

# 2, 4-DNT 对鲤鱼的急性和亚急性毒性\*

徐镜波

(东北师范大学环境科学系, 长春 130024)

景体淞

(长春科技大学环境学院, 长春 130026)

**摘要** 实验测定2, 4-DNT 对鲤鱼的急性和亚急性毒性. 亚急性试验经1. 640, 3. 280, 4. 919, 6. 559, 9. 109 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2, 4-DNT 暴露36d, 在15—19 下, 24, 48, 72, 96h 的  $\text{LC}_{50}$  值分别为30. 78, 27. 98, 25. 84, 24. 96 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 亚急性试验中, 根据2, 4-DNT 对鲤鱼生长和肝  $\text{ATPase}$  活力的影响, 求得2, 4-DNT 的最大允许毒物浓度为1. 640—3. 280 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**关键词** 鲤鱼, 2, 4-二硝基甲苯(2, 4-DNT), 腺三磷酸(ATPase), 最大允许毒物浓度.

## The Acute and Subacute Toxicity of 2, 4-DNT to Carp

Xu Jingbo

(Dept. of Environ., Sci., Northeast Normal Univ., Changchun 130024)

Jing Tisong

(Environ. College, Changchun Univ. of Sci. and Tech., Changchun 130026)

**Abstract** The purpose of this work is intended to determine the acute and subacute toxicity of 2, 4-DNT on carp. Carp was exposed to 2, 4-DNT with concentrations of 1. 640, 3. 280, 4. 919, 6. 559, 9. 109  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  for 36 days. The 24h, 48h, 72h, 96h,  $\text{LC}_{50}$  for capr was 30. 78, 27. 98, 25. 84, 24. 96 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  at 15—19 , respectively. With regard to the subacute toxicity test, the maximum allowable toxicant concentration (MATC) of 2, 4-DNT for carp was 1. 640—3. 280  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , as decided from the toxic effects of 2, 4-DNT on their growth and ATPase activity of liver.

**Keywords** carp, 2, 4-DNT, ATPase, maximum allowable toxicant concentration.

2, 4-DNT 是我国第二松花江中游的主要污染物之一, 也是美国 EPA 规定的优先监测物, 有关硝基芳烃对鱼类(不包含鲤鱼)的毒性研究, 1984年以来国外已有系列报道<sup>[1—4]</sup>. 本文用我国重要经济鱼类鲤鱼作为受体, 硝基芳烃代表化合物2, 4-DNT 为毒物, 实测其半静态下的24, 48, 72, 96h 的  $\text{LC}_{50}$  值. 并以  $\text{ATPase}$  作为生物学标志(Biomarker), 研究2, 4-DNT 对鲤鱼的亚急性毒性, 为制定我国渔业水体2, 4-DNT 的水质标准提供科学依据.

### 1 材料与方法

#### 1. 1 急性毒性试验

试验用1龄鲤鱼由长春市水产所养殖基地

提供, 体长为  $5.71 \pm 0.42\text{cm}$ , 体重在  $3.00 \pm 0.60\text{g}$ . 鱼苗经5% 食盐水消毒后进入实验室, 用经活性炭过滤存放24h 以上的脱氯自来水在实验室暂养5—7d 后用于试验, 水质符合渔业水质标准. 采用静水换液方法, 在  $(60 \times 40 \times 50)\text{cm}^3$  的玻璃水族箱中, 盛放30L 试液, 每 d 更换2/3, 每个浓度组随机放入10尾试验鱼. 以丙酮为助溶剂, 其用量为0.05—0.1%, 按等对数间距设置5—9个试验浓度及一个空白对照.

#### 1. 2 亚急性试验

试验采用鲤鱼, 体长为  $6.14 \pm 0.12\text{cm}$ , 体

\* 国家自然科学基金资助项目(Project Supported by National Natural Science Foundation of China)

徐镜波: 女, 46岁, 副教授

收稿日期: 1997-07-07

重在 $3.67 \pm 0.12g$ , 在15—19 下历时36d.

