

DOI: 10.5846/stxb202101160174

许力山, 王剑南, 哈斯巴根, 孙丽丽, 曹传旺. Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊 (*Chironomus kiiensis*) 幼虫生长发育的影响及富集效应. 生态学报, 2022, 42(4): 1629-1638.

Xu L S, Wang J N, Hasibagen, Sun L L, Cao C W. Effects of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> on growth and development of *Chironomus kiiensis* larvae and its enrichment effects. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(4): 1629-1638.

# Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊 (*Chironomus kiiensis*) 幼虫生长发育的影响及富集效应

许力山<sup>1</sup>, 王剑南<sup>1</sup>, 哈斯巴根<sup>2</sup>, 孙丽丽<sup>1</sup>, 曹传旺<sup>1,\*</sup>

1 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040

2 呼伦贝尔市林业和草原局, 林木病虫害防治检疫站, 呼伦贝尔 021008

**摘要:** 河流、湖泊等水生环境中普遍存在的重金属污染破坏水生生态系统并间接威胁人类健康。为探究重金属胁迫下水生昆虫花翅摇蚊 (*Chironomus kiiensis*) 生态毒理, 测定了重金属 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 胁迫对花翅摇蚊化蛹率和羽化率的影响, 检测了摇蚊的口器致畸与富集效应。研究结果表明, Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 影响摇蚊幼虫化蛹和羽化过程, 单一重金属离子处理 14 d Pb<sup>2+</sup> 处理组的化蛹率和羽化率分别为 22.22% 和 8.89%, 低于 Cd<sup>2+</sup> 的化蛹率 (25.56%) 和羽化率 (11.11%), 表现出更强的抑制效应。混合离子 1:2 和 2:1 配比处理组化蛹率和羽化率均为 11.11% 和 4.44%, 显著低于单一重金属离子胁迫下的化蛹率和羽化率。单一重金属离子及混合离子处理均能导致花翅摇蚊幼虫口器致畸, 表现为上颚前齿断裂, 中齿和基齿磨损、缺失, 下唇板齿部不规则, 下唇板边缘齿与中央齿磨损、断裂、增生、缺失。不同重金属离子处理下幼虫口器致畸率不同, 并与暴露时间呈正相关, 其中 1:2 配比处理 14 d 致畸率达到 40.61%。重金属离子在摇蚊幼虫体内产生生物富集效应, 单一重金属离子处理下的 Pb<sup>2+</sup> 富集含量 7 d 至 14 d 由 11.46 mg/kg 上升至 31.32 mg/kg, 不同配比混合离子处理下 Pb<sup>2+</sup> 富集含量均呈增加趋势, 其中 1:2 配比处理组由 15.48 mg/kg 上升至 42.50 mg/kg, 而 Cd<sup>2+</sup> 在单一重金属与 1:1 混合离子处理组 7 d 至 14 d 的富集含量无显著性变化, 2:1 配比处理组由 14.20 mg/kg 下降至 9.52 mg/kg, 1:2 配比由 5.85 mg/kg 上升至 20.99 mg/kg。这些研究结果表明 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 胁迫影响花翅摇蚊幼虫生长发育且口器出现畸型, 与重金属在幼虫体内的富集密切相关, 为研究重金属对水生生态系统多重效应提供了理论依据。

**关键词:** 重金属; 花翅摇蚊; 生长发育; 口器致畸; 富集

## Effects of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> on growth and development of *Chironomus kiiensis* larvae and its enrichment effects

XU Lishan<sup>1</sup>, WANG Jiannan<sup>1</sup>, Hasibagen<sup>2</sup>, SUN Lili<sup>1</sup>, CAO Chuanwang<sup>1,\*</sup>

1 School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 Forest Pest Control and Quarantine Station, Bureau of Forestry and Grassland of Hulunbuir in Inner Mongolia, Hulunbuir 021008, China

**Abstract:** Heavy metal pollution was observed in rivers, lakes, and other aquatic environments that damaged the aquatic ecosystem and indirectly threatened human health. To explore the ecotoxicology of heavy metal on aquatic insect *Chironomus kiiensis*, the pupation rate, emergence rate, teratogenic of the mouthparts and enrichment effects of *C. kiiensis* were measured under Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> stresses. The results showed that both Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> affected pupation and emergence of *C. kiiensis* larvae. The pupation rate and emergence rate of the *C. kiiensis* larvae treated by Pb<sup>2+</sup> were 22.22% and 8.89%, which was lower than that of larvae treated by Cd<sup>2+</sup> with 25.56% and 11.11% for 14 d stress, respectively, showing a higher

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2572019CG04)

收稿日期: 2021-01-16; 网络出版日期: 2021-11-04

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chuanwangcao@126.com

inhibitory effect. The pupation rate and emergence rate of *C. kiiensis* larvae treated by 1:2 and 2:1 of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  were all 11.11% and 4.44%, respectively, which was significantly lower than those of single heavy metal stress. The treatments of single and mixed heavy metals could lead to teratogenicity of mouthparts in *C. kiiensis* larvae, manifesting as the apical teeth of mandible fracture, middle teeth, basal teeth wear and loss, mentum irregular, marginal teeth and central teeth of the mentum wear, fracture, hyperplasia, and loss. The mouthpart teratogenicity rates of *C. kiiensis* larvae varied with the treatment of different heavy metal ions and showed a positive correlation with the exposure time. Among different treatments, the teratogenic rate of *C. kiiensis* larvae treated by 1:2 of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  reached 40.61%. Moreover, heavy metal ions produced bioaccumulation effects in *C. kiiensis* larvae. Exposed for 7 d to 14 d, the concentration of  $\text{Pb}^{2+}$  in *C. kiiensis* larvae increased from 11.46 mg/kg to 31.32 mg/kg. The  $\text{Pb}^{2+}$  concentration in *C. kiiensis* larvae treated by the different mixed ions showed an increasing trend, and the  $\text{Pb}^{2+}$  concentration in *C. kiiensis* larvae treated by 1:2 mixed ion treatment ranged from 15.48 mg/kg to 42.50 mg/kg. However, the concentration of  $\text{Cd}^{2+}$  in *C. kiiensis* larvae treated by the single heavy metal and 1:1 mixed ion treatment from 7 d to 14 d had no significant difference. The  $\text{Cd}^{2+}$  concentration in *C. kiiensis* larvae treated by 2:1 mixed ion treatment group decreased from 14.20 mg/kg to 9.52 mg/kg, whereas that in 1:2 mixed ion treatment group increased from 5.85 mg/kg to 20.99 mg/kg. The results indicated that  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  could inhibit the growth and development and produce mouthpart teratogenicity of *C. kiiensis* larvae, which was closely related to the accumulation of heavy metals in *C. kiiensis* larvae. These results provided a theoretical basis for the multiple effects of heavy metals on the aquatic ecosystem.

