

甲基异柳磷、水胺硫磷对紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 生长的影响

陈民山 陈碧鹃 吴彰宽

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 本文利用电视显微测量仪作为一种新的光电测试方法, 研究了甲基异柳磷和水胺硫磷对贻贝生长的影响。实验表明, 当暴露于浓度为 $0.56\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.32\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甲基异柳磷和水胺硫磷 4-6 天后, 贻贝的生长即可受到明显的抑制。两种农药对贻贝 9 天 EC_{50} 值分别为 $0.42\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.60\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。甲基异柳磷和水胺硫磷还可抑制贻贝的摄食率和滤水率。生长受到严重抑制的贻贝, 在转到清洁海水后, 6 天内生长会恢复到正常水平。

关键词 甲基异柳磷, 水胺硫磷, 紫贻贝, 生长

前 言

生长是生物生理过程的综合反应, 因而常被看作是生物对环境适应性的一个敏感指标。

贻贝是一种全球性分布的浅海生物, 在海洋污染监测及生态毒理学的研究中是一种最常被采用的生物之一。贻贝的生长常以其壳长的增长为指标。但如想在较短的时间间隔, 了解污染物或其它环境因子对其生长的影响情况, 测量壳长的方法就必须快速灵敏, 且不能引起贻贝的损伤, 或使其暴露于能影响生长或存活的环境条件中。因此, 极易损伤贻贝生长点的机械方法就难以采用。

Strömgen^[6] 曾研究设计出一种激光测试法 (或称为散斑法) 的测试技术。该方法快速灵敏 ($\text{SD} < 3\mu\text{m}$), 十几年来, 国外学者利用此法或改进的类似方法, 进行了许多重金属、原油及其它环境因子对贻贝生长影响的实验研究^[3-5,7,9]。但该方法的不便之处是, 所有的样品需设有相应的固定装置, 而且测量过程要配有照相设备。

最近我们与清华大学精仪系共同研制出一种电视显微测量仪。该仪器利用先进的光电技术, 可直接进行贻贝壳长、壳宽的测量, 使用方便直观, 并有很好的稳定性和灵敏度 (测量灵敏度和精度可达 $1/4000$ 和 $\pm 1/2000$ 有效视场)。

利用该仪器作为一种新的测试手段, 本实验研究了甲基异柳磷和水胺硫磷对贻贝生长的影响。甲基异柳磷和水胺硫磷都属新型高毒杀虫剂, 有关其安全性评价的实验研究工作虽有不少, 但很少涉及海水生物。众所周知, 目前农药仍是威胁海水水质的主要污染物种

收稿日期: 1994-03-09。

类之一。因此,为了合理的开发、研制和使用新农药,研究了解农药对海水生物的毒性效应还是很有必要和急需的。

材 料 与 方 法

(一)实验材料

实验用紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 采自青岛市太平湾,均为附着在海带养殖绳或浮球上的当年生幼贝,体长在 1.0–2.0cm 之间。采集来的贻贝先置于室内塑料水箱(直径 77cm,高 31cm)中进行驯养。驯养期间每隔 3–4 天更换海水一次,轻度充气,早晚各投喂等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 和小球藻 (*Chlorella sp.*) 混合饲料一次。

实验用海水取自同一海区,盐度为 29–30。海水先经大沉淀池沉淀,再经筛绢 (GP120) 过滤,抽入室内水箱中放置 1–2 天。此时,海水中的悬浮颗粒基本下沉,浮游生物显著减少。

实验期间贻贝的藻类饲料等鞭金藻和小球藻采用室内纯种培养。

(二)母液的配置

甲基异柳磷和水胺硫磷(青岛市第二农药厂)均为 40%乳油制剂。加蒸馏水稀释,其浓度按有效成分的实际含量计算。

(三)实验方法

从贻贝驯养箱中选取个体均匀(1.4cm–1.6cm),生长正常的贻贝 120 个,随机分为 6 组,一个对照组,5 个实验组,每组各放贻贝 20 个左右。用水中胶加少量 502 胶把贻贝的一边外壳平粘在玻璃载玻片上,以便实验期间随时进行壳长测量。有关实验证实,采用这种固定方式,贻贝至少可正常生长 3 个月,不会产生任何不利影响^[9]。

