

文章编号: 1674-7054(2019)01-0001-05

铜离子胁迫对近江牡蛎软体组织及 贝壳重金属含量的影响

卓文¹ 陈新^{1,2} 刘秋好¹ 唐敏^{1,2}

(1. 海南大学 材料与化工学院, 海口 570228; 2. 海南大学
南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口 570228)

摘要: 研究铜离子胁迫下近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)软体组织和壳矿化组织中重金属的变化特征。结果表明:在一定铜离子质量浓度范围内,近江牡蛎体内不同重金属含量的变化趋势有所差异。对照组与2个实验组的牡蛎软体组织中铜(Cu)质量含量分别为67.42、255.50、299.83 mg·kg⁻¹,实验组的Cu质量含量均显著高于对照组。随水体铜离子浓度的升高,锌(Zn)质量含量呈增加趋势,分别为984.17、1075.00、1120.83 mg·kg⁻¹;而砷(As)和铅(Pb)呈下降趋势,镉(Cd)质量含量未出现明显变化。牡蛎软体组织中的Cu和Zn含量通常高于壳中的含量。随着水体Cu²⁺质量浓度从0.10 mg·L⁻¹上升到0.15 mg·L⁻¹,牡蛎壳中央的Cu质量含量分别为10.25、11.17、17.83 mg·kg⁻¹,壳边缘的Cu质量含量分别为10.33、12.83、19.75 mg·kg⁻¹,实验组的Cu质量含量均显著高于对照组,而且壳边缘新形成部分的Cu质量含量略高于壳中央部位。

关键词: 近江牡蛎; 铜胁迫; 重金属

中图分类号: X 174

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2019.01.001

近年来,各国对海洋资源利用和开发的力度不断增加,同时,人们也认识到保护海洋生态环境已刻不容缓。其中,因为海洋重金属污染具有难以降解、难以检测、对生态环境和人类健康危害严重以及全球性等特点,引起了人们的广泛重视^[1-4],而相应的生物监测技术及其毒性机理研究,是目前最受关注的研究内容之一。双壳贝类常用于海洋重金属的生物监测研究。其中,近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)为广温、广盐性贝类,分布广,多栖息于河口附近的海区,可从低潮线一直延至10余米深的海区^[5]。近江牡蛎成体一般营固着滤食生活,已有资料表明,近江牡蛎对环境中的重金属具有一定的生物富集作用^[6],其体内的重金属含量与周围水和沉积物中的重金属浓度有一定的相关性^[7-8]。另一方面,近江牡蛎是重要的海水养殖品种,具有很高的食用和药用价值^[9]。因此,在沿岸海洋环境重金属污染监测研究中,近江牡蛎是较理想的监测生物^[10]。不同贝类对单一重金属的耐受力不同^[11-12],而且对复合重金属联合作用的响应也不同^[13],复合重金属在与生物作用时相互之间存在协同、拮抗、相加和独立作用。霍礼辉^[14]通过对泥蚶的重金属[铜(Cu)、铅(Pb)、镉(Cd)]累积规律发现,Cd能够拮抗Cu的富集,内脏团中一定量的Cu也能够拮抗Pb和Cd的累积。不同重金属在不同贝类体内积累存在差异^[15-16],贻贝(*Mytilus edulis*)比牡蛎(*Crassostrea virginica*)积累了更多的砷(As)和镍(Ni),而牡蛎则积累了更多的Cu^[17],近江牡蛎和华贵栉孔扇贝(*Mimachlamys nobilis*)的重金属污染水平较高^[18],其中,近江牡蛎体内的重金属含量最高,且最易富集Cd^[19]与Cu^[20]。目前,人们在贝类重金属急性毒性和生物积累等方面的研究中已积累了丰富的研究数据和经验,但在铜离子对贝类积累重金属代谢方面的研究尚未见报道。笔者以近江牡蛎作为研究对

