

2,2',4,4'-四溴联苯醚对大型溞的毒性效应

彭颖¹, 范灿鹏¹, 廖伟¹, 刘昕宇², 武小燕¹, 聂湘平^{1,*}

1. 暨南大学水生生物研究所, 广州 510632
2. 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642

摘要: 以实验室培养的大型溞为受试生物, 进行了 2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)对大型溞的 48 h 急性毒性实验和 21 d 慢性毒性实验, 并研究了暴露在不同质量浓度和处理时间的 BDE-47 中, 大型溞的抗氧化酶系中的超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)的酶活性变化。结果表明, BDE-47 对大型溞的 48 h 的半致死浓度为 $1.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 属于高毒物质; 在 BDE-47 慢性毒性实验低浓度处理组中, 大型溞的体长及繁殖能力受到了抑制, 而高浓度处理组中大型溞的体长及繁殖能力上升, 其中第一次产仔数和产卵总数是表征 BDE-47 慢性毒性的最灵敏参数。随着 BDE-47 浓度的增加, 大型溞 SOD 和 GST 活性均呈现出低浓度诱导高浓度抑制的现象。SOD 和 GST 均表现出一定的敏感性, 但相对 SOD, GST 对 BDE-47 暴露更为敏感。
关键词: 2,2',4,4'-四溴联苯醚; 大型溞; 慢性毒性试验; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽硫转移酶
文章编号: 1673-5897(2012)1-079-08 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Toxic Effects of 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether on *Daphnia magna*

Peng Ying¹, Fan Canpeng¹, Liao Wei¹, Liu Xinyu², Wu Xiaoyan¹, Nie Xiangping^{1,*}

1. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China
2. Department of Soil and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Received 1 July 2011 **accepted** 4 August 2011

Abstract: The acute (48 h) and chronic (21 day) toxic tests of BDE-47 were done using *Daphnia magna* as test organism, and the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) of *Daphnia magna* exposed to BDE-47 with different concentrations and various exposure times were measured. Results showed that BDE-47 was high-toxic to *D. magna* for which the 48 h LC_{50} was $1.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. In the chronic test, it was indicated that the body length and fecundity of *D. magna* were inhibited at the low concentration treated groups, however, they were promoted at high concentration groups. The litter size in the first time and the total number of eggs laid were the most sensitive parameters for the chronic exposure of BDE-47. With the exposure concentration of BDE-47 increased, the activities of SOD and GST were induced initially and inhibited afterwards. Both SOD and GST exhibited sensibility to some extent. GST was more sensitive than SOD to BDE-47.

Keywords: 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether; *Daphnia magna*; chronic toxicity test; SOD; GST

多溴联苯醚 (polybrominated diphenyl ethers, BFRs) 中最常见的一类化合物。由于其阻燃效率高, 热稳定性好, 添加量少, 对材料性能影响小且价

收稿日期: 2011-07-01 录用日期: 2011-08-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40673062, 40471118)

作者简介: 彭颖(1985-) 女, 硕士研究生, 研究方向: 生态毒理学; E-mail: pengying2009@live.cn;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: txpnjie@jnu.edu.cn

格便宜 20 世纪 60 年代进入市场后,就被广泛地添加于塑料、泡沫、纺织品和建筑材料等多种消费产品以及电子产品、石油和采矿等领域中,以改善现代社会的防火安全^[1]。

自 20 世纪 70 年代以来,溴系阻燃剂确立了其化学阻燃剂的主导地位, PBDEs 产量逐年上升。据统计, 1990 年全球 PBDEs 的总产量为 40 000 t, 其中十溴、八溴和五溴联苯醚分别为 30 000、6 000 和 4 000 t。1999 年世界年消费 PBDEs 类阻燃剂大约为 70 000 t, 其中北美占 49%, 亚洲占 37%, 欧洲占 12%^[2]。人们已经逐渐认识到 PBDEs 的潜在危害, 但由于缺乏有效的替代品, PBDEs 作为高效阻燃剂仍在大量生产和使用, 所以环境中 PBDEs 的含量仍呈增长趋势。随着 PBDEs 使用量的逐年上升, 环境中 PBDEs 的污染水平在过去 20 ~ 25 年持续增长, PBDEs 已经在大气、水体和土壤环境介质中以及生物组织如鱼类、鸟类、海洋哺乳动物和人体中被广泛检出^[3]。目前世界各地生物体内检出 PBDEs 的同系物主要是 BDE-47、BDE-99、BDE-100、BDE-153 和 BDE-154, 其中含量最高的是 BDE-47^[4]。高溴代联苯醚大部分都沉积在距污染源较近河流的底泥和空气中的悬浮颗粒中, 而低溴代联苯醚具有比高溴代联苯醚高的挥发性、水溶性和生物富集性, 所以底泥、水生生物、水和空气中都有低溴代联苯醚的存在^[5]。