实验分为两种类型。一为短期实验,把贻贝直接置于盛有不同浓度农药的实验缸中,每隔 2–3 天测量一次壳长,实验进行 4–6 天。二为长期实验,先把贻贝放入不加农药的实验缸中培养 2–4 天,再加入不同浓度的农药,9 天后停止加药,换为清洁海水继续培养 6 天。测量壳长的间隔时间同短期实验。通过这一实验,研究贻贝在正常环境条件下的生长,暴露于不同浓度的农药时受到的影响,及转移到清洁海水后的恢复情况。

实验期间投喂金藻、小球藻混合饲料,密度金藻为 $90 \times 10^6 \text{ cells/L}$,小球藻为 $260 \times 10^6 \text{ cells/L}$ 。每天投喂 2 次。

实验容器为玻璃水族箱(47×40×16cm)和玻璃钢水族箱(55×33×13cm)。前者用作实验箱盛实验液 17L,后者用作换水箱,盛实验液 20L。海水、母液及藻类饲料先加入换水箱中,然后通过乳胶管缓缓输入到实验箱中。每天换水量 40L。

实验期间同时观察记录贻贝的死亡率、滤水率及其它生理活动的变化情况。

(四)贻贝壳长、藻类密度的测试手段及方法

贻贝壳长的测量,采用电视显微测量仪(清华大学精仪系)。该仪器测量的方法及原理是:把被测量的贻贝平放在测量工作台的载物台上,摄影物镜对其进行光学成像,然后通过电视摄像机把对贻贝的空间测量转换成视频信号的时间测量,接着由主机对视频信号进行二值化处理和数字处理,送入双板计算机进行运算处理和扫描非线性校正,最后换算成实际被测空间距离,以数字显示和打印的方式输出结果(图 1)。

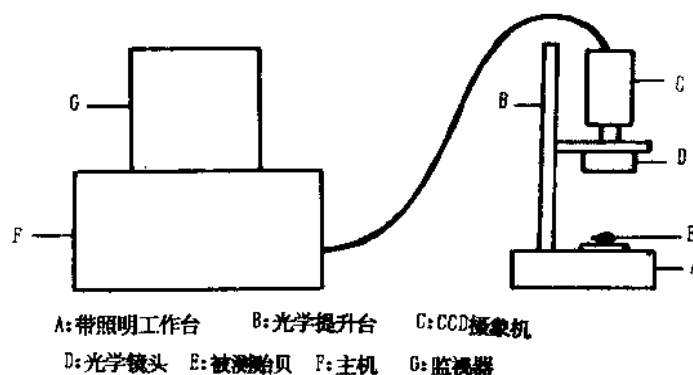


图 1 贻贝壳长测量系统示意图

Fig.1 Design of the measurement system of shell length

藻类细胞密度的测试, 采用光密度换算的办法 (721 分光光度计, 波长 650nm, 光程 3cm)

(五) 实验指标及数据处理

贻贝的生长用比生长率表示 (Specific growth rate)。其表达式为:

$$SGR = \frac{1}{L} \frac{dL}{dt} = \frac{d \ln L}{dt}$$

式中 L 为贻贝壳长, t 为时间。

把各实验组的平均比生长率表示为对照组的百分比, 则:

$$E/C = \frac{\Delta \ln L_{\text{expt}}}{\Delta \ln L_{\text{control}}} \times 100$$