收稿日期: 2018-07-25

修回日期: 2018-10-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360105、31660128); 海南省研究生创新科研课题(Hys2018-68、Hys2018-67)

作者简介: 卓文(1994-),女,海南大学材料与化工学院2016级硕士研究生, E-mail: 772431777@qq.com

通信作者: 唐敏(1972-),女,副教授,研究方向:水生生物和生态毒理, E-mail: 1251054716@qq.com

象,探讨了在 Cu^{2+} 胁迫下,近江牡蛎体内 Cu、Zn(锌)、As(砷)、Pb 和 Cd 的变化规律,并初步研究了 Cu^{2+} 对近江牡蛎矿化结构的影响,旨在为后续相关研究和海洋环境监测提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 供试的近江牡蛎采自海南岛潮间带海域($20^{\circ}10'N$, $110^{\circ}19'E$)。根据《海洋监测规范》(GB 17378.4—2007)中的规定,在牡蛎采集处附近采集海水和表层沉积样品用于环境重金属的检测^[21]。样品采集后,低温(-20°C)保存备用。本实验所用化学试剂均为分析纯。

1.2 环境因子测定 采集沉积样品的同时,原位测量海水温度、盐度、pH。采用火焰原子吸收法^[21]检测海水中重金属铜的含量。

将沉积物中的生物残渣和砾石等大颗粒挑出后,把剩余沉积物混匀, 80°C 烘干,研磨后过 100 目筛,装入试剂瓶,存放于干燥塔中;采用原子荧光光度计(AFS-9800)测量 As 的含量,采用原子吸收光谱仪(TAS-990)分别测量 Cu、Zn、Pb、Cd 的含量^[21]。

1.3 毒性实验 在实验室的玻璃水族箱($23\text{ cm} \times 14\text{ cm} \times 17\text{ cm}$)加入采样处已过滤的天然海水,放入大小相近、健康的近江牡蛎(体长: $(5.75 \pm 0.47)\text{ cm}$; 体质量: $(64.9 \pm 7.8)\text{ g}$)进行实验室驯化培养,期间适当充气,饵料藻为实验室培养的亚心形扁藻(*Platymonas subcordiformis*)和牟式角毛藻(*Chaetoceros muelleri*);每日半量换水,尽量除去水族箱中的牡蛎排泄物和残渣,每天观察牡蛎生活状态。7 d 后,将生长状况良好的牡蛎进行分组暴毒试验,设置 1 个对照组和 2 个实验组,各组的 Cu^{2+} 质量浓度分别为 0、0.10、0.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,每组设置 3 个平行,每个平行 3 只牡蛎,除隔天半量换水外,其余培养条件同上。

将牡蛎暴毒 28 d 后,停止投饵,取出各浓度组的牡蛎进行后续试验。先用去离子水润洗,吸干牡蛎外表水分,打开牡蛎外壳,取牡蛎软体组织部分,将其放于坩埚中在恒温干燥箱里 105°C ,干燥 12 h,自然冷却后,取出软体组织置于研钵内进行研磨,并过 600 目网;在牡蛎壳上选取壳中央与壳边缘(距离壳边缘 0.5 cm)两部分,用研钵分别研磨成粉末。

采用原子吸收光谱仪(TAS-990)分别检测牡蛎软体组织和壳的 Cu、Zn 含量,使用电感耦合等离子体质谱[X series(X7)]检测软体组织内的 As、Pb、Cd 含量^[21]。

2 结果与分析

2.1 生态环境因子 牡蛎样品采集处的海水水温为 28°C ,盐度为 35, pH7.5, 重金属 Cu 质量含量为 5.08 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。沉积物间隙水盐度为 30, pH6.5~6.9,含水量为 7.703%,沉积物烧失量为 0.611%,重金属 Cu、Zn、As、Pb 的质量含量分别为 4.31、16.57、0.16、1.21 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,其中 Cd 含量低于仪器检测限。

