

铜、镉、铅离子对水螅摄食行为的抑制作用

张焕敬¹, 乔 波¹, 汪安泰¹, 余忠明²

(1. 深圳大学生命科学学院, 广东 深圳 518060; 2. 深圳市海上田园旅游发展有限公司, 广东 深圳 518104)

摘要 参照 GB 3838—2002《地表水环境质量标准》中Ⅰ类标准(GB-Ⅰ)的重金属限量值,探索了 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 浓度对水螅摄食行为的抑制作用。结果发现,这 3 种离子抑制水螅摄食行为的 2 min 最低可见效应浓度 ρ_{LOEC} , Cu^{2+} 的低于其 GB-Ⅰ的限量值, Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 的略高于其 GB-Ⅰ的限量值;与 24 h 暴露于相同浓度重金属溶液的 ρ_{LOEC} 接近。 Cu^{2+} 的 2 min ρ_{LOEC} 与 7 d 暴露于 Cu^{2+} 的 ρ_{LOEC} 相同。结果提示,利用水螅摄食行为检测水体微毒性的方法比以往方法更简便、快速、准确,在水体微毒检测方面具有广泛的应用前景。

关键词 水螅;摄食行为;重金属离子;抑制作用

中图分类号 S912;X832 文献标识码 A 文章编号 1004-693X(2008)03-0017-03

Inhibitory effect of Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} on the feeding behavior of *hydra*

ZHANG Huan-jing¹, QIAO Bo¹, WANG An-tai¹, SHE Zhong-ming²

(1. School of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China; 2. Shenzhen Waterlands Resort Tourism Development Co., Ltd, Shenzhen 518104, China)

Abstract The inhibitory effects of Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} on the feeding behavior of *hydra* are investigated according to the limiting concentration of heavy metals in Grade I of *Environmental Quality Standard for Surface Water* (GB3838-2002; GB-Ⅰ). The results indicate that the lowest observed effective concentration (LOEC) of Cu^{2+} inhibiting the feeding behavior of *hydra* after 2 minutes is lower than the GB-Ⅰ limiting concentration and equals to the LOEC of Cu^{2+} when *hydra* was exposed in the solution for 7 days. However, the LOEC of Cd^{2+} and Pb^{2+} were slightly higher than the GB-Ⅰ limiting concentration, approaching the LOEC when *hydra* was exposed for 24 hours. The method of using *hydra* to detect the low toxicity of water is more simple, fast and precise than other methods and has wide application prospects.

Key words *hydra*; feeding behavior; heavy metal ions; inhibitory effect

重金属离子是常见的污染物之一,其污染特点是来源广、存留时间长、有蓄积性、能沿食物链转移富集^[1]。淡水水螅(*Hydra robusta*)易采集和培养,对污染物敏感, Karntanut 等^[2-3]研究了 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 对水螅的急性、亚急性和慢性毒性。王莹等^[4-5]研究了 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 对水螅的急性和联合毒性。Pardos 等^[6]利用淡水水螅对波兰的克拉科夫市 14 种污水做了微毒检测,认为该方法在污水的生物监测上是一种有效手段。Pachura 等^[7-8]利用水螅分别检测了壬基苯酚和 4-壬基苯酚急性和慢性毒性,也证明水螅是对化学污染最敏感的动物之一。

Arkhipchuk 等^[9]利用水螅对 30 个品牌的直饮水和 9 个井水做了慢性亚致死、致死和抑制生殖率等方面的研究,提出水螅是一种可靠的评价急、慢性水体毒性的测试动物。

文献 10-13 对淡水水螅的生理、结构、行为等做过一些相关研究,本文参照 GB 3838—2002《地表水环境质量标准》Ⅰ类标准(GB-Ⅰ)中的部分重金属浓度限量数据,研究了 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 对水螅摄食行为的影响。发现浓度低于标准限量的 Cu^{2+} 以及浓度接近标准限量的 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 对水螅的摄食行为有明显的抑制作用,其反应时间不超过 2 min。毒