大型溞为甲壳纲的枝角类浮游动物, 广泛分布于淡水水域。它以藻类为食, 同时又是鱼和无脊椎捕食动物的天然饵料, 是水生生态系统中物质循环和能量流动的重要环节^[6], 水体环境中污染物, 特别是多溴联苯醚这类持久性有机污染物会通过浮游生物这种食物链的传递和生物累积作用转移到高营养级生物体内, 对高营养级生物构成潜在危害^[7]。Burreau 等^[8]对波罗的海和北大西洋中的食物链研究发现鲱鱼体内 BDE-47、BDE-99 和 BDE-100 含量比浮游动物中相应 PBDEs 的含量高 2 倍, 而鲑鱼体内这几种 PBDEs 的含量又比鲱鱼中相应 PBDEs 的含量高 2 ~ 3 倍。Darnørd 等^[9]研究发现, 在食物链中 BDE-47 的生物放大作用很强, 由低级生物鲱鱼体内大约 $50 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ 上升到食物链中鱼鹰体内大约 $1\,900 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其浓度放大了近 40 倍。因此进入环境中的 PBDEs 即使其浓度极其微量, 由于生物放大作用, 也会使处于食物链中的高级生物受到毒害。因此, 水环境中多溴联苯醚类的污染物对浮游动物例如枝角类生物的毒性影响特别值得关注。

BDE-47 作为 PBDEs 的代表, 是存在于环境样本和人体组织中最主要的 PBDEs 同系物之一^[10]。本研究以实验室培养的大型溞为受试生物, 进行了 BDE-47 对大型溞的 48 h 急性毒性实验和 21 d 慢性毒性实验, 并通过不同质量浓度的 BDE-47 及不同暴露时间对大型溞的作用, 研究 BDE-47 对生物机体氧化与抗氧化平衡起着至关重要作用的细胞抗氧化酶系如 SOD 和 GST 的酶活性影响, 初步探讨大型溞对 BDE-47 的响应规律及其抗氧化酶的剂量-效应和时间-效应关系, 并筛选可作为 BDE-47 污染暴露的生物标志物, 以期合理评价 PBDEs 的生态毒理作用和污染防治提供基本理论依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 受试污染物及相关溶液的配制

BDE-47 试验溶液: 采用纯度 $\geq 99\%$ 的 BDE-47 (分析纯, 山东烟台金都化工有限公司) 配制。因为 BDE-47 微溶于水, 故于实验当天以二甲基亚砜 (DMSO, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂) 为助溶剂配制成 BDE-47 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液, 实验时用实验稀释水依次稀释成所需质量浓度的实验溶液 (DMSO 终浓度均为 0.05%)。pH = 7.5, 实验稀释水参照美国环保局的稀释水配方^[11]: $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaSO}_4$; $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4$; $96 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$; $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KCl}$ 。所用试剂均为分析纯。

Tris-糖匀浆液 (pH = 7.4): 将 Tris 1.21 g 及 EDTA·2Na 37.23 mg 加蒸馏水 500 mL, 再用 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HCl}$ 进行滴定至 pH 7.4, 然后加入 3.42 g 蔗糖 8.0 g 氯化钠, 再用蒸馏水补充至 1 000 mL, 放入盐水瓶中, 用微波炉灭菌 3 ~ 5 min 后, 放在 4°C 冰箱中备用。

$7.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氮蓝四唑 (NBT) 溶液: 准确称取 NBT ($\text{C}_4\text{H}_3\text{OCl}_2\text{N}_3\text{O}_6$, MW = 817.7) 0.1533 g 于 100 mL 小烧杯中, 用少量蒸馏水溶解后, 移入 250 mL 容量瓶中用蒸馏水定容至刻度, 充分混匀 (现配现用)。 4°C 冰箱中保存可用 2 ~ 3 d。

1.2 受试动物与培养条件

大型溞 (*Daphnia magna*) 是由香港科技大学生物系提供, 为本实验室经过三代以上的单克隆品系, 其培养条件根据文献^[12]进行改良, 扩大培养用水为经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后的暨南大学南湖湖水, 喂食斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*), 并定期更换培养介质, 在温度为 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 光强为 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 光暗比为 16 h: 8 h 的培养箱中培养。实验