2.2 Cu^{2+} 胁迫下近江牡蛎软体组织中的重金属含量 随着水体中 Cu^{2+} 质量浓度的增加,近江牡蛎软体组织内的 Cu 与 Zn 含量均呈增加趋势(图 1);而 As、Pb 含量小幅度减少,Cd 含量变化不显著(图 2)。对不同质量浓度 Cu^{2+} 胁迫下的牡蛎软体组织中不同重金属含量进行显著性差异分析发现,实验组牡蛎软体组织的 Cu 含量均显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.3 Cu^{2+} 胁迫下近江牡蛎壳中重金属含量 随着水体 Cu^{2+} 质量浓度的升高,近江牡蛎壳中央部分以及壳边缘中的 Cu 含量都呈上升趋势,在 Cu^{2+} 胁迫的质量浓度从 0.10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上升到 0.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时明显增加(图 3);而近江牡蛎壳中央部分 Zn 含量呈先升后降的趋势,壳边缘 Zn 含量呈上升趋势,且在相同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下,近江牡蛎壳中央部分的 Zn 含量高于壳边缘(图 4)。在相同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下,近江牡蛎壳中央部分的 Cu 含量低于壳边缘(图 3 和图 4)。方差分析结果表明,牡蛎壳边缘与内部的 Cu 含量均显著增加($P < 0.05$)。

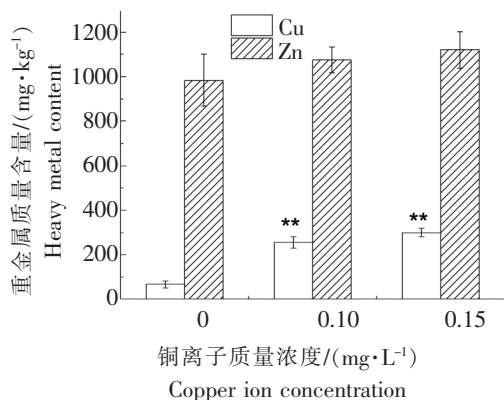


图 1 不同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下近江牡蛎软体组织中 Cu, Zn 的含量

* 和 ** 分别代表与对照组相比, 呈显著差异 $P < 0.05, P < 0.01$ 。下同

Fig.1 Contents of Cu and Zn in the soft tissue of *C. rivularis* under different concentrations of Cu^{2+}

* and ** indicate significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ compared with the control group, respectively. Similarly hereinafter

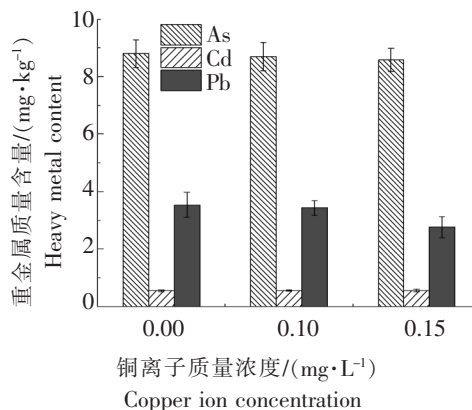


图 2 不同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下近江牡蛎软体组织中 As, Cd, Pb 的含量

Fig. 2 Contents of As, Cd and Pb in the soft tissue of *C. rivularis* under different concentration of Cu^{2+}

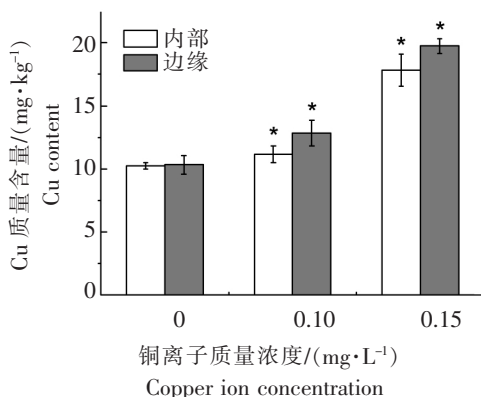


图 3 不同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下近江牡蛎壳中 Cu 含量
Fig.3 Content of Cu in the shell of *C. rivularis* under different concentrations of Cu^{2+}