基金项目 国家高技术研究发展计划项目(2005AA60101005);深圳大学大学生创新性实验计划项目

作者简介 张焕敬(1985—)女,广东深圳人,本科生,生物技术专业。E-mail: jimproveeg@163.com

通讯作者 汪安泰, E-mail: iwang118@szu.edu.cn

性检测时间仅为前述研究的约 1/5 000。Cu²⁺ 对水螅摄食行为的最低抑制浓度与 Cu²⁺ 对水螅慢性毒性的 7 d 最低可见效应浓度(lowest observed effect concentrations ; ρ_{LOE})接近^[2],是臂尾轮虫 24 h 半致死浓度的 0.01 %^[14]。经比较分析,本文方法是一种较为有效的微毒生物检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料与配制

a. 实验动物来源。本实验所用水螅采集于广东省惠州市东江,每天饲以采集于深圳大学文山湖内的秀体溞(*Diaphnosma spp.*)。实验前吸取一定数量水螅分别置于 1 000 mL 烧杯培养,停止喂食 24 h。

b. 药品。硫酸铜(CuSO₄·5H₂O ,*M* = 249.68 ,分析纯,汕头市光华化工厂生产);氯化镉(CdCl₂·5/2H₂O ,*M* = 228.35 ,分析纯,天津市福晨化学试剂厂生产);硝酸铅(Pb(NO₃)₂ ,*M* = 331.21 ,分析纯,天津市福晨化学试剂厂生产)。

c. 重金属离子溶液配制。用电子天平(JA1003 ,上海天平仪器厂生产,精确度为 0.001 g)分别准确称量 4.995 g (0.02 mol)硫酸铜、0.571 g (0.0025 mol)氯化镉和 0.331 g (0.001 mol)硝酸铅,分别放于 100 mL、50 mL、50 mL 容量瓶中,加入高纯水,摇匀,得到母液质量浓度分别为 $\rho(\text{Cu}^{2+}) = 1\,270\text{ mg/L}$, $\rho(\text{Cd}^{2+}) = 5\,620\text{ mg/L}$, $\rho(\text{Pb}^{2+}) = 4\,144\text{ mg/L}$ 。实验用不同浓度的重金属离子溶液分别用 1 mL 移液枪(QA45897 ,量程为 100 ~ 1 000 μL),准确吸取一定的相关母液到 50 mL 容量瓶,用蒸馏水配制成各种浓度的重金属离子溶液。各实验组溶液重金属质量浓度见表 1 和表 2。

表 1 Cu²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 对水螅摄食行为的影响

实验组别	离子质量浓度/ (mg·L ⁻¹)	摄食反应强度及个体反应率/%				连续观察 时间/min
		无反应	+	++	+++	摄食
对照组						100
Cu1	1.27 × 10 ⁻⁴					100
Cu2	1.27 × 10 ⁻³	10	60	30		10
Cu3	1.27 × 10 ⁻²	100				10
Cd1	5.62 × 10 ⁻⁴					100
Cd2	5.62 × 10 ⁻³	20		70	70	10
Cd3	5.62 × 10 ⁻²	30	70			10
Cd4	5.62 × 10 ⁻¹	30	70			10
Cd5	5.62 ~ 5.62 × 10 ³	100				10
Pd1	4.144 × 10 ⁻²					100
Pd2	4.144 × 10 ⁻¹	10		10	80	10
Pd3	4.144 ~ 4.144 × 10 ¹	10	90			10
Pd4	4.144 × 10 ² ~ 4.144 × 10 ³	100				10