**Key Words:** heavy metals; *Chironomus kiiensis*; growth and development; mouthpart teratogenesis; enrichment

电力工业的发展和工业废水的排放导致重金属污染随地表径流进入海洋和河流等水环境,为水生生物的生存与人类社会的经济和生态效益造成诸多隐患<sup>[1]</sup>,检测重金属胁迫对水环境生态毒理效应的理论价值和意义日益突出。以水生生物作为受试对象,研究重金属对水生生物生理指标与生物标志物的影响可以弥补理化检测的不足<sup>[2-3]</sup>。暴露于重金属环境的水生生物在分子、组织、器官和生物体水平上受到不同程度影响,导致种群数量下降。摇蚊是水生昆虫群落中的重要组成部分,可以促进水生生态系统的碳循环。摇蚊幼虫对周围水体环境变化敏感,外源环境污染使口器和触角出现形态变化并影响其生理指标,可作为监测水质和水生态毒理实验的指示生物<sup>[4-6]</sup>。

重金属可影响摇蚊幼虫蛋白结构,降低血淋巴中贮能物质,破坏细胞和组织结构完整性,抑制免疫反应,引起氧化还原平衡失调<sup>[7]</sup>。研究报道  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  胁迫导致冈比亚按蚊 (*Anopheles gambiae*) 卵活力、幼虫和蛹存活率、羽化率和成虫繁殖率显著低于对照组<sup>[8]</sup>。混合重金属离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ ) 对羽状摇蚊 (*Chironomus plumosus*) 幼虫的联合毒性在低浓度胁迫下为协同作用,高浓度为拮抗作用<sup>[9]</sup>。许多研究证实摇蚊对重金属的抗性与龄期有关<sup>[10-11]</sup>,且重金属对摇蚊的影响可从亲代传递到子代<sup>[12]</sup>。Bervoets 等发现游离重金属离子活性、外界 pH 值以及幼虫对外源 pH 适应性影响羽状摇蚊幼虫对重金属离子的富集<sup>[13]</sup>。水生生态系统中不同含量重金属影响摇蚊幼虫口器的致畸效应<sup>[14]</sup>。李浩等研究表明摇蚊口器致畸率与  $\text{Cu}^{2+}$  胁迫浓度存在密切联系<sup>[15]</sup>。陈菲发现  $\text{Hg}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  诱发的口器致畸程度与重金属浓度呈极显著正相关<sup>[16]</sup>。因此,摇蚊幼虫对水环境中重金属胁迫响应可作为水质检测的指标之一,但实际水生生态系统中重金属离子的种类与含量动态变化十分复杂<sup>[17]</sup>,对多种比例混合重金属离子连续共同作用下水生生物生态毒理研究甚少。

本文以我国南方地区优势种花翅摇蚊 (*Chironomus kiiensis*) 为对象,系统研究了 3 种配比  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  对摇蚊幼虫生长发育的影响,以及口器致畸与富集效应,初步探讨了多元重金属对摇蚊的损伤和抑制作用,为探究水环境重金属毒理机制和风险评估提供理论依据,并为水体污染早期预警提供更全面的监测指标。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试昆虫与沉积物制备

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, 用曝晒除氯 5 d 以上的自来水 (pH 7.58, 溶解氧 6.02 mg/L, 总硬度 80 mg/L, 水温 (25±1) °C) 饲养于玻璃鱼缸中, 自然光照, 使用氧气泵供氧, 每 7 d 换水一次, 每次换水投喂 5—10 g 金鱼饲料 (北京三友创美饲料科技有限公司)。

实验过程中的沉积物根据化学品-沉积物-水系统中摇蚊毒性试验加标于沉积物法制备<sup>[18]</sup>, 模拟外界环境。沉积物配比如下: 4%—5% 粉末状泥炭 (粒度 ≤ 1 mm, pH 5.5—6.0); 20% 高岭粘土 (干重, 高岭石含量 > 30%); 75%—76% 石英砂 (以细沙为主, 50% 以上 50—200 μm 石英砂颗粒); 加入去离子水, 最终混合物的水分含量为 30%—50%; 加入 CaCO<sub>3</sub>, 将最终混合物的 pH 调至 7.0—7.5。

### 1.2 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的致毒处理

单一重金属离子处理参照《GB 8978—1996 污水综合排放标准》和《GB 3838—2002 地面水质量标准》<sup>[19—20]</sup> 设置胁迫浓度, CdCl<sub>2</sub> (天津市光复科技发展有限公司) 浓度为 0.2 mg/L, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (天津市巴斯夫化工有限公司) 浓度为 1.028 mg/L。混合离子按照单一毒力 48 h LC<sub>50</sub> 为基准<sup>[21]</sup>, 以 Cd<sup>2+</sup>:Pb<sup>2+</sup> 等比毒性比 1:1、1:2、2:1 配比, 通过预实验确定 3 种混合离子配比处理组中各组分浓度值 (表 1), 设置蒸馏水为对照。分别处理健康、活泼、大小一致的花翅摇蚊 2 龄幼虫。

表 1 3 种混合离子配比处理组中各组分浓度值

Table 1 The concentration of each component in the three mixed ion ratios treatment group

重金属来源 Sources of heavy metals	混合离子配比 Mixed ion ratios/(mg/L)		
	1:1	1:2	2:1
CdCl <sub>2</sub>	0.108	0.14	0.158
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.544	0.704	0.496

Cd<sup>2+</sup>:Pb<sup>2+</sup> 等比毒性比 1:1、1:2、2:1 配比

### 1.3 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊生长发育指标与口器致畸测定

将健康、活泼、大小一致的 30 头花翅摇蚊 2 龄幼虫放入盛有 1 L 重金属药液的鱼缸中, 试验过程中不更换新溶液。不同处理组重金属浓度参照 1.2。每个浓度设置 5 个重复, 随机选取 3 个重复用于观察幼虫化蛹率, 剩余 2 个重复在处理 7 d 和 14 d 时从发育至 4 龄的幼虫中随机取样, 用于口器致畸观察。

参考黄建方法配制阿拉伯胶<sup>[22]</sup>。将 48 g 阿拉伯树脂溶于 120 mL 的蒸馏水中, 完全溶解后 (可放置 1 d), 依次加入 80 g 三氯乙醛, 20 mL 冰醋酸, 20 mL 50% 葡萄糖浆慢慢加热至完全溶解, 待清澈透明后用滤纸过滤, 置于阴暗处备用。观察前将受试花翅摇蚊幼虫用沸水烫死, 使用浓度分别为 20%、40%、60%、80% 的乙醇分别浸泡虫体 1 h, 逐级脱水后, 放入 KOH 溶液中洗涤 4 h, 在解剖显微镜 (MOTIC, SMZ-140) 下将幼虫头部与身体剥离, 保持下唇板一侧向上的形态移入滴有阿拉伯胶的载玻片上, 从树胶的一侧盖上盖玻片, 用适当的力度压片使幼虫口器的上颚与下唇板清晰呈现后, 放在显微镜 (Olympus dp71) 下进行观察并对口器切片标本进行拍照。