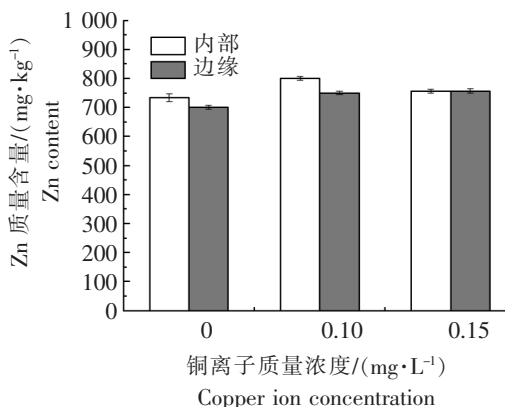


图 4 不同 Cu^{2+} 质量浓度胁迫下近江牡蛎壳中 Zn 含量
Fig. 4 Content of Zn in the shell of *C. rivularis* under different concentrations of Cu^{2+}

3 讨 论

牡蛎采集处的沉积物中 Cu, Zn, As, Pb 均符合海洋沉积物一类标准^[22], 显示牡蛎生长环境状况良好。

随着 Cu^{2+} 质量浓度的增加, 近江牡蛎软体组织的 Zn 含量明显增加, 而 As, Pb 含量呈现较小幅度的下降, Cd 含量未出现明显变化。其中 Zn 含量变化情况与史博^[23] 研究结果一致, 显示出牡蛎对 Zn、Cu 的富集具有很高的正相关性。另外, 结果显示, 水环境中 Cu 胁迫会抑制近江牡蛎对 As 和 Pb 的积累, 这与牡蛎对不同重金属积累期间发生的协同、拮抗等复杂相互作用有关。研究表明, 在 Cu 和 Cd 的联合胁迫条件下, Cu 能拮抗 Pb 和 Cd 的生物累积^[14], 体现重金属在生物体内的积累发生相应变化^[24]。推测可能是 Cu 作为很多生物体内的必需元素, 它能激活 Cu 依赖酶系统中的酶^[25], 从而将累积在体内的 Pb 和 Cd 较快地排除体外。

本实验结果表明, 在不同质量浓度 Cu^{2+} 胁迫下, 近江牡蛎软体组织中的 Cu 和 Zn 含量均高于壳中。与对照组相比, 随着环境中 Cu^{2+} 质量浓度的增加, 近江牡蛎软体组织及壳内的 Cu 含量均显著增加。在贻贝和牡蛎等软体组织对 Cu、Zn、Pb、Cd 等生物积累研究中也发现类似情况^[7, 26-29]。有研究表明, 牡蛎壳

体与海水重金属含量呈线性相关,其中铜相关性系数高达 $0.9815^{[30]}$ 。可见,在一定重金属质量浓度范围时,近江牡蛎体内的生物积累与环境重金属浓度密切相关,显示出近江牡蛎在海洋生物监测方面具有良好的利用前景。

Cu^{2+} 胁迫下近江牡蛎壳中央和边缘部分的Cu含量都随环境 Cu^{2+} 质量浓度的升高而增加;壳边缘部分的Cu含量高于壳中央部分,但壳中央部分的Zn含量高于壳边缘。在美国墨西哥湾沿海采集美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)进行重金属检测的实验发现,美洲牡蛎壳中不同部位对重金属积累的波动性变化和差异可以反映环境污染的历史^[24]。牡蛎壳是牡蛎外套膜分泌形成的生物矿化物,其内的晶体在由多糖和蛋白质形成的结构框架中成核生长,其形成和生长过程受环境因子的影响^[31-32]。因而,推测在 Cu^{2+} 胁迫下, Cu^{2+} 可能会较牢固地吸附在壳表面,也可能随着壳的生物矿化过程掺入到壳边缘的新生部分。

