

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01125

邻苯二甲酸二丁酯对红鳍笛鲷幼鱼的胁迫效应

秦洁芳^{1,2}, 陈海刚^{1,2}, 蔡文贵¹, 杨涛^{1,2}, 贾晓平¹

1. 中国水产研究院 南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室, 农业部南海渔业资源环境重点野外科学观测实验站 广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306

摘要: 为了探讨邻苯二甲酸二丁酯(DBP) 对红鳍笛鲷(*Lutjanus erythropterus*) 幼鱼的胁迫效应, 于 DBP 暴露后 0、6、12、24、48 和 96 h 时检测红鳍笛鲷鳃、肝和脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和乙酰胆碱酯酶(AChE) 活性。结果表明, DBP 对红鳍笛鲷的 24 h、48 h 和 96 h LC₅₀ 分别为 7.10 mg/L、6.98 mg/L 和 6.66 mg/L, 安全质量浓度为 2.04 mg/L。随着浓度增加, 鳃组织中的 SOD 酶活性表现为先升高后下降, 具有明显的时间效应; 肝组织中的 SOD 酶活性在 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L 浓度组交替表现为升高和降低, 与对照组比较有显著性差异($P<0.05$); 而 0.125 mg/L 浓度组肝 SOD 没有明显变化。鳃组织中 MDA 含量在 DBP 暴露 6 h 后显著性增加($P<0.05$), 之后随时间延长而下降; DBP 暴露 6 h 和 12 h 后, 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L 浓度组肝组织中的 MDA 含量都显著升高($P<0.05$), 之后随时间延长 MDA 含量下降并趋于稳定。与对照组比较, DBP 暴露 48 h 后, 红鳍笛鲷脑组织中 AChE 酶活性显著升高($P<0.01$), 96 h 后又显著下降($P<0.01$)。SOD、MDA 和 AChE 酶活性变化与 DBP 暴露时间有关, 但与 DBP 浓度关系不明显。研究结果表明 DBP 对水生生物存在氧化胁迫和神经毒性。

关键词: 邻苯二甲酸二丁酯; LC₅₀; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: X171

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)05-1125-07

邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP) 作为一种重要的邻苯二甲酸酯类(PAEs)化合物, 是美国国家环保局优先控制的有毒污染物之一, 中国水中优先控制污染物名单中也有 DBP^[1]。DBP 广泛应用于塑料袋、食品袋、血液储存袋、静脉内导管、儿童玩具, 以及一些药物和杀虫剂中^[2]。在适当的条件下, DBP 会逐渐地从塑料中释放出来进入环境^[3]。中国许多水体中都检测到了 DBP 的存在, 部分地区污染严重, 质量浓度达到 0.157 ~ 1 390.000 μg/L^[4-6], 从污染物的地球生化循环过程考虑, DBP 对内陆湖泊、河流和近岸海域生态系统均存在潜在的生态风险。

DBP 的结构相对稳定, 但其毒理学作用较为复杂, 有关 DBP 生物毒性作用已有许多报道。PAEs 可在生物体内积累, 并对生物的正常生长、繁殖、发育产生不可逆转的不利影响^[7]。以大鼠为实验生物的研究表明, DBP 能减少睾丸激素、睾丸间质和多核卵母细胞的量, 对大鼠琥珀酸脱氢酶具有强烈的抑制作用^[8]。目前很多学者认为, DBP 对水生生物也有较大的毒性效应。黄国兰等^[9]研究发现, DBP 能影响大型蚤(*Daphnia magna*)的捕食行为, 低浓度的 DBP 能刺激其繁殖; Lanughlin 等^[10]研究认为, 自然水体中的 DBP 含量还未对草虾(*Palaemonetes pugio*)幼体存活率产生明显影响;

收稿日期: 2010-07-23; 修订日期: 2011-03-30.

基金项目: 科技部科研院所社会公益研究专项(2005DIB3J021); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2009YD01, 2010YD04); 广东省科技计划项目(2009B030600001); 中国水产科学研究院淡水生态与健康养殖重点开放实验室开放课题(2010FEA03006).