试验设置的浓度分别为 $1.640$ 、 $3.280$ 、 $4.919$ 、 $6.559$ 、 $9.109mg \cdot L^{-1}$ 及对照共6组, 每浓度组随机投放15—20尾试验鱼. 开始暴露前, 试验鱼逐条测量全长和称重, 各组之间试验鱼的全长和体重均无显著性差异. 各浓度组分别盛试液80L 于聚乙稀桶中(直径60cm, 高50cm), 每d 更换1/2. 每d 定期测定溶解氧, 所得值均高于 $4mg \cdot L^{-1}$ . 每天换试液后投喂合成饵料, 并且每天清除排泄物3次. 此外, 每10d 清洗1次试验器. 暴露至15d、30d 和试验结束时, 各浓度组试验鱼逐尾进行测量全长和称重, 称重前1d 停止投饵, 所得生长数据进行统计处理<sup>[5]</sup>.

### 1.3 ATPase 测定

鱼样品杀死后取其肝脏, 每g 样品加入1—4 冷线粒体提取液(提取液中含 $0.35mol \cdot L^{-1}$ 甘露醇、 $1mg \cdot L^{-1}$ 牛血清蛋白、 $0.25mol \cdot L^{-1}$ 蔗糖、 $0.001mol \cdot L^{-1}$ EDTA、pH7.2、 $0.01mol \cdot L^{-1}$ Tris-HCl 缓冲溶液)4ml, 匀浆5min, 700g 离心10min, 上清液以12500g 离心20min, 得线粒体沉淀. 将线粒体沉淀物溶于1ml 冷线粒体悬浮液中(与线粒体提取液相同, 不加牛血清蛋白). 然后按文献<sup>[6]</sup>方法进行.

酶活性数据均由3—6次重复实验的平均值和标准差表示, 平均值差异比较用*t* 检验.

## 2 结果与讨论

### 2.1 急性毒性

2, 4-DNT 对鲤鱼幼鱼的急性毒性如表1. 试验高浓度组中, 实验鱼投入几 min 后, 即出现剧烈跳窜, 逐渐失衡、侧卧、死亡.  $19.90mg \cdot L^{-1}$  浓度组延长到第8d 的死亡率为10%, 而 $15.80mg \cdot L^{-1}$  及以下各浓度组延长到第10d 仍未发生死鱼现象. 因此, 2, 4-DNT 对鲤鱼的致死阈浓度为 $19.90mg \cdot L^{-1}$ .

表1 2, 4-DNT 对鲤鱼的急性毒性

水温/	时间/h	LC <sub>50</sub> 值	95% 置信限
15—19	24	$30.78 \pm 2.01$	28.77—32.79
15—19	48	$27.98 \pm 1.58$	26.40—29.56
15—19	72	$25.84 \pm 1.28$	24.56—27.12
15—19	96	$24.96 \pm 1.34$	23.62—26.30

### 2.2 亚急性毒性

试验期间除最高浓度组( $9.109mg \cdot L^{-1}$ ) 在暴露30d 时, 2尾跳出水族箱死亡外, 其它浓度组均未发生死鱼现象.

(1) 2, 4-DNT 对生长的影响 从表2可以看出,  $9.109$ 、 $6.559mg \cdot L^{-1}$  浓度组的试验鱼在暴露15d 时, 生长就受到明显的抑制, 鱼全长虽然增加( $0.18—0.28cm$ ), 但体重却下降( $0.41—0.58g$ ). 在此后暴露期间, 全长和体重虽有增加, 但仍较其它浓度组为小.  $4.919mg \cdot L^{-1}$ 、 $3.280mg \cdot L^{-1}$ 、 $1.640mg \cdot L^{-1}$  3个组试验鱼的生长数据从体长、体重数据上相关不大, 优于 $9.109mg \cdot L^{-1}$  和 $6.559mg \cdot L^{-1}$  2个浓度组, 而 $3.280mg \cdot L^{-1}$  和 $1.640mg \cdot L^{-1}$  浓度组与对照组相比, 对鲤鱼幼鱼生长未发现影响.