注: + :仅出现触手摆动; ++ :触手摆动、扭曲,垂唇伸出,且出现探测活动(向不同方向蠕动); +++ :将水蚤吞入体内后吐出。

表 2 水螅暴露于 Cu²⁺、Cd²⁺、

Pb²⁺ 溶液 24 h 后的形态变化

实验组别	离子质量 浓度/(mg·L ⁻¹)	水螅反应数占总数百分率/%					
		正常	I	II	III	IV	X
对照组	0	100					
Cu1	1.27 × 10 ⁻⁴ ~ 1.27 × 10 ⁻³	100					
Cu2	1.27 × 10 ⁻²			60	40		
Cu3	1.27 × 10 ⁻¹						100
Cu4	1.27					80	20
Cd1	5.62 × 10 ⁻⁴	100					
Cd2	5.62 × 10 ⁻³		100				
Cd3	5.62 × 10 ⁻² ~ 5.62 × 10 ⁻¹						100
Cd4	5.62						100
Cd5	5.62 × 10						100
Cd6	5.62 × 10 ²					100	
Cd7	5.62 × 10 ³		50	30	20		
Pb1	4.144 × 10 ⁻²	100					
Pb2	4.144 × 10 ⁻¹	90		10			
Pb3	4.144			10	40		50
Pb4	4.144 × 10						100
Pb5	4.144 × 10 ²				100		
Pb6	4.144 × 10 ³			10	70		20

注:I—触手远端膨大;II—触手端部解体;III—触手全部解体;IV—头和基盘解体;X—全部解体。

1.2 重金属微毒实验

a. 对照实验。用胶头滴管吸取 3 只饥饿水螅于干净载玻片上,滞留适量水分,再吸取 3 ~ 5 只水蚤于水螅处,在显微镜下观察其摄食反应,同时在 Olympus BX51 显微镜下观察并数码记录。

b. 预实验设计。先进行预实验,按浓度从高至低进行。用一次性吸管吸取备好的重金属溶液滴于干净干燥的载玻片上,用不锈钢昆虫针挑出一只水螅于重金属溶液处,观察水螅 5 min。若水螅没有被毒死,用胶头滴管吸取水蚤一只于载玻片另一处,滤纸吸干水蚤周围水分,用针把水蚤移入重金属溶液,观察水螅反应。每个浓度梯度重复 3 个水螅,记录水螅的反应,直到水螅能正常捕食为止。

c. Cu²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 对水螅摄食行为影响的实验。依据预实验结果,设计较为合理细致的各重金属浓度梯度(表 1、表 2)。每个浓度梯度重复 10 个水螅,探索水螅摄食行为不受 Cu²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 干扰的无可见效应浓度(no observed effect concentrations ; ρ_{NOE})和受 Cu²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 干扰的最低可见效应浓度。

d. 水螅的耐毒能力测试。将水螅浸泡在重金属溶液中 24 h,记录水螅 24 h 后的生存状况。

2 实验结果

2.1 水螅在不同浓度溶液内的摄食行为反应

a. 空白对照组。水螅呈浅灰色。饥饿时体部和触手都充分伸展,一接触到水蚤时,触手上的刺丝囊射出刺丝,往水蚤体内注射毒液,触手扭曲并裹住水蚤。从放入水蚤至触手捕捉水蚤只需 1 min 左右。水螅口慢慢张开至极度扩大呈草帽状,将水蚤吞进体内。摄食期间触手有扭曲和摆动动作。水蚤被吞入体内后,体部出现间歇性的舒张和收缩^[2]。以上摄食过程约 4~8 min。本文把水螅的这些行为定义为有摄食反应;在水螅体附近放入秀体蚤后,水螅无任何上述行为的,定义为无摄食反应。

b. Cu^{2+} 处理组。与对照组比较,水螅在 $\rho(\text{Cu}^{2+})$ 大于 $1.27 \times 10^{-4} \text{ mg/L}$ 时首先出现触手舒张,有稍微收缩。放入水蚤后,水螅反应缓慢,水螅口张开的时间延长(大于 1 min),部分水螅把刚吞入的水蚤吐出,随着 $\rho(\text{Cu}^{2+})$ 的升高,水螅触手收缩程度增大,体部也出现收缩情况,体部颜色变深,水螅反应更迟钝。严重时水螅体部和触手都收缩成一团,体部和触手表层出现腐蚀、解体现象。 $\rho(\text{Cu}^{2+})$ 大于 $1.27 \times 10^{-2} \text{ mg/L}$ 时水螅没有摄食反应。