作者简介: 秦洁芳(1985-), 女, 硕士研究生, 从事渔业生态环境保护研究. E-mail: qjf.31128@yahoo.com.cn

通信作者: 贾晓平, 研究员. E-mail: jxp60@tom.com

Lee 等^[11]研究了 DBP 对非洲爪蟾(*Xenopus laevis*) 生殖功能的影响,发现低浓度 DBP 就能显著降低精子产量。

生物体内酶活等生化指标作为指示物反映污染物的胁迫程度具有重要意义,并在生态毒理学研究中得到了广泛应用^[12]。DBP 胁迫对水生生物组织酶活的影响目前国内研究相对较少,其中胡芹芹等^[13]以斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)为实验生物,研究了 DBP 对其生长、SOD 活力和 MDA 含量的影响;李文英等^[14]等研究了不同浓度 DBP 对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)肝、鳃中 SOD 酶和 ATPase 活性的影响。这些研究发现酶活变化与 DBP 胁迫浓度和胁迫时间存在一定的联系,但关于 DBP 对水生生物神经毒性的研究,目前国内还未见相关报道。

红鳍笛鲷是中国南海和东海海域的常见经济鱼类,本实验以其幼鱼的鳃、肝和脑 3 个重要组织为研究对象,分析了 DBP 短期暴露对其抗氧化酶活性、脂质过氧化水平和神经系统的影响,为进一步探讨邻苯二甲酸酯类化合物对水生生物的毒性效应机理积累基础数据,同时为 PAEs 环境风险评价和对渔业资源的风险评估提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

红鳍笛鲷幼鱼,体长(36 ± 5) mm,体质量(1.87 ± 0.94) g,购自海南陵水县新村港附近育苗场。实验容器为玻璃钢材质育苗桶,体积为 500 L。暂养 7 d 后,选取活泼健康幼鱼进行正式实验。

邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)为分析纯,购于广州化学试剂厂。酶活性测试试剂盒,购于南京建成生物工程研究所。实验过程使用海水取自育苗场附近海水,经沉淀池沉淀和砂滤后待用。实验期间海水 pH 值为 7.7 ± 0.1 ,盐

度为 36 ± 1 ,温度为(26.6 ± 0.8)。实验过程中每天定时投喂幼鱼饲料,并昼夜曝气。

1.2 急性毒性实验

急性毒性实验采用静水法生物测试,根据预实验结果按对数间距设 5 个质量浓度组(5.43、6.32、7.37、8.58、10.00 mg/L),丙酮助溶。同时设 1 个对照组(丙酮质量百分数 $<0.001\%$),每组 2 个平行,每个平行放入 10 尾鱼。实验开始后 6 h 连续观察,之后每 12 h 定期观察,记录幼鱼在 12、24、48、72 和 96 h 的活动和死亡情况,及时捞出死亡个体,计算 24 h、48 h 和 96 h LC_{50} 。

安全浓度(SC, mg/L)采用以下公式计算:

$$SC = 48 \text{ h } LC_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } LC_{50} / 48 \text{ h } LC_{50})^2$$

根据鱼类急性中毒实验的 96 h LC_{50} ,有毒物质对鱼类的毒性作用标准分为 5 级^[15](表 1)。

1.3 DBP 对红鳍笛鲷抗氧化防御系统酶和乙酰胆碱酯酶(AChE)的影响

根据急性毒性实验结果,设置 0.125、0.5、2 mg/L 3 个 DBP 质量浓度组和 1 个对照组(丙酮质量百分数 $<0.001\%$),每组放入 45 条红鳍笛鲷幼鱼,每 48 h 完全更换实验溶液 1 次。实验过程中昼夜曝气,每天定时投喂幼鱼饲料。实验开始后分别在 6、12、24、48 和 96 h 后从每组各取 5 尾鱼,洗净海水冲洗后置于冰盘内,快速解剖并分别取其肝、鳃和脑组织,用 0.86%预冷生理盐水淋洗,滤纸吸附后用预冷的 Tris-HCl 缓冲液(0.01 mol/L Tris, 0.25 mol/L 蔗糖, 0.1 mol/L EDTA, pH 7.5)匀浆,6 000 r/min 离心 10 min 后,立即取上清液进行蛋白质含量和酶活力测定。肝的匀浆比例为 1/4、鳃和脑的匀浆比例为 1/9[组织质量(g)/缓冲液体积(mL)]。