### 1.4 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 富集含量测定

将健康、活泼、大小一致的花翅摇蚊 2 龄幼虫放入盛有 1 L 重金属药液及沉积物的鱼缸中, 不同处理组重金属浓度参照 1.2。每个浓度 3 个重复, 每个处理组 50 头, 连续进行 14 d, 在处理 7 d 和 14 d 后每组随机选取 30 头摇蚊幼虫, 置于去离子水中静置 24 h 用于清洗。于 30 °C 烘箱中烘干 24 h, 加入 6 mL HNO<sub>3</sub>、2 mL HCl 和 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理样本, 然后置于 125 °C 烘箱中消解 2 h, 去离子水将消解溶液定容至 40 mL, 用 0.45 μm 硝酸纤维素滤膜过滤样品, 并用 HNO<sub>3</sub> 酸化, 电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 分析重金属含量。将沉积物样品在 105 °C 干燥 24 h, 然后用以上相同的方法进行消解, 去离子水将消解溶液定容至 100 mL, 用相同的方法处理并测定。

生物-沉积物富集因子(BSAF)可用于评价生物对被测重金属富集的难易程度<sup>[23]</sup>。BSAF 按如下公式计算: $B=Ct/Cs$ ;其中, $B$ :生物-沉积物富集因子; $Ct$ :摇蚊体内重金属含量,mg/kg; $Cs$ :沉积物中重金属含量,mg/kg。

1.5 数据处理与分析

采用 EXCEL 软件进行数据处理和绘图。利用 SPSS 20.0(SPSS Inc.,USA) 统计软件对组间各指标进行 ANOVA 分析,采用 Duncan 方法分析组间显著性差异( $P<0.05$ )。参考中国科学院数学研究所统计组(1979)方法进行重金属交互作用计算<sup>[24]</sup>。

2 结果与分析

2.1  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  对摇蚊幼虫化蛹率和羽化率的影响

室内重金属处理下,花翅摇蚊 2 龄幼虫于第 9 天开始化蛹,处理至第 14 天,对照组化蛹率最高,为 27.78%。单一重金属离子处理下, $Cd^{2+}$  处理组的化蛹率为 25.56%,高于  $Pb^{2+}$  的化蛹率 22.22%。 $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  混合离子处理组 1:1、1:2、2:1 配比化蛹率分别为 13.33%、11.11%和 11.11%,3 种配比之间无显著性差异,但均显著低于单一重金属离子处理组,其中 1:2 和 2:1 配比的混合离子化蛹率最低,为对照组的 39.99%(图 1 和表 2)。

对照组和单一重金属离子处理组的摇蚊幼虫第 10 天开始羽化,而混合离子处理组羽化时间比对照组推迟 1—2 d。处理 14 d,对照组羽化率为 15.56%,单一重金属离子  $Cd^{2+}$  胁迫下羽化率为 11.11%,高于  $Pb^{2+}$  羽化率 8.89%。混合离子处理组 1:1、1:2、2:1 配比羽化率分别为 5.56%、4.44%、4.44%,3 种配比之间无显著差异,但均低于单一重金属离子处理组,其中 1:2 和 2:1 配比混合离子处理组羽化率最低,为对照组的 28.53%(图 2 和表 3)。

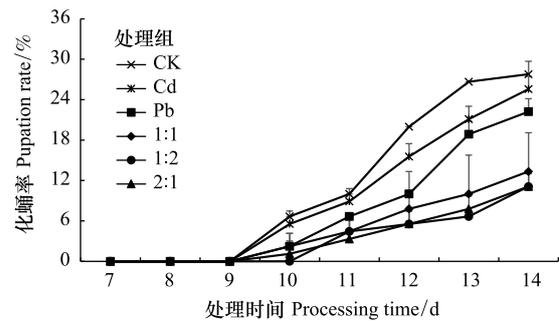


图 1  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  对花翅摇蚊幼虫化蛹率的影响

Fig.1 Effects of  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  on pupation rate of the *Chironomus kiiensis* larvae

$Cd^{2+}$ : $Pb^{2+}$  等比毒性比 1:1、1:2、2:1 配比

表 2  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  胁迫下花翅摇蚊幼虫化蛹率的差异显著性

Table 2 Significant difference in pupation rate of *Chironomus kiiensis* larvae under  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  Stress

处理组 Treatment group	处理天数 Treatment time/d				
	10	11	12	13	14
CK	a	a	a	a	a
$Cd^{2+}$	a	a	b	b	ab
$Pb^{2+}$	b	ab	c	b	b
1:1	b	b	cd	c	c
1:2	c	b	d	c	c
2:1	b	b	d	c	c

不同小写字母表示同一时间点不同处理组间的差异显著性( $P<0.05$ )

3 种不同配比的混合离子处理后, $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  在摇蚊幼虫体内表现出交互作用,对化蛹率和羽化率产生不同程度的影响。1:1 配比的  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  对摇蚊化蛹率的交互作用依次为  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  单独作用下化蛹率的 26.10%和 30.02%;1:2 或 2:1 配比的交互作用均为  $Cd^{2+}$  单独作用的 34.78%和  $Pb^{2+}$  单独作用的 40.01%,交互作用大。而 1:1 配比的  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  对摇蚊羽化率的交互作用为负值,1:2 或 2:1 配比对摇蚊羽化率的交互作用均为 0,交互作用极小(表 4)。

2.2  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  处理下摇蚊口器致畸效应

单一和混合重金属  $Cd^{2+}$  和  $Pb^{2+}$  离子诱导摇蚊幼虫口器出现不同程度和类型的致畸情况。自然条件饲养

的摇蚊 4 龄幼虫正常口器, 上颚完整且下唇板呈规则弧形。暴露于重金属离子后, 其上颚和下唇板出现不同类型的畸变, 主要类型为上颚前齿断裂, 中齿和基齿磨损、缺失 (图 3); 下唇板齿部不规则, 中央齿断裂、磨损, 边缘齿增生、缺失等 (图 4)。