综上所述,影响生物体生物积累的因素包括了外部因素和内部因素,当外部环境中重金属含量发生改变,贝类软体组织由于自身分泌或解毒等机制使得其与环境更容易达到动态平衡,而其壳体则缺乏相关调节机制,从而能保留当时环境重金属污染状况^[33]。因此,同时进行牡蛎软体组织和外壳的研究可以为海洋重金属监测提供更丰富的信息。

参考文献:

- [1] 邓旭,梁彩柳,尹志炜,等. 海洋环境重金属污染生物修复研究进展[J]. 海洋环境科学,2015,34(6):954-960.
- [2] CHEUNG K C, POON B H, LAN C Y, et al. Assessment of metal and nutrient concentrations in river water and sediment collected from the cities in the Pearl River Delta, South China [J]. Chemosphere, 2003, 52(9): 1431-1440.
- [3] YAP C K, ISMAIL A, TAN S G. Heavy metal (Cd, Cu, Pb and Zn) concentrations in the green-lipped mussel *Perna viridis* (Linnaeus) collected from some wild and aquacultural sites in the west coast of Peninsular Malaysia [J]. Food Chemistry, 2004, 84(4): 569-575.
- [4] AUDRY S, SCHÄFER J, BLANC G, et al. Fifty-year sedimentary record of heavy metal pollution (Cd, Zn, Cu, Pb) in the Lot River Reservoirs (France) [J]. Environmental Pollution, 2004, 132(3): 413-426.
- [5] 王如才,王昭萍,张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛:海洋大学出版社,1993.
- [6] 赵鹏,张荣灿,覃仙玲,等. 北部湾钦州港近江牡蛎重金属污染分析[J]. 水产学报,2017,41(5):806-815.
- [7] 付文超,孟范平,王志峰,等. 北部湾潮间带沉积物和双壳类动物中的重金属污染特征与生物积累[J]. 环境科学学报,2013,33(5):1401-1409.
- [8] HUANG H, WU J Y, WU J H. Heavy metal monitoring using bivalved shellfish from Zhejiang Coastal Waters, East China Sea [J]. Environmental Monitoring & Assessment, 2007, 129(1/2/3): 315-320.
- [9] 方玲,马海霞,李来好,等. 华南地区近江牡蛎营养成分分析及评价[J]. 食品工业科技,2018(2):301-307.
- [10] 李晓梅,郭体环,张来军,等. 海洋酸化背景下铅胁迫对近江牡蛎溶菌酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):297-299.
- [11] 马建新,张宜奎,宋秀凯,等. 重金属胁迫对海洋贝类毒性研究进展[J]. 海洋湖沼通报,2011(2):35-42.
- [12] 宁军号,白伟,宋坚,等. 4种重金属离子对偏顶蛤的急性毒性效应[J]. 大连海洋大学学报,2016,31(3):290-294.
- [13] 常元勋,赵超英. 金属毒理学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2008:97-99.
- [14] 霍礼辉. 泥蚶对重金属(铜、铅、镉)的富集和响应初步研究[D]. 宁波:宁波大学,2012.
- [15] 葛奇伟,徐永健,葛君远. 象山港养殖区缢蛏和泥蚶的Cu、Cd、Pb含量及其健康风险评估[J]. 环境科学学报,2012,32(8):2042-2048.
- [16] 孙莉娜,黄玉英. 厦门沿海贝类中重金属的含量及污染状况评价[J]. 东华理工大学学报(自然科学版),2018,41(2):181-184.
- [17] DE SOUZA R V, GARBOSSA L H, CAMPOS C J, et al. Metals and pesticides in commercial bivalve mollusc production areas in the North and South Bays, Santa Catarina (Brazil) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 105(1): 377-384.
- [18] 姜元欣,王伟涛,陈德慰,等. 广西北部湾水域贝类重金属污染分析与南宁市市民贝类食用风险分析[J]. 食品工业科技,2013,34(8):52-55.
- [19] 姚茹,黎小正. 广西沿海主要贝类养殖区海水、表层沉积物及近江牡蛎体内重金属镉监测与评价[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):316-318.
- [20] 杜克梅. 海南省近岸海域主要经济贝类重金属污染调查与评价[D]. 广州:暨南大学,2013.

