

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16177

海水和饲料中 Pb 在凡纳滨对虾体内的富集与释放特性

张美琴¹, 卢元玲², 吴光红¹, 张文³, 邵俊杰¹

1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;

2. 南京师范大学, 江苏 南京 210097;

3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 271000

摘要: 为获知海水和饲料中重金属 Pb 与凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)各组织间的富集与释放特性, 应用生物富集双箱动力学模型, 模拟凡纳滨对虾分别在海水中 Pb 浓度为 0.0015 mg/L(B0)、0.0080 mg/L(B1)、0.0466 mg/L(B2) 和 0.2302 mg/L(B3), 饲料中 Pb 浓度为 2.089 mg/kg(A0)、2.750 mg/kg(A1)、6.103 mg/kg(A2)和 14.520 mg/kg(A3) 的驯养过程中, 其肝胰腺、外骨骼和肌肉对 Pb 的生物富集与释放特性, 为 Pb 在凡纳滨对虾体内的分布、富集和迁移提供理论依据, 为其安全生产提供指导意义。同时通过非线性拟合得到凡纳滨对虾对海水和饲料中 Pb 的富集速率常数 K_1 、排出速率常数 K_2 、生物富集系数 BCF、生物半衰期 $B_{1/2}$, 富集平衡时生物体内 Pb 含量 C_{Amax} 等动力学参数。结果显示: (1) 投喂任一浓度饲料时, B0、B1、B2 组凡纳滨对虾肌肉、外骨骼和肝胰腺组织中 Pb 含量均小于限量值 0.5 mg/kg, 而在 B3 海水浓度中, 随着投喂饲料浓度的增大, 各组织中 Pb 累积量高于限量值(0.5 mg/kg) 的时间出现得越来越早; 肝胰腺中 Pb 的释放速率高于肌肉和外骨骼的释放速率。(2) 用 SPSS18.0 对饲料 Pb 含量、海水浓度、富集时间进行三因素重复测量方差分析显示, 饲料浓度、海水浓度和富集时间对凡纳滨对虾各组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异[除了饲料浓度对凡纳滨对虾外骨骼组织中 Pb 富集主效应达到边缘显著($F=2.351$, $P=0.071$)], 且饲料、海水及时间交互效应分析显示, 三者交互作用显著。(3) 用 SPSS18.0 对不同组织中 Pb 的富集含量、饲料浓度、海水浓度和富集时间进行多元回归分析, 结果显示: 在凡纳滨对虾各组织间 Pb 富集过程中, 海水中 Pb 浓度的贡献率大于饲料中 Pb 浓度的贡献率。(4) 达到平衡状态下, 投喂 A0 饲料浓度, 生长在 B0~B3 组海水中, 凡纳滨对虾肌肉组织中 Pb 含量为 0.128~2.981 mg/kg, 肝胰腺组织中 Pb 含量为 0.399~4.765 mg/kg; 生物学半衰期($B_{1/2}$)范围分别为 5~7 d 和 3~7 d。投喂 A2 饲料浓度, 生长在 B0~B3 组海水中, 凡纳滨对虾肌肉组织中 Pb 含量为 0.380~1.000 mg/kg, 肝胰腺组织中 Pb 含量为 0.288~5.355 mg/kg; 生物学半衰期($B_{1/2}$)范围分别为 2~7 d 和 2~5 d。理论平衡浓度下, 肝胰腺组织中含量均大于肌肉。

关键词: 凡纳滨对虾; 海水; 饲料; Pb; 富集; 释放

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)02-0374-13

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 又名白皮虾、白对虾, 原产自中、南美洲太平洋沿岸的温暖水域, 是世界三大养殖虾类(中国对虾、凡纳滨对虾和斑节对虾)中单产最高的对虾种类, 适合集约化高产养殖^[1]。凡纳滨对虾营养均衡, 是一种高蛋白、高矿物质、高不饱和脂肪酸的虾类资源, 丰富的营养物质深得消费者喜爱。随着生活水平

的提高, 人们对食用水产品的质量提出了更高的要求, 不仅追求味美、营养, 而且要求安全卫生。重金属因其可以在生物体内大量积累, 人摄食重金属大量富集的食物后, 会严重影响身体健康, 对人体的毒害具有积累性和持久性^[2-3], 且铅对人体的伤害是不可逆的, 特别是对儿童骨骼的发育及智力等方面的伤害更甚^[4-6]。目前, 重金属在

收稿日期: 2016-06-21; 修订日期: 2016-07-06.

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目[(CX(13)3095)]; 江苏省科技基础设施建设计划(BM2015018).

作者简介: 张美琴(1969-), 女, 硕士, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与加工.

通信作者: 吴光红, 研究员. E-mail: ghwu2007@163.com

水生生物的研究方面主要集中在对水体中重金属富集吸收^[7-9], 对饲料中 Pb 富集吸收情况研究较少^[10], 作为影响凡纳滨对虾富集重金属最重要的两个来源—水环境和饲料, 关于其与凡纳滨对虾体内重金属关系的研究尚未见报道。本实验开展了海水和饲料中 Pb 在凡纳滨对虾组织器官中的富集与释放特性实验, 研究海水和饲料对凡纳滨对虾体内重金属富集的贡献率, 对凡纳滨对虾安全养殖、品质保证具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 凡纳滨对虾取自江苏省连云港市赣榆区海头镇, 体重(0.15±0.03) g, 体长(25±3.2) mm。实验前流水暂养 1 周, 挑选生长良好的数量约 16000 个个体进行实验。

1.1.2 试剂 实验用重金属试剂为乙酸铅(C₄H₆O₄Pb·3H₂O), 购自浙江省温州市东升化工试剂厂。

1.1.3 海水 实验所需海水来自养殖场, 海水 pH 7.8~8.5, 盐度为 25, 实验期间水温控制在(20±2.3)℃。该海水中 Pb 本底浓度范围为 1.42×10⁻³~1.46×10⁻³ mg/L; Cd 未检出, 符合《中华人民共和国国家标准 国家渔业水质标准》(GB 11607-89) 的规定。将该海水设为对照组(B0 海水), 以 GB 11607-89 中 Pb 的限量值 0.05 mg/L 作为中等

浓度组(B2)。在此基础上分别缩小和扩大 4 倍, 作为实验的 B1 浓度组(0.01 mg/L)和 B3 浓度组(0.25 mg/L), 每个浓度设 3 个重复。为保证海水中重金属浓度的稳定, 每隔 5 d 监测一次 Pb 和 Cd 的浓度, 若浓度变化明显, 则及时更换海水(此配置过程扣除海水中重金属浓度的本底值)。凡纳滨对虾在实验场专用的长方形水泥池(5.0 m×2.2 m×1.2 m)中进行。B0 组(海水, 对照组)Pb 实测浓度为(0.0015±1.72×10⁻⁴) mg/L, B1 海水 Pb 实测浓度为(0.0080±1.6×10⁻⁴) mg/L, B2 海水 Pb 实测浓度为(0.0466±6.5×10⁻⁴) mg/L, B3 海水 Pb 实测浓度为(0.2302±5.37×10⁻³) mg/L (表 1)。释放阶段, 将养殖海水全部换成对照组海水进行实验。

1.1.4 饲料 购自深圳市奥华农牧有限公司生产的高免疫抗应激型对虾保健饲料, 并设为对照组(A0), 以 NY 5072-2002《无公害食品渔用配合饲料安全限量》^[12]中 Pb 的限量值 5.0 mg/kg 作为中等浓度组(A2), 以它的一半浓度(2.5 mg/kg)作为实验的 A1 浓度组, 3 倍浓度(15.0 mg/kg)作为实验的 A3 浓度组, 每个浓度设 3 个重复, 进行实验用饲料的生产。A0 饲料(对照组)中 Pb 的实测含量为(2.089±0.23) mg/kg, A1 饲料中 Pb 的实测含量为(2.750±0.58) mg/kg, A2 饲料中 Pb 的实测含量为(6.103±0.25) mg/kg, A3 饲料中 Pb 的实测含量为(14.520±0.28) mg/kg (表 2)。释放阶段, 将饲料全部换成对照组饲料进行实验。

