

四溴双酚-A 污染对颤蚓的氧化胁迫及毒性

李亚宁¹, 周启星^{1,2*}, 胡献刚¹, 罗义¹

(1. 南开大学环境科学与工程学院天津市城市生态环境修复与污染防治重点实验室, 天津 300071; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016)

摘要: 在实验室模拟条件下分别采用动、静态生物慢性实验的方法, 研究了不同浓度的四溴双酚-A (Tetrabromobisphenol A, TBBPA) 对颤蚓 (*Monopylephorus limosus*) 体内抗氧化酶系统及相 II 结合酶系统活性的影响以及颤蚓暴露于单一浓度的 TBBPA 后, 其体内抗氧化酶系统的活性随时间的响应. 结果表明, 暴露 8 d 后, 颤蚓体内 SOD 的活性发生显著变化, 变化趋势明显分为升高、降低、再升高 3 阶段, 在 0.05 mg/L 时 SOD 的活性被最大诱导 ($p < 0.01$), 达到对照组的 7.8 倍, 各浓度组 SOD 的活性均显著高于对照组, 由对照组的 1.5 倍到对照组的 7.8 倍; 同时, CAT 的活性变化则呈升高、降低、再升高、再降低 4 阶段, 0.5 mg/L 时其活性达到最大值 ($p < 0.01$), 除 0.005 mg/L 和 0.25 mg/L 浓度组 CAT 活性受抑制外, 其余浓度组 CAT 的活性均高于对照组, 由对照组的 1.1 倍到 1.9 倍. 染毒浓度为 0.25 mg/L 时, GST 的活性达到最大诱导 ($p < 0.01$), 其活性先缓慢上升后下降, 并且各处理组 GST 的活性均显著高于对照组 ($p < 0.05$). 在单一浓度 TBBPA 污染暴露的 10 d 时间内, 颤蚓体内 SOD 的活性变化趋势形成了一个变形的“M”形曲线, 在第 3 d 时其活性达到最大诱导, 而 CAT 活性的变化则表现为一个不规则的“N”形曲线, 在第 5 d 时其活性达到最大诱导, 并且 SOD 的活性比 CAT 的活性受时间的影响小, 相对来说更稳定. 可见, SOD 与 GST 的活性变化似乎更能反映出 TBBPA 对颤蚓的污染效应及其毒性作用, 而 SOD 的活性变化似乎更为灵敏, 但是二者能否作为指示 TBBPA 污染的生物标志物尚需进一步研究.

关键词: 颤蚓 (*Monopylephorus limosus*); 四溴双酚-A; 超氧化物歧化酶 (SOD); 过氧化氢酶 (CAT); 谷胱甘肽硫转移酶 (GST)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)07-2012-06

Oxidation Stress and Toxicity of TBBPA Pollution on Polychaete Tubifex (*Monopylephorus limosus*)

LI Ya-ning¹, ZHOU Qi-xing^{1,2}, HU Xian-gang¹, LUO Yi¹

(1. Tianjin Key Laboratory of Environmental Remediation and Pollution Control, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: Using the indoor simulating method of dynamic and static exposure respectively, the toxic effects of TBBPA on the antioxidant enzyme defense systems and Glutathione-S-transferase (GST) activity of tubifex *Monopylephorus limosus* were examined. The activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) with time was also examined. The results showed that after an 8 d exposure, the SOD activity was enhanced at first and then inhibited gradually, at last enhanced again. The highest activity of SOD ($p < 0.01$) was examined under 0.05 mg/L concentration of TBBPA. And the activity of SOD was much higher than that of control (1.5-7.8 times more than that of the control). The activity of CAT showed a tendency of induction firstly and then inhibition, then induction again and at last inhibition, reached the highest value under 0.5 mg/L of TBBPA. Furthermore, the CAT activity was higher than that of the control (1.1-1.9 times more than that of the control) except that under 0.005 mg/L and 0.25 mg/L of TBBPA. Moreover, the highest activity of GST ($p < 0.01$) was observed under 0.25 mg/L of TBBPA. The activity of GST was enhanced gradually at first and then inhibited. As the same as SOD, the activity of GST was induced significantly ($p < 0.05$). The changes in the SOD activity showed an “M” trend, while that in the CAT activity showed an “N” trend. And the activity of SOD is steadier than that of CAT. Thus, changes in the activity of SOD and GST, especially SOD, can better reflect the toxic effects of pollutants on tubifex.

