

[文章编号] 1007 - 7405(2007)04 - 0306 - 05

# 甲醛和三丁基锡对方斑东风螺幼体的急性毒性实验

谢湘筠<sup>1</sup>, 张原秋<sup>1</sup>, 柯才焕<sup>2</sup>

(1. 福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002; 2. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

**[摘要]** 在水温 28.4 ~ 30.4 的条件下, 分别研究了甲醛、三丁基锡对方斑东风螺幼体的急性毒性影响, 实验结果表明, 甲醛对方斑东风螺幼体 24, 48, 72, 96 h 的  $LC_{50}$  (半致死质量浓度) 分别为 25.716, 8.973, 3.089, 2.830  $mg \cdot L^{-1}$ ; 三丁基锡对方斑东风螺幼体 24, 48, 72, 96 h 的  $LC_{50}$  分别为 25.142, 16.986, 7.130, 5.468  $\mu g \cdot L^{-1}$ . 估算得到甲醛、三丁基锡对方斑东风螺幼体的安全质量浓度分别为 0.283  $mg \cdot L^{-1}$ , 0.547  $\mu g \cdot L^{-1}$ .

**[关键词]** 方斑东风螺; 急性毒性实验; 甲醛; 三丁基锡; 半致死质量浓度

**[中图分类号]** S 912

**[文献标志码]** A

## 0 引言

方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 俗称花螺、香螺, 属腹足纲 (Gastropoda)、蛾螺科 (Buccinidae), 是热带、亚热带的浅海底栖动物, 由于其营养丰富、味道鲜美, 深受人们的喜爱. 与其他海产经济养殖动物一样, 方斑东风螺在其人工育苗中也面临着一些不明原因的生长缓慢、畸变、死亡率显著增加的现象, 其主要原因可能是由于病毒或细菌类病原体疾病引起的, 但也不容忽视海洋环境恶化、海洋污染加剧产生的危害. 海洋无脊椎动物胚胎和幼体是其生活史中最脆弱的, 对外界环境条件的改变十分敏感, 在该阶段所预测的最大允许毒物浓度, 与全生活周期实验求得的最大允许毒物浓度是一致的或者是相近的<sup>[1]</sup>, 因此是污染生物检测的良好对象. 关于中国东风螺人工育苗的研究已有较多的报道<sup>[2-5]</sup>, 而环境污染因子对东风螺胚胎及幼体发育的影响还未见报道. 甲醛为原生质毒物, 能与有机体蛋白质中的氨基结合而使蛋白质变性, 致使酶的活性消失, 从而起到杀菌防腐的作用, 在水产养殖中作为消毒剂和渔药而得到广泛使用<sup>[6]</sup>. 目前美国和加拿大允许甲醛在水产养殖过程中作为化学治疗剂使用, 但在澳大利亚、欧洲和日本由于甲醛存在的致癌性而被禁止使用<sup>[7]</sup>, 而我国在水产养殖过程中甲醛使用较多. 随着水产养殖业的迅猛发展, 甲醛的毒性作用日益得到人们的重视<sup>[8]</sup>. 目前关于甲醛对水生生物毒性机理的研究尚处于起步阶段, 对水生生物毒性效应的研究仅见于少数几种鱼类<sup>[9-12]</sup>. 三丁基锡作为有机锡化合物中毒性最强的物质<sup>[13]</sup>, 被广泛用作船舶、渔具等防污涂料的有效成分. 在其杀灭海洋污损生物的同时, 对非靶目标生物造成的危害国内外均有报道<sup>[13-18]</sup>. 国际上许多国家已把海洋腹足类作为海洋有机锡污染监测的一种有效指标. 从 20 世纪 80 年代开始, 世界各国对有机锡的污染进行了广泛而深入的研究, 内容涉及监测方法、环境化学行为、性畸变现场调查和生态毒理学等<sup>[16]</sup>. 近年来我国学者致力于三丁基锡对生物致毒机理的探讨<sup>[17]</sup>. 关于三丁基锡对水生生物的毒性效应研究, 则多见于对鱼类的报道. 本文通过开展甲醛、三丁基锡对方斑东风螺幼体发育的毒性实验工作, 以期对方斑东风螺大规模人工育苗生产提供依据, 同时为海洋资

[收稿日期] 2007 - 03 - 30

[作者简介] 谢湘筠 (1965—), 女, 讲师, 硕士, 从事水产养殖研究.

