

Joint Toxic Effects of Mercury and Cadmium on *Chironomus kiinensis* Larval

Fei Chen¹, Fangying Chai², Hongxian Yu³, Yukun Ma³, Manhong Liu^{3*}

¹School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

²Department of Water Resources of Heilongjiang Province, Harbin Heilongjiang

³College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

Email: *manhong@nefu.edu.cn

Received: Jan. 2nd, 2019; accepted: Jan. 21st, 2019; published: Jan. 28th, 2019

Abstract

In the present study, we used *Chironomus kiinensis* larvae as a target to study their mouthparts type of distortion, antioxidant enzymes (Superoxide Dismutase; Hydrogen Peroxidase) activity, weight and pupation rate on the chronic and joint toxicity of mercury and cadmium. The detailed results showed as follows. 1) Under the joint exposure of Hg²⁺ and Cd²⁺, the Chironomid larvae chin middle tooth and lateral teeth have different degrees of loss, the type of deformity is not related to the concentration of exposure. The results show that heavy metals will induce Chironomid larvae mouthparts to produce a different degree of deformity. Therefore, the Chironomid larvae mouthparts deformity can be one of the important indicators for evaluation of water environment pollution. 2) After *Chironomus kiinensis* of 4 instar exposure under different concentration of Hg²⁺-Cd²⁺, we found that the wet weight and the dry weight of larvae were increased. So, it is not the suitable index for heavy metal pollution monitoring. In the process of *Chironomid larvae* pupation, the larvae in each treatment group had high sensitivity of Hg²⁺ and Cd²⁺, each treatment group had larvae pupation success, and showed inhibitory effect on pupation rate and negative correlation with concentration. Hence, the wet weight and dry weight can be one of the indicators of chronic toxicity. 3) The joint toxic effect of the two kinds of heavy metals is coordination. Two heavy metals (0.002 mg·L⁻¹ - 0.256 mg·L⁻¹) promote the activity of antioxidant enzymes in *Chironomidae* larvae, and then inhibit the activity of antioxidant enzymes. With the *Chironomus kiinensis* larvae exposure in the joint toxicity of two kinds of metals, the activity of Superoxide Dismutase (SOD) and Hydrogen Peroxidase (CAT) was cut down with the increase of heavy metal concentration until being lower than the control group, and then began to slowly rise to higher than the control group, finally dropped to the lowest value.

Keywords

Joint Toxicity, *Chironomus kiinensis*, Mouthpart Deformity, Antioxidant Enzymes, Growth and Development

*通讯作者。

汞和镉对花翅摇蚊(*Chironomus kiinensis*)幼虫的联合毒性

陈菲¹, 柴方营², 于洪贤³, 马玉堃³, 刘曼红^{3*}

¹东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江省水利厅, 黑龙江 哈尔滨

³东北林业大学野生动物资源学院, 黑龙江 哈尔滨

Email: manhong@nefu.edu.cn

收稿日期: 2019年1月2日; 录用日期: 2019年1月21日; 发布日期: 2019年1月28日

摘要

本文选取汞和镉两种重金属, 以花翅摇蚊(*Chironomus kiinensis*)作为研究对象, 测定了两种重金属在联合毒性的作用下, 对口器畸变, 抗氧化酶活性的变化, 以及对体重和化蛹率的影响, 具体结果如下: 1) 在 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 的联合暴露下, 可以诱导花翅摇蚊幼虫颏部的中间齿和侧齿均有不同程度的缺失, 畸变类型与暴露浓度无关。结果表明, 可以将摇蚊幼虫口器畸变的类型作为评价水环境污染的重要指标之一。2) 在不同浓度的亚致死剂量 Hg^{2+} - Cd^{2+} 暴露下, 各处理组的花翅摇蚊4龄幼虫湿重和干重均增加, 不适宜用其作为监测水体重金属污染的指标; 花翅摇蚊4龄幼虫化蛹过程中对 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 敏感性高, 各处理组均有幼虫完成其化蛹过程, 且表现为对化蛹率的抑制作用, 与浓度呈负相关关系($P < 0.05$), 因此, 适宜将其作为慢性毒性效应的指标之一。3) Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 之间的联合毒性表现为协同作用。两种重金属($0.002 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ~ $0.256 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对花翅摇蚊幼虫体内抗氧化酶活性表现为先促进其酶活性升高, 然后抑制其酶活性。花翅摇蚊幼虫在两种金属联合毒性的暴露下, 其体内超氧化物歧化酶和过氧化氢酶表现为随着重金属浓度的升高, 先快速降低至低于对照组, 随后缓慢上升且高于对照组, 最后下降至其最低值的变化规律。

关键词

联合毒性, 花翅摇蚊, 口器畸变, 抗氧化酶, 生长发育

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水环境中的重金属及其化合物是持久性有机污染物, 在我国首个“十二五”专项规划中明确提出防治、规划及控制以下5种重金属: 铅、砷、镉、汞和铬。水生动物可以通过呼吸、摄食、体表与水体的渗透交换富集水体重金属[1]。摇蚊幼虫是淡水生态系统中最常见的底栖动物, 约为底栖生物总量的70%~80% [2] [3], 在激流和静水的底栖生物群落环境中占主导地位[4]。因此, 摇蚊幼虫是水生态毒理实验重要的研究对象, 是监测河流和湖泊水质的重要指示生物之一[5] [6], 有助于对水体重金属污染做出快