表 1 海水 Pb 浓度梯度组设置
Tab. 1 Pb concentrations of sea water

项目 item	海水组 sea water group			
	B0 (control)	B1	B2	B3
设计值 designing value	1.42×10 ⁻³ ~1.46×10 ⁻³	0.01	0.05	0.25
实测值/(×10 ⁻⁴) measured value	15±1.72	80.0±1.6	466.0±6.5	2302.0±53.7

表 2 饲料 Pb 水平梯度组设置
Tab. 2 Pb level in diets

项目 item	饲料组 diet group			
	A0 (control)	A1	A2	A3
设计值 designing value	5.0	2.5	5.0	15.0
实测值 measured value	2.089±0.23	2.750±0.58	6.103±0.25	14.520±0.28

1.2 方法

实验分富集和释放两部分,其中富集实验为期 30 d,释放实验为期 27 d。将凡纳滨对虾置于实验场专用的长方形水泥池(5.0 m×2.2 m×1.2 m)中进行,约 16000 只健康凡纳滨对虾(雌雄各半)随机投放到 16 个实验水泥池(编号为 1#~16#),养殖期间 16 个水泥池的虾均生长良好,无大面积死亡。每天 6 时、12 时、18 时投喂饲料,每个实验水池每次投喂的饲料量相同,投喂量为凡纳滨对虾自身体重的 5%~6%。

本研究对两因素四水平进行全组实验,共 16 组。研究海水和饲料中 Pb 和 Cd 在凡纳滨对虾的肌肉、肝胰腺、外骨骼 3 个组织中的富集与释放特性,用实验浓度下的海水和饲料对凡纳滨对虾进行养殖,研究肝胰腺、外骨骼和肌肉对 Pb 的生物富集与释放情况。

整个实验过程共抽样 12 次,分别于富集的第 0、3、6、11、17、24、30 天,释放的第 3、7、13、18、27 天,从各实验池中取样(取样时关注对虾的脱壳情况,在脱壳高峰前后增加抽样频次)。

1.3 样品分析

凡纳滨对虾体内 Pb 的测定标准方法见 GB 5009.12-2010《食品安全国家标准 食品中铅的测定》,限量值参照 GB 2762-2012《食品安全国家标准 食品中污染物限量》的规定。

1.4 数据统计方法

运用双箱动力学模型^[12-15]计算理论平衡状态下的重金属动力学参数。采用 SPSS18.0、OriginPro 8 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 凡纳滨对虾的不同组织对 Pb 的富集与释放特性

2.1.1 凡纳滨对虾体内肌肉组织中 Pb 含量变化趋势 由图 1 可知,投喂 A0 饲料时(图 1-A0),凡纳滨对虾肌肉中 Pb 含量变化趋势如下:在 0~6 d 内增加较多,且趋势相似;6~17 d,增长幅度变缓;17~30 d, B3 海水浓度中,肌肉中 Pb 含量再次有较大幅度增加, B1 海水和 B2 海水浓度中肌肉中 Pb 含量趋于平缓;30~33 d 内,缓慢下降趋于平

缓。B0、B1、B2 海水浓度中肌肉组织中 Pb 含量在整个富集释放阶段均低于限量值 0.5 mg/kg, B3 海水浓度中富集 17 d 后,肌肉组织中 Pb 含量大于 0.5 mg/kg。

投喂 A1 饲料时(图 1-A1),凡纳滨对虾肌肉中 Pb 含量变化趋势如下: B0、B1 海水和 B2 海水浓度中肌肉中 Pb 含量变化趋势与 A0 组相似; B3 海水浓度中,0~30 d 内,肌肉中 Pb 含量显著增加,在富集的第 6 天左右,肌肉组织中 Pb 含量大于 0.5 mg/kg,30~56 d 开始减少趋于平缓。

投喂 A2 饲料时(图 1-A2),凡纳滨对虾肌肉中 Pb 含量变化趋势如下:0~11 d 内增加幅度较大,不同海水浓度增长速率不同,其中 B3 海水和 B2 海水增长趋势相似, B0 海水和 B1 海水增长趋势相似;11~30 d 内, B3 海水浓度中 Pb 含量继续增加,其他海水浓度中,增长缓慢并逐渐趋于平缓;30~33 d,缓慢下降,33 d 趋于平缓; B3 海水浓度中,在富集的第 4 天左右肌肉组织中 Pb 含量大于 0.5 mg/kg,整个释放阶段 Pb 含量大于 0.5 mg/kg。

投喂 A3 饲料时(图 1-A3),凡纳滨对虾肌肉中 Pb 含量变化趋势如下:对于 B3 海水,0~3 d, Pb 含量增加较多,3~24 d 内,呈现稳定-增长-稳定-增长的变化,并在富集的第 24 天达到极大值,24~56 d,开始缓慢下降。对于 B2 海水,0~6 d,增长较快,6~30 d,增长缓慢逐渐趋于平缓。 B1 和 B0 海水浓度中 Pb 含量变化趋势一致。 B3 海水浓度中,富集的第 3 天肌肉组织中 Pb 含量大于 0.5 mg/kg;从富集的第 3 天开始至释放实验结束,肌肉组织中 Pb 含量均大于限量值 0.5 mg/kg。

由图 1 可知,投喂任一浓度饲料时, B0、B1、B2 浓度海水凡纳滨对虾肌肉组织中 Pb 含量均小于限量值 0.5 mg/kg;而在 B3 海水浓度中,随着投喂饲料浓度的增大,肌肉组织中 Pb 累积量高于限量值 0.5 mg/kg 的时间出现得越来越早。

2.1.2 凡纳滨对虾体内外骨骼组织中 Pb 含量变化趋势 由图 2 可知, A0、A1(图 2-A0,图 2-A1)组凡纳滨对虾外骨骼中 Pb 含量变化趋势如下:对于 B3 海水,有显著的增长和下降;而与 B3 相比, B0、B1、B2 海水中的 Pb 含量增长和下降都较为平缓,并且在富集的第 11 天左右外骨骼中 Pb 含