- [21] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB17378-2007 海洋监测规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB18668.4-2002 海洋沉积物质量标准[S]. 北京: 中国标准化出版社, 2002.
- [23] 史博. 福建牡蛎(*Crassostrea angulata*)铜富集相关基因的研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2015.
- [24] 翁焕新. 重金属在牡蛎(*Crassostrea virginica*)中的生物积累及其影响因素的研究[J]. 环境科学学报, 1996, 16(1): 51-58.
- [25] LEHTONEN K K, LEINIÖ S. Effects of exposure to copper and malathion on metallothionein levels and acetylcholinesterase activity of the mussel *Mytilus edulis* and the clam *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea[J]. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 2003, 71(3): 489-496.
- [26] 孙元芹, 孙福新, 王颖, 等. 太平洋牡蛎对铜的生物富集动力学特性研究[J]. 渔业现代化, 2014, 41(2): 32-37.
- [27] 张聪, 陈聚法, 马绍赛, 等. 褶牡蛎对水体中重金属铜和镉的富集动力学特性[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(5): 64-72.
- [28] 张少娜, 孙耀, 宋云利, 等. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)对4种重金属的生物富集动力学特性研究[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(5): 438-445.
- [29] 王晓丽, 孙耀, 张少娜, 等. 牡蛎对重金属生物富集动力学特性研究[J]. 生态学报, 2004, 24(5): 1086-1090.
- [30] 宋德宏, 丁永生, 程远杰. 近岸海域贝壳与海水重金属含量的相关性研究[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(2): 192-195.
- [31] WILT F H. Biomineralization of the spicules of sea urchin embryos[J]. Zoological Science, 2002, 19(3): 253.
- [32] ZHANG G F, FANG X D, Guo X M, et al. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation[J]. Nature, 2012, 490: 49-54.
- [33] 赖增隆, 方展强. 利用牡蛎壳体作为近海重金属污染标记物的研究[J]. 安徽农业科学, 2015(15): 196-198.

Changes of Heavy Metals in the Soft Tissue and Shell of *Crassostrea rivularis* under the Stress of Cu^{2+}

ZHUO Wen¹, CHEN Xin^{1,2}, LIU Qiuyu¹, TANG Min^{1,2}

(1. College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

2. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: An attempt was made to analyze the changes of heavy metals in the soft tissue and shells of *Crassostrea rivularis* under the stress of copper ion. The results showed that the changes of the contents of different heavy metals in *C. rivularis* varied within a certain range of copper ion concentration. In the control group and the two experimental groups, the contents of copper in the soft tissue of *C. rivularis* were 67.42, 255.50 and 299.83 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. The content of copper in the soft tissue of *C. rivularis* was significantly higher in the experimental groups than in the control group. With the increase of copper ion concentration in the water, the contents of zinc in the soft tissue of *C. rivularis* in the control and two experimental groups were 984.17, 1 075.00 and 1 120.83 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively, while As and Pb contents showed a downward trend, and Cd content had no significant change. In addition, the contents of Cu and Zn were generally higher in the soft tissue than in the shells. With the increase of copper ion concentration from 0.10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to 0.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the contents of copper in the shell center of *C. rivularis* were 10.25, 11.17 and 17.83 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the contents of copper in the shell edge were 10.33, 12.83 and 19.75 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively, and the contents of copper in both shell edge and central parts rose significantly. And the content of Cu was higher in the newly formed shell edge than in the other parts of the shell.

Keywords: *Crassostrea rivularis*; copper stress; heavy metals

(责任编辑: 潘学峰)