

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00466

Cu²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺、Li⁺对西藏拟溞的急性与联合毒性效应

霍元子, 赵文, 魏杰

大连海洋大学 生命科学与技术学院, 辽宁省水生生物学重点实验室, 辽宁 大连 116023

摘要: 分别将 Cu²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺和 Li⁺按照等对数间距法设置浓度梯度, 测定其对西藏拟溞(*Daphniopsis tibetana* Sars)的急性毒性, 根据各单种金属的 48 h EC₅₀ 值, 按毒性 1:1 等距离设置浓度梯度测定这些金属离子对西藏拟溞的联合毒性。结果表明, 西藏拟溞对这 5 种金属离子表现出了较高的耐受性, 其毒性由强到弱依次为铜、锌、钴、镍、锂, 其 24 h EC₅₀ 分别为 12.75 mg/L、18.32 mg/L、83.26 mg/L、196.97 mg/L、386.34 mg/L; 48 h EC₅₀ 分别为 3.27 mg/L、4.96 mg/L、27.49 mg/L、66.09 mg/L 和 325.42 mg/L。联合毒性实验中, Cu+Zn、Co+Ni、Co+Li、Ni+Li、Co+Ni+Li、Cu+Zn+Li 和 Cu+Zn+Co+Ni+Li 对西藏拟溞的毒性效应为拮抗作用, 而 Cu+Zn+Li、Cu+Zn+Ni 和 Cu+Zn+Co+Ni 对西藏拟溞表现出先拮抗作用后协同作用的毒性效应。西藏拟溞对金属离子有较高的耐受性, 特别是对含有锂的金属离子组合往往表现为拮抗作用的特征, 这很可能是西藏拟溞在西藏高锂盐湖中可高密度存活和快速生长的适应性机制。本研究旨在了解西藏拟溞对金属离子的耐受性, 探讨其作为金属离子测试生物的可行性, 并为大规模培养中培养液条件优化提供理论依据。[中国水产科学, 2011, 18(2): 466–471]

关键词: 西藏拟溞; Cu²⁺; Zn²⁺; Co²⁺; Ni²⁺; Li⁺; 急性毒性; 联合毒性

中图分类号: Q142

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)02-0466-06

西藏拟溞(*Daphniopsis tibetana* Sars)是一种冷水性盐枝角类, 主要分布于中国西藏、青海、新疆等地以及前苏联、印度^[1-4]、伊朗(syn. *Daphnia fusca* Gurney)、帕米尔高原地区(syn. *Daphnia pamirensis* Rylov)和南极地带(syn. *Daphnia studerri* Rühe)^[5]。赵文等^[8]对西藏和新疆盐湖采得的西藏拟溞的形态^[6]、生态分布^[7]、染色体组型、耗氧率^[9]、营养成分^[10]、碱度和pH对其生长的影响^[11]以及海水中大量培养^[12]等方面进行了较详细的研究, 发现其在耐低温方面可弥补蒙古裸腹溞(*Moina mongolica*)不耐低温的缺憾, 虽然其生殖力低于裸腹溞属和溞属种类, 但仍高于海产桡足类, 有望克服蒙古裸腹溞在北方海水养殖中应用的局限性而被驯化为海产动物育苗活饵料和海水污染的

测试生物。

西藏拟溞自然生活的水体中 Li⁺的含量达到 10 mg/L 以上, 在长期自然驯化过程中已形成对金属离子的一定需求量; 另一方面, 某些金属离子是生物体必需的微量元素。因此, 本实验研究金属离子 Cu²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺和 Li⁺对西藏拟溞急性毒性和联合毒性效应, 旨在弄清西藏拟溞对金属离子的耐受性, 探讨其作为金属离子测试生物的可行性以及为大规模培养中培养液条件优化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用溞

西藏拟溞于 2001 年 12 月采自西藏纳木卡错,

收稿日期: 2010-04-28; 修订日期: 2010-06-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30671625; 40776065).

作者简介: 霍元子(1979-), 男, 博士, 讲师, 主要从事水产养殖学研究, 现在上海海洋大学水产与生命学院工作.