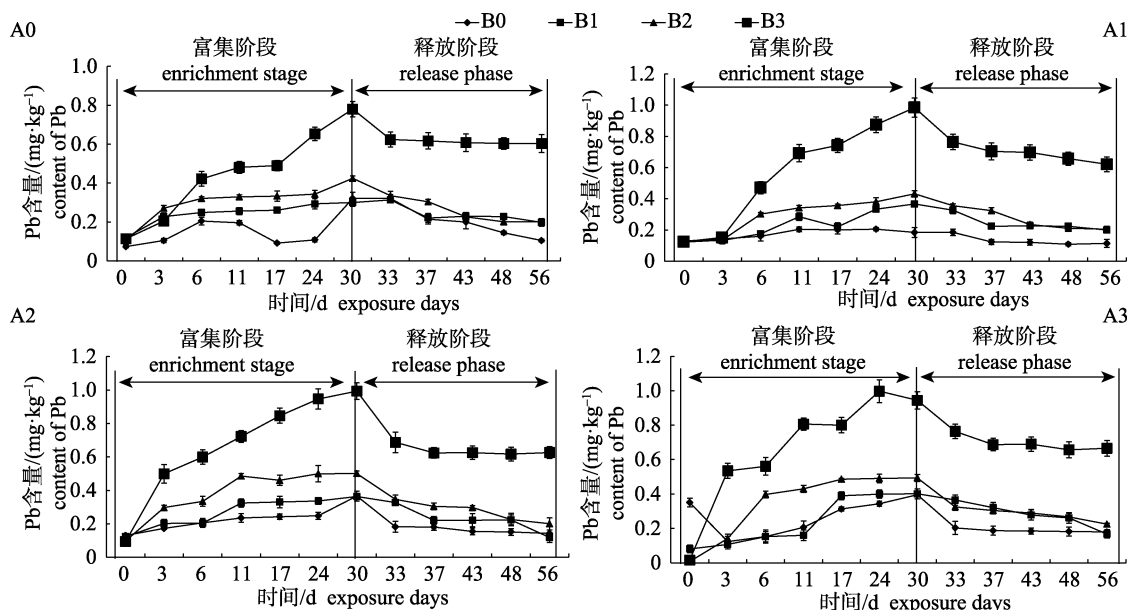


图 1 凡纳滨对虾肌肉组织中 Pb 含量

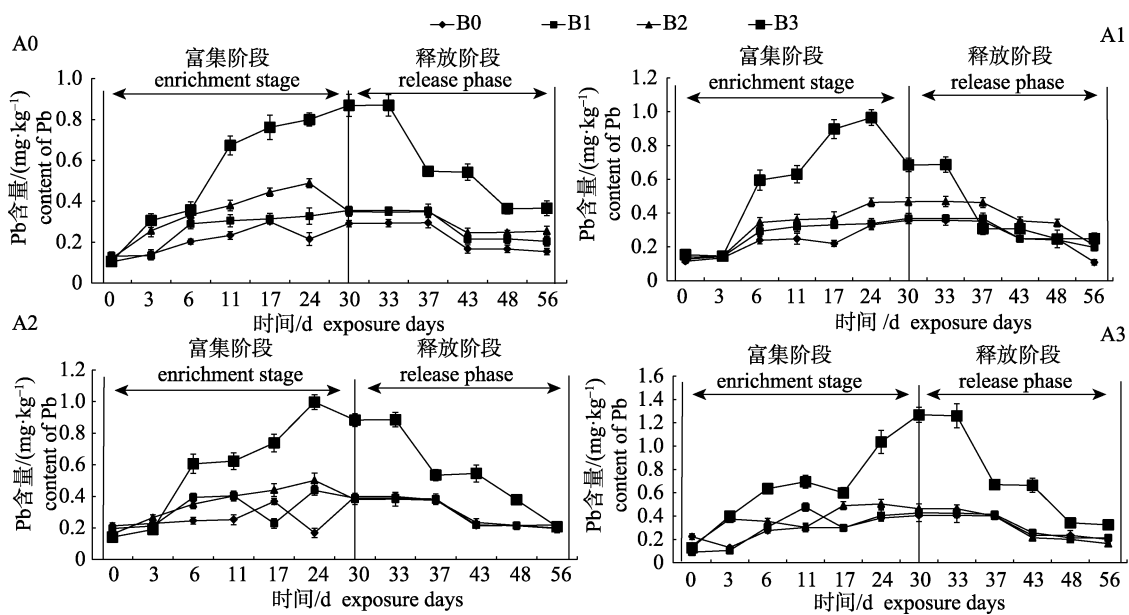
Fig. 1 Pb content in the muscle tissue of *Litopenaeus vannamei*

图 2 凡纳滨对虾外骨骼组织中 Pb 含量

Fig. 2 Pb content in the exoskeleton organization of *Litopenaeus vannamei*

量高于限量值 0.5 mg/kg, 释放阶段末期, 低于限量值。

A2 组中(图 2-A2), 凡纳滨对虾外骨骼中 Pb 含量变化趋势如下: B3 海水和 B2 海水中 Pb 含量增长速率不同, B3 海水>B2 海水; B0 海水和 B1 海水 Pb 含量变化整体较为平缓, B3 海水浓度中, 在富集的第 6 天, 外骨骼中 Pb 含量高于限量值。

其他海水浓度中整个富集释放阶段都低于限量值。

A3 组中(图 2-A3), 凡纳滨对虾外骨骼中 Pb 含量变化趋势如下: 与 A0、A1 组相似, 对于 B3 海水, 增长和下降的幅度都较大; 与 B3 相比, B0、B1、B2 海水中的 Pb 含量增长和下降都较为平缓。

由图 2 可知, 投喂任一浓度饲料时, B0、B1、B2 浓度海水凡纳滨对虾外骨骼中 Pb 含量均小于

限量值 0.5 mg/kg, 而在 B3 海水浓度中, 随着投喂饲料浓度的增大, 组织中 Pb 累积量高于限量值 0.5 mg/kg 的时间出现得越来越早。

2.1.3 凡纳滨对虾体内肝胰腺组织中 Pb 含量变化趋势 由图 3 可知, A0 组凡纳滨对虾肝胰腺中 Pb 含量变化趋势如下: 0~3 d, 增长缓慢, 且各海水浓度下变化趋势相似。在 B3 海水浓度中, 6~11 d, Pb 含量增加幅度较大; 11~17 d, Pb 含量保持稳定; 17~30 d, 再次有较大增加并于富集第 30 天达到极大值; 30 d 后, 开始释放, 并逐渐趋于平缓。而 B0、B1 海水富集释放变化平缓, Pb 含量一直保持平稳较低水平, 低于限量值; B2 海水浓度中在富集 6 d 后, 肝胰腺中 Pb 含量高于限量值; B3 海水浓度中富集 4 d 后含量高于限量值。

A1 组凡纳滨对虾肝胰腺中 Pb 含量变化趋势如下: 对于 B3 海水, 0~6 d, 增长较为缓慢; 6~11 d, 增加幅度较大; 11~30 d, 增长再次变缓, 并于富集第 30 天达到极大值。释放阶段与 A0 组相似。而 B0、B1、B2 富集释放变化也与 A0 组相似, B3 在富集第 3 天含量高于限量值。

由图 3 可知, A2 组凡纳滨对虾肝胰腺中 Pb 含

量变化趋势如下: 0~3 d, 增长缓慢。A2 组中凡纳滨对虾肝胰腺中 Pb 含量变化趋势如下: B0、B1 浓度中 Pb 含量一直保持平稳较低的水平, 低于限量值; B2 中在富集第 3 天高于限量值; B3 浓度中在富集第 3 天高于 0.8 mg/kg。A3 组中, 凡纳滨对虾肝中 Pb 含量变化趋势如下: B3 海水中 Pb 含量变化与图 1 相似, 增长和下降幅度都较大; B0 和 B1 浓度海水均保持平稳较低的水平, 低于限量值。B2 海水在 0~11 d 增长缓慢; 11~17 d, 增长较大; 17~24 d, 下降幅度较大; 24~30 d, 增长幅度较大; 30 d 后, 缓慢降低。B2、B3 在富集第 3 天含量高于 0.8 mg/kg。

由此可见, 投喂不同浓度饲料时, 与肌肉和外骨骼相似, 在 B0、B1 浓度海水中, 肝胰腺组织中 Pb 含量均低于限量值 0.5 mg/kg, 并且在 B3 浓度海水中 Pb 的富集速率大于其他海水水平。释放阶段, 肝胰腺中 Pb 的释放速率高于肌肉和外骨骼的释放速率。