c. Cd^{2+} 处理组。与对照组比较, $\rho(\text{Cd}^{2+})$ 大于 $5.62 \times 10^{-4} \text{ mg/L}$ 时,水螅的摄食反应受到抑制,与 Cu^{2+} 处理组相似。与 Cu^{2+} 处理组相比, $\rho(\text{Cd}^{2+})$ 小于 $5.62 \times 10^{-4} \text{ mg/L}$ 时,水螅触手表面颜色变深,但摄食反应未见异常,体部和触手收缩舒张自然,水螅捉住水蚤后,触手不断缠卷,不久即张口吞下水蚤;当 $\rho(\text{Cd}^{2+})$ 略高时,水螅摄食反应迟钝,出现体部收缩、舒张的交替活动,并出现把刚吞入的水蚤吐出的行为。随着 $\rho(\text{Cd}^{2+})$ 的进一步升高,其摄食反应行为越来越微弱,体部变黑,甚至解体。

d. Pb^{2+} 处理组。与对照组比较, $\rho(\text{Pb}^{2+})$ 大于 $4.144 \times 10^{-2} \text{ mg/L}$ 时,水螅的摄食反应受抑制,情况与 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理组类似。与 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 处理组比较, Pb^{2+} 对水螅的毒性低于 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} ;水螅在 $\rho(\text{Pb}^{2+})$ 达 $4.144 \times 10^2 \sim 4.144 \times 10^3 \text{ mg/L}$ 时,体表呈蓝色。

2 水螅在不同浓度溶液内浸泡的形态变化

将水螅分别浸泡在含有不同 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 浓度溶液内连续 24 h,发现水螅的解体全过程都经过以下 6 个阶段:首先触手远端解体,第二步触手中间部分解体,再次触手基部解体,然后垂唇解体,再到基盘和柄部解体,最后胃区解体。随着重金属离子浓度的升高和浸泡时间延长,水螅体色逐渐变深;当重金属离子达一定质量浓度($\rho(\text{Cu}^{2+})$ 大于 1.27

$\times 10^{-1} \text{ mg/L}$; $\rho(\text{Cd}^{2+})$ 大于 $5.62 \times 10^{-1} \text{ mg/L}$; $\rho(\text{Pb}^{2+})$ 大于 4.144 mg/L)时,水螅身体出现凝结现象,即身体缩成团状,在光镜下未见有表层腐蚀和解体现象。

2.3 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 抑制水螅摄食反应的 ρ_{LOE}

本实验发现,3 种重金属离子稀释到一定浓度(实验组 $\text{Cu}2$ 、 $\text{Cd}2$ 、 $\text{Pb}2$,见表 1)时,水螅触手和垂唇有轻微蠕动,无张口现象,本文将其定义为 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 离子抑制水螅摄食行为的 ρ_{LOE} 。当低于 ρ_{LOE} (见表 1)时,水螅有正常的摄食行为,如触手充分伸长,对水蚤反应迅速,水螅口极度地扩大成草帽状等,即水螅的摄食行为不受抑制,本文将其定义为 ρ_{NOE} 。