速反应。其中,花翅摇蚊(*Chironomus kiiensis*)幼虫是研究应对不同曝光时间层次的重金属污染的好材料[7]。

两种不同重金属之间对摇蚊幼虫的联合毒性存在协同作用和拮抗作用。其中,重金属间的协同作用在很多研究中均有发现,但不同重金属间的协同机理也有所不同[8]-[13]。例如,低浓度的 Mn^{2+} 对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 表现为拮抗作用,然而,高浓度的 Mn^{2+} 对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 表现为协同作用[14], Mn^{2+} 在与生物大分子相结合时,会和其他的一些金属离子发生竞争性抑制作用,这使得其间的联合作用表现为随浓度的变化而不断变化[15]。类似的结果也可以在吕耀平[16]等对 Mn^{7+} 和 Hg^{2+} 对青虾的联合毒性作用研究中发现。

许多研究表明,重金属可以诱导摇蚊口器畸变。闫宾萍等[17]研究了 Ni^{2+} 、 Hg^{2+} 和五氯酚对羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)的毒性作用和生物浓缩,其研究结果显示,镍、汞和五氯酚都会使羽摇蚊幼虫的口器产生不同程度的畸变。李浩等[18]通过对口器和抗氧化酶活性变化的观察,对 Cu^{2+} 对羽摇蚊幼虫的毒性作用进行了分析,研究结果表明,致畸率与 Cu^{2+} 的暴露浓度之间呈正相关关系($P < 0.05$),其结果对将羽摇蚊幼虫应用于监测水环境污染中发挥一定作用。

抗氧化酶系是经常用于水环境污染监测中的生物标志物之一。抗氧化酶系包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等。为研究抗氧化酶在水污染监测方面的作用,国内展开了多种不同的污染物与水生生物的抗氧化酶活性之间关系的探究。2009年,王涛在砷和镉单一毒性的研究基础上,分别研究砷和镉的联合毒性对大型海藻孔石莼和斑马鱼的 SOD 和 CAT 活力的影响[19]。李莹[20]通过 SOD, CAT 酶活性以及丙二醛含量的明显变化来判断化合物对生物体的抗氧化防御系统产生了一定的氧化损伤,从而表明多氯代联苯醚具有潜在的生物毒性。

有研究表明,重金属及其化合物可以影响摇蚊幼虫的生长发育。其中, Cd^{2+} 可以影响羽摇蚊幼虫的体长及羽化时间[12]。Wentzel 等[21]研究发现,摇蚊幼虫暴露在重金属下不会造成其羽化后性比的改变,但是会使得羽化所需的时间延长,并且重金属的暴露会降低其羽化率。

本研究以摇蚊的优势种花翅摇蚊为受试生物,测定了汞和镉对花翅摇蚊幼虫进行联合毒性、SOD 活性及 CAT 活性测定,明确水体中重金属污染物(汞和镉)与抗氧化酶活性之间的关系,对进一步了解重金属污染物的生态毒性和对抗氧化酶催化机理的研究具有重要的意义。同时,通过研究汞和镉对花翅摇蚊幼虫口器形态、体重和化蛹率的影响,进一步了解汞和镉对花翅摇蚊幼虫的形态、生长发育的影响,以期在水体污染的早期预警提供更全面的监测指标,为水污染生态风险评价以及环境监测和治理提供更加全面的理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

供试花翅摇蚊(*Chironomus kiiensis*)初始种群来源于中国农业大学昆虫生理与毒理实验室,于室内用暴晒除氯 3 d 以上的自来水进行饲养,放置于玻璃鱼缸中,每 4 d 换水一次,每日投喂 1~3 g 金鱼幼虫饲料(饲料成分:进口鱼粉、南极虾粉、植物蛋白、维生素、矿物质以及氨基酸),采用 50 目纱网罩住玻璃鱼缸以防止成虫飞出,自然光照饲养。

2.2. 方法

2.2.1. 确定慢性毒性安全浓度

参照《化学品沉积物-水系统中摇蚊毒性实验加标于沉积物法》[22]进行暴露。用人工介质 M4 配制实验溶液,分别设置 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 的 6 个质量浓度组,浓度为 1.0、1.4、1.8、2.2、2.6 和 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每组设置三个平行试验,并且设置空白对照组。实验期间给摇蚊幼虫投喂金鱼幼虫饲料,水环境 pH 值为 6.0

± 0.5 , 水温为 $(17.0 \pm 1.0)^{\circ}\text{C}$, $t_{(\text{光})}:t_{(\text{暗})} = 16 \text{ h}:8 \text{ h}$ 。观察每个实验组摇蚊幼虫的存活状况, 并且及时用毛笔刷挑出已经死亡的个体, 计算出死亡率。摇蚊幼虫死亡判定标准为: 用玻璃棒轻压幼虫尾部 3 次后, 观察其无“8”字扭动的运动现象。用线性回归法[23]计算暴露 24 h 时重金属对花翅摇蚊幼虫的半数有效浓度($\rho_{(24 \text{ h}, \text{EC}_{50})}$)。根据安全浓度(ρ_S)计算公式 $\rho_S = \rho_{(24 \text{ h}, \text{EC}_{50})} \times 0.1$ [24]和急性毒性实验的半数有效浓度(EC_{50}), 进而确定慢性毒性试验中重金属的安全浓度。