2.2 凡纳滨对虾不同组织富集的多因素方差分析

用 SPSS18.0 对饲料浓度、海水浓度、富集时

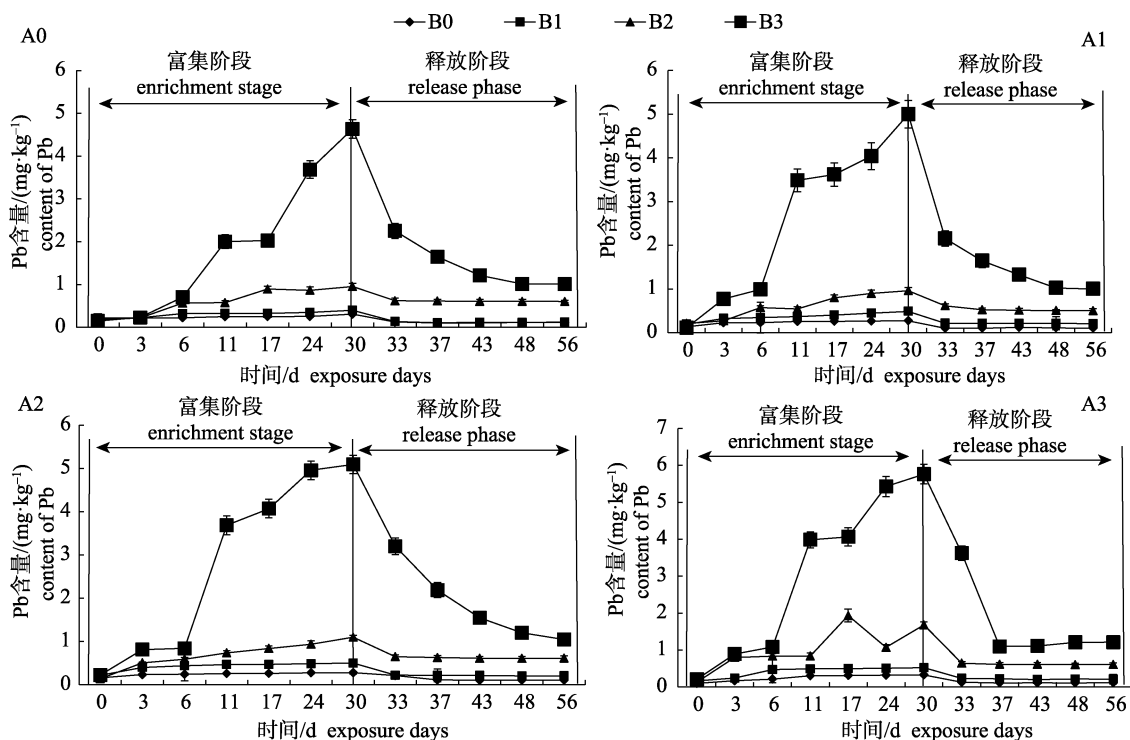


图 3 凡纳滨对虾肝胰脏组织中 Pb 含量

Fig. 3 Pb content in liver pancreas tissue of *Litopenaeus vannamei*

间进行三因素重复测量方差分析, 因变量为不同组织中 Pb 的富集含量。

2.2.1 饲料、海水和富集时间的三因素效应分析

凡纳滨对虾肌肉、肝胰腺和外骨骼组织中饲料、海水及时间主效应分析见表 3。由表 3 可知, 饲料浓度对肌肉和肝胰腺中 Pb 富集主效应非常显著, 但对外骨骼组织中 Pb 富集主效应是边缘显著 ($F=2.351$, $P=0.071$), 随着饲料浓度的变化, 肌肉和肝胰腺中 Pb 的富集含量出现显著性差异。海水浓度和富集时间对凡纳滨对虾肌肉、肝胰腺和外骨骼组织中 Pb 富集主效应都非常显著, 随着海水浓度的变化和富集时间的延长, 凡纳滨对虾肌肉、肝胰腺和外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异。饲料、海水及时间交互效应分析显示, 三者交互作用显著。

1) 凡纳滨对虾肌肉组织中饲料、海水及富集时间的效应分析

(1) 在养殖初始阶段的第 3 天和第 6 天肌肉组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异, 其他富集阶段肌肉组织中 Pb 含量无显著性差异。在富集的第 3 天 B0 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.105 mg/kg、0.138 mg/kg、0.172 mg/kg、0.124 mg/kg; 在富集的第 3 天 B3 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.205 mg/kg、0.152 mg/kg、0.499 mg/kg、0.535 mg/kg; 在富集的第 6 天 B1 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.249 mg/kg、2.583 mg/kg、0.204 mg/kg、0.152 mg/kg。

(2) 随着海水中 Pb 浓度的变化, 在 A0 饲料的水平上, 肌肉组织中 Pb 含量在富集的各阶段没

有显著性的差异, 如在富集的第 3 天 A0 饲料的水平上, 随着海水浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.105 mg/kg、0.228 mg/kg、0.271 mg/kg、0.205 mg/kg; 在富集的第 17 天 A0 饲料的水平上, 随着海水浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 含量差异不显著, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.092 mg/kg、0.261 mg/kg、0.333 mg/kg、0.490 mg/kg; 在富集的第 24 天和第 30 天, 随着海水浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 含量差异达到了边缘显著水平, 肌肉组织中 Pb 的含量分别为 0.109 mg/kg、0.294 mg/kg、0.344 mg/kg、0.654 mg/kg, 以及 0.322 mg/kg、0.300 mg/kg、0.425 mg/kg、0.781mg/kg。从富集第 3 天开始, 除 A0 饲料水平上, 在其他饲料 Pb 水平上肌肉组织中 Pb 含量差异均达到了显著性水平; 随着海水浓度的增大, 肌肉组织中 Pb 的含量逐渐增多。

(3) 投喂 A0 饲料和 A2 饲料时, 各海水浓度的肌肉组织中 Pb 含量差异不显著, 投喂 A1 和 A3 饲料时, 各个海水浓度的肌肉组织中 Pb 含量差异显著。

2) 凡纳滨对虾肝胰腺组织中饲料、海水及富集时间的效应分析

(1) 在养殖初始阶段的第 11 天、第 17 天及第 30 天 B3 海水的水平上, 肝胰腺中 Pb 的富集含量差异显著 ($P<0.05$) 或边缘性显著 ($P=0.071$), 其他富集阶段和海水浓度水平上肝胰腺中 Pb 含量无显著性差异。在富集的第 11 天 B3 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 肝胰腺中 Pb 的含量分别为 2.001 mg/kg、3.487 mg/kg、3.687 mg/kg、3.988 mg/kg; 在富集的第 17 天 B3 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 肝胰腺中 Pb 的含量达到边缘性显著差

表 3 凡纳滨对虾不同组织中饲料、海水及时间主效应分析
Tab. 3 Feed, seawater and time main effect analysis in different tissues of *Litopenaeus vannamei*

组织 organization	A(饲料 feed)		B(海水 seawater)		T(富集时间 enrichment time)		A×B×T	
	F	sig.	F	sig.	F	sig.	F	sig.
肌肉 muscle	6.893***	0.000	72.323***	0.000	41.029***	0.000	7.426***	0.000
肝胰腺 hepatopancreas	629104.887***	0.000	23910225.857***	0.000	4499038.603***	0.000	36106.767***	0.000
外骨骼 exoskeleton	2.351	0.071	66.062***	0.000	28.837***	0.000	6.079***	0.000

注: “*”为 0.05 水平上显著, “**”为 0.01 水平上显著, “***”为 0.001 水平上显著。
Note: “*” means significant difference at 0.05; “**” means significant difference at 0.01; “***” means significant difference at 0.001.