前 24 h 选取怀卵的健康母溞放入实验稀释水进行培养,实验前 6 h 将母溞挑出,在繁殖的幼溞中挑选健康的个体用于实验。

1.3 实验仪器与条件

超声波清洗器 (Branson 3510, 美国)、显微镜 (Olympus CX21, 日本)、计数器 (KW TRIO, 上海)、烘箱 (GZX-9076, 上海)、分析天平 (Precisa XS 125A-SCS, 瑞士)、移液器 (Eppendorf, 德国)、酸度计 (Beckman Φ 350, 美国)、自动蒸汽灭菌锅 (D-1, 上海)、生物安全柜 (Airtech, 苏净安泰)、三温区光照培养箱 (FPG3, 宁波莱福)、冷冻高速离心机 (Beckman Allegra 64R, 美国)、超低温冰箱 (Thermo forma -80 $^{\circ}\text{C}$, 美国)、电热恒温水浴锅 (HSG-II B-6, 上海)、紫外可见分光光度计 (Hach DR 5000, 美国) 等。

1.4 大型溞 48 h 急性毒性实验

首先设置 5 个间隔较大的浓度梯度进行预实验,尽可能使半数致死浓度 (LC_{50}) 在处理浓度范围内,观察 48 h 内大型溞的死亡情况,确定正式实验的浓度范围。实验在 100 mL 的烧杯中进行,用 BDE-47 母液配制不同浓度组,分别为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6 个浓度梯度,同时设置一个 DMSO 溶剂对照组 (CK)。每个烧杯中盛 80 mL BDE-47 溶液,每只烧杯随机放置 10 只幼溞,每个浓度设 3 个平行,实验期间不喂食。实验结束后,在显微镜下观察并记录各烧杯中大型溞的存活情况,以心脏停止跳动判定死亡个体,确定为死亡。

1.5 大型溞慢性毒性实验

根据急性毒性实验的结果并参考贵屿野外采样分析结果(数据未发表),取 5 个质量浓度组和 1 个空白对照,分别为 0.00、0.008、0.04、0.2、0.4、0.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,同时设置一个 DMSO 溶剂对照组 (CK)。实验时选用 50 mL 烧杯,每杯盛放 25 mL BDE-47 溶液,并随机挑选放置 1 只幼溞,每个浓度设 8 个平行,每天观察大型溞的生长繁殖情况,实验周期为 21 d。实验过程中每 3 天换一次暴露溶液,每天喂一次斜生栅藻的浓缩藻液,喂藻密度约为 5×10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$,同时记录大型溞第一次产仔的时间、第一次产仔个数、实验期间产仔的代数以及产仔的总数,当溞开始繁殖后,及时将新生幼溞移出。实验结束时,在显微镜下用目微尺测量母溞的体长。

1.6 酶活性测定

暴露浓度的设置与慢性毒性实验的相同,每个烧杯随机放置 40 只幼溞,每个浓度 (含对照) 设 3

个平行。实验条件同急性毒性实验,实验开始后于 24 和 48 h 从各浓度烧杯中取 20 只幼溞,先用稀释水润洗 5 min,再取出放入经 -20°C 预冷的研钵中,加入少许石英砂和 2.0 mL Tris-蔗糖缓冲液快速研磨,研成匀浆后转入 2 mL 离心管中,于 4°C 下 12 000 g 离心 15 min,离心获得的上清液即为粗酶液,用于酶活性的测定。

蛋白含量和 GST 的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,蛋白以 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 表示样品的蛋白含量。GSH 在波长 412 nm 处测定吸光度计算, GST 以在 37°C 反应 1 min 扣除非酶促反应,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为一个酶活力单位 (U)。

SOD 采用 Bewley 等^[13] 改进的 NBT 光化还原法进行, NBT 能被 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 还原为蓝色物质,在 560 nm 波长处呈最大吸收, SOD 能消除 $\text{O}_2^{\cdot-}$, 故抑制蓝色物质形成,抑制百分率与酶活性在一定范围内呈正比。以每毫升反应液达到 50% 光化还原抑制率的酶量作为 1 个酶活力单位 ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$)。

1.7 数据统计与分析

通过 Excel 数据处理软件,采用概率单位法^[14] 计算出 BDE-47 对大型溞 LC_{50} 值及其 95% 置信限。采用 SPSS 13.0 对实验数据先进行正态分布检验,然后利用单因素方差分析法 (ANOVA) 和多重比较检验法 (LSD) 进行组间差异显著性检验,实验结果以平均值 $\pm$ 标准差表示, $p < 0.05$ 表示处理组与对照组差异显著 (*), $p < 0.01$ 表示处理组与对照组差异极显著 (**).