酶活性测定按照南京建成生物工程研究所蛋白质试剂盒、SOD 试剂盒、MDA 试剂盒和 AChE 试剂盒的使用说明操作。反应液吸光值用 UV-

表 1 鱼类急性毒性实验毒性分级标准^[15]
Tab. 1 Grading criteria for fish acute toxicity test^[15]

起始 $LC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ median-lethal concentration	<1	1~100	100~1 000	1 000~10 000	>10 000
毒性分级 toxicity grading	剧毒 virulent	高毒 high toxic	中等毒性 medium toxic	低毒 low toxic	微毒(无毒) microtoxic (nontoxic)

7504 单光束紫外可见分光光度计(江苏省常州市诺基仪器有限公司)测定。

1.4 数据处理

用软件 SPSS13.0 计算急性毒性 LC₅₀ 值, 并采用 one-way ANOVA 进行单因素方差分析, 统计结果用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$)表示, 当 $P<0.05$ 认为具有显著相关性。

2 结果与分析

2.1 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的急性毒性实验结果

从表 2 急性毒性实验数据可以看出, DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的 24、48 和 96 h 的 LC₅₀ 值分别为 7.10、6.98 和 6.66 mg/L。DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的安全浓度为 2.02 mg/L, 参考表 1 标准, DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的毒性为高毒。

2.2 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼鳃、肝组织 SOD 活性的影响

如图 1 所示, DBP 对红鳍笛鲷幼鱼鳃组织中 SOD 活性有显著的促进作用。暴露 6 h 后鳃组织中 SOD 酶活性相对于对照组显著性升高($P<0.05$); 48 h 后 0.125 mg/L 和 0.5 mg/L 浓度组的 SOD 酶活

性达到最高值, 分别为 20.12 U/mg(蛋白)和 20.97 U/mg (蛋白); 各浓度组 SOD 活性在 DBP 暴露 96 h 后趋于稳定, 与对照组比较无显著性差异($P>0.05$)。DBP 对红鳍笛鲷幼鱼肝中 SOD 酶活性的影响具有时段性差异, 且存在明显的剂量-效应关系。与对照组比较, 2 mg/L DBP 暴露 6 h 后肝中 SOD 酶活性显著升高($P<0.05$), 24 h 和 48 h 后被显著抑制($P<0.05$), 96 h 后 SOD 酶活性与对照组比较又显著升高($P<0.05$); 0.5 mg/L DBP 暴露 6 h 后 SOD 酶活性与对照差异不显著($P>0.05$), 之后表现出与高浓度组(2 mg/L)一致的变化规律, 但受到的诱导作用低于高浓度组; 0.125 mg/L DBP 对肝 SOD 酶活性胁迫与对照组相比没有显著差异($P>0.05$)。

2.3 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼鳃、肝组织 MDA 含量的影响

如图 2 所示, DBP 暴露对红鳍笛鲷幼鱼鳃和肝组织中 MDA 含量均表现为先促进后抑制的效应, 存在明显的时间-效应关系。DBP 暴露 6 h 后, 鳃组织中 MDA 含量极显著升高($P<0.01$), 之后随暴露时间的延长, MDA 含量显著降低($P<0.01$), 48 h

表 2 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对红鳍笛鲷的急性 LC₅₀ 值及 95% 置信区间
Tab.2 LC₅₀ value and 95% confidence interval of *Lutjanus erythropterus* for Di-n-butyl phthalate (DBP)

暴露时间/h exposure time	回归方程 regression equation	相关系数(R ²) correlation coefficient	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95% 置信度/(mg·L ⁻¹) 95% confidence interval
24	$y = -7.23 + 8.50x$	0.9704	7.10	6.22~7.98
48	$y = -7.23 + 8.57x$	0.9704	6.98	6.08~7.82
96	$y = -9.17 + 11.14x$	0.9844	6.66	5.92~7.30

