

Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的急毒性研究

林啟福^{1,2}, 陈海峰², Billy K. Y. Kwan^{1,2}, 邹莹², 李秀枝², 王玉军^{1,2*}

(1. 广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室, 广西钦州 535011; 2. 钦州学院海洋学院, 广西钦州 535011)

摘要 [目的]研究 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的急毒性效应和安全浓度。[方法]从广西十万大山保护区采集石蚕蛾(*Stenopsyche marmorata*)幼虫,采用静水生物毒性试验法进行重金属离子 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对其的急毒性试验。采用概率单位法分别计算 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的半致死浓度和安全浓度。[结果]Cu²⁺ 对石蚕蛾幼虫的 24、48、72、96 h 的半致死浓度(LC₅₀)分别为 123.651、112.975、84.536 和 70.509 mg/L, Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的 24、48、72、96 h 的半致死浓度(LC₅₀)分别为 49.138、41.878、30.735 和 29.245 mg/L。Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的安全浓度分别为 7.051 和 2.925 mg/L。[结论]研究结果可为将石蚕蛾幼虫用作水体重金属污染指示生物提供科学依据。
关键词 石蚕蛾; Cu²⁺; Pb²⁺; 急毒性; 半致死浓度
中图分类号 X174 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)18-0051-03

Acute Toxicity of Cu²⁺ and Pb²⁺ on *Stenopsyche marmorata* Larvae
LIN Qi-fu^{1,2}, CHEN Hai-feng², Billy K. Y. Kwan^{1,2}, WANG Yu-jun^{1,2*} et al (1. Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation, Qinzhou, Guangdong 535011; 2. Ocean College, Qinzhou University, Qinzhou, Guangdong 535011)
Abstract [Objective] To study the acute toxicity effects and safe concentration of Cu²⁺ and Pb²⁺ on *Stenopsyche marmorata* larvae. [Method] *S. marmorata* larvae were collected from the stream of Shiwan Mountains. Acute toxicity test of Cu²⁺ and Pb²⁺ ions were carried out by using the hydrostatic toxicity test method. [Result] Using probit method, LC₅₀ of Cu²⁺ and Pb²⁺ on *S. marmorata* larvae at 24, 48, 72 and 96 h were calculated as 123.651, 112.975, 84.536, 70.509 mg/L and 49.138, 41.878, 30.735, 29.245 mg/L, respectively. The safety concentrations of Cu²⁺ and Pb²⁺ on *S. marmorata* larvae were 7.051 mg/L and 2.925 mg/L, respectively. [Conclusion] The research results can provide scientific basis for *S. marmorata* larvae as a biological indicator for monitoring heavy metal pollution.
Key words *Stenopsyche marmorata*; Cu²⁺; Pb²⁺; Acute toxicity; Semi-lethal concentration

重金属污染是水体环境污染之一,不仅影响着水生动植物的正常生长,而且经过食物链中的生物聚集效应使其进入人体个别器官中,严重威胁着人类的生活健康^[1]。随着工业化进程的不断加快,水体重金属的污染对人类造成的威胁日益严重。若要消除或减轻重金属对水体生态环境的污染影响,如果只是采取污染后再治理的对策,就与目前提倡的生态环境与人类共存,坚持生态可持续发展的理念相违背,因此,不仅要及时地治理水体污染,而且要采取生物监测的手段来共同维护环境生态健康^[2-5]。由于水生昆虫幼虫体型偏小,种群数量大,生存时间久,忍受范围广,加之其活动的范围与鱼类相比较小,监测水体环境中的重金属污染非常灵敏,逐渐开发出利用水生昆虫作为水体重金属污染指示生物的研究方法^[6-8]。国内利用水生昆虫作为环境监测指示生物这一研究领域起步较晚。用于水体重金属检测的昆虫主要集中在双翅目的摇蚊科、蚊科及蜉蝣目的蜉蝣科,其中以摇蚊科的研究最为深入^[9-11]。摇蚊科和蜉蝣科昆虫主要生长在温度较高的春夏季,生活史较短,因此大大限制了水污染的检测时期。目前,用于重金属检测的昆虫主要有弹尾目^[12]、毛翅目^[13]、鞘翅目^[14]、鳞翅目^[15-16]等,涉及到的金属包括 Cd、Zn、Cu、Pb、Hg 等。笔者采用硫酸铜、三水合醋酸铅作为重金属离子 Cu²⁺、Pb²⁺ 的来源,采用静态试验法对毛翅目昆虫石蚕蛾(*Stenopsyche marmorata*)幼虫进行急毒性研究,

