硫化钠亚急性阈限为 0.117 ~ 0.390 毫克/升 ( 以  $S^{2-}$  计 )，二者相差悬殊。我们认为：这是由于硫化物在水中不稳定，以及受试生物、温度、PH、溶解氧和其它因子不同的缘故。故难以进行比较。要取得严格基准值，需在受控条件下进行测试。目前可将硫化物的急性值乘以 0.03 应用因子，作为近似的安全浓度。

### 参 考 文 献

1、上海第一医学院卫生统计学教研组, 1979. 医学统计方法。上海科学技术出版社。

2、陈金堤、王文雄。1985. 重金属对褶牡蛎胚胎及幼体发育的毒性效应。厦门大学学报第24卷，第1期，第96—101页。

3、美国公共卫生协会等编著，宋仁元等人译。1985. 水和废水标准检验法，15版。中国建筑工业出版社。

4、美国环境保护局编。许宗仁译。1981. 水质评价标准 (红皮书)。中国建筑工业出版社。

5、日本水产资源保护协会编。1980. 新编水质污濁调查指针。恒星社厚生阁。东京。

6、APHA, AWWA, WPCF, 1975. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14th Ed. APHA, Washington D.C.

7、Calabrese, A. and D. Nelson, 1974.

Inhibition of Embryonic Development of the  
Hard Clam, Mercenaria mercenaria, by Heavy  
Metals. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 11(1):  
92-97.

8. Calabrese, A., J. R. MacInnes, D. A. Nelson  
and J. E. Miller, 1977. Survival and Growth of  
Bivalve Larvae under Heavy-Metal Stress.  
Mar. Biol. 41(2): 179-184.

9. EPA. 1980. Water Quality Criteria  
Documents. Availability. Federal Register.  
45(231).

10. Glickslein, N., 1978. Acute Toxicity of  
Mercury and Selenium to Crassostrea gigas  
Embryos and Cancer m<sup>a</sup>gister Larvae. Mar. Biol.  
49(2): 113-117.

11. Hrs-Brenko, M., C. Claus and S. Bubic',  
1977. Synergistic Effects of Lead, Salinity  
and Temperature on Embryonic Development of  
the Mussel Mytilus galloprovincialis. Mar.  
Biol. 44(2): 109-115.

12. Patin, S. A., 1982. Pollution and the  
Biological Resources of the Oceans. 206-207.  
English translation Batterworth and Co.  
(Publishers) Ltd., Essex.

13. Stromgren, T.. 1982. Effect of Heavy Metals (Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni) on the Length Growth of Mytilus edulis. Mar. Biol. 72(1): 69-72.