采用 t 检验法来检验各实验浓度组与对照组的差异, 当 $P < 0.05$ 时为有统计意义的显著差异。

结 果

(一) 短期实验

甲基异柳磷和水胺硫磷对贻贝生长影响的短期实验分别进行了 6 天和 4 天。实验结果见表 1、表 2 和图 2。

从表 1 可以看出, 当贻贝置于甲基异柳磷实验液后, 在最低浓度组 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 贻贝的比生长率要高于对照组, 但还未达到统计意义上的明显差异。在其它各浓度组, 贻贝的比生长率则随甲基异柳磷浓度的升高而逐渐下降。在 $0.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 贻贝生长受到明显的抑制 (前者 $P < 0.05$, 后者 $P < 0.01$)。E/C 值分别为 55.01% 和 45.55%。

从表 2 可以看出, 在水胺硫磷的最低浓度组 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 贻贝的平均比生长率与对照组极为相似。从 $0.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组开始, 贻贝的比生长率明显降低, 都与对照组有非常显著的差异 ($P < 0.01$), 而且随水胺硫磷浓度的升高而不断下降, 到最高浓度组

1.8mg · L⁻¹, E/C 值达到 11.33%, 贻贝的生长几乎被完全抑制。

表 1 置于不同浓度甲基异柳磷中的贻贝平均比生长率及 E/C 值
Table 1 Mean specific growth rate and E/C ration of *Mytilus edulis* exposed to various concentrations of Isufenphes-methyl

浓度(毫克/升) Concentration (mg/L)	平均比生长率(±S.D) Mean specific growth rate (±S.D) (×10 ⁻⁴)	E/C (%)	计算 t 值 Calculated t value	显著性差异 Significance of the difference
0	53.23 ± 42.53 (0-4d) 57.39 ± 44.31 (0-6d)			
0.1	58.42 ± 31.69 (0-4d) 74.06 ± 30.22 (0-6d)	109.75 129.23	0.427 1.362	N.S N.S
0.18	53.93 ± 29.08 (0-4d) 45.16 ± 19.23 (0-6d)	101.32 79.61	0.059 1.058	N.S N.S
0.32	49.67 ± 29.39 (0-4d) 50.10 ± 24.71 (0-6d)	93.30 87.34	0.307 0.638	N.S N.S
0.56	46.53 ± 33.05 (0-4d) 31.61 ± 29.16 (0-6d)	87.41 55.01	0.553 2.081	N.S P<0.05
1.0	43.41 ± 11.75 (0-4d) 26.12 ± 8.86 (0-6d)	81.55 45.53	0.446 3.092	N.S P<0.01

表 2 置于不同浓度水胺硫磷中的贻贝平均比生长率及 E/C 值
Table 2 Mean specific growth rate and E/C ration of *Mytilus edulis* exposed to various concentrations of Shulanlilin

浓度(毫克/升) Concentration (mg/L)	平均比生长率(±S.D) Mean specific growth rate (±S.D) (×10 ⁻⁴)	E/C (%)	计算 t 值 Calculated t value	显著性差异 Significance of the difference
0	109.07 ± 38.89 (0-2d) 115.63 ± 38.25 (0-4d)			
0.18	86.93 ± 31.70 (0-2d) 116.26 ± 34.59 (0-4d)	79.70 100.47	1.974 0.055	P<0.05 N.S
0.32	52.82 ± 24.83 (0-2d) 74.24 ± 25.72 (0-4d)	48.42 64.06	5.451 4.023	P<0.01 P<0.01
0.56	52.70 ± 30.77 (0-2d) 66.64 ± 24.69 (0-4d)	48.32 57.51	5.084 4.821	P<0.01 P<0.01
1.0	48.45 ± 21.00 (0-2d) 29.34 ± 19.18 (0-4d)	44.42 25.32	6.133 9.038	P<0.01 P<0.01
1.8	36.51 ± 17.42 (0-2d) 13.13 ± 13.85 (0-4d)	33.47 11.33	7.651 11.295	P<0.01 P<0.01

根据两个短期实验的结果, 图 2 绘出了受两种农药的影响, 贻贝平均比生长率下降的

曲线。从图中可以看出, 甲基异柳磷和水胺硫磷对贻贝生长的半数影响浓度 (EC_{50}) 分别为 $0.73\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.62\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