两种重金属及其混合离子对花翅摇蚊幼虫口器致畸率如图 5 所示。单一重金属离子 Cd<sup>2+</sup> 作用 7 d 和 14 d 致畸率分别为 22.42% 和 32.42%, 低于 Pb<sup>2+</sup> 处理组致畸率 28.62% 和 34.24%。在不同比例的混合离子处理组中, 1:2 配比在 7 d 与 14 d 的致畸率分别为 36.57% 和 40.61%, 高于两种单一重金属离子, 而 1:1 配比 7 d 与 14 d 的致畸率分别为 14.95% 和 26.06%, 2:1 配比的致畸率分别为 13.33% 和 23.33%, 二者在两个时间点均低于两种单一重金属离子。暴露于 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 环境中的花翅摇蚊致畸率显著高于对照, 且致畸率随时间增长而上升, 其中单一重金属 Cd<sup>2+</sup> 处理、混合离子 1:1 配比和 2:1 配比的 14 d 致畸率相比 7 d 显著升高 ( $P < 0.05$ )。

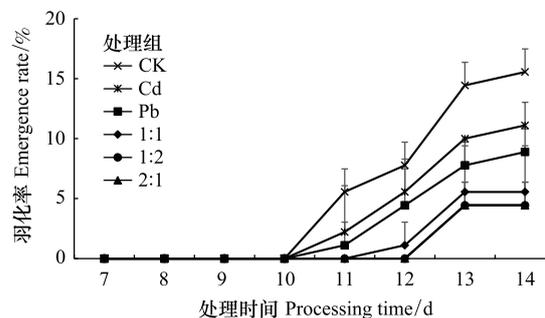


图 2 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊幼虫羽化率的影响

Fig. 2 Effects of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> on emergence rate of *Chironomus kiiensis* larvae

表 3 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 胁迫下花翅摇蚊幼虫羽化率的差异显著性

Table 3 Significant difference in emergence rate of *Chironomus kiiensis* larvae under Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> Stress

处理组 Treatment group	处理天数 Treatment time/d				处理组 Treatment group	处理天数 Treatment time/d			
	11	12	13	14		11	12	13	14
CK	a	a	a	a	1:1	c	bc	c	c
Cd <sup>2+</sup>	ab	a	b	b	1:2	c	d	e	e
Pb <sup>2+</sup>	b	ab	bc	bc	2:1	c	d	e	e

不同小写字母表示同一时间点不同处理组间的差异显著性 ( $P < 0.05$ )

表 4 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 联合处理对花翅摇蚊幼虫化蛹率和羽化率的交互作用

Table 4 Interaction of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> combined treatment on pupation and emergence rate of *Chironomus kiiensis* larvae

指标 Parameters	处理组 Treatment group				
	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	1:1	1:2	2:1
Δ 化蛹率 ΔPupation rate/%	2.22	5.56	14.45	16.67	16.67
Δ 羽化率 ΔEmergence rate/%	4.45	6.67	10	11.12	11.12
化蛹率交互作用 Pupation rate interaction	—	—	6.67	8.89	8.89
羽化率交互作用 Emergence rate interaction	—	—	-1.12	0	0

Δ 化蛹率和 Δ 羽化率为不同重金属胁迫下化蛹率和羽化率与对照组的差值

### 2.3 花翅摇蚊与沉积物对 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的富集

单一重金属 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 以及混合离子处理下花翅摇蚊体内的富集含量如图 6 所示。两种单一重金属处理 7 d 时摇蚊 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 富集含量为 11.28 mg/kg 和 11.46 mg/kg, 处理 14 d 时 Cd<sup>2+</sup> 富集含量与 7 d 无显著差异 (11.50 mg/kg), 而 Pb<sup>2+</sup> 富集含量显著上升 (31.32 mg/kg)。不同配比 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 混合离子处理 7 d 时, 1:1、2:1 配比处理下摇蚊体内 Cd<sup>2+</sup> 的富集含量分别为 14.32 mg/kg 和 14.20 mg/kg, 显著高于 1:2 配比的含量 5.85 mg/kg, 且这两种配比的 Cd<sup>2+</sup> 富集含量高于 Cd<sup>2+</sup> 独立作用。处理 14 d 混合离子 1:1 配比中 Cd<sup>2+</sup> 含量为 15.12 mg/kg, 与 7 d 无显著差异, 2:1 配比中 Cd<sup>2+</sup> 富集含量为 9.52 mg/kg, 呈显著下降趋势; 1:2 配比中 Cd<sup>2+</sup> 富集含量为 20.99 mg/kg, 呈显著上升趋势。不同配比混合离子处理下 Pb<sup>2+</sup> 富集含量由 7 d 至 14 d 均呈上升趋势, 1:1 配比中 Pb<sup>2+</sup> 富集含量由 7.74 mg/kg 上升至 16.47 mg/kg, 2:1 配比中 Pb<sup>2+</sup> 含量 9.06 mg/kg 上升至 12.88 mg/kg, 1:2 配比中 Pb<sup>2+</sup> 含量 15.48 mg/kg 上升至 42.50 mg/kg, 其中 1:2 配比的富集含量在两个时间点均显著高于另外两种配比 ( $P < 0.05$ ), 且高于 Pb<sup>2+</sup> 独立作用。

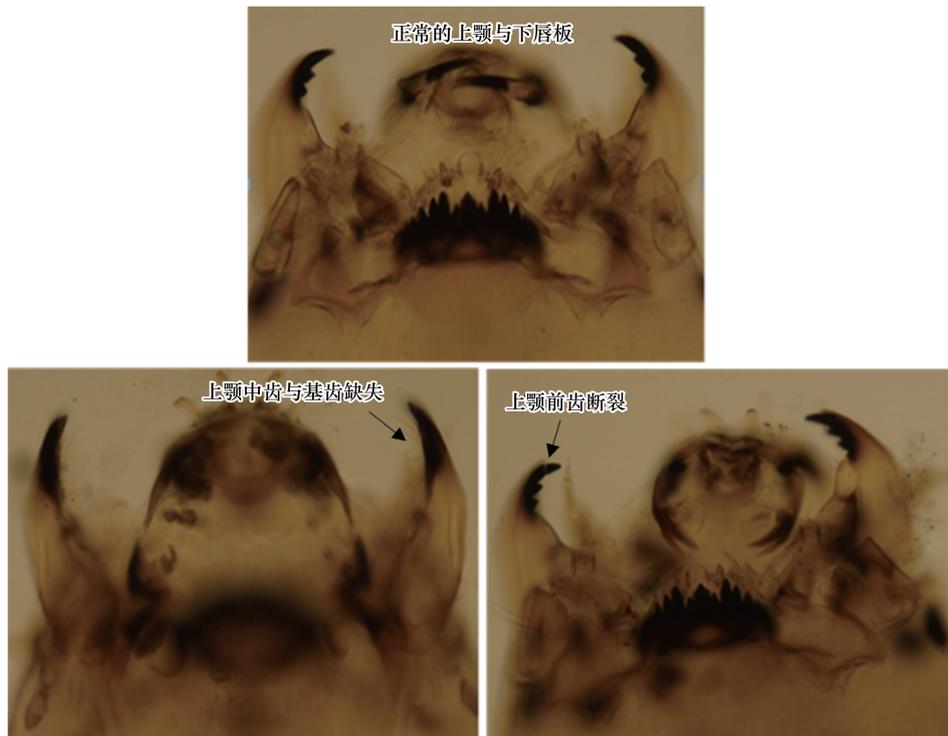


图 3 暴露于  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  下的花翅摇蚊口器的上颚形态异常 (100X)