Key words: tubifex (*Monopylephorus limosus*); TBBPA; superoxide dismutase (SOD); catalase (CAT); Glutathione-S-transferase (GST)

随着电子产业的发展, 四溴双酚-A (TBBPA) 成为全球产量最大、使用最广泛的溴化阻燃剂, 目前全世界年产量大约为 12 万 t. 作为一种重要的新型污染物, 其在全球水平上存在的范围近年来迅速增加, 至今已在土壤、水体、沉积物和大气等环境介质以及人体内检测到了它的存在^[1~4]. 颤蚓 (Tubifex), 属环

节动物门、寡毛纲、近孔寡毛目、颤蚓科

收稿日期: 2007-07-25; 修订日期: 2007-09-12

基金项目: 教育部培育基金项目; 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2004CB418503)

作者简介: 李亚宁 (1982 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染生态学与分子生态毒理学, E-mail: lyn1031@126.com

* 通讯联系人, E-mail: zhouqx@nankai.edu.cn

(Tubificidae),作为河流、小溪、湖泊、池塘和河口等淡水水体底栖动物的重要组成部分,是鱼、虾等水生动物的优质天然饵料,它的丰度多少会对水体中的食物链产生直接影响^[5].近年来,随着 TBBPA 等溴化阻燃剂对水污染的加剧^[6],使水生生态系统的可持续性受到更为严重的挑战.由于颤蚓在水生生态系统中的重要地位,对其生态毒理过程与效应的研究受到越来越多学者的重视^[7-8].因此,研究、模拟 TBBPA 污染对颤蚓的生态毒性,从而由侧面反映、监测 TBBPA 污染对整个水生生态系统的负面影响具有重要的现实意义.Tim 等^[9]对斯凯尔特河口的溴化阻燃剂含量进行了调查,结果在糖虾(Mysid shrimp)体内仅检测到了痕量的 TBBPA,每 g 脂肪中的含量为 0.8~7.7 ng,而沉积物中 TBBPA 的含量则在检测限以下.Morris 等^[10]在北海河口所做的调查中也显示很少样品中含有 TBBPA,这说明 TBBPA 在环境中的含量还是比较低的,为此本研究对颤蚓进行了低浓度中长期 TBBPA 暴露,这也是非常有现实意义的.

研究表明,许多污染物进入生物体后发生的代谢过程中,往往会产生大量的具有强氧化能力的中间产物,如活性氧中间体、氧自由基等,这些物质具有很高的氧化性,可以与细胞中很重要的大分子物质反应,造成细胞脂膜过氧化、DNA 断裂并最终导致细胞的死亡^[11].而过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)是重要的抗自由基酶类之一,具有清除活性氧中间体和氧自由基等的功能.谷胱甘肽硫转移酶(GST)作为生物体内解毒系统的一个关键酶,在保护机体免受外来污染物引起的氧化应激及氧化损伤中发挥重大作用.尽管已知许多传统污染物都能对 GST 活性产生诱导^[12],但对 TBBPA 等新型污染物是否具有这种作用,则鲜见报道.目前在低浓度中长期暴露条件下,把颤蚓作为生态毒理学模式生物,探索其体内抗氧化酶及相 II 结合酶系统对污染暴露的响应及其机制的问题,尚鲜见报道.为此,本研究分析了在 TBBPA 污染胁迫下,颤蚓体内抗氧化防御系统的重要保护酶 SOD、CAT 以及相 II 结合酶的典型代表 GST 在活性变化上的响应,从生化水平上揭示了 TBBPA 的毒性作用机制,以期为其生态风险评价和环境安全管理提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:Hettich 32R 低温高速冷冻离心机,购自德

国 Hettich 公司;TU-1901 双光束紫外可见分光光度计,购自北京普析通用仪器有限责任公司.试剂:四溴双酚-A(Tetrabromobisphenol A, TBBPA, 97%)购自 sigma 公司,丙酮(色谱纯),酶反应试剂均为分析纯或化学纯级别.