探讨 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的急毒性效应和安全浓度,旨在为利用石蚕蛾幼虫对重金属的敏感性评价和重金属污染治理提供数据支持,为利用石蚕蛾快速评价水体重金属污染状况提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物 从广西壮族自治区防城港市上思县十万大山保护区溪流中采集石蚕蛾(*Stenopsyche marmorata*)幼虫,运回实验室后,置于去离子水中过夜,备用,第 2 天挑选出健康的、个体大小均匀的幼虫进行试验,石蚕蛾幼虫平均长度约为 1.44 cm,平均重量约为 15.3 mg。

1.2 试剂 CuSO₄ · 5H₂O 和 (CH₃COO)₂Pb · 3H₂O 均为分析纯,用去离子水配成所需浓度的溶液。

1.3 试验方法

1.3.1 预试验。分别设置浓度为 1、25、50、75、100 mg/L 的含 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 的溶液试验组,每组内放入 8 条石蚕蛾幼虫,采用静态方式进行试验,试验持续 96 h,每隔 12 h 记录鱼缸内死亡的石蚕蛾幼虫数,并及时取出死亡的幼虫。计算 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫 24 h 的最大耐受浓度和 96 h 的 100% 致死浓度。

1.3.2 正式试验。通过预试验得到 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫 24 h 的最大耐受浓度分别为 50 和 25 mg/L, 96 h 的 100% 致死浓度分别为 100 和 50 mg/L。分别在该浓度范围内设置 6 个浓度梯度,每个试验浓度设置 3 个平行组,同时设置 1 个空白对照组。每组内随机放入大小长度一致、活力好且健康的石蚕蛾幼虫 8 条。试验用水为去离子水,微充气。每隔 24 h 观察 1 次,持续 96 h,试验过程中随时打捞起死亡的个体,观察并记录死亡条数,以幼虫身体瘫软,外界给予刺激无反应,打捞离开水后短时间内依然没有任何蠕动作

基金项目 广西自然科学基金项目(2016GXNSFBA380156);广西中青年能力提升项目(KY2016YB498);广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室自主项目(2017ZB06)。
作者简介 林啟福(1987—),男,福建龙岩人,助教,硕士,从事有机化学研究。*通讯作者,研究员,博士,从事昆虫病理学研究。
收稿日期 2017-05-08

为死亡认定标准。

1.4 数据处理 采用概率单位法^[17],运用 SPSS 17.0 统计软件对试验数据进行统计与分析,分别求出 24、48、72、96 h 的半致死浓度(LC₅₀)。

2 结果与分析

2.1 急毒性效应分析 从图 1、2 可以看出,在各个时间段 Cu²⁺ 浓度对石蚕蛾幼虫的死亡率都有极显著影响($P<0.01$)。与对照组相比,当 Cu²⁺ 浓度大于 80 mg/L 时,在各个时间段均对石蚕蛾幼虫的死亡率有显著影响($P<0.05$);当作用时间达到 96 h,各浓度的 Cu²⁺ 均对石蚕蛾幼虫的死亡率产生显著影响($P<0.05$)。

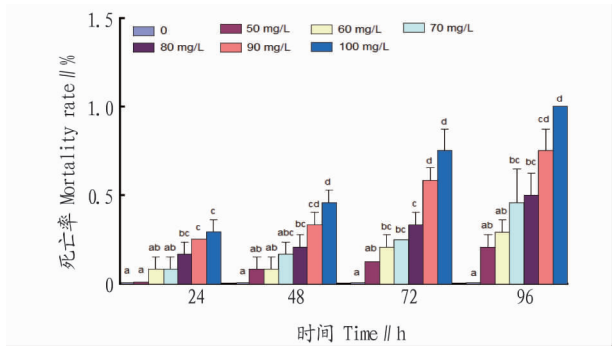


图 1 不同浓度 Cu²⁺ 对石蚕蛾幼虫死亡率的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of Cu²⁺ on the mortality rate of *S. marmorata* larvae