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 BDE-47 对大型溞的 48 h 急性毒性

根据实验所得大型溞 48 h 死亡概率对对数浓度作图,结果见图 1。BDE-47 对大型溞的 48 h LC_{50}

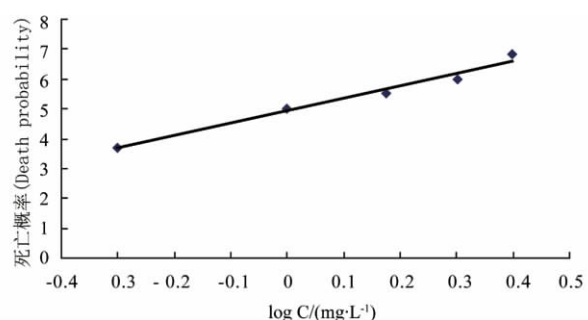


图1 BDE-47 对大型溞的急性毒性效应

Fig. 1 Acute toxic effect of BDE-47 on *Daphnia magna*

为 $1.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 95% 可置信限在 $0.93 \sim 1.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 按照水生生物毒性分级标准^[15], BDE-47 属于高毒, 对大型蚤有急性毒性。

2.2 BDE-47 对大型蚤的慢性毒性

慢性毒性实验结果见表 1。由表 1 可知 DMSO 溶剂对照组 (CK) 的各项指标与空白对照组相比均无显著差异 ($p > 0.05$), 说明所加助溶剂对大型蚤没有影响。表中第一次产仔时间除了在低浓度 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处明显增加外, 其余浓度的时间均低于空白对照组。随着 BDE-47 浓度的上升, 大型蚤的产仔胎数逐渐增加, 由显著抑制转为诱导。当 BDE-47 浓度 $\leq 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 大型蚤的第一次产仔数及产仔总数受到抑制, 其内禀增长率也最浓度增加而降低, 在 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到显著抑制; 当 BDE-47 浓度 $\geq 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 大型蚤的第一次产仔数及产仔总数受到显著诱导 ($p < 0.05$), 繁殖能力上升, 其内禀增长率也随浓度的增加而上升, 在 BDE 浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到极显著 ($p < 0.01$)。在 $0.008, 0.2$ 和 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BDE-47 中, 大型蚤的体长显著抑制 ($p < 0.05$)。其中, 在低浓度 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 大型蚤的体长及繁殖能力均受到了明显抑制 ($p < 0.05$), 生殖周期滞后, 而高浓度组中大型蚤的体长及繁殖能力上升。

2.3 BDE-47 对大型蚤 SOD 和 GST 酶活性的影响

由图 2 可见, DMSO 溶剂对照组 (CK) GST 和 SOD 与空白对照组相比均无显著差异 ($p > 0.05$), 说明所加助溶剂对大型蚤酶活性测定没有影响。

随着 BDE-47 浓度的增加, SOD 和 GST 活性均呈现出先诱导后抑制的现象。各浓度组 SOD 酶活性在前 24 h 均与对照相近, 无显著性差异 ($p > 0.05$), 第 48 小时, SOD 在低浓度 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处被显著诱导 ($p < 0.05$), 活性达到最大, 为空白组

的 1.44 倍, 当 BDE-47 浓度高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, SOD 活性均受到极显著的抑制 ($p < 0.01$)。

BDE-47 暴露 24 h、48 h 后, GST 分别于低浓度组 0.008 和 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性达到最大, 受到显著诱导 ($p < 0.05$), 当 BDE-47 浓度高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, GST 活性转为抑制作用, 24 和 48 h GST 活性较对照组分别降低了 81.41% 和 71.43%, 差异极显著 ($p < 0.01$)。

3 讨论 (Discussion)

3.1 BDE-47 对大型蚤的慢性毒性影响

急性毒性实验主要考察毒物的致死效应, 慢性毒性实验可以深入评价毒物的毒性强度, 如对生长和生殖的影响^[16]。两者结合能够更准确地反映毒物对该生物的影响。由表 1 可知, 不同的指标敏感响应程度不同, 第一次产仔数及产仔总数在 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处检测出显著升高值, 说明繁殖参数中第一次产仔数和产仔总数最为灵敏, 这与 Gersich^[17]、Yin^[18] 等的研究结果是一致的。内禀增长率反映种群在无限环境中的增长趋势, 是生存和繁殖两种能力的综合度量, 在本实验中, 内禀增长率表现为低浓度组降低而高浓度组升高, 由于大型蚤在 21 d 的测试期中无死亡, 所以内禀增长率的变化依据主要是种群繁殖能力的变化。本实验中, 大型蚤的生长繁殖生理指标表现出低浓度组抑制高浓度组促进的现象, 这可能是因为低浓度的 BDE-47 使生物体内的能量主要分配至维持自身生存, 用于生长和繁殖的能量降低, 致使大型蚤生长繁殖受到影响, 随着 BDE-47 浓度的升高, BDE-47 作为一种潜在的内分泌干扰物^[19], 干扰大型蚤体内激素水平, 使其能量主要用于繁殖^[20]。Källqvist 等^[21] 研究结果显示, 在 BDE-47 浓度为 $14 \sim 140 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 大型蚤的繁殖总个体数是随着毒物浓度的增加而减小的, 这与