异($P=0.071$), 分别为 2.029 mg/kg、3.620 mg/kg、4.071 mg/kg、4.066 mg/kg; 在富集的第 30 天 B3 海水的水平上, 随着饲料 Pb 水平的增大, 肝胰腺中 Pb 的含量差异性显著($P=0.000$), 肝胰腺中 Pb 的含量分别为 4.636 mg/kg、4.999 mg/kg、5.094 mg/kg、5.765 mg/kg。

(2) 在富集的第 3 天 A3 饲料水平上, 肝胰腺中 Pb 的富集含量差异显著, 随着海水浓度的增大, 肝胰腺中 Pb 的含量分别为 0.168 mg/kg、0.242 mg/kg、0.8 mg/kg、0.892 mg/kg; 在富集的第 6 天 A1 饲料和 A3 饲料水平上肝胰腺中 Pb 的富集含量差异也都显著($P<0.05$), 随着海水浓度的增大, A1 饲料水平上肝胰腺中 Pb 的含量分别为 0.228 mg/kg、0.345 mg/kg、0.575 mg/kg、0.989 mg/kg; A3 饲料水平上肝胰腺中 Pb 的含量分别为 0.212 mg/kg、0.47 mg/kg、0.837 mg/kg、1.082 mg/kg; 在富集的第 11 天、第 17 天、第 24 天、第 30 天在饲料的全部水平上肝胰腺中 Pb 的含量差异均显著($P<0.05$)。

(3) 在 B2 海水、A3 饲料的水平上, 肝胰腺中 Pb 的含量差异显著, 肝胰腺中 Pb 的含量分别为 0.128 mg/kg、0.8 mg/kg、0.837 mg/kg、0.839 mg/kg、1.936 mg/kg、1.074 mg/kg、1.680 mg/kg; 在 B3 海水水平上肝胰腺中 Pb 的含量差异均为显著性($P<0.05$), 在 B3 海水、A0 饲料的水平上, 肝胰腺组织中 Pb 的含量分别为 0.148 mg/kg、0.23 mg/kg、0.707 mg/kg、2.001 mg/kg、2.029 mg/kg、3.686 mg/kg、4.636 mg/kg; 在 B3 海水、A1 饲料的水平上, 肝胰腺组织中 Pb 的含量分别为 0.112 mg/kg、0.770 mg/kg、0.989 mg/kg、3.487 mg/kg、3.620 mg/kg、4.040 mg/kg、4.999 mg/kg; 在 B3 海水、A2 饲料的水平上, 肝胰腺组织中 Pb 的含量分别为 0.222 mg/kg、0.811 mg/kg、0.840 mg/kg、3.687 mg/kg、4.071 mg/kg、4.959 mg/kg、5.094 mg/kg; 在 B3 海水、A3 饲料的水平上, 肝胰腺组织中 Pb 的含量分别为 0.209 mg/kg、0.892 mg/kg、1.082 mg/kg、3.988 mg/kg、4.066 mg/kg、5.432 mg/kg、5.765 mg/kg。

3) 凡纳滨对虾外骨骼组织中饲料、海水及富集时间的效应分析

(1) 除在富集的第 3 天 B2 海水的水平上, 凡纳滨对虾外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著

性差异($P<0.05$), 其他水平上均为无显著性差异; 在富集的第 3 天 B2 海水的水平上, 随着饲料浓度的增大, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 2.472 mg/kg、0.145 mg/kg、0.265 mg/kg、0.374 mg/kg。

(2) 在富集的第 3 天, 仅 A0 饲料水平上外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异($P<0.05$); 随着海水浓度的增大, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.142 mg/kg、0.134 mg/kg、2.472 mg/kg、0.306 mg/kg。在富集的第 6 天, 仅在 A3 饲料水平上外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异($P<0.05$)。随着海水浓度的增大, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.245 mg/kg、0.393 mg/kg、0.351 mg/kg、0.606 mg/kg; 在富集的第 11 天, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量差异均达到显著($P<0.05$)或边缘显著($P=0.071$); 在富集的第 17 天, 仅在 A1 饲料水平上外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异; 在富集的第 24 天, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量均出现显著性差异; 在富集的第 30 天, 除在 A1 饲料水平上, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量差异不显著, 其他均为显著性差异。在 A1 饲料水平上, 随着海水浓度的增大, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.357 mg/kg、0.368 mg/kg、0.467 mg/kg、0.686 mg/kg。

(3) 在 A0 饲料、B2 海水水平和 A0 饲料、B3 海水水平上外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异($P<0.05$), 在 A0 饲料、B2 海水水平上, 随着富集时间的延长, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.121 mg/kg、2.472 mg/kg、0.333 mg/kg、0.379 mg/kg、0.445 mg/kg、0.489 mg/kg、0.349 mg/kg, A0 饲料 B3 海水水平上随着富集时间的延长, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.106 mg/kg、0.306 mg/kg、0.357 mg/kg、0.673 mg/kg、0.762 mg/kg、0.800 mg/kg、0.868 mg/kg; 在 A1 饲料 B2 海水水平和 A1 饲料 B3 海水水平上外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异($P<0.05$), 在 A1 饲料 B2 海水水平上, 随着富集时间的延长, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.139 mg/kg、0.145 mg/kg、0.344 mg/kg、0.361 mg/kg、0.369 mg/kg、0.464 mg/kg、0.467 mg/kg; 在 A1 饲料 B3 海水水平上, 随着富集时间的延长, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.154 mg/kg、

0.145 mg/kg、0.595 mg/kg、0.630 mg/kg、0.897 mg/kg、0.965 mg/kg、0.686 mg/kg; 在 A2 饲料 B3 海水水平上, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量出现显著性差异, 随着富集时间的延长, 外骨骼组织中 Pb 的含量分别为 0.142 mg/kg、0.190 mg/kg、0.606 mg/kg、0.623 mg/kg、0.739 mg/kg、0.996 mg/kg、0.884 mg/kg; 在 A3 饲料 B1 海水水平和 A3 饲料 B3 海水水平上, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量也出现显著性差异($P<0.05$)。

2.2.2 饲料、海水和富集时间对凡纳滨对虾体内 Pb 含量的贡献率分析 用 SPSS18.0 对不同组织中 Pb 的富集含量、饲料浓度、海水浓度和富集时间进行多元回归分析(其中因变量为不同组织中 Pb 的富集含量, 自变量为饲料中 Pb 的浓度、海水中 Pb 的浓度和富集时间)。不同组织中 Pb 的回归分析方差分析见表 4。不同组织中 Pb 的回归分析-回归系数见表 5。

由表 4 可知, Pb 浓度和富集时间对肌肉、肝胰腺和外骨骼组织中 Pb 富集量影响均极显著($P<0.0001$)。

由表 5 可知, 饲料中 Pb 浓度对肌肉和外骨骼组织中 Pb 富集量影响不显著($P>0.05$), 对肝胰腺组织中 Pb 富集量影响显著($P<0.05$)。海水中 Pb 浓度和富集时间对肌肉组织中 Pb 富集量影响显著($P<0.05$)。

1) 饲料、海水和富集时间对凡纳滨对虾体内肌肉组织 Pb 含量的贡献率分析

饲料中 Pb 浓度的系数 B 值为 0.048, 海水中 Pb 浓度的系数 B 值为 0.265, 富集时间的系数 B 值为 0.298, 即, 饲料中 Pb 浓度对肌肉组织中 Pb 富集量的贡献度为 0.048, 海水中 Pb 浓度对肌肉组织中 Pb 富集量的贡献度为 0.265。可见, 在肌肉 Pb 富集过程中, 海水中 Pb 浓度的贡献率大于饲料中 Pb 浓度的贡献率。因此, 在控制其他变量的情况下, 海水中 Pb 浓度越高, 肌肉组织中 Pb 的富集含量就越大。

2) 饲料、海水和富集时间对凡纳滨对虾体内肝胰腺组织 Pb 含量的贡献率分析

饲料和海水中 Pb 浓度, 以及富集时间对肝胰腺中 Pb 富集量影响显著($P<0.05$)。回归模型方程

表 4 凡纳滨对虾不同组织中 Pb 的回归分析方差分析
Tab. 4 Variance analysis of Pb regression analysis in different tissues of *Litopenaeus vannamei*

组织 organization	平方和 sum of squares	df	均方 mean square	F	sig.
肌肉 muscle	19.671	3	6.557	48.686***	0.000
肝胰腺 hepatopancreas	566.003	3	188.668	271.674***	0.000
外骨骼 exoskeleton	19.070	3	6.357	50.965 ***	0.000

注: “***”为 0.001 水平上差异显著。
Note: “***” means significant difference at 0.001.