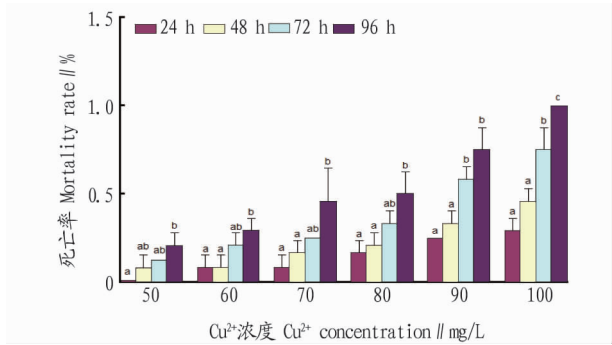


图 2 Cu²⁺ 作用下不同时间对石蚕蛾幼虫死亡率的影响

Fig. 2 Effects of Cu²⁺ at different time on the mortality rate of *S. marmorata* larvae

从图 3、4 可以看出,在各个时间段 Pb²⁺ 浓度对石蚕蛾幼虫的死亡率也都有极显著影响($P<0.01$)。与对照组相比,24h,当 Pb²⁺ 浓度大于 35mg/L 时,对石蚕蛾幼虫的死亡率

有显著影响($P<0.05$);48 h,当 Pb²⁺ 浓度大于 30 mg/L 时,对石蚕蛾幼虫的死亡率有显著影响($P<0.05$);72 和 96 h,当 Pb²⁺ 浓度大于 25 mg/L 时,对石蚕蛾幼虫的死亡率有显著影响($P<0.05$);当作用时间大于 72 h 时,各浓度的 Pb²⁺ 均对石蚕蛾幼虫死亡率有显著影响($P<0.05$)。

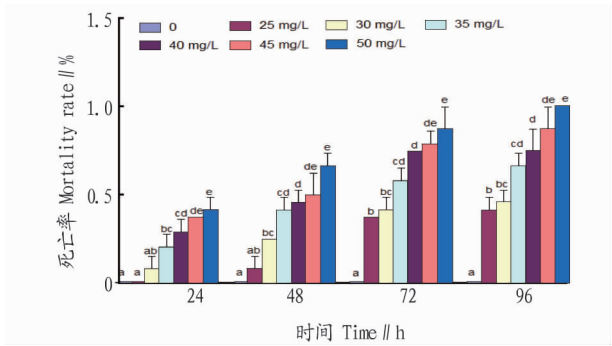


图 3 不同浓度 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫死亡率的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of Pb²⁺ on the mortality rate of *S. marmorata* larvae

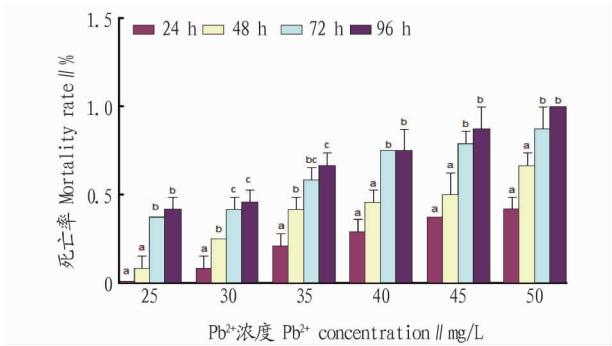


图 4 Pb²⁺ 离子作用下不同时间对石蚕蛾幼虫死亡率的影响

Fig. 4 Effects of Pb²⁺ at different time on the mortality rate of *S. marmorata* larvae

2.2 浓度与死亡率的回归分析 从表 1 可以看出,Pb²⁺ 在 24、48、72 和 96 h 时对石蚕蛾幼虫的半致死浓度(LC₅₀值)分别为 49.138、41.878、30.735 和 29.245 mg/L,而在同样的作用时间下 Cu²⁺ 的 LC₅₀ 值分别为 123.651、112.975、84.536 和 70.509 mg/L。根据安全浓度 Sc = 0.1 × 96 h LC₅₀ 公式^[18],求得 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的安全质量浓度分别为 7.051 和 2.925 mg/L。通过对比发现,Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的毒性作用要强于 Cu²⁺。随着作用时间的延长,Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对石蚕蛾幼虫的半致死浓度均表现出逐渐降低的趋势。