Fig.3 The morphological abnormalities of mandible in *Chironomus kiiensis* larvae exposed to  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  (100X)

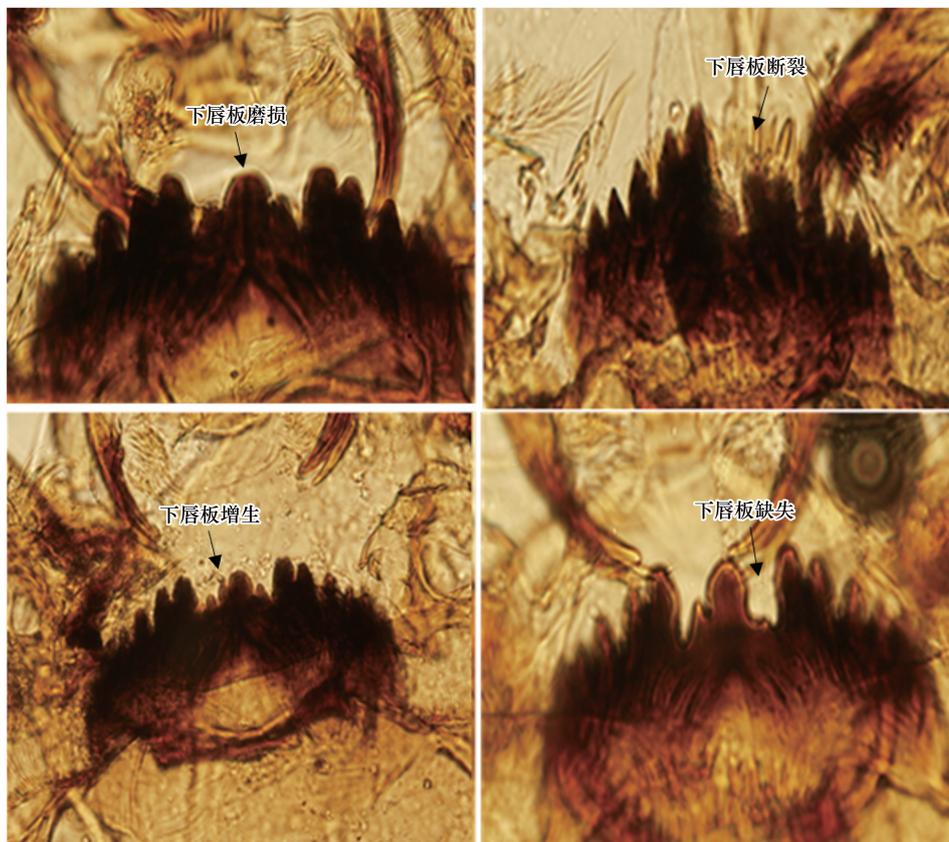


图 4 暴露于  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  下的花翅摇蚊幼虫的下唇板致畸类型 (200X)

Fig.4 Types of mentum deformities in *Chironomus kiiensis* larvae exposed to  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  (200X)

单一重金属 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 及混合离子的胁迫下, 沉积物的富集含量如图 7 所示。两种单一重金属离子暴露 7 d 时, Pb<sup>2+</sup> 处理组富集含量为 8.31 mg/kg, 显著高于 Cd<sup>2+</sup> 富集含量 1.30 mg/kg, 为 Cd<sup>2+</sup> 处理组含量的 6.38 倍; 暴露 14 d Pb<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 的富集含量分别为 7.78 mg/kg 和 1.62 mg/kg, 但与 7 d 相比无显著性差异。不同配比的 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 混合离子处理 7 d, 1:1、1:2、2:1 配比处理的沉积物中 Cd<sup>2+</sup> 富集含量分别为 0.96 mg/kg、1.95 mg/kg 和 0.73 mg/kg; 3 种配比 Pb<sup>2+</sup> 富集含量分别为 8.13 mg/kg、6.94 mg/kg、12.59 mg/kg, 2:1 配比处理的沉积物富集含量显著高于其它配比。处理 14 d, 3 种配比中 Cd<sup>2+</sup> 富集含量分别为 0.89 mg/kg、0.66 mg/kg、0.69 mg/kg, 无显著性差异; 3 种配比中 Pb<sup>2+</sup> 浓度分别为 7.18 mg/kg、6.19 mg/kg、11.25 mg/kg, 3 种配比相比 7 d 均呈下降趋势, 且差异不显著。

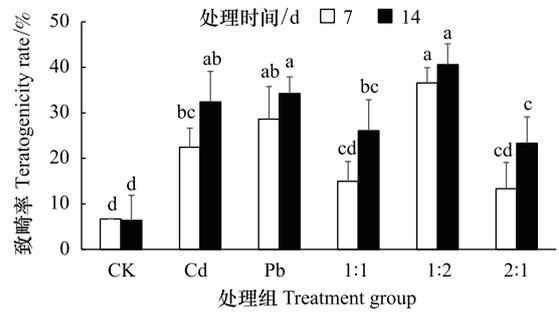


图 5 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 胁迫下的花翅摇蚊幼虫口器致畸率  
 Fig.5 The percentage of *Chironomus kiiensis* larvae mouthpart deformities exposed to Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>  
 不同的小写字母表示同一时间不同处理组间的差异显著性 (P<0.05)