表 5 凡纳滨对虾不同组织中 Pb 的回归分析-回归系数
Tab. 5 Regression analysis of Pb in muscle-regression coefficients in *Litopenaeus vannamei*

组织 organization	常量 constant	非标准化系数 non-standardized coefficient		标准化系数 standardized coefficient		t	sig.
		回归系数 B egression coefficient	标准误差 Standard error	回归系数 B egression coefficient			
肌肉 muscle	饲料 feed	0.017	0.012	0.048		1.459	0.145
	海水 seawater	0.095	0.012	0.265		8.035	0.000
	时间 time	0.065	0.007	0.298		9.032	0.000
肝胰腺 hepatopancreas	饲料 feed	0.119	0.027	0.112		4.433	0.000
	海水 seawater	0.573	0.027	0.536		21.321	0.000
	时间 time	0.295	0.016	0.460		18.264	0.000
外骨骼 exoskeleton	饲料 feed	-0.008	0.011	-0.024		-0.736	0.462
	海水 seawater	0.101	0.011	0.293		8.901	0.000
	时间 time	0.059	0.007	0.284		8.605	0.000

中, 饲料中 Pb 浓度的系数 B 值为 0.112, 海水中 Pb 浓度的系数 B 值为 0.536, 富集时间的系数 B 值为 0.460, 即, 饲料中 Pb 浓度对肝胰腺中 Pb 富集量的贡献度为 0.112, 海水中 Pb 浓度对肝胰腺中 Pb 富集量的贡献度为 0.536。可见, 在肝胰腺 Pb 富集过程中, 海水中 Pb 浓度的贡献率大于饲料中 Pb 浓度的贡献率。因此, 在控制其他变量的情况下, 海水中 Pb 浓度越高, 肝胰腺中 Pb 的富集含量就越大。

3) 饲料、海水和富集时间对凡纳滨对虾体内外骨骼组织 Pb 含量的贡献率分析

饲料中 Pb 浓度对外骨骼组织中 Pb 富集量影响不显著($P>0.05$), 海水中 Pb 浓度和富集时间对外骨骼组织中 Pb 富集量影响显著($P<0.05$)。回归模型方程中, 饲料中 Pb 浓度的系数 B 值为-0.024, 海水中 Pb 浓度的系数 B 值为 0.293, 富集时间的

系数 B 值为 0.284, 即, 饲料中 Pb 浓度对外骨骼组织中 Pb 富集量的贡献度为-0.024, 海水中 Pb 浓度对外骨骼组织中 Pb 富集量的贡献度为 0.293。可见, 在外骨骼 Pb 富集过程中, 海水中 Pb 浓度的贡献率大于饲料中 Pb 浓度的贡献率。因此, 在控制其他变量的情况下, 海水中 Pb 浓度越高, 外骨骼组织中 Pb 的富集含量就越大。

2.3 凡纳滨对虾体内 Pb 的富集与释放动力学参数

运用生物富集双箱动力学模型计算理论中平衡状态下的动力学参数, 结果显示: 投喂 A1 和 A3 饲料, 凡纳滨对虾不同组织对 Pb 的富集与释放没有规律性; 投喂 A0 和 A2 饲料, 其肌肉和外骨骼组织器官通过非线性拟合可得到生物动力学参数。详见表 6。

由表 6 可知, 凡纳滨对虾体内 Pb 的富集和释

表 6 不同 Pb 浓度海水喂养下凡纳滨对虾不同组织器官的生物动力学参数
Tab. 6 *Litopenaeus vannamei* under different seawater concentration of various tissues and organs biological kinetic parameters

饲料组别 feed group	组织 organization	海水组别 seawater group	富集速率 enrichment rate k_1	排出速率 discharge rate k_2	富集系数 BCF	含量 $C_{Amax}/(mg \cdot kg^{-1})$	半衰期 $B_{1/2}$
A0	肌肉 muscle	B0	78.6396	0.0923	852	0.1278	7.5092
		B1	28.9112	0.1026	281.7857	0.2367	6.7553
		B2	12.9112	0.1165	110.8258	0.4965	5.9493
		B3	17.9629	0.1375	130.6397	2.9812	5.0407
	外骨骼* exoskeleton*	/	/	/	/	/	/
		B0	473.9214	0.1783	2658	0.3987	3.8872
		B1	72.9241	0.1236	590	0.4956	5.6076
		B2	20.9545	0.0983	213.1696	0.9558	7.0508
		B3	33.1392	0.1587	208.8168	4.7652	4.3673
	肝胰脏 hepatopancreas	/	/	/	/	/	/
		B0	410.872	0.1624	2530	0.3795	4.2678
		B1	121.0346	0.2543	475.9523	0.3998	2.7255
A2	肌肉 muscle	B2	33.3793	0.2873	116.1830	0.5205	2.4124
		B3	4.7877	0.1093	43.8036	0.9996	6.3412
	外骨骼* exoskeleton*	/	/	/	/	/	/
		B0	267.7281	0.1392	1923.3333	0.2885	4.9791
		B1	177.5719	0.2985	594.8809	0.4997	2.3219
		B2	84.0468	0.3019	278.3928	1.2472	2.2957
	肝胰脏 hepatopancreas	B3	47.2132	0.2012	234.6581	5.3549	3.4448
		/	/	/	/	/	/
		B0	267.7281	0.1392	1923.3333	0.2885	4.9791
		B1	177.5719	0.2985	594.8809	0.4997	2.3219
		B2	84.0468	0.3019	278.3928	1.2472	2.2957
		B3	47.2132	0.2012	234.6581	5.3549	3.4448
A3*	/	/	/	/	/	/	/

注: “*”表示对 Pb 的富集与释放规律不符合模型。
Note: “*”means the regulation of Pb enrichment and releasement cannot confirm the model.

放与Pb暴露浓度和不同组织有关,肝胰腺和肌肉中Pb含量与富集时间和重金属暴露浓度呈正相关,理论平衡状态下不同组织中 C_{Amax} 与暴露浓度成正相关。在肌肉中,富集速率 k_1 随着Pb暴露浓度的增大而减小,与Pb浓度呈负相关;BCF随着Pb暴露浓度的增大而减小,富集系数与Pb浓度呈负相关;肝胰腺中也有相似变化趋势,而半衰期随着暴露浓度变化规律不明显。Pb在凡纳滨对虾体内的积累蓄积具有组织选择性,不同组织的富集和代谢情况差异显著($P<0.05$),在凡纳滨对虾体内富集能力最强的是肝胰腺。富集总趋势是肝胰腺中富集速率 k_1 ,富集系数BCF,理论平衡浓度 C_{Amax} 均大于肌肉。Pb在凡纳滨对虾肌肉中的BCF范围为43~2530,在肝胰腺中BCF范围为208~2658,Pb在凡纳滨对虾肌肉和肝胰腺中的生物学半衰期($B_{1/2}$)接近,为2~7 d。

3 讨论

本研究表明,饲料中不同Pb浓度和海水中不同Pb浓度对不同组织Pb含量均造成不同差异。凡纳滨对虾对海水中的Pb具有较强的富集能力,在虾体内不同组织器官中大量富集,凡纳滨对虾体内Pb的富集和释放与Pb暴露浓度和不同组织有关。肝胰腺和肌肉中Pb含量、 C_{Amax} 与富集时间和重金属暴露浓度呈正相关,富集速率、富集系数与Pb浓度呈负相关。肝胰腺是富集Pb能力最强、富集含量最多的器官,本研究的这种累积分布特征与Laura等^[16]的研究一致,即肝胰腺是甲壳类动物的重要解毒器官,也是重金属富集的靶器官,重金属通过多种途径进入甲壳类的不同组织器官,但是随着暴露时间的延长,肝胰腺中的重金属含量高于鳃和肌肉等器官。