E-mail: yuan-zi1979-11@163.com

通讯作者: 赵文, 教授, 博士生导师. Tel. 0411-84762691; E-mail: zhaowen@dlou.edu.cn

驯养于盐度 15、温度 15℃的海水中, 饲以盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)。同批实验中取同一健康母蚤经孤雌生殖产生的同生群为实验对象。新生幼蚤体长(810±20) μm, 龄长<12 h。

1.2 实验条件

CuSO₄·5H₂O、ZnSO₄·7H₂O、CoCl₂·6H₂O、NiCl₂·6H₂O、LiCl·H₂O 均为分析纯, 用重蒸馏水溶解配制成母液, 加 1 滴优级纯的 HNO₃ 保存于棕色试剂瓶中。

取大连黑石礁近岸海域海水, 经0.45 μm微孔滤膜过滤, 除去浮游生物、颗粒、胶体及腐质, 然后再经重金属吸附剂以20~30 mL/min流过滤膜过滤海水, 除去离子态不稳定有机和无机络合态金属。

每次实验前后测定海水的理化条件, 即为毒性试验条件(表 1): 用 pHB-3 型精密酸度计测定 pH; 用 EDTA-Na₂ 络合法测定钙、镁离子; 用 ATAGO S-10 SALT(0-10)盐度计测定盐度; 溶解氧(DO)采用 Winkler 法; 碱度采用酸碱滴定法; 金属背景值用 746 VA Trace Analyzer 万通极谱仪测定。

表 1 5 种金属离子对西藏拟蚤的毒性试验条件
Tab. 1 Toxicity test conditions of 5 metal ions on *Daphnia*
psis tibetana

项目 item	数值 value
温度/ °C temperature	15 ± 0.5
光照强度/(μmol·m ⁻² ·s ⁻¹) light intensity	35.10~39.00
光照周期 L : D photoperiod	14:10
盐度 salinity	15 ± 0.5
pH	7.3 ± 0.1
DO/(mg·L ⁻¹)	8.01±0.20
Ca ²⁺ /(mg·L ⁻¹)	217.27±2.21
Mg ²⁺ /(mg·L ⁻¹)	702.97±2.15
总碱度/(mg·L ⁻¹) Alkalinity	81.35±3.16
Cu ²⁺ /(μg·L ⁻¹)	<0.32
Zn ²⁺ /(μg·L ⁻¹)	<0.56
Co ²⁺ /(μg·L ⁻¹)	未检出 undetectable
Ni ²⁺ /(μg·L ⁻¹)	未检出 undetectable
Li ⁺ /(μg·L ⁻¹)	79.09~84.55

1.3 急性毒性实验

以 24 h EC₅₀ 和 48 h EC₅₀ 值来表示 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性, 实验方法按照周永

欣和章宗涉^[13]的概率单位法进行, 浓度设置按照等对数间距法。根据预实验结果, Cu²⁺质量浓度为 0.53~30.0 mg/L, Zn²⁺质量浓度为 4.0~100.48 mg/L, Co²⁺质量浓度为 13.1~157.44 mg/L, Ni²⁺质量浓度为 40~276.73 mg/L, Li⁺质量浓度为 300.76~450.0 mg/L。由于 5 种金属离子浓度远高于背景浓度, 故未考虑实验溶液的背景浓度。在配制各系列试验浓度时, 是将母液按 10 的倍数稀释成各系列浓度。毒性实验是在盛有 50 mL 实验溶液的 60 mL 广口玻璃瓶中进行。每组均设置 3~6 个重复, 每个重复放入试验用幼蚤 10 只。每种金属离子的毒性实验均重复 3~5 次。