1.2 试验材料

试验所用颤蚓采自河边淤泥,经实验室扩大培养.所采颤蚓放养于 40 cm × 22 cm × 20 cm 的鱼缸中,鱼缸设计为一个叠水装置,以便每天换水.鱼缸底部铺一层大粒石英砂,上部是用脱脂棉制成的松软基质,并加入一定量的水,所用水为曝气 2 d 以上的自来水.每天饲喂颤蚓豆粉和葛苣浆以 1:1 混合的发酵物.

试验前挑选大小一致的颤蚓用胶头滴管吸出,清洗后放入装有曝气水的大培养皿中,然后放入恒温培养箱中培养 24 h 后开始试验.在 100 mL 的小烧杯中加入不同浓度的 TBBPA 溶液 20 mL,每一烧杯中加 10 条颤蚓,每 2 d 换 1 次水,每个浓度 3 次重复.

1.3 酶活性测定

静态实验:配制浓度为 0.005、0.025、0.05、0.25、0.5 和 1.0 mg/L 的 TBBPA 水溶液,培养 8 d 后测定颤蚓的 CAT、SOD 和 GST 的活性,设定溶剂对照.

动态实验:配制浓度为 1.0 mg/L 的 TBBPA 水溶液,分别于暴露的 1、3、5、7 和 10 d 测定颤蚓的 CAT、SOD 活性,在不同 TBBPA 处理的相应时间均设溶剂对照.

染毒完成后,从烧杯中取出颤蚓个体,用滤纸吸干,迅速将其置于冰浴中.然后于预冷的 Tris-HCl 缓冲液(0.01 mol/L Tris, 0.25 mol/L 蔗糖, 0.1 mmol/L EDTA, pH 7.5)匀浆,将匀浆液于 4℃、10 000 r·min⁻¹ 条件下低温离心 20 min,上清液即为酶提取液,低温保存备用.

CAT 活性的测定采用徐镜波等的方法^[13].分光光度计设置:时间扫描,每隔 10 s 测吸光值 1 次,连续 1 min,波长为 250 nm;参比池:10 μL 酶样 + 3.0 mL 磷酸盐缓冲液 I 到 1 cm 石英比色杯中;样品池:10 μL 酶样 + 3.0 mL H₂O₂-磷酸盐缓冲液 II 到 1 cm 石英比色杯中.

反应 SOD 活性的测定采用改进的邻苯三酚自氧化法^[14].分光光度计设置:时间扫描,每隔 20 s 测吸光值 1 次,连续 1 min,波长为 325 nm;参比:取 10 mL 试管,加 10 mL 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.2)缓冲

液,在 25℃ 保温 25 min;加入 50 μL 10 mmol/L HCl,倒入 1 cm 石英比色杯中,放在参比位上;邻苯三酚的自氧化速率:取 10 mL 试管,加入 10 mL 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.2) 缓冲液,25℃ 保温 25 min;立即加入预热的 50 μL 20 mmol/L 邻苯三酚,迅速摇匀,倒入 1 cm 石英比色杯中,放在 1 号样品池,测定邻苯三酚的自氧化速率.要求邻苯三酚的自氧化速率控制在 0.07 A/min 左右;酶活性的测量:加入邻苯三酚前先加入 20 μL 的酶提取液,并用蛋白矫正,酶活性以 U/mg 蛋白表示.