肖明松等^[17]以日本沼虾、河蚌、鱼为研究对象,发现同一组织中的Cd和Pb的含量大小为:日本沼虾>河蚌>鱼,其原因主要是虾、蟹贝类的栖息水层和食性特点;甲壳类动物组织内的重金属具有特殊的生物学意义,在体内,这些重金属可满足动物的生理需求。比较发现,甲壳类、鱼类体内重金属含量对器官具有明显的选择性,内脏中重金属富集量大于肌肉,江晨洁^[10]和崔勇华

等^[18]以克氏原螯虾为研究对象,也发现内脏是克氏原螯虾富集重金属的主要部位,肌肉中富集较少,而内脏重金属释放率则低于肌肉部位。杨晓云等^[19]采用污染指数法对北江中上游的鱼类、虾、螺、蚬以及鲤体内不同组织中重金属Pb等的含量进行了污染评价,结果显示,不同水生动物体的可食部分重金属综合污染水平由高到低依次为蚬>螺>虾>鱼,且鱼体中重金属蓄积能力总趋势为内脏>鳃>脂肪>肌肉。陈海仟等^[15]研究发现,Pb在中华绒螯蟹组织中的分布规律为鳃>肝胰腺>肌肉>血淋巴,甲壳类、鱼类、贝类对重金属富集情况各异,这主要受生物种类的影响。不同的生物种类体内重金属的代谢机能各异,所以富集重金属能力不同。但它们也有共性,内脏和鳃是鱼、虾、蟹等水生生物体内重金属富集的主要部位,它们对重金属的富集能力明显高于肌肉等部位。肝、胰、肾是甲壳类、鱼类、贝类解毒和排泄的主要器官,肝胰腺是金属硫蛋白合成的主要场所,而金属硫蛋白可以与重金属结合,因此可以使重金属在肝胰腺中大量积累以达到解毒作用。解毒作用也是有限的,只有当肝、肾部位重金属过度积累,才会加快向肌肉中转移^[20],所以鱼类和甲壳类肌肉一般不会表现出明显的富集特性,这也就在一定程度上保证了水产品的食用肌肉部分的安全性。

关于甲壳类重金属富集研究有很多,在中华绒螯蟹^[15]、克氏原螯虾^[9-10]、日本对虾^[10]中均有报道。陈海仟等^[15]研究发现中华绒螯蟹对Pb和Cd具有明显的富集,除血淋巴外,蟹鳃、肝胰腺和肌肉中Pb和Cd的含量与富集时间和重金属暴露浓度呈正相关。理论平衡状态下不同组织中Pb和Cd含量 C_{Amax} 与暴露浓度成正相关,与本研究相似。Pb和Cd在中华绒螯蟹不同组织器官中的BCF范围分别为5~51和6~3148,对Cd的富集能力明显高于Pb($P<0.05$);Pb和Cd在中华绒螯蟹不同组织器官的生物学半衰期($B_{1/2}$)范围分别为4~9 d和8~57 d,而由此可以看出,中华绒螯蟹对Cd的排出能力明显低于Pb。克氏原螯虾^[10]Cd和Pb的富集速率 k_1 与本研究相似,肝胰腺中Pb的富集速率大于肌肉,肌肉中Cd的富集速率大于肝胰

腺。江晨洁^[10]研究的克氏原螯虾对饲料中的 Pb 和 Cd 富集系数均小于 1.5, 张振燕等^[21]研究克氏原螯虾对水环境中 Cd 的富集系数, 最高 BCF 值为 225.69, 达到前者研究富集系数的 150 多倍。这说明水生生物种类不同, 重金属富集情况差异很大。

另外, 越来越多的研究认为重金属进入生物体内的途径主要有 2 种, 分别是食物(包括底泥和食物链传递)和体表渗透的作用^[22]; 且越来越多的研究证明, 来源于食物的重金属是其体内重金属生物富集的重要来源, 对于一些捕食蜉蝣生物或者底泥的无脊椎动物来说, 甚至是主要的吸收方式^[23-24]。然而本研究认为, 相比食物吸收, 水环境吸收是凡纳滨对虾 Pb 来源的主要途径。本研究中, 凡纳滨对虾对 Pb 的吸收、排出速率与海洋贝类(*Mytilus edulis*)^[25]、海洋蛤蚌(*Macoma balthica*)^[26]和纹藤壶(*Balanus amphitrite*)^[27]等类似, 可认为凡纳滨对虾与许多水生生物一样, 可以通过食物吸收重金属, 但是这种方式在凡纳滨对虾吸收重金属的整个体系中是次要的。凡纳滨对虾通过水环境吸收 Pb 和 Cd 并在体内富集的量远比从饲料中吸收的多。而且本实验显示, 海水中重金属浓度在凡纳滨对虾富集中占主导作用。

参考文献:

- [1] Zhang G J, Han L P, Sun J F, et al. Analysis and evaluation of nutritive composition in *Penaeus vannamei*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 254-260. [张高静, 韩丽萍, 孙剑锋, 等. 南美白对虾营养成分分析与评价[J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 254-260.]
- [2] Cai J H, Li K, Zheng X Y, et al. Advancement in researches and treatment technology of heavy metals in aquaculture[J]. Fisheries Science, 2010, 29(12): 749-752. [蔡继晗, 李凯, 郑向勇, 等. 水产养殖重金属污染现状及治理技术研究进展[J]. 水产科学, 2010, 29(12): 749-752.]
- [3] Severtsova A E, Nikiforova I A, Aguillon Gutierrez R D. Spectrochemical and histochemical analyses of tissues of grass frog and gray toad tadpoles developing under simulation of pollution by plumbum and ferrum[J]. Moscow Univ Biolog Sci Bull, 2013, 68(4): 186-191.
- [4] Shi C L, Zhang H J, Jia X Y. Ecological response of MDA and antioxidant enzymes in testes of the frog *Rana nigromaculata* due to exposure to lead and cadmium[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(13): 3569-3574. [施蔡雷, 张杭君, 贾秀英. 黑斑蛙精巢 MDA 和抗氧化酶对铅、镉暴露的生态毒性响应[J]. 生态学报, 2010, 30(13): 3569-3574.]
- [5] Padilha R Q, Riera R, Atallah Á N. Homeopathic *Plumbum metallicum* for lead poisoning: a randomized clinical trial[J]. Homeopathy, 2011, 100(3): 116-121.
- [6] Tume P, Bech J, Sepulveda B, et al. Concentrations of heavy metals in urban soils of Talcahuano (Chile): a preliminary study[J]. Environ Monit Assess, 2008, 140(1): 91-98.
- [7] Song W Y, Jin G S, Bi W W, et al. Studies on acute toxicity of five heavy metal ion on *Procambarus clarkii* girard[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2010, 19(2): 206-211. [宋维彦, 靳桂双, 毕伟伟, 等. 五种重金属离子对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)的急性毒性作用研究[J]. 激光生物学报, 2010, 19(2): 206-211.]
- [8] White R R, Hardaway C J, Richer J C, et al. Selenium-lead interactions in crawfish (*Procambrus clarkii*) in a controlled laboratory environment[J]. Microchem J, 2012, 102: 91-114.
- [9] Song L, Han X X, Zhang X, et al. Sexual selection of different geographic of *Procambarus clarkii*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(1): 155-158. [宋亮, 韩晓磊, 章旭, 等. 不同地区克氏原螯虾性选择研究[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(1): 155-158.]
- [10] Jiang C J. Feed in Pb and Cd in crayfish, *Macrobrachium nipponense* in vivo absorption and release properties and risk assessment[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2015. [江晨洁. 克氏原螯虾、日本沼虾对饲料中 Cd、Pb 富集与释放特性及其安全性分析[D]. 南京: 南京师范大学, 2015.]
- [11] State Environmental Protection Bureau of People's Republic of China. Water Quality Standard for Fisheries GB 11607-89[S]. 1989. [国家环境保护局. 中华人民共和国国家标准渔业水质标准 GB 11607-89[S]. 1989.]
- [12] Ministry of Agriculture, People's Republic of China. NY 5072-2002[S]. 2002. [中华人民共和国农业部. 无公害食品渔用配合饲料安全限量 NY 5072-2002[S]. 2002.]
- [13] Li L, Shen X Q, Wang Y L, et al. Kinetic study on the bio-concentration of Cu and Pb in two kinds of marine bivalve molluscs under the condition of sediment exposure[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(3): 522-531. [李磊, 沈新强, 王云龙, 等. 在沉积物暴露条件下 2 种海洋贝类对 Cu、Pb 的富集动力学研究[J]. 水生生物学报, 2012, 36(3): 522-531.]
- [14] Li X P, Li J R, Duan Q Y, et al. Kinetic study on the bio-concentration of three heavy metals (Cu, Pb, Cd) in *Tegillarcagranosa linnaeus*[J]. Journal of Fisheries of China,