表 1 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 浓度对数与石蚕蛾幼虫死亡率的回归分析

Table 1 Regression analysis between logarithm of Cu²⁺ and Pb²⁺ concentrations and mortality rate of *S. marmorata* larvae

重金属离子 Heavy metal ion	时间 Time//h	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LC ₅₀	95% 可信区间 95% confidence interval
Cu ²⁺	24	$Y = 5.254X - 10.991$	0.786**	123.651	102.775 ~ 241.277
	48	$Y = 4.286X - 8.799$	0.840**	112.975	95.019 ~ 196.714
	72	$Y = 5.974X - 11.512$	0.858**	84.536	77.545 ~ 95.891
	96	$Y = 7.319X - 13.527$	0.883**	70.509	65.178 ~ 75.837
Pb ²⁺	24	$Y = 6.706X - 11.343$	0.842**	49.138	45.187 ~ 62.377
	48	$Y = 5.175X - 8.394$	0.897**	41.878	38.006 ~ 48.534
	72	$Y = 5.097X - 7.583$	0.968**	30.735	26.019 ~ 34.001
	96	$Y = 6.440X - 9.441$	0.966**	29.245	25.423 ~ 31.924

注: ** 表示相关性达到极显著水平($P<0.01$)

Note: ** stands for extremely significant correlation($P<0.01$)

3 讨论与结论

毛翅目昆虫石蚕蛾(Caddisfly) 幼虫为水栖性,常栖息在较清澈的河流,对水质污染敏感,特别是对多种重金属有较强的体内蓄积能力,可作为水体环境指示生物。石蚕蛾幼虫因具有以下优点:①水生昆虫石蚕蛾幼虫对重金属离子有着很强的累积能力,作为水体重金属污染指示生物有着先天优势。②石蚕蛾幼虫在河川底利用小石、树叶、木片等结网生息,其活动半径非常狭小,可以很好地反映当地采样区域的水环境状况。③石蚕蛾的生长发育温度在 5~28℃,可终年在大多数河流中生息,所以具有不受季节气候等限制,随时采样随时调查的其他昆虫所不能比的巨大优势^[19]。

重金属对生物的毒性主要是由于它能与生物体的金属硫基蛋白结合,使蛋白质变性,致畸、致癌或致突变^[20]。水生毛翅目昆虫石蚕蛾对重金属储存积累的能力强,反应灵敏,耐受范围比较广,将其作为一种水体重金属污染指示生物,快速准确评价河川的重金属污染状况具有重要的生态意义。该试验结果表明,Pb²⁺ 和 Cu²⁺ 对石蚕蛾幼虫的半致死浓度分别为 49.138、41.878、30.735、29.245 mg/L 和 123.651、112.975、84.536 和 70.509 mg/L。在各个时间段 Pb²⁺ 表现出来的毒性都要强于 Cu²⁺。该试验结果与国内外有关学者报道的 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 对水生双翅目昆虫幼虫的急毒性效应较为一致。Béchar d 等^[21] 报道,Pb²⁺ 对摇蚊幼虫的 48 h LC₅₀ 值为 50 mg/L。Lagrana 等^[22] 研究表明 Pb²⁺ 对摇蚊幼虫的 96 h LC₅₀ 值为 38.47 mg/L。李浩^[23] 测得 Cu²⁺ 对羽摇蚊幼虫 96 h 的 LC₅₀ 值为 91 mg/L。

石蚕种属丰富多样,不同的重金属对重金属的敏感度不同,比如该研究选用的研究对象 *S. marmorata* 表现出对 Pb²⁺ 敏感性要强于 Cu²⁺。慢性金属胁迫和急性金属胁迫对同一种属的石蚕蛾也可能存在差别。今后可开展不同种属不同胁迫形式下重金属对石蚕生命力的影响,研究重金属在石蚕体内的富集和对能量物质代谢的影响,对于全面掌握石蚕幼虫在水质重金属检测方面会有所帮助。

参考文献

[1] 刘建明. 水体中主要污染物对水生生物的影响[J]. 四川环境,2015,34(4):69-72.
[2] 曾思明. 生物监测及其在环境监测中的应用效果研究[J]. 企业技术开发,2016,35(8):49-50.
[3] 王美鑫,管建洪. 水域生物监测研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,43(9):257-260.