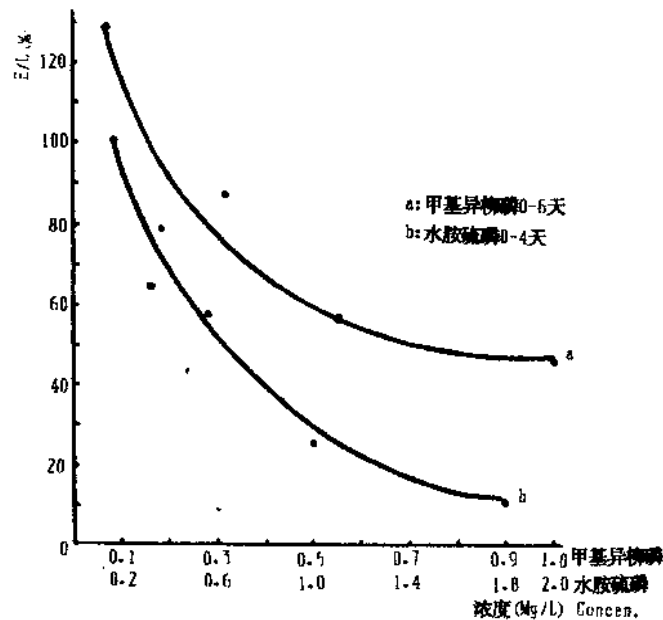


图 2 不同浓度甲基异柳磷和水胺硫磷对贻贝平均比生长率的影响

Fig.2 The effect of various concentrations of Isofenphos-methyl and Shulanlilin on mean specific growth rate of *Mytilus edulis*

(二)长期实验

甲基异柳磷对贻贝生长影响的长期实验结果见图 3 和图 4。后者是以平均 SGR 值, 前者是以 E/C 值表示出的各实验浓度组贻贝的生长变化情况。

从图中可以看出, 当甲基异柳磷浓度为 $0.056\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.18\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 贻贝的生长未受到任何影响, 而且在最低浓度组 $0.056\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 贻贝的生长率似乎比对照组还略高些。在 $0.32\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 贻贝的生长有一个逐渐降低的趋势, 但在 9 天时间内未达到统计意义上的明显差异。在 $0.56\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 贻贝的生长受到明显的抑制 ($P < 0.01$), E/C 值从 45.5% 降到 20%。但在转移到清洁海水中之后, 6 天内生长即可恢复到正常水平。

水胺硫磷对贻贝生长影响的长期实验结果见图 4 和图 5。从图中可以看出, 各组贻贝的生长变化各有特点。在 $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 贻贝的生长与对照组无明显的差异。在 $0.18\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 投药三天后, 贻贝的生长有显著的减少 ($P < 0.05$), 但在随后的 6 天, 生长有所恢复, 与对照组不再有明显的差异。在 $0.32\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 贻贝的生长呈波动状态, 投药后的三天, 生长显著减缓 ($P < 0.01$), 随后有所恢复, 接着又开始下降 ($P < 0.05$)。可以认为, 水胺硫磷的这一浓度, 正是影响贻贝生长的临界浓度。在高浓度组 $0.56\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 贻贝的生长都受到了明显的抑制 ($P < 0.01$)。 E/C 值最小达 19.2%。但在转移到清洁海水之后, 这两个浓度组的贻贝, 6 天后的生长也都可恢复