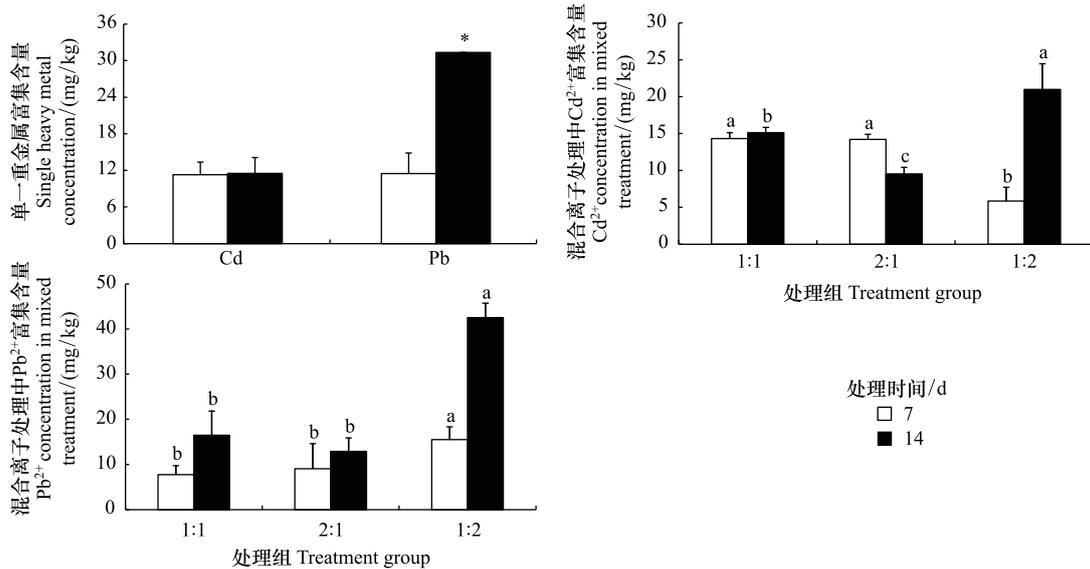


图 6 花翅摇蚊幼虫体内 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的富集含量  
 Fig.6 Concentration of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in the *Chironomus kiiensis* larvae  
 \* 和不同的小写字母表示同一时间点不同处理组间的差异显著性 (P<0.05)

单一重金属离子处理下, Cd<sup>2+</sup> 7 d 至 14 d 的 BSAF 呈下降趋势, Pb<sup>2+</sup> 则呈上升趋势, 且 Cd<sup>2+</sup> 的 BSAF 在 7 d 和 14 d 均显著高于 Pb<sup>2+</sup> (表 5)。不同配比混合离子处理下, 1:2 配比处理 7 d Cd<sup>2+</sup> 的 BSAF 显著低于 1:1 和 2:1 配比的 BSAF, 而处理 14 d 显著高于 1:1、2:1 配比。Pb<sup>2+</sup> 的 BSAF 在 3 种混合离子处理组中由 7 d 至 14 d 均呈上升趋势, 但幅度较小 (表 6)。

表 5 单一重金属处理中花翅摇蚊的生物-沉积物富集因子

处理时间 Treatment time/d	处理组 Treatment group	
	Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
7	9.09±0.90a	1.13±0.28b
14	8.09±0.25a	2.59±0.84b

BSAF: 生物-沉积物富集因子 Biota-sediment accumulation factor; 表中数据为平均值±标准误差, 不同小写字母表示同一时间点不同处理组间的差异显著性 (P<0.05)

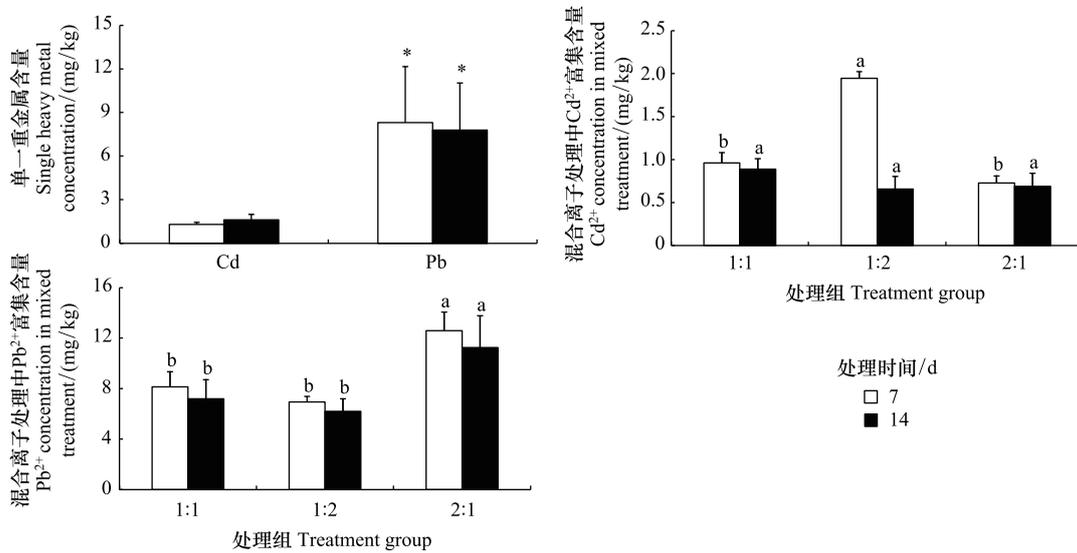


图7 沉积物中 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的富集含量

Fig.7 Concentration of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in sediments

\* 表示单一重金属离子 7 d 和 14 d 富集含量的差异显著性 ( $P < 0.05$ ); 不同的小写字母表示在混合离子处理中各重金属离子 7 d 和 14 d 富集含量的差异显著性 ( $P < 0.05$ )

表 6 混合离子处理中花翅摇蚊的 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 生物-沉积物富集因子

Table 6 Biota-sediment accumulation factor (BSAF) of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in *Chironomus kiiensis* treated with mixed ions

处理时间 Treatment time/d	Cd <sup>2+</sup>			Pb <sup>2+</sup>		
	1:1	2:1	1:2	1:1	2:1	1:2
7	15.95±2.87b	21.76±2.86a	3.39±0.87c	1.31±0.27b	0.98±0.35b	2.57±0.23a
14	16.87±2.42b	15.75±5.52b	36.87±2.60a	2.89±1.47b	1.48±0.59b	6.92±1.41a

表中数据为平均值±标准误差,不同小写字母表示各离子在同一时间点不同处理组间的差异显著性 ( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

昆虫在过量重金属胁迫下产生应激反应,消耗大量的能量,降低对食物的营养利用,干扰昆虫体内代谢和细胞正常生理功能,导致形态结构、生长发育、繁殖能力异常<sup>[7]</sup>,同时水生生物可将重金属吸附在器官表面,影响器官正常生理功能,诱发细胞和组织畸型<sup>[25]</sup>。本文研究结果表明单一重金属离子 Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup> 及混合离子胁迫显著降低花翅摇蚊幼虫的化蛹率和羽化率,延长发育历期。单一重金属 Pb<sup>2+</sup> 抑制作用强于 Cd<sup>2+</sup>,混合离子胁迫下的化蛹率和羽化率低于单一重金属离子,表现出更强的抑制作用,这可能与 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对摇蚊幼虫的不同毒性作用及摇蚊幼虫在重金属胁迫下多种保护酶系的活性密切相关<sup>[21]</sup>。交互作用的大小可作为化蛹率或羽化率在联合处理下不同水平的效应变化对各单一组分依赖程度的度量依据,1:2 和 2:1 混合配比下的化蛹率和羽化率相同,Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 的含量变化对两种配比的交互作用相等,而 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对化蛹率的交互作用强于羽化率,可能与重金属离子在幼虫和蛹内富集含量差异及变态发育过程中对重金属的排泄有关<sup>[26]</sup>。重金属胁迫导致摇蚊幼虫口器上颚前齿断裂、上颚中齿与基齿缺失、下唇板断裂、磨损、增生、缺失等,这将降低摇蚊幼虫在水中的取食能力,影响营养物质的积累,间接抑制摇蚊的生理功能,进而导致化蛹率和羽化率的降低。口器畸率与重金属的种类和配比存在密切关系,单一重金属 Pb<sup>2+</sup> 处理和 Pb<sup>2+</sup> 主导的 1:2 配比处理组致畸率高于其它处理组。已有研究证实摇蚊幼虫口器致畸与多线形染色体核仁活性有密切联系,致畸率随多线形染色体核仁活性的增强而上升<sup>[27]</sup>,说明 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊多线形染色体核仁活性的影响可能比 Cd<sup>2+</sup> 更大,导致致畸率更高。