[4] 常晋娜,瞿建国. 水体重金属污染的生态效应及生物监测[J]. 四川环境,2005,24(4):29-33.
[5] 曾丽璇,陈桂珠,余日清,等. 水体重金属污染生物监测的研究进展[J]. 环境监测管理与技术,2003,15(3):12-15.
[6] 薛建,安正帅,牛长缨,等. 水生双翅目昆虫监测水体重金属污染的研究[J]. 昆虫知识,2008,45(3):378-383.
[7] 黄小清,蔡笃程. 水生昆虫在水质生物监测与评价中的应用[J]. 华南热带农业大学学报,2006,12(2):72-75.
[8] 徐希莲. 水生昆虫与水质的生物监测[J]. 莱阳农学院学报,2001,18(1):66-70.
[9] 邓鑫,PETTIGROVE V,杨小南,等. 摇蚊幼虫对沉积物中重金属复合污染评估[J]. 生态学杂志,2014,33(3):680-686.
[10] 姜东生,石小荣,崔益斌,等. 3 种典型污染物对水生生物的急性毒性效应及其水质基准比较[J]. 环境科学,2014,35(1):279-285.
[11] 刘曼红,张译文,汤颖,等. Hg²⁺ 胁迫对花翅摇蚊(*Chironomus kilensis*) 幼虫组织三种酶活性影响[J]. 东北农业大学学报,2016,47(2):61-66.
[12] NURSITA A I,SINGH B,LEES E. The effects of cadmium,copper,lead, and zinc on the growth and reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola)[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2005,60(3):306-314.
[13] TOCHIMOTO H,MAKI T,AFZAL M,et al. Accumulation of trace metals in aquatic insect *Stenopsyche marmorata* Navas transferred in streams[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2003,56(2):256-264.
[14] ZVEREVA E,SEREBROV V,GLUPOV V,et al. Activity and heavy metal resistance of non-specific esterases in leaf beetle *Chrysomela lapponica* from polluted and unpolluted habitats[J]. Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol,2003,135(4):383-391.
[15] BAGATTO G,SHORTHOUSE J D. Accumulation of Cu and Ni in successive stages of *Lymantria dispar* L. (Lymantriidae, Lepidoptera) near ore smelters at Sudbury, Ontario, Canada[J]. Environ Pollut,1996,92(1):7-12.
[16] LASKOWSKI R. Why short-term bioassays are not meaningful-effects of a pesticide (Imidacloprid) and a metal (cadmium) on pea aphids (*Acyrtosiphon pisum* Harris)[J]. Ecotoxicology,2001,10(3):177-183.
[17] 周一平. 用 SPSS 软件计算新药的 LD₅₀ [J]. 药学进展,2003,27(5):314-316.
[18] 杨建华,宋维彦. 3 种重金属离子对中华鲢鱼急性毒性及安全浓度研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(23):12481-12482.
[19] 叶寒青,杨祥良,周井炎,等. 环境污染物质毒性作用机理研究进展[J]. 广东微量元素科学,2001,8(3):9-12.
[20] 相泽省一,角田欣一,赤塚昌义,等. 用石蚕作为重金属污染环境指示生物的评价[J]. 日本水生化学,1994(43):865-871.
[21] BÉCHARD K M,GILLIS P L,WOOD C M. Acute toxicity of waterborne Cd,Cu,Pb,Ni,and Zn to first-instar *Chironomus riparius* larvae[J]. Archives of environmental contamination and toxicology,2008,54(3):454-459.
[22] LAGRANA C C,APODACA D C,DAVID C P C. Toxicity of Cu²⁺,Cd²⁺ and Pb²⁺ metal ions in Chironomids and factors that affect metal accumulation[C]//Proceedings of international conference on environment science and engineering(ICESE 2011). Bali Island,Indonesia:ICESE,2011:9-13.
[23] 李浩. 铜和镉对羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*) 和红裸须摇蚊幼虫(*Prosilocerus akamusi*) 的毒性效应[D]. 武汉:华中农业大学,2012.

科技论文写作规范——文内标题

文章内标题力求简短,一般不超过 20 字,标题内尽量不用标点符号。标题顶格书写,文内标题层次不宜过多,一般不超过 4 级,分别以 1;1.1;1.1.1;1.1.1.1 方式表示。