GST 活性测定采用文献[15]的方法.测定管中加入 2.8 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.5)、0.5 mL 20 mmol/L 还原型谷胱甘肽(GSH)水溶液及 50 μL 酶样,混匀.25℃ 预热 5 min 后,加入 30 mmol/L 1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)的乙醇溶液 100 μL ,25℃ 反应 3 min 后,加入 33% 三氯乙酸(TCA) 0.3 mL 终止反应.3 000 r/min 转速下离心 5 min,取上清液于 340 nm 处比色,读取吸光度值.参照管先加入 33% 三氯乙酸(TCA),其他操作同上.

1.4 数据处理

试验结果采用 SPSS 统计软件进行分析,用平均数 $\pm$ 标准偏差表示.用“ t ”检验法对组间数据进行差异显著性分析, $p < 0.05$ 表明差异显著, $p < 0.01$ 表明差异极显著, $p > 0.1$ 表明差异不显著.

2 结果与分析

2.1 颤蚓体内的抗氧化酶系统对不同浓度 TBBPA 的响应

染毒 8 d 后,颤蚓体内的抗氧化酶 CAT、SOD 的活性变化如图 1 所示.从中可以看出,随着 TBBPA 暴露浓度的增加,SOD 活性的变化趋势明显分为升高、降低、再升高 3 阶段,SOD 的活性先升高,在 0.05 mg/L 时 SOD 的活性被极显著诱导($p < 0.01$),为对照组的 7.8 倍,由此可见此时颤蚓体内产生了大量的活性氧自由基,SOD 作为这些氧化性物质的清道夫,活性被诱导.接着 SOD 的活性受到显著的抑制,这可能是由于抗氧化防御系统的其他成分介入了,对部分活性氧进行了清除,也可能是由于此时污染物的浓度已经超过了颤蚓的耐性阈值,细胞受到严重伤害,导致其应激能力的下降^[16].随后其活性又有一个小幅度的回升,各浓度组 SOD 的活性均显著高于对照组,由对照组的 1.5 倍增加到对照组的 7.8 倍.

CAT 的活性变化趋势与 SOD 略有不同,可明显

划分为升高、降低、再升高、再降低 4 阶段.当 TBBPA 的浓度为 0.05 mg/L 时,CAT 的活性达到第 1 个峰值,由前述已知在该处理浓度下颤蚓体内产生了大量的活性氧自由基,而 SOD 又会催化超氧自由基(O_2^-)发生歧化反应生成 H_2O_2 ,所以此时 H_2O_2 的量也是比较大的,CAT 为清除这些 H_2O_2 而被诱导,这已经得到了很多实验的证实^[17].而后 CAT 的活性受到抑制,抑制率为 16.5%,非常有可能是其他成分如:POD 也开始参与清除 H_2O_2 引起的^[16].CAT 的活性在 0.5 mg/L 时才达到最大诱导,这充分说明了其活性比 SOD 活性灵敏度低,紧接着其活性随着 TBBPA 浓度的增加开始回升.除 TBBPA 暴露浓度为 0.005 mg/L 和 0.25 mg/L 时,CAT 的活性小于对照组外,其余浓度组的 CAT 活性均高于对照组,由对照组的 1.1 倍增加到 1.9 倍;0.005 mg/L 及 1 mg/L 浓度组,CAT 的活性与对照组相比均无显著性差异($p > 0.1$),TBBPA 暴露并未引起 CAT 活性发生太大变化.

值得注意的是,0.25 mg/L TBBPA 浓度这一转折点,在此之前 CAT 和 SOD 的活性变化趋势是一致的,但是之后二者的活性变化趋势就相反了.TBBPA 的胁迫使颤蚓体内产生了活性氧自由基,CAT 和 SOD 的活性被诱导是由于他们要清除这些干扰物,这已经得到大量实验的证实^[18,19].转折点前后 CAT 和 SOD 的活性变化趋势相反,可能是由于二者的工作机制有差异,具体原因还应进行进一步研究.