表 1 BDE-47 对大型蚤 21 d 慢性毒性影响实验

Table 1 21-days chronic toxic effects of BDE-47 on *D. magna*

BDE-47/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	体长/mm	产仔胎数/母蚤/胎	第一次产仔时间/d	第一次产仔数/个	产仔总数/母蚤/个	内禀增长率
0	2.44 ± 0.16	2.4 ± 0.55	12.6 ± 1.67	2.4 ± 1.52	4.8 ± 1.30	0.24
CK	2.39 ± 0.11	2.2 ± 0.52	12.1 ± 1.53	2.2 ± 1.62	4.5 ± 1.5	0.23
0.008	$2.25 \pm 0.19^*$	$1.3 \pm 0.49^*$	$15.0 \pm 4.62^{**}$	2.0 ± 1.11	4.1 ± 2.27	0.18^*
0.04	2.39 ± 0.11	$1.4 \pm 0.55^*$	11.8 ± 1.09	2.6 ± 1.95	3.4 ± 1.82	0.21
0.2	$2.28 \pm 0.28^*$	2.0 ± 1.00	12.3 ± 1.11	$4.1 \pm 2.48^*$	$6.7 \pm 3.86^*$	0.28
0.4	2.38 ± 0.16	2.7 ± 0.95	11.6 ± 0.79	$4.0 \pm 1.63^*$	$7.7 \pm 2.98^{**}$	0.29^{**}
0.8	$2.30 \pm 0.28^*$	2.7 ± 1.21	11.8 ± 1.72	$4.7 \pm 0.82^{**}$	$10.7 \pm 4.30^{**}$	0.27^*

注: 表内数据为平均值 $\pm$ 标准差 ($n=8$); * 表示与对照组差异显著 ($p < 0.05$); ** 表示与对照组差异非常显著 ($p < 0.01$)。

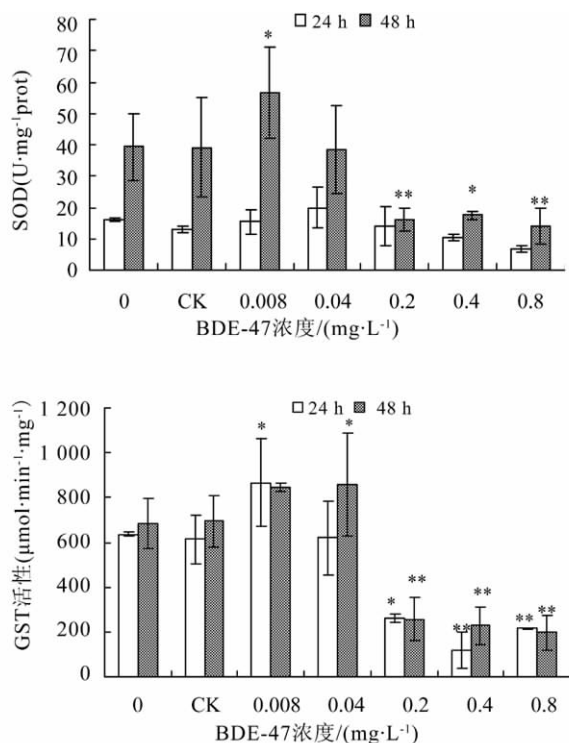


图 2 不同浓度 BDE-47 对大型溞 SOD 和 GST 的影响
(数据为平均值 ± 标准偏差 (n=3), 与空白组

比较显著性差异分别用*号 (p<0.05) 和**号 (p<0.01) 标识。

Fig. 2 Effects of different concentrations of BDE-47

on SOD and GST of *Daphnia magna* (Data

represented means ± SD (n=3). Significance of differences the control is indicated by * (p<0.05) and ** (p<0.01).

本研究的结果是一致的,张欣^[22]和邵蕾^[23]等研究结果显示溞类的繁殖总个体数随着毒物浓度的增加先升高后降低,而有的研究表明溞的产溞能力是随毒物浓度的增加而下降的,如孙红文等^[24]将大型溞置于 3 种有机锡化合物中,结果发现 3 种有机锡对大型溞的繁殖能力有一定的抑制作用,并随着浓度的增加,抑制作用加大。叶伟红^[25]等在研究氟氯菊酯对大型溞的亚慢性试验及其恢复实验时发现浓度在 0.05~0.75 mg·kg⁻¹ 的氟氯菊酯中,母溞的产幼溞数都受到了明显的抑制,并且随着浓度的增加,受抑制的程度加深。大型溞的繁殖率对不同毒物有不同的反应,这可能与不同物质有不同的作用模式或作用途径有关。

3.2 BDE-47 对大型溞 SOD 和 GST 活性的影响

活性氧自由基 (ROS) 是外源性化学物质对生物机体造成氧化损伤的主要原因,只有当 ROS 的产生与清除保持动态平衡时,才能使机体维持较低的 ROS 浓度,免受 ROS 伤害^[26]。机体的抗氧化防御