2.2.2. 制毒处理

参照花翅摇蚊幼虫的 $\rho_{(24 \text{ h}, \text{EC}_{50})}$ 值, 在慢性毒性试验中, 将 HgCl_2 和 CdCl_2 按照 1:1 毒性配比配制成 0.002、0.004、0.008、0.016、0.032、0.064、0.128 和 $0.256 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的附水沉积物[22]。每个浓度设 3 个平行组, 随机挑取 5 条花翅摇蚊的卵带放入附水沉积物中, 含有等量不添加 HgCl_2 和 CdCl_2 的附水沉积物作为对照, 在适宜条件下培养 40 d。实验期间不投饵以水环境中的沉积物为食物来源, 且用空气泵充气以保证水环境内氧气充足。

2.2.3. 筛查致畸情况

选取大小相近的活泼 4 龄幼虫, 用沸水烫死, 剥离幼虫头部制片, 在 Motic BA410 显微镜下, 利用 Motic Images Plus 2.0 成像系统采集照片。

2.2.4. 测定抗氧化酶活性

1) 组织样本制备

依次从不同浓度处理组中随机挑取 10 头花翅摇蚊 4 龄幼虫, 滤纸吸取其表面水分后称重, 快速放入 5 ml 玻璃匀浆器内, 按重量(g):体积(ml) = 1:9 的比例加入其 9 倍体积的生理盐水, 并在冰水浴条件下, 用玻璃匀浆器充分研磨, 在 2500 r/min 下离心 15 min, 取其上清液, 加入生理盐水稀释成浓度为 1% 的组织匀浆后待测。

2) 测定蛋白浓度

按照蛋白定量测试盒(A045-2)说明书加入试剂, 混匀后静置 10 min, 于 595 nm 波长处, 1 cm 光径, 用双蒸水调零, 测定各管分光光度(OD)值, 根据计算公式得出各浓度的蛋白浓度。

3) 测定抗氧化酶

分别按照 SOD 试剂盒(测总)和 CAT 可见光试剂盒的说明书加入试剂, 混匀, 在室温下静置 10 min 后, 用双蒸水调零, 于不同波长处测得其 OD 值, 根据计算公式得出各浓度 SOD 和 CAT 活性。

2.2.5. 生长发育

以花翅摇蚊幼虫的 $\rho_{(24 \text{ h}, \text{EC}_{50})}$ 值为基准, 将 HgCl_2 和 CdCl_2 的混合母液用营养液[22]分别配制成 0.004、0.016、0.064 和 $0.256 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 4 个亚致死浓度, 以营养液[22]为空白对照, 选取长度和颜色均一致的健壮花翅摇蚊 4 龄幼虫, 将其放入盛有 500 ml 溶液的冰盘($20 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$)中, 使溶液温度保持在 $16.0^{\circ}\text{C} \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, 每次处理 100 头, 每个浓度设 5 个重复组。从中随机选取三个重复组用于观察幼虫的化蛹率, 每隔 24 h 统计一次幼虫化蛹的个数, 直至冰盘中的幼虫全部死亡或化蛹为止。其余的重复组用于测定其干湿重, 在处理 48 h 后, 每个浓度随机挑取 60 头幼虫后分成三组。用蒸馏水润洗两次洗去幼虫表面杂质, 再用滤纸吸干体表水分, 立即称量其湿重, 然后将其放入 50°C 烘箱内烘 4 h, 再升温至 120°C , 在该条件下烘至恒重后称量干重。干湿重均用相对干湿重表示。

相对干(湿)重 = [处理组干(湿)重/对照组干(湿)重]。

2.2.6. 数据分析

采用 SPSS16.0 统计软件对各组间各指标作单因素方差分析(ANOVA), 采用 t 检验法分析各浓度组与

对照组间的差异显著性。所有数据处理和作图均采用 SPSS16.0 统计软件和 Excel 软件。

3. 结果

3.1. 汞和镉的联合毒性

通过 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 24 h 的 EC_{50} ，运用相加指数法计算出 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 的毒性单位之和 M ($M = A_m/A_i + B_m/B_i$ ，其中， A_m 和 B_m 是指 24 h 的 $\text{EC}_{50(\text{混})}$ 中 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 之浓度， A_i 是 24 h 的 $\text{EC}_{50(\text{Hg}^{2+})}$ ， B_i 是 24 h 的 $\text{EC}_{50(\text{Cd}^{2+})}$)，将其绘制图表，由图 1 可知 $M < 1$ ， Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫的联合毒性作用属于协同作用。

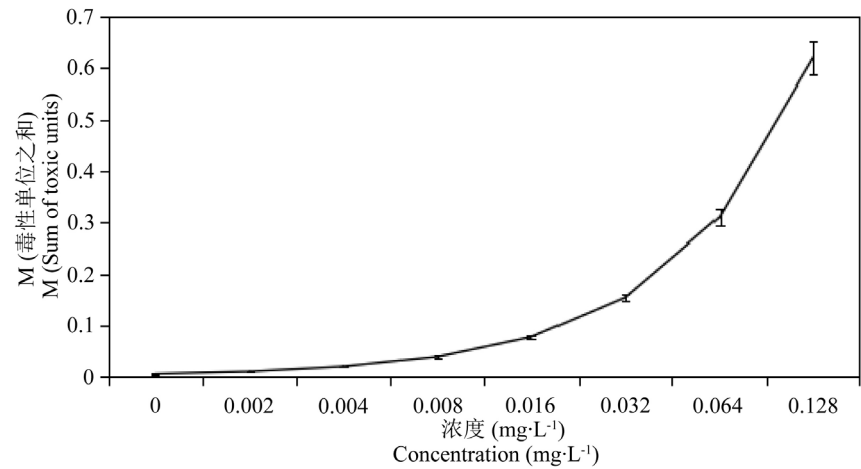


Figure 1. Sum of toxic units of Hg^{2+} and Cd^{2+} on CAT activity in tissues of larval *Chironomus kiinensis*
图 1. Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫的毒性单位之和