在每一次实验过程中, 每隔 4 h 在倒置显微镜下观察幼蚤的死亡和存活情况, 死亡判断采用国内外至今广泛采用的用“停止活动作为效应标准”^[14]。

1.4 联合毒性实验

依据浓度相加模式^[7]进行 5 种金属离子的毒性单位 1 : 1 的联合毒性试验。浓度设置根据单种金属的 48 h EC₅₀ 值, 按毒性 1 : 1 等距离设置(表 2)。联合毒性实验浓度设置 6~8 个梯度, 相应的毒性单位也为 6~8 个梯度。每个梯设置 3~6 个重复, 每一重复中放入实验用蚤 10 只。每组实验均重复 3~5 次。实验中, 西藏拟蚤死亡的观察及死亡的判断标准与急性毒性实验相同。

表 2 5 种金属离子对西藏拟蚤毒性比 1 : 1 的联合毒性
试验浓度设置

Tab. 2 Concentrations of joint toxicity tests of 5 metal ions
at 1:1 toxic ratio on *D. tibetana*

金属离子组合 combination of metal ions	等对数浓度范围/(mg·L ⁻¹) concentration ranges of equal logarithm	毒性单位范围 range of toxic unit
Cu+Zn	1.24~39.09	0.30~9.51
Co+Ni	17.71~280.72	0.38~6.00
Co+Li	66.80~1058.72	0.38~6.00
Ni+Li	74.11~1174.51	0.38~6.00
Cu+Zn+Li	42.10~667.28	0.38~6.00
Co+Ni+Li	52.87~837.98	0.38~6.00
Cu+Zn+Co	4.51~113.20	0.38~9.51
Cu+Zn+Ni	9.38~235.54	0.38~9.51
Cu+Zn+Co+Ni	9.63~242.01	0.38~9.51
Cu+Zn+Co+Ni+Li	32.35~812.51	0.38~9.51

当完成了混合毒性试验,得到了 24 h EC₅₀ 和 48 h EC₅₀ 时,用下列公式求得 TU₅₀:

$$TU_{50} = \frac{EC_{50m}}{(EC_{50})_1} + \frac{EC_{50m}}{(EC_{50})_2} + \frac{EC_{50m}}{(EC_{50})_3} + \cdots + \frac{EC_{50m}}{(EC_{50})_n}$$

式中: TU₅₀: 混合金属对生物作用之和; EC_{50m}: 混合金属对西藏拟蚤的 24 h EC₅₀ 或 48 h EC₅₀; (EC₅₀)₁, (EC₅₀)₂, (EC₅₀)₃.....(EC₅₀)_n: 为第 1、2、3.....n 种金属离子对西藏拟蚤的 24 h EC₅₀ 或 48 h EC₅₀ 值。

然后用以下公式将 TU₅₀ 转换成 AI₅₀:

当 TU₅₀ ≤ 1 时, AI₅₀ = {(1/ TU₅₀)-1};

当 TU₅₀ > 1 时, AI₅₀ = {(TU₅₀)-(-1)+1};

当 AI₅₀ > 0 为协同作用; AI₅₀ < 0 为拮抗作用; AI₅₀ = 0 为相加作用。并根据求得的 LC₅₀ 的 95% 置信区间, 求出 AI₅₀ 范围^[13]。

1.5 数据处理

实验结束后, 根据西藏拟蚤的死亡数, 应用 SPSS13.0 计算 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性 EC₅₀ 和联合毒性 EC₅₀, 并评价 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性和联合毒性效应。

2 结果与分析

2.1 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性

在解剖镜下观察发现, 西藏拟蚤对 5 种金属离子的中毒症状基本相似: 首先幼蚤急游, 第二触角和各胸肢挥动频率加快, 心搏率明显加快, 随后慢慢沉入水底, 对外界的刺激反应不敏感, 多数西藏拟蚤的后腹部卷曲, 壳瓣和后腹部间漏有较大缝隙, 心跳次数也逐渐减慢, 最后对外界刺激不再作出任何反应, 心跳停止而死亡。在高浓度组, 幼蚤在短期内就出现死亡, 而在低浓度组, 较长时间才会出现死亡, 有的个体呈现半麻醉的“假死”状态, 但当一移入无金属离子的培养液中时, 又缓慢恢复正常的生理机能。

Cu²⁺、Zn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺和 Li⁺对西藏拟蚤的 24 hEC₅₀ 和 48 hEC₅₀ 的值见表 3。经显著性检验可知, 5 种金属离子对西藏拟蚤的剂量与死亡率之间极显著正相关(P<0.01)。