重金属具有隐蔽性、长期性和不可逆性,昆虫通过摄食和呼吸等积累营养物质和维持生理平衡,食物与环境中的重金属也会在昆虫体内富集。研究报道甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 取食添加 Pb<sup>2+</sup> 的饲料后,在中肠检测到大量 Pb<sup>2+</sup> [26], Pb<sup>2+</sup> 胁迫处理下的摇蚊幼虫也出现大量 Pb<sup>2+</sup> 富集 [28]。本文研究结果显示 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 处理 7 d 时摇蚊的富集含量无显著差异,处理 14 d 的 Cd<sup>2+</sup> 浓度与 7 d 无显著变化,而 Pb<sup>2+</sup> 浓度则显著升高,这种差异可能是花翅摇蚊幼虫对 Pb<sup>2+</sup> 的摄入与代谢的调节和控制作用不强的结果。摇蚊幼虫具有调节体内必需金属元素 (如 Co、Mn、Cu 和 Zn) 的能力,将富集含量保持在稳定水平,而缺乏对 Pb 等非必需金属元素调节能力 [29]。Pb<sup>2+</sup> 主要作用于生物系统和器官,干扰蛋白质和酶与氨基酸的结合 [30],而 Cd<sup>2+</sup> 影响昆虫血淋巴的氧化还原平衡,破坏细胞和组织,降低昆虫免疫反应 [31],且 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊发挥毒力效果所需时间比 Cd<sup>2+</sup> 长 [21],作用机制和作用时间的不同以及混合体系中一种组分对其他组分代谢酶的抑制和诱导作用 [32] 是混合离子不同配比在不同时间产生协同和拮抗等联合作用的重要原因,也导致了本研究中不同比例混合离子处理的 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 富集含量与单一重金属离子处理这一不同结果。1:1 和 2:1 配比处理 7 d 时 Cd<sup>2+</sup> 占主导,而 1:2 配比中 Pb<sup>2+</sup> 占主导,结果表明 Cd<sup>2+</sup> 主导下的致畸率低于 Pb<sup>2+</sup> 主导下的致畸率,而 14 d 时 Pb<sup>2+</sup> 富集含量的增加对致畸率无显著影响,可能是混合离子相互作用对各组分产生了促进或抑制的效果。

沉积物中重金属离子向水体扩散的主要因素包括水文物理干扰、底栖生物活动干扰以及盐度、溶解氧浓度等在内的化学环境条件 [33-34]。梁霞等证实沉积物中 Pb<sup>2+</sup> 释放的主要影响因素为水-沉积物界面 pH 值及物理干扰,在 pH ≥ 7.0 的条件下,沉积物中重金属释放量相对较低 [28]。本研究中水体-沉积物界面的 pH 值稳定在 7.0—7.5,说明重金属 Pb<sup>2+</sup> 主要通过摄食和体表渗透进入摇蚊的消化系统和循环系统形成富集效应。重金属的生物-沉积物富集因子 (BSAF) 与生物对重金属的富集能力呈正相关, Cd<sup>2+</sup> 在不同处理组 7 d 至 14 d 的 BSAF 均高于 Pb<sup>2+</sup>,表明花翅摇蚊对 Cd<sup>2+</sup> 的富集能力比 Pb<sup>2+</sup> 更强,这一结果与刘晓伟等人的研究结果一致 [23]。此外,混合离子处理下 14 d 沉积物中 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 富集含量比 7 d 低,这可能与摇蚊幼虫的吸收和摄食转化等因素有关 [7]。混合离子处理 7 d 的 1:2 处理组以及处理 14 d 的 3 种配比处理组中 Pb<sup>2+</sup> 富集含量高于 Cd<sup>2+</sup> 含量,但富集能力低于 Cd<sup>2+</sup>,这可能与摇蚊对 Pb<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 的摄入与代谢的调控能力以及富集阈值不同有关, Cd<sup>2+</sup> 富集含量达到富集阈值后受到体内调控作用不再增加, Pb<sup>2+</sup> 调控作用不强导致 Pb<sup>2+</sup> 富集含量未达到富集阈值时不断增加,而 Pb<sup>2+</sup> 富集阈值往往取决于环境浓度 [29]。重金属胁迫延长摇蚊幼虫的发育历期,将影响单位时间内摇蚊的世代数和种群数量,破坏水环境的生态循环 [35],而摇蚊作为水环境食物链的底层,其生物量的变化和体内重金属的富集也将影响整个水生生态系统乃至人类健康。本研究结果可为水生生态系统中复杂组分之间的相互作用提供理论支持,并为研究混合重金属离子对水生生物各生理指标的影响以及完善重金属生物监测提供理论参考。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 王刚. 南京市地表水重金属污染特征及风险研究. 环境生态学, 2020, 2(7): 37-47.
- [ 2 ] 王剑南. 重金属 Cd<sup>2+</sup> 和 Pb<sup>2+</sup> 对花翅摇蚊生态毒理效应研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2019.
- [ 3 ] Ghedira J, Jebali J, Bouraoui Z, Banni M, Chouba L, Boussetta H. Acute effects of chlorpyrifos-ethyl and secondary treated effluents on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in *Carcinus maenas*. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(10): 1467-1472.
- [ 4 ] Domingues I, Agra A R, Monaghan K, Soares A M V M, Nogueira A J A. Cholinesterase and glutathione-S-transferase activities in freshwater invertebrates as biomarkers to assess pesticide contamination. Environmental Toxicology and Chemistry, 2010, 29(1): 5-18.
- [ 5 ] Dijkstra K D B, Monaghan M T, Pauls S U. Freshwater biodiversity and aquatic insect diversification. Annual Review of Entomology, 2014, 59: 143-163.
- [ 6 ] 李修伟, 校新蕾, 梁亚萍, 张春萍, 张淑兰, 谷祖敏, 祁之秋. 环境激素甲草胺对摇蚊谷胱甘肽硫转移酶的抑制作用. 生态毒理学报, 2015, 10(2): 243-250.
- [ 7 ] 杨世勇, 黄永杰, 张敏, 陈竹, 谢建春. 重金属对昆虫的生态生理效应. 昆虫学报, 2015, 58(4): 427-436.
- [ 8 ] Mireji P O, Keating J, Hassanali A, Mbogo C M, Muturi M N, Githure J I, Beier J C. Biological cost of tolerance to heavy metals in the mosquito *Anopheles gambiae*. Medical and Veterinary Entomology, 2010, 24(2): 101-107.