3.2. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫口器畸变的影响

经不同浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 暴露后，通过显微镜观察发现花翅摇蚊幼虫颏部发生畸变，在 $0.002 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组其颏部的中间齿部分缺失(图 2(a)，箭头所指位置)，从 $0.004 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组开始，摇蚊幼虫颏部出现侧面齿部分缺失现象(图 2(b)，箭头所指位置)。每 50 头幼虫中有 43 头发生畸变。另外，经过观察比较，发现花翅摇蚊幼虫的口器畸变类型与暴露浓度无关。

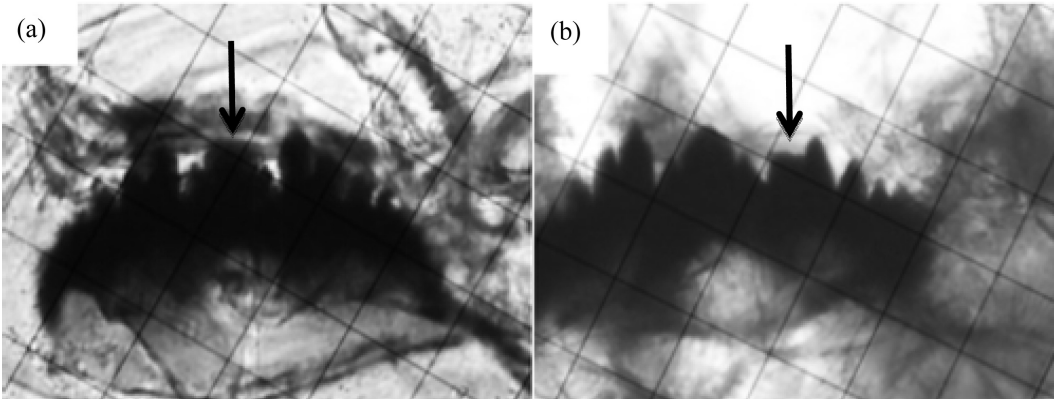


Figure 2. The mandibles of exposed to Hg^{2+} - Cd^{2+} of larval *Chironomus kiinensis*(200×)
图 2. 汞和镉联合作用下花翅摇蚊幼虫颏部(200×)

3.3. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫抗氧化酶活性的影响

3.3.1. 不同浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫体组织中 SOD 活性的影响

由图3可知,在两种重金属的协同作用下,花翅摇蚊幼虫体内的SOD活性随浓度的升高而逐渐升高,在 $0.016 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组活性最强,随后 SOD 活性随浓度的升高而逐渐下降,差异性显著($P < 0.05$),在 $0.128 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $0.256 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 SOD 活性低于对照组。

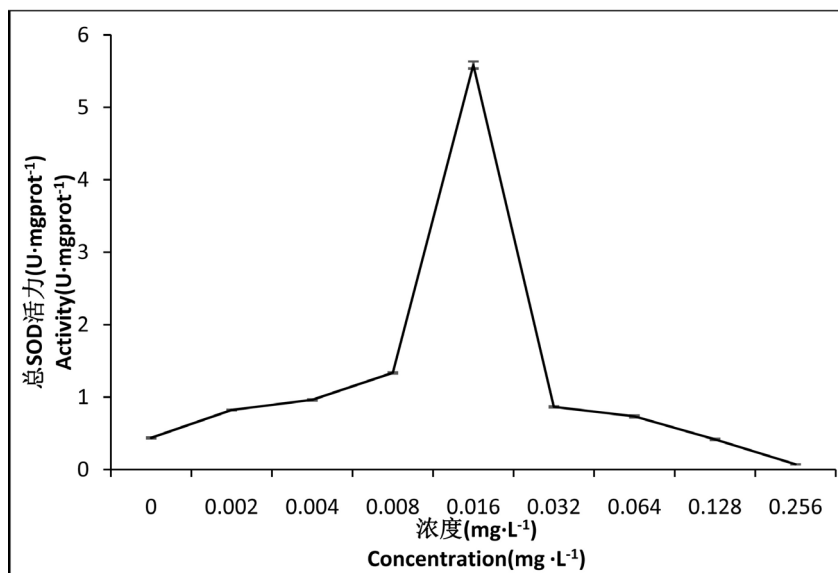


Figure 3. Effect of Hg^{2+} - Cd^{2+} on SOD activity in tissues of larval *Chironomus kiinensis*

图 3. Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫体组织中 SOD 活性的影响

3.3.2. 不同浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫体组织中 CAT 活性的影响

通过观察图4可以发现,随浓度的升高,CAT活性逐渐增强,但 $0.002 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $0.004 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的活性低于其对照组,在 $0.008 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组活性最强,随后,活性继续逐渐下降,差异性显著($P < 0.05$), $0.064 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组、 $0.128 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $0.256 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 CAT 活性低于对照组。