表 3 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性试验结果
Tab. 3 Results of acute toxicity of 5 metal ions on *Daphnia-
psis tibetana*

金属离子 metal ion	时间/h time	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95%置信区间/(mg·L ⁻¹) confidence interval of 95 percent
Cu ²⁺	24	12.75	12.24–13.29
	48	3.27	3.23–3.30
Zn ²⁺	24	18.32	18.25–18.40
	48	4.96	4.70–5.23
Co ²⁺	24	83.26	82.62–83.91
	48	27.49	27.38–27.60
Ni ²⁺	24	196.97	192.53–198.84
	48	66.09	65.93–66.24
Li ⁺	24	386.34	386.21–386.46
	48	325.42	325.41–325.43

实验发现, Cu²⁺、Zn²⁺和 Ni²⁺对西藏拟蚤 24 h 和 48 h 毒性实验回归曲线的斜率比较接近, 说明这 3 种金属对西藏拟蚤毒性作用方式不随时间或浓度的改变而改变。相对于 Cu²⁺、Zn²⁺和 Ni²⁺, Co²⁺和 Li⁺对西藏拟蚤毒性实验回归曲线的斜率相差较大, 说明可能随着作用时间的延长, 其对西藏拟蚤的毒性行为或作用方式有所改变。根据实验结果, 可以得出 5 种金属离子对西藏拟蚤的毒性由强到弱依次为 Cu²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺、Co²⁺、Li⁺, 毒性顺序在 24 h 和 48 h 的毒性试验过程中没有发生改变。

2.2 5 种金属离子对西藏拟蚤的联合毒性

由表 4 可知, Cu+Zn、Co+Ni、Co+Li 和 Ni+Li 毒性比 1 : 1 时, 24 h 和 48 h 的 AI₅₀ 均小于零, 其联合毒性皆为拮抗作用, 说明 Cu²⁺与 Zn²⁺、Co²⁺与 Ni²⁺、Co²⁺与 Li⁺和 Ni²⁺与 Li⁺共存对西藏拟蚤作用时, 互相降低了毒性。3 种金属离子混合对西藏拟蚤的毒性作用较为复杂, Co+Ni/+Li 和 Cu+Zn+Co 实验组, AI₅₀ 值在 24 h 和 48 h 均小于零, 其联合毒性作用表现为拮抗; 西藏拟蚤在 Cu+Zn+Li 和 Cu+Zn+Ni 实验组, 24 h 的 AI₅₀ 值分别为-1.93 和 -3.34, 而 48 h 的 AI₅₀ 值分别为 0.85 和 0.58, 其联合毒性作用均表现为先拮抗后协同。Cu+Zn+Co+Ni 4 种金属离子对西藏拟蚤 24 h 和 48 h 的 AI₅₀ 值为-1.92 和 0.26, 其联合毒性作用表现为先拮抗后协同, 而 Cu+Zn+Co+Ni+Li 的 24 h 和 48 h 的 AI₅₀ 值均小于 0, 其联合毒性作用均表现为拮抗。

表 4 5 种金属离子等毒性对西藏拟蚤的联合毒性试验结果
Tab. 4 Results of joint toxicity tests of equivalent toxicity of 5 metal ions on *D. tibetana*