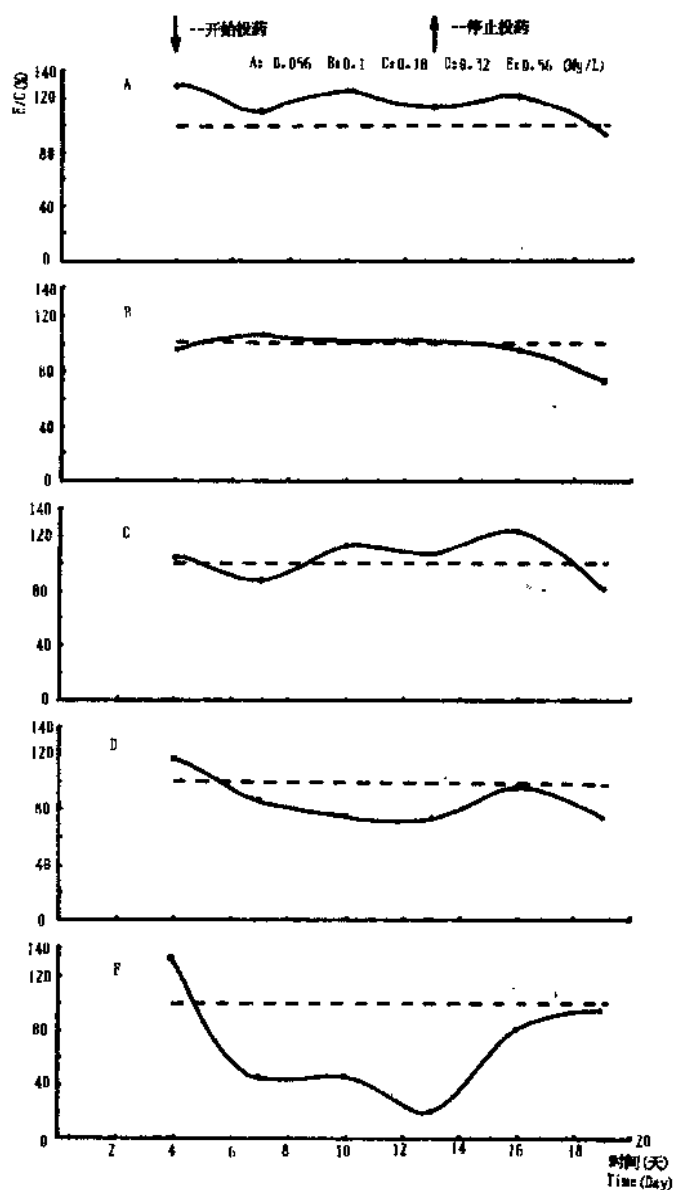


图 3 不同浓度甲基异柳磷对贻贝 E/C 值的影响

Fig.3 The effect of various concentrations of Isfenphos-methyl on E: C ratio of *Mytilus edulis*

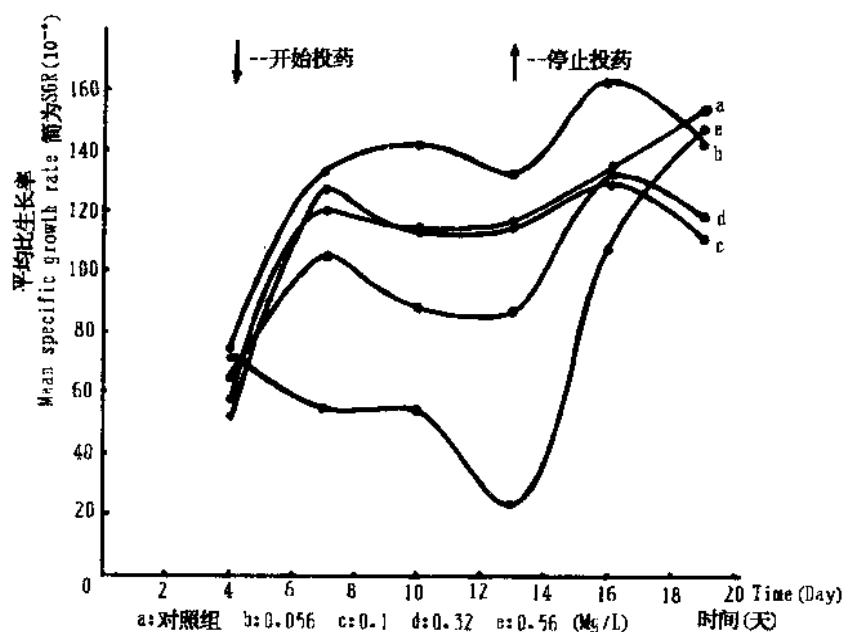


图 4 不同浓度甲基异柳磷对贻贝平均比生长率的影响

Fig.4 The effect of various concentrations of Isfenphos-methyl on mean specific growth rate of *Mytilus edulis*