表2 2, 4-DNT 对鲤鱼生长的影响

2, 4-DNT 浓度 / $mg \cdot L^{-1}$	暴露时间 / d							
	0		15		30		36	
	全长/cm	体重/g	全长/cm	体重/g	全长/cm	体重/g	全长/cm	体重/g
对照	$6.13 \pm 0.10$	$3.65 \pm 0.12$	$7.27 \pm 0.11$	$4.87 \pm 0.13$	$8.43 \pm 0.29$	$5.85 \pm 0.23$	$8.65 \pm 0.38$	$6.25 \pm 0.26$
1.640	$6.12 \pm 0.14$	$3.66 \pm 0.13$	$7.26 \pm 0.22$	$4.46 \pm 0.15$	$8.43 \pm 0.27$	$5.82 \pm 0.24$	$8.66 \pm 0.30$	$6.26 \pm 0.24$
3.280	$6.12 \pm 0.12$	$3.67 \pm 0.10$	$7.23 \pm 0.17$	$4.77 \pm 0.18$	$8.31 \pm 0.25$	$5.70 \pm 0.21$	$8.50 \pm 0.21$	$6.20 \pm 0.31$
4.919	$6.14 \pm 0.13$	$3.68 \pm 0.11$	$7.20 \pm 0.13$	$4.68 \pm 0.21$	$7.96 \pm 0.31$	$4.97 \pm 0.32$	$8.21 \pm 0.31$	$5.47 \pm 0.38$
6.559	$6.13 \pm 0.12$	$3.67 \pm 0.19$	$6.31 \pm 0.14$	$3.26 \pm 0.29$	$6.87 \pm 0.34$	$3.37 \pm 0.43$	$7.30 \pm 0.55$	$3.70 \pm 0.41$
9.100	$6.14 \pm 0.10$	$3.68 \pm 0.08$	$6.42 \pm 0.20$	$3.10 \pm 0.31$	$6.80 \pm 0.21$	$3.37 \pm 0.43$	$7.20 \pm 0.33$	$3.60 \pm 0.38$

*t* 检验结果表明, 高浓度组( $9.109mg \cdot L^{-1}$ 、 $6.559mg \cdot L^{-1}$ ) 的鲤鱼, 15d、30d、36d 每次测定的全长和体重与对照组相比, 均出现显著差异, 说明 $6.559mg \cdot L^{-1}$  以上的2, 4-DNT 对鲤鱼生

长有明显的抑制作用.  $4.919mg \cdot L^{-1}$  浓度组在30d、36d 测定的全长和体重与对照组相比, 才出现显著差异.  $3.280mg \cdot L^{-1}$ 、 $1.640mg \cdot L^{-1}$  浓度组在每次测定中均无显著差异.

(2) 2, 4-DNT 对酶学指标的影响 实验进行到8d、16d、32d 时, 测定了鲤鱼肝脏的 ATPase 活力, 结果如表3. 肝组织 ATPase 活力都表现出随着2, 4-DNT 浓度提高和时间延长, 逐渐下降的趋势.

根据2, 4-DNT 对鲤鱼生长的抑制程度, 最

表3 2, 4-DNT 对肝脏 ATPase 活力影响(均值)<sup>1)</sup>/  $\mu\text{mol Pi} \cdot (\text{h} \cdot \text{mg Pr})^{-1}$

时间/d	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$				
	对照	3. 280	4. 919	6. 559	9. 109
8	2. 094	1. 472(70. 3)	0. 967(46. 2)	0. 540(25. 8)	0. 222(10. 6)
16	1. 986	1. 307(65. 8)	0. 910(45. 8)	0. 477(24. 0)	0. 191(9. 6)
32	2. 012	1. 292(64. 2)	0. 889(44. 2)	0. 463(23. 0)	0. 181(9. 0)