离子组合 combination of metal ions	时间/h time	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	TU ₅₀	AI ₅₀	联合毒性作用 joint toxicity
Cu+Zn	24	17.85(15.87–20.07)	4.34(3.86–4.88)	–3.34(–2.86 – –3.88)	拮抗 antagonism
	48	7.82(7.11–8.59)	1.90(1.73–2.09)	–0.90 (–0.73 – –1.09)	拮抗 antagonism
Co+Ni	24	91.92(91.62–92.22)	1.96(1.95–1.97)	–0.96(–0.95 – –0.97)	拮抗 antagonism
	48	66.10(65.37–66.83)	1.41(1.40–1.43)	–0.41(–0.40 – –0.43)	拮抗 antagonism
Co+Li	24	384.19(379.49–388.94)	2.18(2.15–2.20)	–1.18(–1.15 – –1.20)	拮抗 antagonism
	48	272.16(268.98–275.38)	1.54(1.52–1.56)	–0.54(–0.52 – –0.56)	拮抗 antagonism
Ni+Li	24	407.98(366.56–454.08)	2.08(1.87–2.32)	–1.08(–0.87 – –1.32)	拮抗 antagonism
	48	271.45(271.04–271.86)	1.39(1.39–1.39)	–0.39(–0.385 – –0.389)	拮抗 antagonism
Cu+Zn+Li	24	325.86(321.15–330.64)	2.93(2.89–2.97)	–1.93(–1.89 – –1.97)	拮抗 antagonism
	48	60.11(56.95–63.46)	0.54(0.51–0.57)	0.85(0.75 – 0.95)	协同 synergism
Co+Ni+Li	24	253.50(252.84–254.15)	1.82(1.81–1.82)	–0.82(–0.81 – –0.82)	拮抗 antagonism
	48	189.70(188.75–190.66)	1.36(1.35–1.37)	–0.36(–0.35 – –0.37)	拮抗 antagonism
Cu+Zn+Co	24	67.29(66.84–67.74)	5.65(5.61–5.69)	–4.65(–4.61 – –4.69)	拮抗 antagonism
	48	16.560(16.48–16.65)	1.39(1.38–1.40)	–0.39(–0.38 – –0.40)	拮抗 antagonism
Cu+Zn+Ni	24	114.93(105.06–125.72)	4.64(4.24–5.08)	–3.64(–3.24 – –4.08)	拮抗 antagonism
	48	15.63(14.08–16.27)	0.63(0.57–0.66)	0.58(0.52 – 0.76)	协同 synergism
Cu+Zn+Co+Ni	24	74.37(70.41–78.55)	2.92(2.77–3.09)	–1.92(–1.77 – –2.09)	拮抗 antagonism
	48	20.15(20.02–20.28)	0.79(0.79–0.80)	0.26(0.25 – 0.27)	协同 synergism
Cu+Zn+Co+Ni+Li	24	251.34(245.05–257.78)	2.94(2.87–3.02)	–1.94(–1.87 – –2.02)	拮抗 antagonism
	48	107.26(102.61–112.12)	1.26(1.20–1.31)	–0.26(–0.20 – –0.31)	拮抗 antagonism

注: 表中括号内的数字为 95%的置信区间。
Note: The numbers in parentheses is 95% confidence interval.

3 讨论

3.1 5 种金属离子对西藏拟蚤的急性毒性

5 种金属离子对西藏拟蚤的毒性顺序与修瑞琴等^[14]报道的重金属离子对卤虫的急性毒试验基本一致, 但本实验中 Co²⁺对西藏拟蚤的毒性大于 Ni²⁺。Cu²⁺是必需元素, 但要求生物体液中活性铜保持在低浓度, 否则它将取代其他必需金属或与大分子细胞结构络合而产生毒性。所以, Cu²⁺浓度稍高即可表现出毒性^[15]。同时, Cu²⁺与硫基基团有更高的亲和力, 因此就会置换金属硫蛋白中的 Zn²⁺^[16], 所以 Zn²⁺对机体的毒性比 Cu²⁺弱。而 Cu²⁺、Zn²⁺与细胞内硫基(SH)基团有高亲和力, 会置换细胞中已储存的金属硫蛋白库中的 Co²⁺、Ni²⁺、Li⁺等金属^[16], 因而 Co²⁺、Ni²⁺和 Li⁺对西藏拟蚤的毒性相对较弱。

与其他甲壳动物相比, 西藏拟蚤对 Cu²⁺的敏感性高于三叶真蟹(*Carcinus maenas*)^[17]、褐虾(*Crangon crangon*)^[17]、中国对虾幼虾(*Penaeus chinensis*)^[18]和班节对虾幼虾(*Penaeus monodon*)^[19], 与