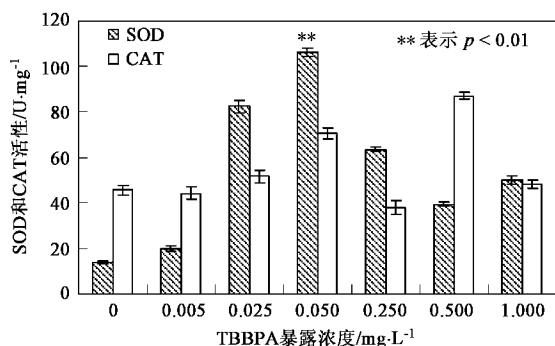


图 1 不同浓度的 TBBPA 暴露对颤蚓体内 CAT 和 SOD 活性的影响

Fig. 1 Changes in the activity of SOD and CAT with different concentrations of TBBPA during 8 d exposure

谷胱甘肽硫转移酶(GST)是一种重要的第 2 阶段解毒酶,可催化污染物与 GSH 结合,生成极性的小分子物质,从而减轻其毒性.由图 2 可以看出,颤蚓染毒 8 d 后,首先是其体内 GST 的活性升高,到 TBBPA 的浓度为 0.25 mg/L 时,GST 的活性被极显著

诱导($p < 0.01$),接着 GST 的活性受到显著抑制,不过 TBBPA 的浓度为 1 mg/L 时,GST 的活性仍显著高于对照组($p < 0.05$),并且各处理组 GST 的活性均显著高于对照组($p < 0.05$).这说明颤蚓体内 GST 的活性被诱导的还是比较显著的,它在减轻 TBBPA 对生物体毒性的过程中起了重要作用.

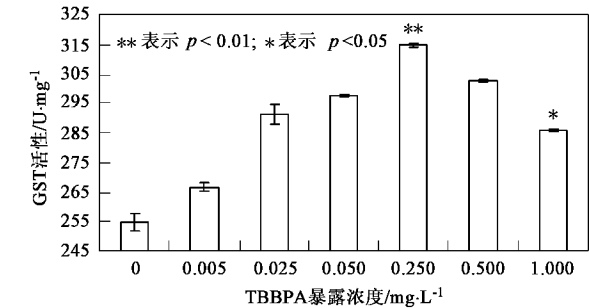


图 2 不同浓度的 TBBPA 暴露对颤蚓体内 GST 活性的影响
Fig.2 Changes in the activity of GST with different concentrations of TBBPA during 8 d exposure

2.2 颤蚓体内的抗氧化酶系统随时间的变化

在 TBBPA 暴露的第 1 d,颤蚓体内 SOD 的活性即表现为诱导.随着暴露时间的延长,SOD 的活性迅速增大,第 3 d 时达到最大诱导($p < 0.01$).之后活性随之降低,在 7 d 时做一缓慢回升后继续下降,形成了一个变形的“M”形曲线.CAT 的活性也是在染毒的第 1 d 开始出现诱导,第 5 d 达到最大($p < 0.01$),之后其活性迅速降低至对照组水平($p > 0.1$),最后又开始回升,CAT 活性的这一变化趋势形成了一个不规则的“N”型曲线(图 3).TBBPA 的氧化胁迫会使颤蚓体内产生大量的活性氧自由基,抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性随之被诱导,由于 TBBPA 在体内的代谢或是抗氧化防御系统其他酶类的启动,使活性氧自由基浓度降低,致使 SOD 和 CAT 的活性降低.而 CAT 的活性又开始回升,可能是由于颤蚓体内还有未被清除的 H_2O_2 .同时可以看出,CAT 的活性在一个较大的范围内变动,最高点与最低点之间存在极显著差异($p < 0.01$),而 SOD 的活性变动范围相对较小,最高点与最低点之间的差异显著($p < 0.05$).