1)  $n = 6$  括号里为相对活力百分数

组的试验鱼生长与对照组并无显著性差异, 但肝脏 ATPase 活性均出现明显抑制现象(表3). ATPase 是镶嵌在膜上的蛋白, 酶的活性中心有天冬氨酸, 其侧链对 ATP 进行亲核进攻, 使其磷酸化. 文献<sup>[2]</sup>指出, 硝基芳烃化合物中的硝基在体内可能有2种生物化学作用, 可能由它的  $\pi$  电子将其苯环上的电子云密度降低, 也可能被另一个硝基激活, 作为离去基团. 笔者认为由于  $-\text{NO}_2$  和  $-\text{CH}_2$ .  $-\text{NO}_2$  同时存在时,  $-\text{NO}_2$  可能吸引苯环上的  $\pi$  电子云, 使苯环本身呈现部分正电性, 与酶活性中心的羧基吸引, 发生加成反应, 影响亲核催化作用. 并随着2, 4-DNT 浓度增大, 抑制更加明显, 表明剂量效应关系. 因此可认为鲤鱼体内组织 ATPase 活性的抑制是2, 4-DNT 中毒的一个较敏感指标.

(上接第88页)

TBT 对羊头鲷 *Cyprinodon variegatus* 7d LC<sub>50</sub>为  $5\mu\text{g}/\text{L}$ , 14d LC<sub>50</sub>为  $3\mu\text{g}/\text{L}$ , TBT 对大型蚤 *Daphnia magna* 的48h LC<sub>50</sub>为  $2\mu\text{g}/\text{L}$ <sup>[1]</sup>, 以死亡率来比较, 摇蚊幼虫对 TBT 的抗性远远大于鱼类和枝角类, 但以化蛹率作为指标与鱼类和枝角类的死亡率相比较时, 则相差不大, 这说明, 摇蚊幼虫在化蛹过程中, 对毒物比较敏感. 化蛹率是一个比较好的毒性效应指标. 通过实验还观察到了 TBT 对摇蚊幼虫口器的致畸作用. TBT 在  $0. 5\mu\text{g}/\text{L}$  浓度时可以引起蟹(*Uca pupillator*) 蜕皮及再生受阻, 再生附肢显示各种

高无影响的浓度是  $3. 280\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最低有影响的浓度是  $4. 919\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 但从鲤鱼肝脏 ATPase 活力的测定结果看,  $3. 280\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度组2, 4-DNT 仍对 ATPase 有抑制现象. 因此, 本实验求得最大允许浓度为  $1. 640—3. 280\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

亚急性实验表明, 尽管  $3. 280\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度

致谢: 本工作得到本系学生付尧、陈建民同学的帮助.

### 参 考 文 献

- 1 Robert D W. QSAR in Environ. Toxico. —II. D. Reidel Publishing Co. 1987: 295
- 2 Hall L H et al. SAR studies on the toxicity of benzene derivatives: II. Toxico. Chem., 1987, 5: 333
- 3 Deneer J W et al. QSAR for the toxicity and bioconcentration factor of nitrobenzene derivatives towards the guppy. Aquatic toxico., 1987, 10: 115
- 4 Hall L H et al. QSAR investigation of benzene toxicity to fathead minnow using molecular connectivity. Environ. Toxico. Chem., 1989, 8: 783
- 5 中科院数学研究所统计组. 常用数理统计方法. 北京: 科学出版社, 1979: 19
- 6 丁树荣等. 环境生物学实验技术与方法. 南京: 南京大学出版社, 1989: 80

变形<sup>[2]</sup>, 这表明, TBT 对幼虫的毒性作用可能是干扰体内蜕皮激素的正常代谢而导致幼虫蜕皮过程受到影响, 从而也影响了化蛹过程.

### 参 考 文 献

- 1 Mamie May-ming Lau (Wong). Tributyltin Antifoulings: A threat to the Hong Kong Environment. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1991, 20: 299—304
- 2 Roy B Laughlin et al. Comparative Study of the Acute Toxicity of a Homologous Series of Trialkyltins to Larval Shore Crabs *Emergopus Nudus*, and Lobster. *Homarus Americanus*. Bull. Environ. contam. Toxicol., 1983, 25: 802—809