- 2008, 32(4): 592–600. [李学鹏, 励建荣, 段青源, 等. 泥蚶对重金属铜、铅、镉的生物富集动力学[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 592–600.]
- [15] Chen H Q, Zhang M Q, Wu G H, et al. Accumulation and release characteristics of *Eriocheir sinensis* for Pb and Cd[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(4): 828–836. [陈海仟, 张美琴, 吴光红, 等. 中华绒螯蟹对 Pb 和 Cd 的富集与释放特性[J]. 水生生物学报, 2010, 34(4): 828–836.]
- [16] Laura M D, Antonio V L, Shaw B, et al. An integrated approach using bioaccumulation and biomarker measurements in female shore crab, *Carcinus maenas*[J]. Chemosphere, 2005, 58: 615–626.
- [17] Xiao M S, Wang S, Bao F Y, et al. Enrichment of heavy metals in the bighead crap *Aristichthys nobilis* from Huaihe River segment of Bengbu[J]. Reseach of Environmental Sciences, 2011, 24(8): 942–948. [肖明松, 王松, 鲍方印, 等. 淮河蚌埠段采样点鱼虾贝类重金属的富集[J]. 环境科学研究, 2011, 24(8): 942–948.]
- [18] Cui Y H, Zhu Y F. Biological Accumulation and Release of Heavy Metals in *Procambarus clarkia*[J]. Journal of Hydroecology, 2004, 24(6): 14–16. [崔勇华, 朱玉芳. 重金属在克氏螯虾体内的释放与累积作用研究[J]. 水利渔业, 2004, 24(6): 14–16.]
- [19] Yang X Y, Wen Y, Chen X Y, et al. Heavy metal enrichment in aquatic organisms of Beijiang River: Its characteristics and pollution evaluation[J]. Environmental Science and Technology, 2010, 33(6): 194–198. [杨晓云, 温勇, 陈晓燕, 等. 重金属在北江鱼类和底栖动物体内的富集及污染评价[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(6): 194–198.]
- [20] Wang K X. Aquaculture of Shrimp and Crab[M]. Qing dao: China Agriculture Press, 1996: 14. [王克行. 虾蟹类增养殖学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 14.]
- [21] Zhang Z Y, Zhang M Q, Wu Y, et al. Biological Accumulation and release of two heavy metals Cd and Cu for *Procambarus clarkia*[J]. Food Science, 2014, 35(17): 250–254. [张振燕, 张美琴, 吴瑛, 等. 重金属 Cd 与 Cu 在克氏原螯虾体内富集与释放规律[J]. 食品科学, 2014, 35(17): 250–254.]
- [22] Croteau M N, Luoma S N. Delineating copper accumulation pathways for the freshwater bivalve *Corbicula* using stable copper isotopes[J]. Environ Toxicol Chem, 2005, 24(11): 2871–2878.
- [23] Yang Y B. Biological enrichment and food chain transmission of metal in *Nassarius siquijorensis*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2012. [杨玉波. 西格织纹螺对食物相金属的生物富集及食物链传递[D]. 厦门: 厦门大学, 2012.]
- [24] Yang Q L, Wu W X. Metal exposure and bioavailability to a marine deposit-feeding sipuncula, *Sipunculus nudus*[J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(1): 40–47.
- [25] Wang W X, Fisher N S, Luoma S N. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*[J]. Mar Ecol Prog, 1996, 140(1–3): 91–113.
- [26] Griscom S B, Fisher N S, Luoma S N. Kinetic modeling of Ag, Cd and Co bioaccumulation in the clam *Macoma balthica*: quantifying dietary and dissolved sources[J]. Mar Ecol Progr Ser, 2002, 240: 127–141.
- [27] Rainbow P S, Graham Blackmore, Wang W X. Effects of previous field-exposure history on the uptake of trace metals from water and food by the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2003, 259: 210–213.

Lead enrichment and release characteristics in seawater and *Litopenaeus vannamei* feed

ZHANG Meiqin¹, LU Yuanling², WU Guanghong¹, ZHANG Wen³, SHAO Junjie¹

1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

2. Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;

3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 271000, China

Abstract: Kinetic parameters were determined for the biological accumulation and release of lead (Pb) in muscle, the hepatopancreas, and exoskeleton of *Litopenaeus vannamei* to assess the enrichment and release characteristics of Pb in seawater, feed, and tissues using a two-compartment bioconcentration model. Shrimp were exposed to seawater with Pb concentrations of 0.0015 mg/L(B0), 0.0080 mg/L(B1), 0.0466 mg/L(B2), and 0.2302 mg/L(B3). Shrimp were provided a diet with Pb concentrations of 2.089 mg/kg(A0), 2.750 mg/kg(A1), 6.103 mg/kg(A2), and 14.520 mg/kg(A3). The heavy metal uptake rate constant (k_1), extraction rate constant (k_2), bioconcentration factor (BCF), biological half-life($B_{1/2}$), and the equilibrium concentrations of heavy metals *in vivo* (C_{Amax}) were obtained by non-linear curve fitting. The results showed that muscle, exoskeletal, and hepatopancreatic tissue contents were less <0.5 mg/kg after feeding Pb. Pb in all tissues increased to >0.5 mg/kg after exposing shrimp to the two lower Pb concentrations in seawater as the Pb concentration in feed was increased in shrimp in the B3 seawater treatment. The Pb release rate by the hepatopancreas was higher than that by muscle or the exoskeleton. A three factor repeated-measures analysis of variance with feed concentration, seawater concentration, and enrichment time as the factors showed that all three factors had significant effects in the different tissues. In addition, the Pb accumulating effect in the exoskeleton based on feed concentration was marginally significant ($F=2.351$, $P=0.071$). A feed, seawater, and time interaction effect analysis resulted in a significant interaction among the three factors. An analysis of Pb feed and seawater concentrations, as well as Pb duration in different tissues showed that the contribution of Pb concentration in seawater was greater than that in feed during Pb enrichment in each tissue. At steady state, the Pb concentrations in muscle of shrimp in the A0 and B0–B3 groups were 0.128–2.981 mg/kg, and those in the hepatopancreas were 0.399–4.765 mg/kg. The $B_{1/2}$ values for Pb in the muscle and hepatopancreas were 2–7 d and 3–7 d, respectively. The Pb concentrations in muscle of shrimp from the A2 and B0–B3 groups were 0.380–1.000 mg/kg, and in the hepatopancreas were 0.288–5.355 mg/kg. The $B_{1/2}$ values for Pb in muscle and hepatopancreas were 2–7 d and 2–5 d. The steady state concentration of Pb in the hepatopancreas was higher than that in muscle.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; seawater; feed; Pb; enrichment; release

Corresponding author: WU Guanghong. E-mail: ghwu2007@163.com