源保护和海洋环境管理提供参考资料.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料及试剂

#### 1.1.1 实验生物

实验所用方斑东风螺面盘幼体由厦门大学海洋与环境学院实验室养殖的方斑东风螺成体所产的卵囊在厦门水产科技成果转化基地孵化而成. 卵囊在水温 ( $39 \pm 0.5$ ) 的海水中, 弱光培养, 大约经过 7 d 左右, 孵出面盘幼体, 供实验用.

#### 1.1.2 实验药品

甲醛溶液为国产分析纯试剂, 三丁基锡为 Sigma 公司所产分析纯试剂. 甲醛溶液用双蒸水将其配制成母液 (贮备液) 装于褐色磨口瓶中, 避光保存. 氯化三丁基锡先用无水乙醇配制成一定浓度的母液 (贮备液), 避光于 4 密封保存. 工作液在实验时再用砂滤海水按需稀释, 做到现配现用.

### 1.2 实验条件

实验时间为 2006 - 08 - 15 — 2006 - 08 - 29, 直接从海中抽取海水, 经过沉淀、砂滤、曝气后使用, 实验期间水温变化范围为  $28.4 \sim 30.4$ , 相对密度  $1.021 \sim 1.022$ , pH 值为 8.0.

### 1.3 实验方法

实验容器采用 60 mL 的结晶皿, 水体 50 mL. 根据预实验结果确定实验质量浓度范围, 按合适的间距设置药品的质量浓度梯度, 每种药物设置 5 个质量浓度梯度. 甲醛溶液的质量浓度梯度为 0.250, 1.250, 2.500, 5.000, 10.000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 三丁基锡的质量浓度梯度为 0.001, 0.005, 0.020, 0.050, 0.080  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 各另设对照组, 对照组及各质量浓度梯度均设置 3 个平行组, 每个平行组放入 30 个方斑东风螺面盘幼体. 由于甲醛易挥发变质, 须每天更换实验溶液. 三丁基锡实验组不换实验溶液. 所有平行组均不充气, 不投饵. 在实验开始后的 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 h, 观察面盘幼体活动和存活情况, 无活动迹象者为死亡个体, 清除死亡个体并计算存活率.

## 2 结果

### 2.1 中毒症状的观察

实验中, 方斑东风螺面盘幼体中毒症状表现为: 幼体由中上层缓慢向底部游动, 面盘摆动逐渐变慢, 随之面盘及足收缩, 幼体聚成一团, 最后静止不动直至死亡.

不同药物质量浓度的毒性有所不同, 浓度愈高, 毒性愈强, 实验开始时, 高质量浓度药物下的幼体 (三丁基锡 0.080  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组、三丁基锡 0.050  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组, 甲醛 10.000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组) 游动加快, 其中, 三丁基锡 0.080  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组的幼体迅速沉底, 在显微镜下可观察到幼体收缩并聚成一团. 0.5 h 后, 三丁基锡 0.080  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组面盘幼体, 大部分沉底, 面盘收缩, 部分幼体死亡; 甲醛 10.000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组面盘幼体, 部分沉底, 有的幼体开始死亡; 其他质量浓度梯度面盘幼体, 运动下降, 游动缓慢, 有部分沉底; 而空白对照组面盘幼体, 在水体中分布较均匀, 游动正常, 在显微镜下观察到幼体没有收缩现象. 12 h 后, 三丁基锡 0.005  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组有个体开始死亡, 甲醛 5.000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组开始有个体死亡; 甲醛 10.000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组大部分幼体沉底.

### 2.2 急性毒性实验的结果及数据分析

取 3 次平行实验的平均值即得结果. 将实验结果按机率单位回归法<sup>[6]</sup>求出机率单位与质量浓度对数的回归方程, 各组实验用  $\chi^2$  检验, 结果表明,  $\chi^2 < \chi_{0.05}^2$ , 机率单位与浓度对数曲线相关性显著,

所作回归线完全符合要求. 通过回归方程估算出 24, 48, 72, 96 h 的半致死浓度  $LC_{50}$ , 并按安全质量浓度 SC 为 96 h 的  $LC_{50}$  的 1/10, 求出 SC

甲醛、三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体的急性毒性结果及数据分析见表 1、表 2

表 1 甲醛和三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体的急性毒性实验统计

Tab.1 Statistical results for acute toxicity test of formaldehyde and tributyltin to *Babynia areolata* veliger larvae