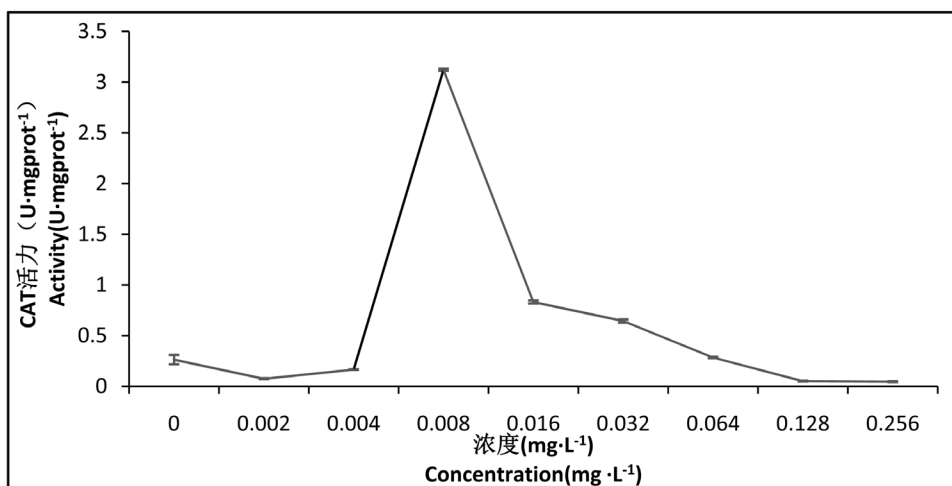


Figure 4. Effect of Hg^{2+} - Cd^{2+} on CAT activity in tissues of larval *Chironomus kiinensis*

图 4. Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫体组织中 CAT 活性的影响

3.4. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫生长发育的影响

3.4.1. 不同浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫体重的影响

亚致死剂量的 Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊体重影响如图5所示。与对照组相比,0.004 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.016 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.064 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和0.256 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组摇蚊幼虫的相对干重随浓度的升高而逐渐增加,且始终高于对照组。处理组的相对湿重随浓度的升高先增加,在0.064 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组湿重略有下降后,相对湿重继续随浓度的升高而增加,在此过程中,处理组的相对湿重也始终高于对照组。在0.004 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.016 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和0.064 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组湿重高于干重,而在0.256 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组相对干重大于相对湿重。

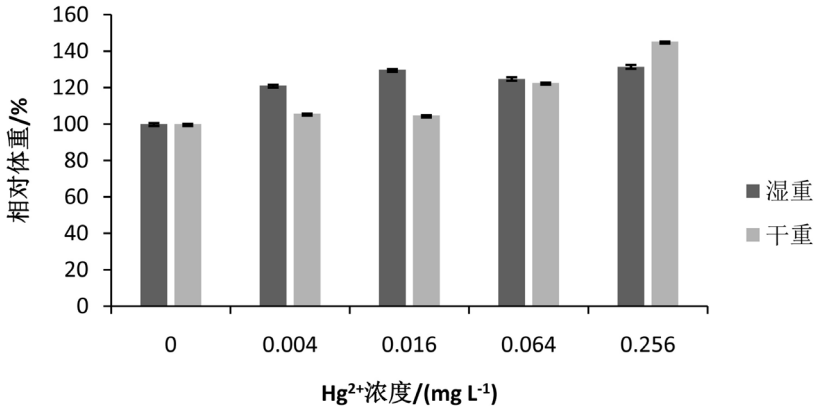


Figure 5. Effect of Hg^{2+} - Cd^{2+} on weight of 4th-instar larval *Chironomus kiinensis*
图5. 汞和镉联合作用下花翅摇蚊4龄幼虫体重变化

3.4.2. 不同浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫化蛹率的影响

不同浓度的 Hg^{2+} - Cd^{2+} 联合胁迫对花翅摇蚊4龄幼虫化蛹率的影响如图6所示。在相同的实验室条件下,处理组的累计化蛹率明显低于对照组的累计化蛹率,且0.004 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.016 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.064 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.256 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组累计化蛹率分别为对照组的71.43%、71.43%、57.14%和42.86%,表明 Hg^{2+} - Cd^{2+} 对摇蚊幼虫化蛹率的抑制作用随浓度的增加而增强。

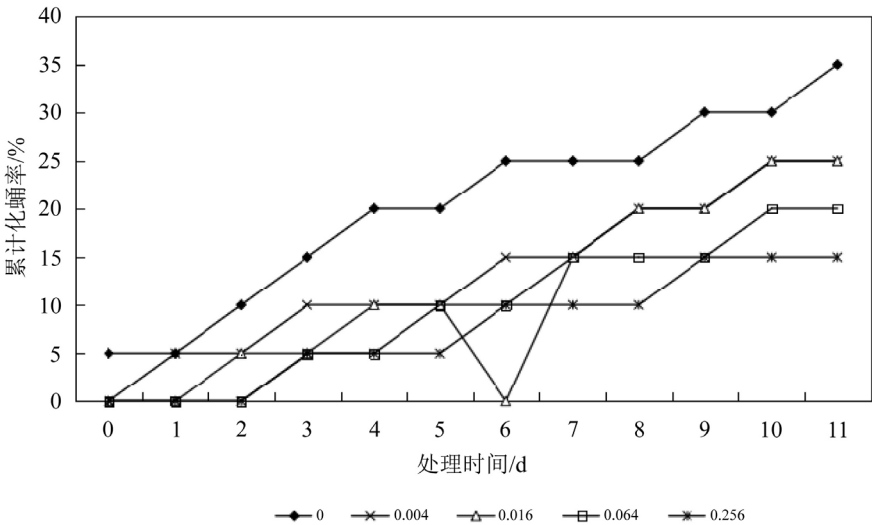


Figure 6. Effect of Hg^{2+} - Cd^{2+} on pupation rate of 4th-instar larval *Chironomus kiinensis*
图6. 汞和镉联合作用下花翅摇蚊4龄幼虫化蛹率变化