系统对 ROS 具有清除作用,但如果污染胁迫所致 ROS 过多,超过细胞清除 ROS 的能力,则会引起细胞的损伤,因此,抗氧化防御系统成分的活性或含量的改变可以反映氧化胁迫的程度。SOD 是生物体内抗氧化防御系统中的关键酶类,可以有效地清除体内过多的活性氧,维持细胞内 ROS 总量的相对平衡,从而防止细胞受到氧化损伤^[27]。

当 BDE-47 暴露 24 h 时,大型溞 SOD 活性无显著性变化,当 BDE-47 处理时间延长至 48 h, SOD 活性在低浓度处被诱导,高浓度组抑制,这种抗氧化酶活性的变化是生物对抵御或减弱外源污染物影响的一种适应性机制,污染物低剂量与高剂量可能对生物的生理生化产生相反的反应,低剂量的污染物对代谢有一定的“促进”作用,高剂量的污染物抑制正常的生理生化过程^[28]。在低浓度 BDE-47 中出现的这种现象,是生物体在低毒情况下的刺激反应,即“毒物兴奋效应”,而在高剂量组中酶活性之所以下降,原因可能是活性氧自由基大量产生并积累,在机体抗氧化能力未增加之前,细胞的功能和结构遭到损伤,对细胞造成了严重的伤害^[29]。这与 Huang 等^[30]研究铈对果蝇的结果相似,他们的结果表明,在低浓度组 0.45 和 1.65 μg·g⁻¹ 处, SOD 活性被显著诱导,当铈暴露高浓度 26.3 μg·g⁻¹ 时, SOD 活性又被显著抑制。

在本实验中 BDE-47 暴露 48 h 的大型溞 SOD 活性变化较 24 h 明显,说明随着暴露时间的延长, SOD 活性受到了诱导,这可能是因为毒物长时间的暴露之下, BDE-47 胁迫导致生物体内激发了大量的超氧阴离子自由基 O₂⁻,从而诱导 SOD 的表达产生应激反应,以达到有效清除体内过多活性氧的效果^[31]。

谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 存在于机体各种组织中,是生物体内广泛存在的一类催化谷胱甘肽与多种疏水性化合物的亲电子基团相连接的胞质酶,具有消除体内自由基和解毒双重功能,是一种重要的解毒酶,能催化 GSH 与许多次级底物结合,包括脂质过氧化的次级产物,从而解除内源性或外源性毒物的毒性^[32]。生物体在污染胁迫下,产生氧化应激,生成大量活性氧自由基,从而诱导 GST 活性升高,在本实验中 GST 表现出与 SOD 同样的趋势,整体上表现为先诱导后抑制,反应的第 1 天即出现显著性变化。当低浓度毒物进入溞体时,可诱导 GST 的产生,消除有毒物质的氧化损伤。有研究证明,

镉、铜、硫丹和甲萘醌等能使大型蚤体内 GST 的活力提高 2 倍左右, GST 可能积极地参与了氧化还原性物质的解毒作用^[33]。当 BDE-47 浓度高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, GST 活性被显著抑制, 可能是因为谷胱甘肽的减少, 代谢产物和自由基等大量产生, 并在体内积累, 降低了 GST 的活性, 机体正常生理机能受到了影响^[34]。在范灿鹏等^[35]的研究中, 剑尾鱼在 BDE-47 的短期暴露后, 其肝脏 GST 酶活性随 BDE-47 浓度的增加出现先诱导后抑制的趋势, 这与本文的结果是一致的。低浓度组 GST 活力的升高是蚤体抗击外源污染物的一种应激反应机制, 而高浓度胁迫可使 GST 中毒失活, 从而使应激反应很快消失, 表明 GST 是一种高诱导性酶, 许多研究结果也有相似结论^[36-38]。

在本实验中, GST 活性在 24 h 时即发生显著变化, 反应敏感, 24 h 和 48 h 变化相差不大, 而 SOD 在 48 h 时才出现应激反应, 这个结果表明, GST 较 SOD 来说, 对 BDE-47 暴露可能更敏感一些, 这个结论与 Teles 等^[39]的研究结果有一定的相似, 这种现象可能主要由于 $\text{O}_2 \cdot$ 的歧化反应并不是 H_2O_2 及其他过氧化物的唯一来源, 后者还可以通过细胞色素 P450 酶系代谢生成^[38]。

综上所述, BDE-47 对大型蚤的 48 h 的半致死浓度为 $1.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 属于高毒性物质; 21 d 慢性暴露对大型蚤的体长及繁殖能力均产生影响, 低浓度组受到了抑制作用, 生殖周期滞后, 而高浓度组中大型蚤的体长及繁殖能力上升, 其中第 1 次产仔数和产卵总数是表征 BDE-47 慢性毒性的最灵敏参数; 大型蚤在 BDE-47 的暴露条件下, GST 和 SOD 活性均呈现出低浓度诱导高浓度抑制的现象, 有望作为 BDE-47 暴露的生物标记物。