到正常水平。

采用概率单位法对实验结果进行处理, 可得出甲基异柳磷对贻贝 9 天的 EC_{50} 值为 $0.42\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水胺硫磷 EC_{50} 值为 $0.60\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(三)两种农药对贻贝摄食率、滤水率等生理机能的影响

在实验过程中, 各实验组均未发现贻贝因中毒而引起的死亡。但在两种农药的高浓度实验组, 经二三天暴雨后, 可观察到绝大部分贻贝贝壳关闭, 此时实验箱的水色几乎和换水箱一样。经对部分实验的水样进行光密度测定, 发现水样的光密度都有一个随农药浓度的升高而变大的趋势。对照组及低浓度组的光密度在换水前都为零, 其它浓度组则逐渐升高, 最高可达换水箱的 60%–66.7% (甲基异柳磷 $0.56\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 63.6% (水胺硫磷 $1.8\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。因藻类密度与水样的光密度呈直线正相关, 从光密度的升高就可得知藻类密度 (即剩余饵料) 的增大, 从而反映出贻贝摄食率及滤水率的降低。

$$[\text{摄食率} = (\text{Nb} - \text{Ne}) \cdot t^{-1}, \text{滤水率} = \frac{1}{2}(\text{Mb} - \text{Me}) \cdot \text{摄食率}] \quad (2)$$

讨 论

1. 在贻贝及其它双壳类动物的研究中, 常采用壳长 (或壳重、肉重) 为指标, 来评价生长率的变化。由于生物的生长率取决于其大小和年龄, 壳长 (或壳重) 的增加会因贻贝的大小而有很大不同。因此, 从生理学意义上讲, 采用测量单位时间单位长度体长变化的比