4. 讨论

4.1. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫口器结构的影响

外源毒物对摇蚊幼虫生理学方面的影响主要表现为以下两点，一是对摇蚊幼虫的口器致畸作用，二是对生活史中变态发育过程的影响。口器的畸形会影响摇蚊幼虫的摄食，进而影响其生长发育，对水环境中重金属的污染进行早期诊断和生态风险评价有重要意义。许多研究已经证实，重金属如 Cu 和 Cd 可以诱导摇蚊幼虫口器的畸变[25]-[30]。外源毒物诱导摇蚊幼虫的畸变主要发生于其颈部，同时，有研究表明经过重金属 Ni、Hg 胁迫的羽摇蚊幼虫大颚也会产生不同程度的畸变[15]。目前，重金属对口器畸形的作用机理尚不明确，但是，有许多研究所证明的金属暴露浓度及暴露时间与致畸率之间存在线性关系，使得将致畸率成为评价水体环境的一种重要参数。

正常情况下的花翅摇蚊幼虫口器颈部包含个 3 中间齿和 2 组侧面齿，每组各有 6 个齿。本研究中， Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 在协同作用下诱导花翅摇蚊幼虫颈部的中间齿和侧齿发生了不同程度的缺失。但是，涉及的样本数少，并未验证暴露浓度和致畸率之间的关系。

4.2. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫体组织抗氧化酶活性的影响

Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 都属于外源毒物，会破坏机体内 DNA、功能蛋白结构，使酶失活等[1]，从而间接反映环境中氧化应激物的存在，起到指示环境中存在污染物的作用[12] [31]，而且具有准确，痕量测量等优点，可以弥补传统理化方法测定污染物的不足。SOD 和 CAT 都属于抗氧化酶系，SOD 是一种普遍存在于动植物和微生物中的抗氧化金属酶，能催化生物体内超氧阴离子自由基(O_2^-)发生歧化反应，产生氧和过氧化氢，有利于机体内氧化和抗氧化的平衡[32] [33]。CAT 是一类普遍存在于动植物和微生物体内的末端氧化酶，参与其体内活性氧的代谢过程，与 SOD 在生物体内共同建立了一个功能一致且相互配合的抗氧化网络，可以清除机体内的 O_2^- 、 H_2O_2 和一些过氧化物，阻止或减少体内羟基自由基($\text{OH}^\cdot$)的形成，有利于机体内氧化和抗氧化的平衡[32] [33] [34]。

花翅摇蚊幼虫在 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 联合毒性的作用下可以引起机体内 SOD 活性和 CAT 活性的变化。在 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 的协同作用下，SOD 和 CAT 活性均随浓度的升高而升高，但是在高浓度 Hg^{2+} - Cd^{2+} 组，抗氧化酶活性受到抑制，而逐渐下降，且超过其耐受极限而低于对照组的活性。刘清等[35]认为造成这种现象的原因是共同存在于生物体内的金属增加细胞膜的通透性，进入胞内的重金属离子增多，重金属毒性增强。 Hg^{2+} - Cd^{2+} 的 SOD 活性在 $0.016 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组开始下降，而其 CAT 活性从 $0.008 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组开始下降，与同等浓度下单独作用的 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 相比较， Hg^{2+} - Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫的抗氧化酶活性要高于单独的 Hg^{2+} 或 Cd^{2+} 作用下的活性，机体内的超氧阴离子更多[36]。这也证明了 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫的联合毒性作用属于协同作用。

摇蚊是水生态系统中数量丰富的底栖生物，其体内抗氧化酶作为生物标志物可对水体中痕量重金属(Hg^{2+} 和 Cd^{2+})污染物的毒性效应进行监测与早期预警。本研究以花翅摇蚊 4 龄幼虫为受试昆虫， Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 联合作用测定摇蚊体内 SOD 和 CAT 活性，明确 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对 SOD 和 CAT 活性的生物化学效应，为 SOD 和 CAT 作为检测水体污染物的生物标志物提供更可靠的依据。

4.3. Hg^{2+} - Cd^{2+} 胁迫对花翅摇蚊幼虫生长发育的影响

半致死剂量常作为可信的毒性效应指标，而实际水体环境中 Cd^{2+} 浓度通常达不到 $0.543 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (24 h 的 EC_{50})，而 Hg^{2+} 的浓度通常也达不到 $1.731 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (24 h 的 EC_{50})，需要更敏感的指标来监测水中重金属污染程度。因此，环境指示生物在生理水平上的一些变化常作为慢性毒性的毒理学指标[37]。许多研究

者对摇蚊幼虫的生长发育作了大量的工作, 研究发现生长环境可以影响摇蚊的体重、羽化率和性比等生长发育状况。

试验结果表明, Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 暴露对花翅摇蚊幼虫的生长状况及生活史均有显著影响, 且随着浓度的升高, 作用效果增强。在 Hg^{2+} - Cd^{2+} 浓度下的暴露组幼虫体重随浓度的升高而增加, 可能是因为随着浓度增大, 摇蚊幼虫的生理活动受到抑制, 不能通过自身代谢将外源毒物全部排出体外, 故而重金属在摇蚊幼虫体内累积量增多, 重金属的累积重量大于摇蚊幼虫由于消耗能量而减少的重量, 造成其体重的上升。