药物	受试质量浓度 / $mg \cdot L^{-1}$	质量浓度对数	受试生物数 /粒	24 h		48 h		72 h		96 h	
				死亡率 /%	机率 单位	死亡率 /%	机率 单位	死亡率 /%	机率 单位	死亡率 /%	机率 单位
甲 醛	对照组	-	30	0.00	-	0.00	-	0.00	-	1.11	2.67
	0.250	-0.60	30	0.00	-	6.67	3.52	7.78	3.59	10.00	3.72
	1.250	0.10	30	0.00	-	12.22	3.83	17.78	4.08	24.44	4.29
	2.500	0.40	30	4.44	3.25	12.22	3.83	37.78	4.69	47.78	4.95
	5.000	0.70	30	16.67	4.05	40.00	4.75	53.33	5.08	66.67	5.44
	10.000	1.00	30	22.22	4.23	53.33	5.08	88.89	6.23	100.00	-
三 丁 基 锡	对照组	-	30	0.00	-	0.00	-	0.00	-	1.11	2.67
	0.001	-3.00	30	1.11	2.67	5.56	3.45	13.33	3.87	15.56	4.01
	0.005	-2.30	30	11.11	3.77	18.89	4.12	33.33	4.56	34.44	4.59
	0.020	-1.70	30	44.44	4.85	46.67	4.92	74.44	5.64	77.78	5.77
	0.050	-1.30	30	57.78	5.20	63.33	5.33	85.56	6.08	96.67	6.88
	0.080	-1.10	30	86.67	6.13	92.22	6.41	96.67	6.88	100.00	-

表 2 甲醛和三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体的急性毒性实验结果及数据分析

Tab.2 Analytic results of the acute toxic experimental data of formaldehyde and tributyltin to *Babynia areolata* veliger larvae

药物	参 数	作 用 时 间			
		24 h	48 h	72 h	96 h
甲 醛	回归方程	$y = 1.627x + 2.706$	$y = 1.551x + 3.522$	$y = 1.551x + 4.240$	$y = 1.317x + 4.405$
	样本数 /粒	3	5	5	4
	相关系数 R	0.939	0.941	0.943	0.975
	$LC_{50} / (mg \cdot L^{-1})$	25.716	8.973	3.089	2.830
	$LC_{50}$ 的 95% 置信区间 / $(mg \cdot L^{-1})$	16.979 ~ 38.951	6.414 ~ 12.552	2.208 ~ 4.321	1.818 ~ 4.404
	SC / $(mg \cdot L^{-1})$	0.283	0.283	0.283	0.283
三 丁 基 锡	回归方程	$y = 1.700x + 7.719$	$y = 1.404x + 7.485$	$y = 1.518x + 8.260$	$y = 1.672x + 8.782$
	样本数 /粒	5	5	5	4
	相关系数 R	0.987	0.960	0.983	0.971
	$LC_{50} / (\mu g \cdot L^{-1})$	25.142	16.986	7.130	5.468
	$LC_{50}$ 的 95% 置信区间 / $(\mu g \cdot L^{-1})$	18.505 ~ 34.159	11.719 ~ 24.621	5.058 ~ 10.051	3.858 ~ 7.748
	SC / $(\mu g \cdot L^{-1})$	0.547	0.547	0.547	0.547
	$\chi^2$	2.65	5.11	2.15	3.60
	$\chi^2_{0.05}$	7.82	7.82	7.82	5.99

说明: y 表示死亡率的机率单位, x 表示甲醛或三丁基锡的对数质量浓度.

从表 1 可以看出, 甲醛对方斑东风螺面盘幼体有一定的毒性效应, 各时间段随着质量浓度的增加, 死亡率均呈上升趋势, 但各时间段上升的幅度并不相同. 在 24 h 内, 随着质量浓度的增加, 方斑东风螺面盘幼体死亡率有所增加, 但增加的幅度并不明显, 只从 2.500  $mg \cdot L^{-1}$  组的 4.44% 上升到 5.000  $mg \cdot L^{-1}$  组的 16.67% 再上升到 10.000  $mg \cdot L^{-1}$  的 22.22%. 而在 48, 72, 96 h 时间段实验组, 则随着质量浓度的增加, 死亡率明显升高. 且 96 h 时间段各质量浓度组的死亡率均明显超过同一质量浓度组 48, 72 h 的死亡率, 当质量浓度达到 10.000  $mg \cdot L^{-1}$  时, 96 h 实验组的死亡率为 100%. 用机率单位法估算出甲醛对方斑东风螺面盘幼体的 24, 48, 72, 96 h 半致死质量浓度  $LC_{50}$  分