卤虫(*Artemia salina*)^[14]相近, 而低于海洋桡足类^[20], 西藏拟蚤对 Zn²⁺的敏感性高于长臂虾(*Palaemon sp.*)^[32]、三疣梭子蟹(*Paragrapsus quadricentatus*)^[21]、长额虾(*Pandalus montagui*)^[17]、三叶真蟹^[17]、褐虾^[17]、美人虾(*Callinassa australiensis*)^[22]、卤虫^[14], 而低于其他海洋甲壳动物^[18,21,23-25], 西藏拟蚤对 Ni²⁺的敏感性高于卤虫^[14], 低于新糠虾(*Neomysis integer*)^[23]; 西藏拟蚤对 Co²⁺的敏感性高于卤虫^[14]。关于 Li⁺对其他甲壳类动物的毒性实验未见报道。

3.2 5 种金属离子对西藏拟蚤的联合毒性

重金属彼此间的相互作用有拮抗、协同、相加和致敏等 4 种。许多成对的金属离子在生物学上表现出拮抗作用, 如: Hg、Cu、Cd、Zn、Fe、Au、Mo、Cd、Co 和 Pb 等离子之间^[26], 也有很多金属混合对生物表现出明显的协同作用, 如 Zn、Cu 和 Cd 等离子^[26-30], 但 Zn 和 Cu 对虹鳟^[31]、Zn 和 Cd 对淡水虾(*Paratya tasmaniensis*)却表现出

直接的加和作用^[32]。从本实验的结果来看,含有 Li^+ 的金属离子组合对西藏拟蚤的毒性行为往往表现为拮抗作用。

金属离子发生拮抗作用,可能是竞争同一吸附位点所致^[33],也可能是毒性较弱的金属强烈诱导出金属硫蛋白后发生的置换反应的原因^[34],或是在细胞内发生反应变为毒性较小的化学形式^[35]。而随着时间的延长,细胞膜透性增加,金属离子大量进入细胞内,毒性增强。因而,有的金属离子组合对生物表现出先拮抗后协同作用。但是,相同的金属离子,彼此间的不同组合所表现出的致毒效应会有很大差异,这与不同假设模型的应用、不同的受试生物及其生理状态、不同的实验条件及受试生物对不同浓度金属的吸收速率的差异等有关^[36],还与生物对重金属的摄入方式及积累的组织部位有关。