Pascoe 等[38]研究显示在 Cd^{2+} 刺激下, 幼虫的生长发育过程受到抑制, 脱皮及羽化过程所需的时间变长。Planelló 等[39]将羽摇蚊幼虫暴露在低浓度的镉中 36 h 后, 研究发现该幼虫的细胞核活性及其构造发生显著变化, 抑制了 rRNA 水平, 其转录产物缩氨酸 BR 基因的活性也因此受到抑制, 进而阻碍了正常筑巢行为的进行, 因此, 幼虫无法及时运行有效的防御措施来避免中毒风险。但本试验结果显示, 在各 Hg^{2+} - Cd^{2+} 浓度下的暴露组幼虫均有化蛹个体产生, 但对化蛹率也有抑制作用, 随浓度的升高, 化蛹率逐渐降低, 这可能是重金属干扰花翅摇蚊幼虫体内蜕皮激素的正常代谢, 导致幼虫化蛹过程受到抑制。因此, Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 在水体中的毒性小但是不可忽视的, 从环境指示生物的角度来看, 花翅摇蚊幼虫化蛹对重金属毒物 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 敏感, 化蛹率可以用作慢性毒性效应的指标。

5. 结论

本研究发现 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 对花翅摇蚊幼虫的联合毒性作用为协同作用, 并得出以下几点结论:

一、重金属污染物可以对花翅摇蚊幼虫口器产生畸变作用

在 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 的联合暴露下, 摇蚊幼虫颏部的中间齿和侧齿均有不同程度的缺失。因此, 可以将摇蚊幼虫口器畸变的类型作为水环境评价的重要参数之一。

二、重金属污染物可以影响花翅摇蚊幼虫抗氧化酶活性

经试验发现, Hg^{2+} - Cd^{2+} 可以影响花翅摇蚊幼虫的 SOD 和 CAT 活性, SOD 和 CAT 活力在受低浓度重金属刺激后, 在不同浓度下表现出不同的激活水平, 其活力的大小反映了外源毒物对于花翅摇蚊幼虫的致毒程度及其解毒过程, 是一个合适的评价水体中 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 毒性的指标。

三、重金属污染物可以影响花翅摇蚊幼虫的生长发育

在不同浓度的亚致死剂量 Hg^{2+} - Cd^{2+} 暴露下, 各处理组的花翅摇蚊 4 龄幼虫湿重和干重均增加, 不适宜用其作为监测水体重金属污染的指标; 摇蚊幼虫化蛹过程中对 Hg^{2+} - Cd^{2+} 敏感性高, 虽然, 各处理组均有幼虫化蛹成功, 但是, 化蛹率均明显低于对照组, 表现为对化蛹率的抑制作用, 且与浓度呈负相关关系 ($P < 0.05$), 因此, 适宜将其作为慢性毒性效应的指标之一。

基金项目

本课题承蒙中央高校基本科研业务费专项基金资助, 特致殷切谢意。

参考文献

- [1] 张传永, 刘庆, 陈燕妮. 重金属对水生生物毒性作用研究进展[J]. 生命科学仪器, 2008, 6(11): 3-7.
- [2] Goodyear, K.L. and McNeill, S. (1999) Bioaccumulation of Heavy Metals by Aquatic Macro-invertebrates of Different Feeding Guilds: A Review. *The Science of the Total Environment*, **229**, 1-19. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00051-0)
- [3] 张彤, 金洪钧. 摇蚊幼虫的水生态毒理学研究进展[J]. 环境保护科学, 1995(4): 17-21, 77.
- [4] Péry, A.R.R., Mons, R., Flanmmarion, P., et al. (2002) A Modeling Approach to Link Food Availability, Growth, Emergency, and Reproduction for the Midge *Chironomus riparius*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 2507-2513. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(2002\)021<2507:AMATLF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2002)021<2507:AMATLF>2.0.CO;2)