别为: 25.716, 8.973, 3.089, 2.830  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 安全质量浓度 SC 仅为 0.283  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (见表 2)。此结果表明, 在短时间内, 方斑东风螺面盘幼体对甲醛有一定的耐受性, 但随着时间的推移, 方斑东风螺面盘幼体对甲醛的耐受性迅速下降, 即甲醛对方斑东风螺面盘幼体的毒性明显上升。

从表 1 还可以看出, 三丁基锡的质量浓度只是略微升高, 但对方斑东风螺面盘幼体的毒害影响就急剧上升, 并且在很低的质量浓度下, 就会造成方斑东风螺面盘幼体的大量死亡, 0.020  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  组 24 h 的死亡率即高达 44.44%, 96 h 的死亡率更是高达 77.78%。用机率单位法估算出三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体发育 24, 48, 72, 96 h 的半致死浓度  $\text{LC}_{50}$  分别为 25.142, 16.986, 7.130, 5.468  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 安全质量浓度 SC 仅为 0.547  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  (见表 2)。此结果表明, 三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体的毒性极强, 即方斑东风螺面盘幼体对三丁基锡极为敏感。

### 3 讨论

1) 在本实验中甲醛对方斑东风螺面盘幼体的安全质量浓度 SC 仅为 0.283  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 大大低于黄颡鱼 (15.48  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[9]</sup>、瓦氏黄颡鱼 (7.40  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[10]</sup>、长吻鮠 (6.6  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[11]</sup> 以及斑点叉尾鲷 (6.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[12]</sup> 的安全质量浓度 SC, 说明方斑东风螺面盘幼体对甲醛的耐受性要远低于上述这些鱼类。由于本实验中每天更换工作液, 造成方斑东风螺面盘幼体对甲醛耐受性低是基于实验工作液的更换还是实验生物本身的特性, 值得进一步探究。假如是后者的话, 将意味着方斑东风螺面盘幼体比鱼类更适于作为海区甲醛污染检测的指示生物。

2) 三丁基锡对方斑东风螺面盘幼体的 96 h 半致死质量浓度  $\text{LC}_{50}$ , 本实验估算的结果仅为 5.468  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 此研究与文献 [18] 报道的环境中极低的有机锡含量就会对生物造成危害的结果相一致, 说明与其他软体动物幼体一样, 方斑东风螺面盘幼体对三丁基锡具有相当高的敏感性。但此结果又高于三丁基锡对鲤鱼 96 h 的半致死质量浓度  $\text{LC}_{50}$  (3.15  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )、虹鳟的半致死质量浓度  $\text{LC}_{50}$  (3.37  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和油鲱的半致死质量浓度  $\text{LC}_{50}$  (1.88  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[19]</sup>。这说明与鱼类等相比, 方斑东风螺对三丁基锡还是有一定的耐受性。究其原因, 可能与三丁基锡对海洋腹足类的致毒机理有关, 三丁基锡对海洋腹足类的影响更多的是产生性畸变, 导致雌性成体不育<sup>[20]</sup>。研究表明, 三丁基锡对某些鱼类、贝类以及甲壳类动物具有很强的内分泌毒性<sup>[14]</sup>, 更能导致海洋腹足类雌性个体产生不正常的雄性特征, 包括阴茎和输精管, 也就是所谓的性畸变现象, 严重时更是导致输卵管堵塞, 阻碍受精的完成和卵囊的释放, 使雌性成体不育, 种群退化, 甚至是区域性的绝种<sup>[15]</sup>。而方斑东风螺面盘幼体的生殖器官还未发育完全, 三丁基锡的毒性机制没有完全表现出来, 这在一定程度上证明了三丁基锡对海洋腹足类的毒性主要是遗传毒性。由于雌性螺类性畸变后容易辨认, 因此, 可以推断方斑东风螺可作为三丁基锡污染的指示生物。