通讯作者简介: 聂湘平 (1966—), 男, 博士, 教授, 主要从事生态毒理学研究。

参考文献:

- [1] De Wit C A. An overview of brominated flame retardants in the environment [J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5): 583–624
- [2] 陈长二. 大连松针/儿童血液和黄河三角洲土壤中多溴联苯醚污染特征研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2009
- [3] Norén K, Meironyté D. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20–30 years [J]. *Chemosphere*, 2000, 40(9–11): 1111–1123
- [4] Ueno D, Inoue S, Takahashi S, et al. Global pollution monitoring of polybrominated diphenyl ethers using Skipjack tuna as a bioindicator [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(8): 2312–2316
- [5] 马新东. 海洋沉积物和生物中多溴联苯醚的方法研究及应用[D]. 大连: 大连海事大学, 2007
- [6] 刘国光, 徐海娟, 王莉霞, 等. 环境有机污染物对蚤的毒性研究[J]. *环境与健康杂志*, 2003, 20(6): 369–371
- [7] Chen J W, Harner T, Yang P, et al. Quantitative predictive models for octanol-air partition coefficients of polybrominated diphenyl ethers at different temperatures. *Chemosphere*, 2002, 51(7): 577–584
- [8] Burreau S, Zebühr Y, Ishaq R, et al. Comparison of biomagnification of PBDEs in food chains from Baltic Sea and the North Atlantic Sea [J]. *Organohalogen Compounds*, 2000, 47: 253–255
- [9] Darnerud P O, Eriksen G S, Jóhannesson T. Polybrominated diphenyl ethers: Occurrence dietary exposure and toxicology [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2001, 109(1): 49–68
- [10] Hites R A. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: A meta-analysis of concentration [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(4): 945–956
- [11] US EPA. Methods of Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms. 3rd ed. EPA 600/4-85/013, Cincinnati: US EPA, 1985
- [12] Wang W X, Guan R. Subcellular distribution of zinc in *Daphnia magna* and implication for toxicity [J]. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2010, 29(8): 1841–1848
- [13] Bewley J D. Physiological aspects of desiccation tolerance: A retrospect [J]. *International Journal of Plant Sciences*, 1995, 159(4): 393–403
- [14] 张毓琪, 陈叙龙. 1993. 环境生物毒理学[M]. 陕西旅游出版社
- [15] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第4版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 715–721
- [16] 国家环保局《水生生物监测手册》编委会. 水生生物监测手册[M]. 南京: 东南大学出版社, 1993: 192–202
- [17] Gersich F M. The sensitivity of chronic endpoints used in *D. magna* strains under static-renewal and flow-through conditions [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1986, 36: 730–737
- [18] Yin D Q, Jin H J, Yu L W, et al. Deriving freshwater quality criteria for 2,4-dichlorophenol for protection of aquatic life in China [J]. *Environmental Pollution*, 2003, 122(2): 217–222
- [19] Martin M, Paul K S, Richardson B J. An Asian quan-