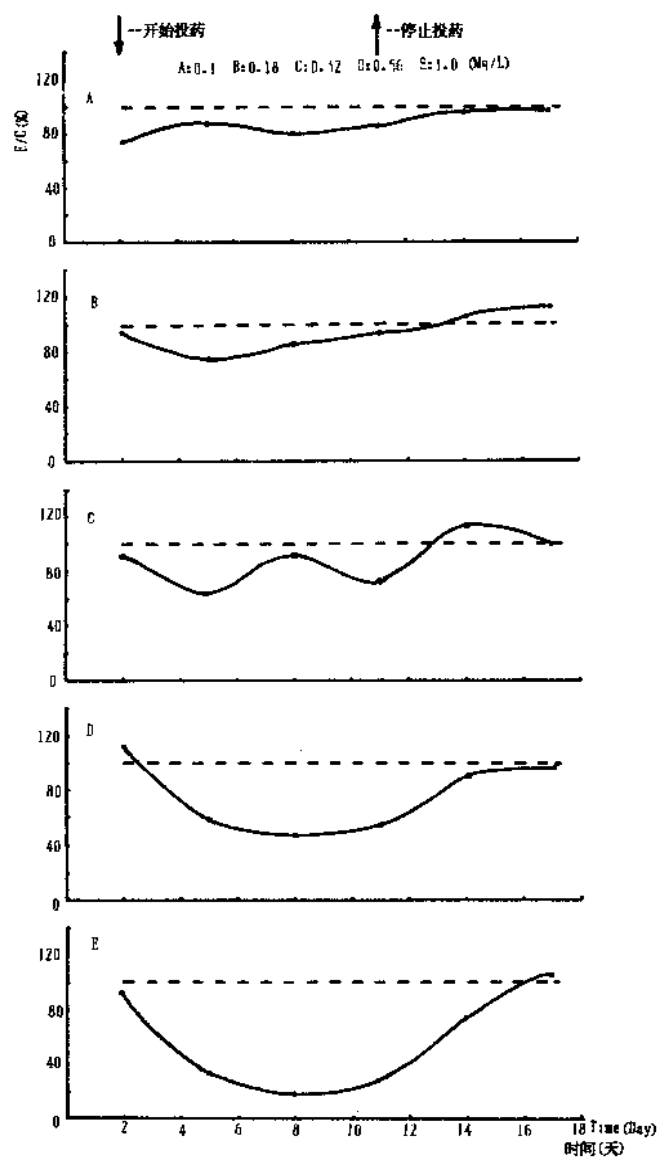


图 5 不同浓度水胺硫磷对贻贝 E/C 值的影响

Fig.5 The effect of various concentrations of Shulanliolin on E: C ration of *Mytilus edulis*

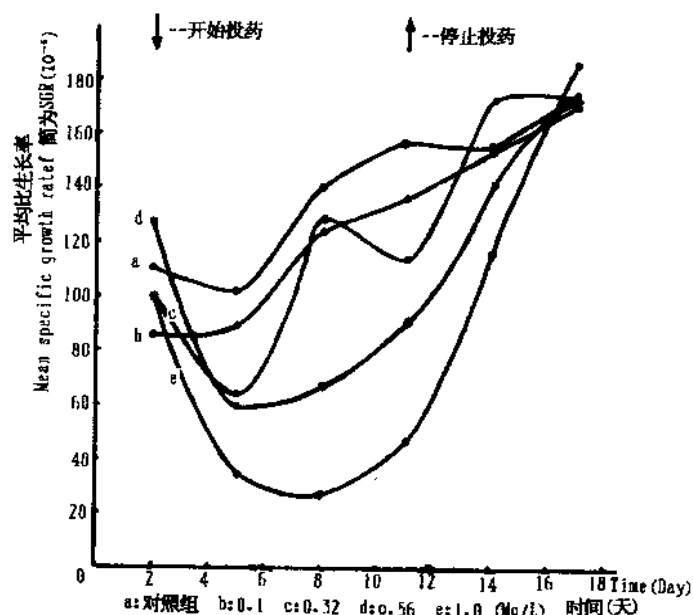


图 6 不同浓度水胺硫磷对贻贝平均比生长率的影响

Fig.6 The effect of various concentrations of Shuanliulin on mean specific growth rate of *Mytilus edulis*

生长率 (SGR), 不失为一种表示生长的最适方法。而且该指标已被广泛地采用在贻贝生长率及生长效率的研究中^[3-5]。采用 E/C 比值这一指标的的优点是可以排除一些细小的实验条件的影响^[5], 及 SGR 本身的某些变化。

2. 据已进行过的实验报道, 甲基异柳磷对紫贻贝和光滑河兰蛤的 96 小时 LC_{50} 为 $2.40\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2.85\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水胺硫磷对以上两种生物的 96 小时 LC_{50} 值为 $4.02\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $7.13\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[1]。本实验结果是甲基异柳磷对贻贝 6 天的 EC_{50} 值为 $0.73\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水胺硫磷 4 天的 EC_{50} 值为 $0.62\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由此可见, 后一指标要比前者敏感得多。

3. 根据急性实验两种农药对贻贝的 96 小时 LC_{50} 的值, 可以看出甲基异柳磷的毒性要大于水胺硫磷, 而在生长实验中, 情况略有不同。

在两种农药的短期实验中, 得出水胺硫磷 4 天 EC_{50} 为 $0.62\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。甲基异柳磷 6 天 EC_{50} 为 $0.73\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 但在长期实验中, 甲基异柳磷 9 天 EC_{50} 为 $0.42\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水胺硫磷 9 天 EC_{50} 为 $0.60\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其原因似可认为, 由于两种农药导致贻贝死亡和抑制生长的中毒机理不同, 其生物效应也会有所不同。