3 讨论

在水螅垂唇与触手的交接处,触手基部都分布着大量感觉细胞,秀体蚤的汁液能诱导水螅的摄食行为,且能诱导离体头部组织的摄食反应,其诱导物质主要是谷胱甘肽^[10]。水螅的乙酰胆碱能传导系统分布于身体表层^[11],重金属离子与感觉细胞的蛋白结合,使其感觉功能受到抑制。当谷胱甘肽的诱导作用小于重金属的抑制作用,即重金属离子与全部的感觉细胞结合时,水螅无摄食反应;如果重金属离子浓度降低,部分感觉细胞还能行使其感觉功能,那么水螅出现微弱的摄食反应,即水螅对水蚤不敏感,只出现触手微微摆动等现象,若重金属离子的浓度极低(等于或低于处理组 $\text{Cu}1$ 、 $\text{Cd}1$ 、 $\text{Pb}1$ 离子浓度,见表 1),对感觉细胞不起作用,水螅的摄食反应不受抑制,则水螅出现正常的摄食反应。本文曾用谷胱甘肽和小牛血清做过实验,但效果不如新鲜的秀体蚤的汁液。水螅触手端部和基盘是一些终端分化细胞^[12-13],在微毒条件下,该部位的细胞先解体。从表 2 可知,水螅解体和死亡的程序符合其生理规律。水螅在较高浓度的重金属溶液内出现死亡后不解体的现象,原因是重金属与蛋白结合,起到了固定蛋白的作用。

在所有实验中,水螅出现摄食反应的时间最长不超过 2 min,最短的只有数十秒,因此,实验组设置最长观察时间为 10 min 是合理的。从表 1、表 3 可见,实验组内水螅触手有扭曲和摆动,但无张口现象的 Cu^{2+} 的 ρ_{LOE} 比 GB3838—2002《地表水环境质量标准》中 I 类标准的重金属限值低, Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的 ρ_{LOE} 略高。比较水螅 24 h 暴露于重金属溶液的 ρ_{LOE} , Cu^{2+} 抑制水螅摄食行为的 ρ_{LOE} 比 24 h 暴露于重金属溶液的 ρ_{LOE} 略高, Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的水螅摄食行为的 ρ_{LOE} 与 24 h 暴露于重金属溶液的(下转第 98 页)

f. 明晰水权 ,建立水市场。 尽管淄博市各区之间缺乏水力联系 ,但在各区内部地表水与地下水、上游与下游、工业与农业、生活与生产用水之间存在着错综复杂的水力联系。 这就要求对所有用水实行总量控制 ,进行定额计划管理。 在取水许可、用水计划的基础上 ,逐步明晰用水权 ,建立水市场 ,制定水权交易市场规则 ,将用水节水推向市场 ,以经济手段推动节水。 制定实施“ 淄博市节水型社会建设规划 ”,“ 淄博市水权水市场暂行管理办法 ”;“ 淄博市农村小型水源工程产权制度改革方案 ”等规章制度 ,为水资源的“ 统一管理、科学管理、动态管理 ”提供一个工作平台 ,切实加强水行政主管部门对水资源开发利用实施监督和管理的职能。

(上接第 19 页)

ρ_{LOE} 相同。 结果提示 ,利用水螅摄食行为特性检测水体微毒的时间至少比 24h 暴露于微毒水样的测试方法节约时间达 700 倍。 本实验 Cu^{2+} 的 ρ_{LOE} 与 7 d $\rho_{LOE}^{[3]}$ 非常接近 ,但后者的实验时间是本文实验时间的 5000 倍 ,与 Holdway 等^[3] 7 d 期间的喂食、换水和观察所耗费的精力和时间相比 ,本文实验方法体现出很大的优越性 ,操作简便 ,时间极短 ,在淡水环境实时监测中具有广泛的应用前景。 由于首次设计此方法 ,一些技术有待进一步完善 ,如秀体 搔汁液的定量问题等。 另外 , ρ_{LOE} 和 ρ_{NOE} 的数据不够细致 ,有待进一步研究。

表 3 ρ_{NOE} 、 ρ_{LOE} 与 GB- I 中限量比较 mg/L

离子名称	ρ_{NOE}	ρ_{LOE}	GB- I 中限量
Cu^{2+}	1.27×10^{-4}	1.27×10^{-3}	1×10^{-2}
Cd^{2+}	5.62×10^{-4}	5.62×10^{-3}	1×10^{-3}
Pb^{2+}	4.144×10^{-2}	4.144×10^{-1}	1×10^{-2}

参考文献：

[1] 陆星家 ,席贻龙 ,刘桂云 . 金属铜在日本沼虾体内的分布和积累[J]. 生态学杂志 ,2005 ,24(12):1444-1448.