3 讨论

到目前为止,尽管尚鲜见 TBBPA 对颤蚓毒性效应的报道,但是已有不少实验室研究了 TBBPA 对其他水生生物的毒性效应.刘红玲等^[20]对大型蚤和斑马鱼进行了毒性效应研究,结果显示:TBBPA 对大

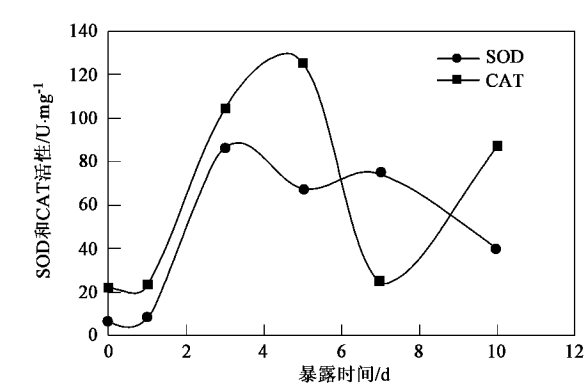


图 3 颤蚓体内的 CAT 和 SOD 活性随时间的变化
Fig.3 Changes in the activity of SOD and CAT with time

型蚤的 48 h EC_{50} 为 0.69 mg/L,对斑马鱼的 96 h LC_{50} 为 1.78 mg/L,而对斑马鱼的 TBBPA 72 h 孵化障碍是其最敏感指标, EC_{50} 为 0.14 mg/L.根据化学物质对鱼类和蚤类的评价标准,TBBPA 属高毒物质.

抗氧化防御系统作为活性氧的去除系统,在参与活性氧的清除以及机体的保护性防御反应中发挥巨大作用,主要包括酶系统(SOD、CAT、POD 等)与一些小分子抗氧化物.生物体的抗氧化防御系统对污染物胁迫相当敏感,特别是 SOD 对多种污染物的反应均很敏感.谷胱甘肽硫转移酶 GST 作为第 2 阶段解毒酶,可催化污染物与 GSH 结合,生成极性的小分子物质,从而减轻污染物的毒性,这种酶也经常作为生物标志物指示环境污染^[21].Oruc 等^[22]在研究 2, 4-二氯苯氧基乙酸(2, 4-D)与保棉磷(azinphosmethyl)单一与复合污染时,就发现 SOD 与 GST 的活性被显著诱导,可作为污染监测的生物标志物,这与本实验得到的结果是基本一致的.在本实验中,颤蚓染毒 8 d 后,SOD 的活性在 TBBPA 暴露浓度为 0.05 mg/L 时即被极显著地诱导($p < 0.01$),为对照组的 7.8 倍,并且各浓度组 SOD 的活性均显著高于对照组,由对照组的 1.5 倍增加到对照组的 7.8 倍.GST 的活性在 0.25 mg/L 时达到最大诱导($p < 0.01$),为对照组的 1.2 倍,各浓度组 GST 的活性也均显著被诱导.而 CAT 的活性在 0.5 mg/L 时才达到最大诱导,除了 2 个浓度组的 CAT 活性受抑制外(最大抑制率为 16.5%),其余浓度组活性高于对照组,由对照组的 1.1 倍增加到 1.9 倍.由以上比较可以看出,SOD 与 GST 的活性对 TBBPA 暴露的反应较为灵敏,可作为监测 TBBPA 污染的生物标志物,而 SOD 的活性在 0.05 mg/L 时即达到最大诱导,相对来说更为敏感.

超氧化物歧化酶 SOD 是最先与活性氧自由基作用的酶,它可将超氧阴离子(O_2^-)分解为 H_2O_2 和 O_2 ,过氧化氢酶 CAT 又可继续分解 H_2O_2 ,从而降低体内 H_2O_2 的浓度.在本实验中,TBBPA 暴露导致颤蚓体内活性氧的产生,由于要清除这些活性氧 SOD 的活性被诱导,在本实验所观察的 10 d 这一时间段内,SOD 的活性第 3 d 时就达到了最大诱导.当 SOD 将 O_2^- 分解为 H_2O_2 后,CAT 才因继续分解 H_2O_2 而被诱导,所以 CAT 的活性第 5 d 时才被最大诱导.并且,SOD 活性的变动范围比 CAT 要小的多,这充分说明 SOD 的活性受时间的影响不大,是比较稳定的.CAT 与 SOD 的活性均在 3~5 d 这一时间段内达到最大诱导,说明 TBBPA 在这一时间段内在颤蚓体内达到平衡,从而胁迫颤蚓体内产生了大量的活性氧物质,据 Nye 等^[23]的研究表明 TBBPA 在美国浅蓝色大太阳鱼(bluegill sunfish)体内达到平衡大概需要 3 d 时间,这与本研究基本一致.