- dary: Where have all of the PBDEs gone? [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49(56): 375–382
- [20] Barata C, Barid D J, Soaers A M V M, et al. Biochemical factors contributing toxicity difference among resistant and sensitive clones of *Daphnia magna* straus to ethylparathion [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 49(2): 155–163
- [21] Källqvist T, Grung M, Tollefsen K E. Chronic toxicity of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether on the marine alga *Skeletonema costatum* and the crustacean *Daphnia magna* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(6): 1657–1662
- [22] 张欣, 赵文, 徐峰. 三种除草剂对大型溞 *Daphnia magna* 存活、生长和繁殖的影响 [J]. *农药学报*, 2009, 11(1): 121–125
- Zhang X, Zhao W, Xu F. Effects of three herbicides on the survival, growth and reproduction of *Daphnia magna* [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2009, 11(1): 121–125 (in Chinese)
- [23] 邵蕾. 镉、锌和有机农药对水蚤急、慢性中毒的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2010
- [24] 孙红文, 黄国兰, 李书霞, 等. 三苯基锡和三丁基锡对大型蚤 (*Daphnia magna*) 的毒性作用研究 [J]. *环境化学*, 2000, 19(3): 235–239
- Sun H W, Huang G L, Li S X, et al. Study on toxic effects of triphenyltin and tributyltin on *Daphnia magna* [J]. *Environmental Chemistry*, 2000, 19(3): 235–239 (in Chinese)
- [25] 叶伟红, 刘维屏, 谭亚军. 氟氯菊酯对大型蚤的亚慢性毒性及其恢复实验 [J]. *农药*, 2004, 43(2): 86–89
- Ye W H, Liu W P, Tan Y J. *Daphnia magna* toxicity and subsequent recovery during a subchronic toxicity test with bifenthrin [J]. *Chinese Journal of Pesticides*, 2004, 43(2): 86–89 (in Chinese)
- [26] 方允中, 郝荣梁. 自由基生物学的理论与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 126, 339–353
- [27] Geracitan O L, Monserrat J M, Bianchini A. Physiological and antioxidant enzyme responses to acute and chronic exposure of *Laeonereis acuta* (polychaeta nereidiae) to copper [J]. *Experimental Marine Biology and Ecology*, 2002, 277(2): 145–156
- [28] Calabrese E J. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences [J]. *Environmental Pollution*, 2005, 138: 378–411
- [29] Stebbing A R D. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. *Science of the Total Environment*, 1982, 22(3): 213–234
- [30] Huang S F, Li Z Y, Wang X Q, et al. Cerium caused life span shortening and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(1): 89–93
- [31] 周科, 马陶武, 朱程等. 2,2',4,4'-四溴联苯醚 (BDE-47) 污染沉积物对铜锈环棱螺肝胰脏的 SOD、CAT 和 EROD 活性的影响 [J]. *环境科学学报*, 2010, 30(8): 1666–1673
- Zhou K, Ma T W, Zhu C, et al. Effects of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47)-contaminated sediments on SOD, CAT, and EROD activities in the hepatopancreas of *Bellamya aeruginosa* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(8): 1666–1673 (in Chinese)
- [32] Reinemer P, Prade L, Hof P, et al. Three-dimensional structure from arabidopsis thaliana at 2-Å resolution: Structural characterisation of herbicide-conjugating plant glutathione S-transferase and a novel active site architecture [J]. *Journal of Molecule Biology*, 1996, 255(2): 289–309
- [33] Barata C, Varo I, Navarro J C, et al. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2005, 140(2): 175–186
- [34] Elumalai M, Antunes C, Guilhermino L. Enzymatic biomarkers in the crab *Carcinus maenas* from the Minho river estuary (NW Portugal) exposed to zinc and mercury [J]. *Chemosphere*, 2007, 66(7): 1249–1255
- [35] 范灿鹏, 王奇, 刘昕宇, 等. 四溴联苯醚对剑尾鱼毒性及其抗氧化系统的影响 [J]. *环境科学学报*, 2011, 31(3): 642–648
- Fan C P, Wang Q, Liu X Y, et al. Toxicity and effect of tetrabromodiphenyl ether upon the antioxidant defense system of swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(3): 642–648 (in Chinese)
- [36] 吴伟, 陈家长, 冷春梅, 等. 溴氰菊酯对罗非鱼谷胱甘肽及 S 转移酶的影响 [J]. *中国环境科学*, 2006, 26(4): 474–477
- Wu W, Chen J C, Leng C M, et al. The effect of deltamethrin on glutathione and glutathione-S-transferase in the body of tilapia [J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(4): 474–477 (in Chinese)
- [37] 丁秀蓉, 李正炎, 王波, 等. 壬基酚对牙鲈肝脏 EROD 和 GST 酶活性的影响 [J]. *中国海洋大学学报*, 2007, 37(1): 101–104
- Ding X R, Li Z Y, Wang B, et al. Effects of nonylphenol on EROD and GST activity in the liver of paralicthys olivaceus [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(1): 101–104 (in Chinese)
- [38] 张辰佳, 王兰, 王茜. 3 种酚类化合物对多刺裸腹溞

- GST 和 AchE 活力的影响[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(2): 258-264
- Zhang C J, Wang L, Wang Q. Effects of phenolic compounds on glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase in *moina macrocopa* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(2): 258-264 (in Chinese)
- [39] Teles M, Pacheco M, Santos M A. *Anguilla anguilla* L. liver EROD, GST, erythrocytic nuclear abnormalities and endocrine responses to naphthalene and β -naphthoflavone [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, 55(1), 98-107 ◆

更正说明

本刊2010年第5卷第6期第817-822页,“镧(Ⅲ)离子诱导的菲律宾蛤仔金属硫蛋白性质研究”一文做出如下更正:

第817页文章作者“付海防,孟范平*,赵顺顺,高鹰”应改为“付海防,孟范平*,张毅,赵顺顺,高鹰”;“FU Haifang, MENG Fanping*, ZHAO Shunshun, Gao Ying”应改为“FU Haifang, MENG Fanping*, ZHANG Yi, ZHAO Shunshun, GAO Ying”。

2011年4月刊出的第2期第212页,去掉图1,添加表7,表7的说明为:全国自来水厂出水中多环芳烃总量平均值的空间分布。原表7变成表8。文字部分做相应修改。