[2] KARNTANUT W ,PASCOE D. A comparison of methods for measuring acute toxicity to *Hydra vulgaris*[J]. Chemosphere ,2000 ,41(10):1543-1548.

[3] HOLDWAY D A ,LOK K ,SEMAAN M. The acute and chronic toxicity of cadmium and zinc to two *Hydra* species[J]. Environ Toxicol 2001 ,16(6):557-565.

[4] 王莹 ,郝家胜 ,陈娜 ,等 . 铅、镉和锌 3 种重金属离子对水螅

参考文献：

[1] 淄博市水资源管理处 . 淄博市水资源公报[R]. 淄博 :淄博市水资源管理处 ,2004.

[2] 淄博市水利与渔业局 . 淄博市水利发展与改革“ 十一五 ”规划报告[R]. 淄博 :淄博市水利与渔业局 ,2005.

[3] 马德海 . 疏勒河流域水资源开发利用研究[J]. 水利水电技术 ,2006 ,37(5):1-4.

[4] 畅建霞 ,王义民 ,黄廷林 ,等 . 石羊河流域水资源开发利用存在的问题及调控对策[J]. 干旱区资源与环境 ,2006 ,20(1):73-77.

[5] 谢新民 ,张海庆 ,尹明万 ,等 . 水资源评价及可持续利用规划理论与实践[M]. 郑州 :黄河水利出版社 ,2003.

(收稿日期 2007-03-02 编辑 徐 娟)

的联合毒性研究[J]. 生命科学研究 ,2006 ,10(1):91-94.

[5] 欧小兵 ,李海云 ,陈永芳 ,等 . 铜、镉对水螅的急性和联合毒性作用[J]. 环境污染与防治 ,2006 ,28(8):584-588.

[6] PARDOS M ,BENNINGHOFF C ,GUEGUEN C ,et al. Acute toxicity assessment of Polish(waste) water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay : a comparison with the microtox test[J]. Sci Total Environ ,1999 ,15 :141-148.

[7] PACHURA S ,CAMBON J P ,BLAISE C ,et al. 4-nonylphenol-induced toxicity and apoptosis in *Hydra attenuata*[J]. Environ Toxicol Chem 2005 ,24(12):3085-3091.

[8] PACHURA-BOUCHET S ,BLAISE C ,VASSEUR P. Toxicity of nonylphenol on the cnidarian *Hydra attenuata* and environmental risk assessment[J]. Environ Toxicol ,2006 ,21(4):388-394.

[9] ARKHIPCHUK V V ,BLAISE C ,MALINOVSKAYA M V. Use of *Hydra* for chronic toxicity assessment of waters intended for human consumption[J]. Environ Pollut ,2006 ,142(2):200-211.

[10] 汪安泰 . 水螅离体组织的摄食行为[J]. 动物学杂志 ,1998 ,33(1):9-12.

[11] 汪安泰 . 水螅 AChE 和 NPY 类似物的定位[J]. 动物学报 ,2006 ,52(1):115-122.

[12] 汪安泰 . 水螅的消化、排遗和触手生长模式的研究[J]. 动物学杂志 ,1996 ,31(2):1-5.

[13] 汪安泰 . 水螅的反口孔结构和功能[J]. 动物学报 ,1996 ,42(2):135-140.

[14] 张才学 ,郑文凯 ,林玉凤 ,等 . 4 种重金属离子及其混合液对壶状臂尾轮虫的急性毒性实验[J]. 湛江海洋大学学报 ,2005 ,25(1):56-59.

(收稿日期 2007-09-12 编辑 徐 娟)