- [5] Faria, M.S., Ré, A., Malcato, J., *et al.* (2006) Biological and Functional Responses of in Situ Bioassays with *Chironomus riparius* Larvae to Assess River Water Quality and Contamination. *Science of the Total Environment*, **371**, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.08.036>
- [6] Castro, B.B., Guilhermino, L. and Ribeiro, R. (2003) In Situ Bioassay Chamber and Procedures for Assessment of Sediment Toxicity with *Chironomus riparius*. *Environmental Pollution*, **125**, 325-335. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00120-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00120-9)
- [7] Mikko, N. (2014) *An Introduction to Aquatic Toxicology*. Academic Press, Manhattan, New York, 143-175.
- [8] 董建. 环境化学物的联合毒作用[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1994.
- [9] 王俊才, 方志刚, 鞠复华. 摇蚊幼虫分布及其与水质的关系[J]. 生态学杂志, 2000(4): 27-37.
- [10] 惠秀娟. 环境毒理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [11] Watts, M.M., Pascoe, D. and Carroll, K. (2001) Chronic Exposure to 17 α -Ethinylestradiol and Bisphenol A-Effects on Development and Reproduction in the Freshwater Invertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Aquatic Toxicology*, **55**, 113-124. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00148-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00148-5)
- [12] Bates, L.M. and Hall, B.D. (2012) Concentrations of Methylmercury in Invertebrates from Wetlands of the Prairie Pothole Region of North America. *Environmental Pollution*, **160**, 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.040>
- [13] Sinclair, K.A., Xie, Q. and Mitchell, C.P.J. (2012) Methylmercury in Water, Sediment, and Invertebrates in Created Wetlands of Rouge Park, Toronto, Canada. *Environmental Pollution*, **171**, 207-215. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.043>
- [14] 李浩. 铜和镉对羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)和红裸须摇蚊幼虫(*Procladius akamusi*)的毒性效应[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 40-48.
- [15] 山根靖弘. 环境污染物与毒性(无机篇) [M]. 成都: 四川人民出版社, 1981.
- [16] 吕耀平, 李小玲, 贾秀英. Cr⁶⁺、Mn⁷⁺和 Hg²⁺对青虾的毒性和联合毒性研究[J]. 上海水产大学学报, 2007(6): 549-554.
- [17] 闫宾萍, 宋志慧. Ni²⁺、Hg²⁺和五氯酚对羽摇蚊(*Chironomus plumosus*)幼虫的毒性和生物浓缩[J]. 青岛科技大学学报(自然科学版), 2006(5): 411-414.
- [18] 李浩, 王琴, 邓金钊, 覃剑晖, 马徐发. Cu²⁺对羽摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)口器致畸作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2012(2): 203-208.
- [19] 王涛. 单一及复合污染物对水生生物抗氧化酶的影响[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连海事大学, 2009.
- [20] 李莹. 三种典型有机污染物对鲫鱼抗氧化防御系统影响的研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京大学, 2013.
- [21] Wentsel, R., McIntosh, A. and Atchison, G. (1997) Sublethal Effects of Heavy Metal Contaminated Sediment on Midge Larvae (*Chironomus tentans*). *Hydrobiology*, **56**, 153-156. <https://doi.org/10.1007/BF00023354>
- [22] 中国检验检疫科学研究院. GB/T27859-2011 化学品沉积物-水系统中摇蚊毒性实验加标于沉积物法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [23] 明道续. 兽医统计方法[M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1991: 200-203.
- [24] Svensson, E.P. (2008) *Aquatic Toxicology Research Focus*. Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, 1-29.
- [25] Martinez, E.A., Moore, B.C., Schaumlöffel, J., *et al.* (2003) Morphological Abnormalities in *Chironomus tentans* Exposed to Cadmium and Copper-Spiked Sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **55**, 204-212. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00136-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00136-7)
- [26] Kosalwat, P. and Knight, A.W. (1987) Chronic Toxicity of Copper to a Partial Life Cycle of the Midge, *Chironomus decorus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **16**, 283-290. <https://doi.org/10.1007/BF01054945>
- [27] Watanabe, K., Monaghan, M.T., Takemon, Y. and Omura, T. (2008) Biodilution of Heavy Metals in a Stream Macroinvertebrate Food Web: Evidence from Stable Isotope Analysis. *Science of the Total Environment*, **394**, 57-67. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.006>
- [28] Martinez, E.A., Moore, B.C., Schaumlöffel, J. and Dasgupta, N. (2003) Morphological Abnormalities in *Chironomus tentans* Exposed to Cadmium and Copper-Spiked Sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **55**, 204-212. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00136-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00136-7)
- [29] Meregalli, G., Pluymers, L. and Ollevier, F. (2001) Induction of Mouthpart Deformities in *Chironomus riparius* Larvae Exposed to 4-n-nonylphenol. *Environmental Pollution*, **111**, 241-246. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00068-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00068-3)
- [30] Mogren, C.L., von Kiparski, G.R., Parker, D.R. and Trumble, J.T. (2012) Survival, Reproduction, and Arsenic Body Burdens in *Chironomus riparius* Exposed to Arsenate and Phosphate. *Science of the Total Environment*, **425**, 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.009>

- [31] Berghahn, R., Mohr, S., Hübner, V., Schmiediche, R., Schmiedling, I., Svetich-Will, E. and Schmidt, R. (2012) Effects of Repeated Insecticide Pulses on Macroinvertebrate Drift in Indoor Stream Mesocosms. *Aquatic Toxicology*, **122-123**, 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.05.012>
- [32] Mclord, J.M. (1969) Superoxide Dismutase: An Enzymatic Function for Erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, **244**, 6049-6055.
- [33] Mann, T. and Keilin, D. (1938) Haemocuprein and Hepatocuprein, Copper-Protein Compounds of Blood and Liver in Mammals. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, **126**, 303-315.
- [34] 张坤生, 田荟琳. 过氧化氢酶的功能及研究[J]. 食品科技, 2007(1): 8-11.
- [35] 刘清, 王子健, 汤鸿霄. 重金属形态与生物毒性及生物有效性关系的研究进展[J]. 环境科学, 1996, 17(1): 89-92.
- [36] 陈菲. 汞和镉对花翅摇蚊幼虫(*Chironomus kiinensis*)的毒性效应[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017.
- [37] 曹传旺. 取代苯类有机污染物对摇蚊生态毒理作用研究[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [38] Pascoe, D., Brown, A.F., Evans, B.M.J. and McKavanagh, C. (1990) Effects and Fate of Cadmium during Toxicity Tests with *Chironomus riparius*: The Influence of Food and Artificial Sediment. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **19**, 872-877. <https://doi.org/10.1007/BF01055053>
- [39] Planello, R., Martfnez-Guitarte, J.L. and Morcillo, G. (2010) Effect of Acute Exposure to Cadmium on the Expression of Heat-Shock and Hormone-Nuclear Receptor Genes in the Aquatic Midge *Chironomus riparius*. *Science of the Total Environment*, **408**, 1598-1603. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.004>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2324-7967, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: ije@hanspub.org