- [ 9 ] Fargašová A. Winter third- to fourth-instar larvae of *Chironomus plumosus* as bioassay tools for assessment of acute toxicity of metals and their binary combinations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 48(1): 1-5.
- [ 10 ] Williams K A, Green D W J, Pascoe D, Gower D E. The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. *Oecologia*, 1986, 70(3): 362-366.
- [ 11 ] Jeyasingham K, Ling N. Acute toxicity of arsenic to three species of New Zealand chironomids: *Chironomus zealandicus*, *Chironomus* sp. and *Polypedilum pavidus* (Diptera, Chironomidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, 64(5): 708-715.
- [ 12 ] Perez M H, Noriega F G. Sublethal metal stress response of larvae of *Aedes aegypti*. *Physiological Entomology*, 2014, 39(2): 111-119.
- [ 13 ] Bervoets L, Blust R. Effects of pH on cadmium and zinc uptake by the midge larvae *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology*, 2000, 49(1/2): 145-157.
- [ 14 ] Adham F K, Khedre A M, Ismail T G, El-Araby M, Shahenda A A A E, ElSayed W M. Buccal deformities in Chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) as an indicator risk assessment and anthropogenic stresses of pollution in fresh water of the River Nile, Sohag Governorate, Egypt. *Journal of Biodiversity Environmental Sciences*, 2016, 8(6): 37-48.
- [ 15 ] 李浩, 王琴, 邓金钗, 覃剑晖, 马徐发.  $\text{Cu}^{2+}$  对羽摇蚊幼虫 (*Chironomus plumosus*) 口器致畸作用和抗氧化酶活性的影响. *生态与农村环境学报*, 2012, 28(2): 203-208.
- [ 16 ] 陈菲, 刘曼红, 蔡艳, 马玉堃.  $\text{Hg}^{2+}$  对花翅摇蚊 *Chironomus kiiensis* 幼虫口器致畸作用及抗氧化酶活性的影响. *水产学杂志*, 2016, 29(5): 55-59.
- [ 17 ] 潘宇迪, 杨红, 吴建辉, 王春峰. 长江口口门海域水体重金属时间变化趋势及预测. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(5): 685-698.
- [ 18 ] 江苏出入境检验检疫局, 中国检验检疫科学研究院. GB/T 27859—2011 化学品 沉积物-水系统中摇蚊毒性试验 加标于沉积物法. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [ 19 ] 国家环境保护总局. GB 8978—1996 污水综合排放标准. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- [ 20 ] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. GB 3838—2002 地表水环境质量标准. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [ 21 ] 王剑南, 许力山, 曹传旺.  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  对花翅摇蚊幼虫的毒性及对三种生物化学标志物的影响. *应用昆虫学报*, 2019, 56(5): 1054-1062.
- [ 22 ] 黄建. 中国蚜小蜂科分类(膜翅目: 小蜂总科). 重庆: 重庆出版社, 1994: 348.
- [ 23 ] 刘晓伟, 陆维亚, 薛敏敏, 李忠海. 东洞庭湖鲢鱼和鳙鱼中重金属富集差异分析. *食品与机械*, 2017, 33(12): 65-69.
- [ 24 ] 中国科学院数学研究所统计组. 常用数理统计方法. 北京: 科学出版社, 1973: 41-41.
- [ 25 ] 洪亚军, 冯承莲, 徐祖信, 廖伟, 闫振飞, 刘大庆, 符志友. 重金属对水生生物的毒性效应机制研究进展. *环境工程*, 2019, 37(11): 1-9.
- [ 26 ] 胡蒙蒙, 蔡文宸, 苏宏华, 杨益众.  $\text{Pb}^{2+}$  在甜菜夜蛾体内的积累及对种群的影响. *应用生态学报*, 2014, 25(4): 1145-1150.
- [ 27 ] Meregalli G, Bettinetti R, Plummers L, Vermeulen A C, Rossaro B, Ollevier F. Mouthpart deformities and nucleolus activity in field-collected *Chironomus riparius* larvae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 42(4): 405-409.
- [ 28 ] 梁霞, 张秀云, 何池全, 刘佳苗. 摇蚊幼虫对城市污染河流中金属铅的生物富集与响应作用. *上海大学学报: 自然科学版*, 2013, 19(4): 345-353.
- [ 29 ] Shuhaimi-Othman M, Yakub N, Umirah N S, Abas A. Toxicity of eight metals to Malaysian freshwater midge larvae *Chironomus javanus* (Diptera, Chironomidae). *Toxicology and Industrial Health*, 2011, 27(10): 879-886.
- [ 30 ] 王晶, 任同军, 王福强. 重金属镉对水生动物的毒性作用及其机制. *中国饲料*, 2015, (17): 25-27.
- [ 31 ] 牛亚青, 郑济芳, 王晗莉. 重金属铅对水生动物抗氧化损伤酶的影响研究进展. *环境科技*, 2010, 23(2): 74-78.
- [ 32 ] 张薇, 张萌, 陈凯, 金玉贺, 阎卉依, 胡艳美, 金兰淑. 恩诺沙星和铜复合污染对蚯蚓消化酶活性的影响. *应用生态学报*, 2019, 30(6): 2049-2055.
- [ 33 ] Fan Q Y, He J, Xue H X, Lü C W, Liang Y, Saruli, Sun Y, Shen L L. Competitive adsorption, release and speciation of heavy metals in the Yellow River sediments, China. *Environmental Geology*, 2007, 53(2): 239-251.
- [ 34 ] Gillis P L, Reynoldson T B, Dixon D G. Natural variation in a metallothionein-like protein in *Tubifex tubifex* in the absence of metal exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 58(1): 22-28.
- [ 35 ] 池仕运, 赵先富, 高少波, 张爱静, 胡俊, 李嗣新, 胡菊香, 董方勇. 丹江口水库秋季底栖动物群落状态和空间分布及其与环境因子的关系. *生态学报*, 2021, 41(3): 1229-1241.