3.3 西藏拟蚤对高浓度金属离子的适应性特征

西藏盐湖湖表卤水 Li^+ 含量非常高,平均达到了 320.4 mg/L ^[37],湖水中 Li^+ 含量也达到了很高的浓度,如在纳木卡错中 Li^+ 质量浓度达到了 10 mg/L 以上。迄今,在西藏至少 19 个湖泊中已有西藏拟蚤记录^[38]。如此高浓度的金属离子胁迫可能使西藏拟蚤在长期的进化过程中产生了适应高浓度金属离子的特殊机制,并且这种机制通过自然选择得以保存下来。本研究结果表明,西藏拟蚤对 5 种金属离子均有较高的耐受性,且含 Li^+ 的金属离子组合对西藏拟蚤的毒性行为往往表现为拮抗作用。这两种适应性特征可能就是西藏拟蚤在西藏高 Li^+ 湖泊中能够存活和繁衍的机制(r_m 为 $0.216 \sim 0.229 \text{ ind/d}$,未发表)。但关于这种作用的生理和分子机理还有待于进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 蒋燮治, 堵南山. 中国动物志—淡水枝角类[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 122–124.
- [2] 蒋燮治, 沈韞芬, 龚徇矩. 西藏无脊椎动物[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 443–492.
- [3] 赵文, 姜宏, 何志辉. 三北地区内陆盐水的浮游甲壳类[J]. 大连水产学院学报, 1996, 11(1): 1–13.
- [4] 赵文. 内陆盐枝角类研究述评[J]. 大连水产学院学报, 1991, 6(2): 31–41.
- [5] 沈嘉瑞, 宋大祥. 西藏枝角类的初步研究[J]. 动物学报, 1964, 16(1): 61–69.
- [6] 赵文, 王巧晗, 郑绵平, 等. 西藏拟蚤生物学的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17(3): 209–214.
- [7] 赵文, 王巧晗. 西藏拟蚤形态结构的再描述[J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(3): 165–173.
- [8] 赵文, 张鹏, 霍元子, 等. 西藏拟蚤的染色体核型研究[J]. 大连水产学院学报, 2004, 19(3): 167–170.
- [9] 赵文, 张琳, 霍元子. 温度、盐度和体长对西藏拟蚤(*Daphniopsis tibetana*)耗氧率的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(7): 1549–1553.
- [10] 赵文, 霍元子, 高敬. 西藏拟蚤营养成分的分析与评价[J]. 中国水产科学, 2006, 13(3): 446–451.
- [11] 赵文, 霍元子, 薛东宁. 碱度和 pH 对西藏拟蚤存活、生长和生殖的影响[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 332–338.
- [12] 霍元子, 赵文, 梁森. 海水中大量培养西藏拟蚤及作为红鳍东方鲀鱼苗活饵料的研究[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(4): 325–330.
- [13] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法(第一版)[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 114–122.
- [14] 修瑞琴, Dave. 硒及 6 种重金属离子对卤虫的毒性实验研究[M]. 卫生研究, 1992, 21(6): 298–300.
- [15] 李少菁, 王桂忠, 温卫华, 等. 重金属对日本对虾仔虾存活及代谢酶活力的影响[J]. 台湾海峡, 1998, 17(2): 115–120.
- [16] Viarengo A, Palmero S, Zanicchi G, et al. Role of metallothioneins in Cu and Cd accumulation and elimination in the gill and digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* Lam [J]. Mar Envir Res, 1985b, 16: 23–36.
- [17] Portmann J E. Progress report on a program of in septicide analysis and toxicity—testing in relation to the marine environment [J]. Helgolander Wiss Meeresunters, 1968, 17: 247–256.
- [18] 王安利, 王维娜, 李铁水, 等. 铜、锌、锰和铬对中国对虾仔虾的急性致毒及相互关系的研究[J]. 海洋学报, 1992, 14(4): 134–139.
- [19] Chen J C, Lin C H. Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 2001, 192: 55–65.
- [20] Reeve M R, Gamble J C, Walter M A. Experimental Observations on the Effects of Copper on Copepods and Other Zooplankton: Controlled Ecosystem Pollution Experiment [J]. Bull Mar Sci, 1977, 27(1): 92–104.
- [21] Ahsanullah M. Acute toxicity of zinc and cadmium to seven invertebrate species from Western Port, Victoria [J]. Aust J Mar Freshw Res, 1976, 27: 187–196.
- [22] Ahsanullah M, Negilski D S, Mobley M C. Toxicity of Zinc, Cadmium and Copper to the Shrimp *Callinassa australiensis* I. Effects of Individual Metals[J]. Mar Biol, 1981, 64: 299–304.
- [23] Verslycke T, Vangheluwe M, Heijerick D, et al. The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 64: 307–315.
- [24] 许章程, 洪丽卿, 郑邦定. 重金属对几种海洋双壳类和甲