### [ 参考文献 ]

- [1] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性实验方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1989: 1-157.
- [2] 郑怀平, 朱建新, 柯才焕, 等. 温度、盐度对波部东风螺胚胎发育的影响 [J]. 台湾海峡, 2000, 19(1): 1-5.
- [3] 吴进锋, 陈素文, 陈利雄, 等. 温度与盐对方斑东风螺幼虫胚胎发育及幼虫生长的影响 [J]. 中国水产科学, 2005, 12(5): 652-656.
- [4] 罗杰, 杜涛, 刘楚吾. 酸碱度、盐对方斑东风螺卵囊孵化率和不同饵料对幼虫生长发育、存活的影响 [J]. 海洋科学, 2004, 28(6): 5-9.
- [5] 师尚丽, 冯亦成, 郑莲, 等. 不同 pH 和盐度下氨氮对方斑东风螺的毒性研究 [J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(6): 36-40.

- [6] 杨坚. 渔药手册 [M]. 北京: 中国科技出版社, 1998: 109-112
- [7] 马敬军, 周德庆, 张双灵. 水产品中甲醛本底含量与产生机理的研究进展 [J]. 海洋水产研究, 2004, 25(4): 85-89
- [8] 杜永芳, 柳淑芳, 马敬军, 等. 测定水产品中甲醛含量的分光光度法研究 [J]. 中国食品学报, 2005, 5(3): 91-96
- [9] 王卫民, 严安生, 周立国, 等. 四种药物对黄颡鱼鱼种的毒性实验 [J]. 淡水渔业, 2001, 31(6): 49-51
- [10] 王武, 袁琰, 马旭洲. 5种药物对瓦氏黄颡鱼急性毒性实验 [J]. 水利渔业, 2006, 26(1): 108-109
- [11] 张素芳. 长吻鮠几种常用药物的忍受力 [J]. 淡水渔业, 1987, 7(5): 38-39
- [12] 麦周明. 斑点叉尾鮰对几种常用药物的急性中毒及忍受力试验 [J]. 水产科学, 1992, 11(4): 9-12
- [13] 周名江, 李正炎, 颜天, 等. 海洋环境中的有机锡及其对海洋生物的影响 [J]. 环境科学进展, 1994, 2(4): 67-76
- [14] SHN T, KOU CHIK. Organochlorine and butyltin residues in mesopelagic myctophid fishes from the Western North Pacific [J]. Environ Sci Technol, 2000, 34: 5129-5136
- [15] BLABERS S J M. The occurrence of a penis-like outgrowth behind the right tentacle in spent females of *Nucella lapillus* (L.) [J]. Proc Malac Soc Lond, 1970, 39: 231-233
- [16] LAWRENCE A C. Imposen in *Ilyanassa obsoleta* still common in a Delaware Estuary [J]. Marine Pollution Bulletin, 1998, 36(1): 97-101
- [17] 韩雅莉, 周小鹏, 李兴暖, 等. 三丁基锡致软体动物性畸变机制 [J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(2): 174-178
- [18] 全燮, 陈硕, 薛大明, 等. 海洋环境中有机锡分析方法研究进展 [J]. 海洋环境科学, 1996, 15(2): 62-69
- [19] 张宝东, 张毓琪, 陈叙龙, 等. 氯化三丁基锡对鲤鱼的急性毒性 [J]. 交通环保, 1995, 16(1): 18-19
- [20] 熊振湖, 黄国兰. 内分泌干扰物三丁基锡诱导的腹足纲动物性畸变现象 [J]. 环境科学研究, 2002, 15(3): 56-60

## Acute Toxicity Test of Formaldehyde and Tributyltin to *Babylonia areolata* Veliger Larvae

XIE Xiang-yun<sup>1</sup>, ZHANG Yuan-qiu<sup>1</sup>, KE Cai-huan<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** Acute toxicity test of formaldehyde and tributyltin to *Babylonia areolata* veliger larvae was studied. The experimental results showed that the 24, 48, 72, 96 h LC<sub>50</sub> values were 25.716, 8.973, 3.089, 2.830 mg · L<sup>-1</sup> for formaldehyde and 25.142, 16.986, 7.130, 5.468 μg · L<sup>-1</sup> for tributyltin. The safe concentration of formaldehyde and tributyltin to *Babylonia areolata* veliger larvae was also estimated, 0.283 mg · L<sup>-1</sup> and 0.547 μg · L<sup>-1</sup> respectively.

**Key words:** *Babylonia areolata*; acute toxicity test; formaldehyde; tributyltin; LC<sub>50</sub>

(责任编辑 朱雪莲)