4. 贻贝暴露于两种农药后, 都出现了闭壳现象, 这是贻贝对毒物的一种隔离反应。这一反应结果就必然造成摄食率及滤水率的降低。贻贝的呼吸是伴随滤水行为进行的, 而呼吸和摄食都是贻贝正常生长和保持能量平衡的主要因素。由此可见, 甲基异柳磷和水胺硫磷

抑制贻贝生长的主要原因就是降低了贻贝的摄食、呼吸等生理功能,从而无法维持正常的新陈代谢和能量平衡。

5. 本实验曾发现,农药的低浓度组贻贝生长率高于对照组的情况(虽然还未达到统计上的显著差异)。尽管这是个别现象,但还是应该给予一定的重视。因在实际的养殖生产过程中,确曾发现过少量的(低浓度)有机磷农药会导致某些贝类生长加快。是否可以认为,适当的有机磷农药对贻贝的生长发育产生正作用,还需进一步的研究证实。一般说来,最大的生长率反映了最适合的环境条件。但另一方面,正如 Stebbing^[8]所指出,最大的生长率也可以被认为是生物为克服生长抑制作用表现的过份反应。这种生长波动反应了生物的生长控制机理,它会持续到在一个新的环境条件下,建立起最佳 SGR 为止。经这两种有机磷农药暴污过的贻贝,在转移到清洁海水后,其生长的恢复,也反应了农药对贻贝的生长控制机理产生了部分的抑制。

参 考 文 献

- [1] 陈碧鹏等, 1993. 甲基异柳磷、水胺硫磷对海洋藻类(金藻)、贝类(紫贻贝、光滑贻贝)及对虾仔虾的毒性影响. 海洋环境科学, 12 (2): 12
- [2] 吴坚, 1991. 铜、镉对紫贻贝摄食率影响的初步研究. 海洋环境科学, 10(1): 26.
- [3] Keith, J. R. 1985. Growth inhibition and recovery in Mussels (*Mytilus edulis*) exposed to low copper concentrations. J. mar. biol. Ass. U. K., 65: 421-431.
- [4] Patricia, C. A. *et al.* 1982. The effects of temperature on the shell growth of young *Mytilus edulis* L. J. Eep. Mar. Biol. Ecol., 59: 275-288.
- [5] Patricia, C. A. 1984. The effects of reduced salinity on the shell growth of small *Mytilus edulis*. J. mar. biol. Ass. U. K., 64: 171-192.
- [6] Stromgren, T. 1975. Linear measurements of growth of shells using laser diffraction. Limnol. Oceanogr., 20.
- [7] Stromgren, T. 1987. Effect of oil and dispersants on the growth of Mussels. Mar. Envir. Res., 21: 239-246.
- [8] Stebbing, A. R. D. 1981. The effects of reduced salinity on colonial growth and membership in a hydroid. J. Exp. Mar. Bio, Ecol., 55: 233-241.
- [9] Stromgren, T. 1984. Growth in length of *Mytilus edulis* L. fed on different algal diets. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 76: 23-24.

EFFECTS OF ISOFENPHOS-METHYL AND SHUIANLIULIN* ON THE SHELL GROWTH OF *MYTILUS EDULIS*

Chen Minshan Chen BiJuan Wu Zhangkuan

(Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The effects of Isofenphos-methyl and Shuianliulin on the shell growth of *Mytilus edulis* were studied with the aid of a new video microscopy system. Significant growth inhibition occurred at a concentration of 0.56mg/L Isofenphos-methyl and

0.32mg/L Shuianliulin after exposure for 4–6d. The 9 d EC_{50} values of Isufenphos-methyl and Shuianliulin to *Mytilus edulis* were 0.42mg/L and 0.60mg/L respectively. The rates of filtration and feeding were also inhibited by the two kinds of pesticide. Recovery after the exposure period was observed at all concentrations.

KEYWORDS Isufenphos-methyl, Shuianliulin, *Mytilus edulis*, Growth

* Chinese name, English name has not been given