- 壳类生物的毒性[J]. 台湾海峡, 1994, 13(4): 381–387.
- [25] Eisler R, Hennekey R J. Acute toxicities of Cd^{2+} , Cr^{6+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} to estuarine macrofauna [J]. Arch Env Contam Toxicol, 1977, 6: 315–323.
- [26] Kuang Q J, Xia Y Z, Hui Y. Toxic effects of heavy metals on algae [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1996, 20(3): 277–283.
- [27] Eaton J B. Chronic toxicity of a copper, cadmium and zinc mixture to the fathead minnow [J]. Wat Res, 1973, 7: 1723–1736.
- [28] Eisler R, Gardner G R. Acute toxicology to an estuarine teleost of mixtures of cadmium, copper and zinc salts [J]. J Fish Biol, 1973, 5: 131–42.
- [29] D' Agostino A, Finney C. The effect of copper and cadmium on the development of *Tigriopus japonicus*. In: Pollution and physiology of marine organisms [M]. Ed. Vernberg F J, Vernberg W B. New York: Academic Press, 1974.
- [30] Brow V W, Dalton R A. The acute lethal toxicity to rainbow trout of mixtures of copper, phenol, zinc and nickel [J]. J Fish Biol, 1970, 2: 211–217.
- [31] Curtis M W, Ward C H. Aquatic toxicity of forty industrial chemicals: Testing in support of hazardous substances spill prevention regulation [J]. J Hydrol, 1981, 51: 359–367.
- [32] Thorp V J, Lake P S. Toxicity bioassays of cadmium on selected freshwater invertebrates and interaction of cadmium and zinc on freshwater shrimp, *Paratya tasmaniensis* Riek [J]. Australia Journal of marine and freshwater Research, 1974, 25: 97–104.
- [33] Hagopian-Schlekat T, Chandler GT, Shaw T J. Acute toxicity of five sediment-associated metals, individually and in a mixture to the estuarine meiobenthic harpacticoid copepod *Amphiascus tenuiremis* [J]. Mar Envir Res, 2001, 51: 247–264.
- [34] 吴瑜端, 郑志宏. 海洋重金属生物地球化学与海洋环境保护[J]. 海洋环境科学, 1987, 6(3): 39–48.
- [35] Gotsis O. Combined effects of Se/Hg and Se/Cu on the cell population of alga *Dunaliella minuta* [J]. Mar Biol, 1982, 71: 217–222.
- [36] Negilski D S, Ahsanullah M, Mobley M C. Toxicity of zinc, cadmium and copper to the shrimp *Callinassa australiensis* II. Effects of Paired and Triad Combinations of Metals [J]. Mar Biol, 1981, 64: 305–309.
- [37] 罗莎莎, 郑绵平. 西藏地区盐湖锂资源的开发现状[J]. 地质与勘探, 2004, 40(3): 11–14.
- [38] 袁显春, 郑绵平, 赵文, 等. 西藏阿里地区盐湖浮游生物生态调查[J]. 地质学报, 2007, 81(12): 1754–1763.

Acute and joint toxicity of Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Li^+ to *Daphniopsis tibetana* Sars

HUO Yuanzi, ZHAO Wen, WEI Jie

Liaoning Provincial Key Laboratory of Hydrobiology, College of Life Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

Abstract: Toxic effects of Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Li^+ on *Daphniopsis tibetana* were tested in laboratory. The results of acute toxic test showed that *D. tibetana* had high tolerance to the 5 metals, and the order of the toxicity of these metals to *D. tibetana* was $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Li}^+$. The values of 24 h EC_{50} of the 5 metals on *D. tibetana* were 12.75 mg/L, 18.32 mg/L, 83.26 mg/L, 196.97 mg/L and 386.34 mg/L, respectively, and were 3.27 mg/L, 4.96 mg/L, 27.49 mg/L, 66.09 mg/L and 325.42 mg/L for 48 h, respectively. The results of joint toxicity showed that the effects of equivalent toxicity of Cu+Zn, Co+Ni, Co+Li, Ni+Li, Co+Ni+Li, Cu+Zn+Co and Cu+Zn+Co+Ni+Li on *D. tibetana* were antagonistic, but the effects of equivalent toxicity of Cu+Zn+Ni, Cu+Zn+Li and Cu+Zn+Co+Ni were antagonistic at 24 h, while synergetic at 48 h. From the results we can speculate that *D. tibetana* has high tolerance to metal ions and combination of metal ions. Particularly, *D. tibetana* always show antagonism to combinations containing Li^+ . These two aspects, rapid growth and fast reproduction, could be explained as adaptive mechanism of *D. tibetana* under high concentrations of metals in saline lakes in Tibet, especially under high concentration of Li^+ . [Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 466–471]

Key words: *Daphniopsis tibetana* Sars; Cu^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} ; Ni^{2+} ; Li^+ ; acute toxicity; joint toxicity

Corresponding author: ZHAO Wen. E-mail: zhaowen@dlou.edu.cn