还有很多实验室得到与本实验一致的结果.Zhang 等^[24]在研究 2,4-DCP 的慢性暴露对红鲫鱼肝脏抗氧化防御系统的影响时,发现 SOD、GST 等对该种污染物的反应很敏感.但是,也有很多实验室得到的结果与本实验不同,甚至相反,如 Li 等^[25]在比较氯苯甲酸植物毒性的传统指标与生化指标时,就发现在实验中 SOD 的活性并不敏感.还有一些实验室发现,在污染物的胁迫下 GST 的活性并未发生显著变化,甚至降低了^[11,26],如罗义等^[27]在研究 TBBPA 对鲫鱼的生态毒性时,发现 SOD 的活性在其所设置的所有 TBBPA 浓度范围内都被抑制,这可能是因为与本实验所选实验生物物种不同,也可能是因为与本实验所采用的暴露浓度存在一定差异,具体原因还有待深入研究.因此,SOD 和 GST 能否作为指示环境污染的生物标志物,以及 TBBPA 对颤蚓的毒性作用机制等问题还有待进一步研究.

4 结论

(1) 不同浓度的 TBBPA 暴露 8 d 后,颤蚓体内 SOD 活性的变化趋势明显分为升高、降低、再升高 3 阶段,在 0.05 mg/L 时 SOD 的活性被最大诱导($p < 0.01$),为对照组的 7.8 倍,各浓度组 SOD 的活性均显著高于对照组.而 CAT 的活性变化则呈升高、降低、再升高、再降低 4 阶段,0.5 mg/L 时其活性达到最大值($p < 0.01$),除 0.005 mg/L 和 0.25 mg/L 浓度组 CAT 活性受抑制外,其余浓度组 CAT 的活性均高于对照组.

(2) 颤蚓染毒 8 d 后,其体内 GST 的活性先缓慢上升后下降,染毒浓度为 0.25 mg/L 时,GST 的活性达到最大诱导($p < 0.01$),各浓度组 GST 的活性均显著高于对照组.

(3) 在 10 d 的染毒时间内,颤蚓体内 SOD 的活性变化趋势形成了一个变形的“M”形曲线,在第 3 d 时其活性达到最大诱导,而 CAT 活性的变化则表现为一个不规则的“N”形曲线,在第 5 d 时其活性达到最大诱导,并且 SOD 的活性比 CAT 的活性随时间的变化幅度小,相对来说更稳定.

(4) 通过对上述生理指标的对比发现,SOD 与 GST 的活性变化似乎更能反映出 TBBPA 对颤蚓的污染效应及其毒性作用,而 SOD 的活性变化似乎更为灵敏,但是二者能否作为指示 TBBPA 环境污染的生物标志物尚需进一步研究.

参考文献:

- [1] Watanabe I, Kashimoto T, Tatsukawa R. The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan [J]. *Chemosphere*, 1983, **12**: 1533-1539.
- [2] Watanabe I, Kashimoto T, Tatsukawa R. Identification of the flame retardant tetrabromobisphenol A in the river sediment and the mussel collected in Osaka [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1983, **31**: 48-52.
- [3] Zheng G J, Martin M, Richardson B J, et al. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Pearl River Delta sediments [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, **49**(5-6): 520-524.
- [4] Xie Z Y, Ebinghaus R, Lohmann R, et al. Trace determination of the flame retardant tetrabromobisphenol A in the atmosphere by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **584**(2): 333-342.
- [5] Bougenec V. Oligochaetes (Tubificidae and Enchytraeidae) as food in fish rearing: a review and preliminary tests [J]. *Aquaculture*, 1992, **102**: 201-217.
- [6] 刘思凤. 松花江流域水污染防治项目全面启动[J]. *中国水利*, 2006, **22**: 71-71.
- [7] Redeker E S, Blust R. Accumulation and Toxicity of Cadmium in the Aquatic Oligochaete *Tubifex tubifex*: A Kinetic Modeling Approach [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, **38**: 537-543.
- [8] 李仁熙. 正颤蚓的生长发育及繁殖生物学研究[J]. *水生生物学报*, 2001, **25**(1): 14-20.
- [9] Verslycke A T A, Vethaak A D, Arijsa K, et al. Flame retardants, surfactants and organotins in sediment and mysid shrimp of the Scheldt estuary (The Netherlands) [J]. *Environmental Pollution*, 2005, **136**: 19-31.
- [10] Morris S, Allchin C R, Zegers B N, et al. Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in North Sea estuaries and aquatic food webs [J]. *Environ Sci Technol*, 2004, **38**(21): 5497-5504.
- [11] Ron V D O, Jonny B, Nico P E V. Fish bioaccumulation and

- biomarkers in environmental risk assessment: A review [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, **13**: 57-149.
- [12] 刘慧, 王晓蓉. 铜及其 EDTA 配合物对彭泽鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响[J]. 环境化学, 2004, **23**(3): 263-267.
- [13] 徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度法测定[J]. 环境化学, 1997, **16**(1): 73-76.
- [14] 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 等. 一种 SOD 的测定方法——邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, **4**: 71-73.
- [15] Habig W H, Pabst M J, Jakoby W B. Glutathione s-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation [J]. Journal of Biological Chemistry, 1974, **249**: 7130-7139.
- [16] Hai D Q, Varga S I, Matkovics B. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1997, **117C**: 83-88.
- [17] Cheung C C C, Siu W H L, Richardson B J, et al. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis* [J]. Environmental Pollution, 2004, **128**: 393-403.
- [18] Shi H H, Sui Y X, Wang X R, et al. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2005, **140**: 115-121.
- [19] 孙福红, 周启星, 张倩如. 石油烃、 Cu^{2+} 对沙蚕的毒性效应及其抗氧化酶系统的影响[J]. 环境科学, 2006, **27**(7): 1415-1419.
- [20] 刘红玲, 刘晓祎, 王晓祎, 等. 双酚 A 和四溴双酚 A 对大型蚤和斑马鱼的毒性[J]. 环境科学, 2007, **28**(8): 1784-1787.
- [21] Contreras-Vergara C A, Valenzuela-Soto E, Garcia-Orozco K D, et al. A mu-class glutathione S-transferase from gills of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*: Purification and characterization [J]. Biochemical and Molecular Toxicology, 2007, **21**(2): 62-67.
- [22] Oruc E O, Sevgiler Y, Uner N. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl [J]. Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology, 2004, **137**: 43-51.
- [23] Nye D E. The bioaccumulation of tetrabromobisphenol A in the bluegill sunfish [R]. Santa Clara: Stoner Laboratories, 1978.
- [24] Zhang J F, Shen H, Wang X R, et al. Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus* [J]. Chemosphere, 2004, **55**: 167-174.
- [25] Li P J, Yin P J, Zhou Q X, et al. A comparative study of classical and biochemical endpoints for phytotoxicity testing of chlorobenzoic acids [J]. Environmental Sciences-China, 2005, **17**(3): 526-528.
- [26] Van Schancke A, Boon J P, Aardoom Y, et al. Effect of a dioxin-like PCB (CB 126) on the biotransformation and genotoxicity of benzo[a]pyrene in the marine flatfish dab (*Limanda limanda*) [J]. Aquatic Toxicology, 2002, **50**: 403-415.
- [27] 罗义, 王晓蓉. 氯酚类和四溴双酚-A 诱导鲫鱼活性氧产生及分子致毒机制的研究[D]. 南京: 南京大学, 2006. 144-154.