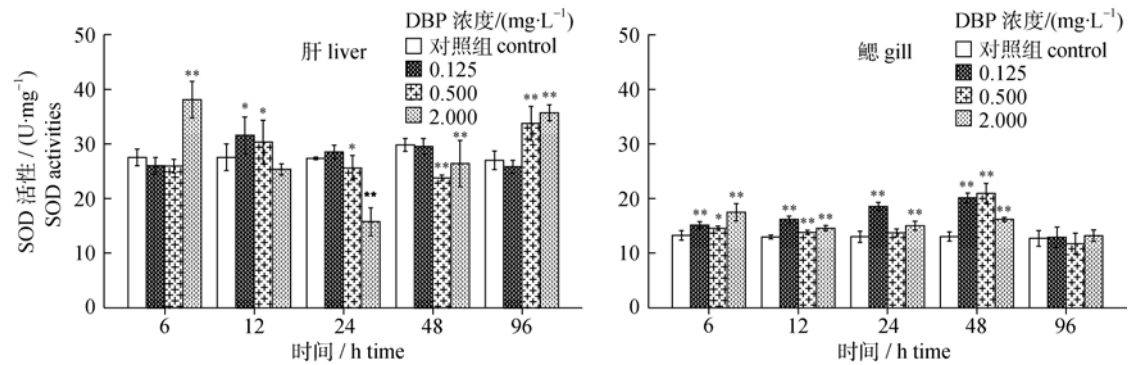


图 1 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对红鳍笛鲷鳃、肝组织 SOD 活性的影响

*表示与对照组相比差异显著($P<0.05$), **表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$).

Fig.1 Effect of di-n-butyl phthalate (DBP) on superoxide dismutase(SOD) activities in gill and liver of *Lutjanus erythropterus*
* donates significant difference compared with control($P<0.05$). ** donates extremely significant difference ($P<0.01$).

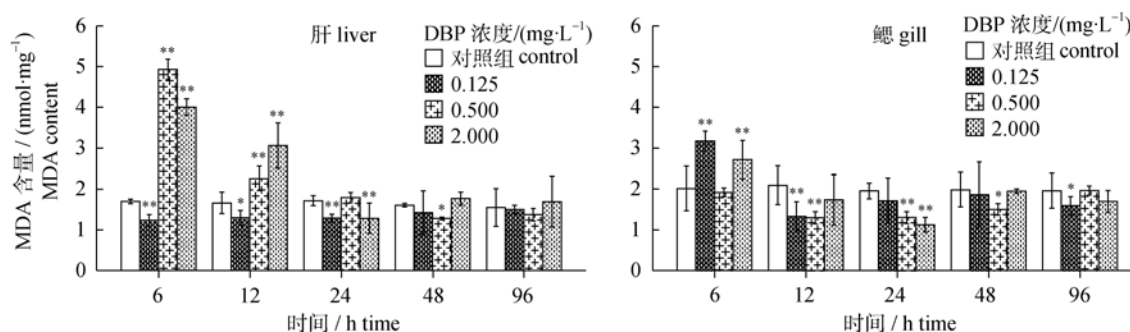


图2 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对红鳍笛鲷鳃丝、肝组织 MDA 含量的影响

*表示与对照组相比差异显著($P<0.05$), **表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$).

Fig.2 Effect of di-n-butyl phthalate (DBP) on concentration of malondialdehyde(MDA) in gill and liver of *Lutjanus erythropterus*

* donates significant difference compared with control($P<0.05$). ** donates extremely significant difference ($P<0.01$).

后各剂量组 MDA 含量趋于稳定。在 DBP 暴露的前 12 h, 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L 浓度组肝组织中的 MDA 含量相对于对照组极显著升高($P<0.01$), 24 h 后 2.0 mg/L 浓度组 MDA 含量极显著下降($P<0.01$), 并在 96 h 两组的 MDA 含量趋于稳定。0.125 mg/L 浓度组 MDA 含量在实验开始 6 h 后即明显低于对照组($P<0.01$), 随染毒时间延长, 其 MDA 含量相对于对照组无明显变化($P>0.05$)。

2.4 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼脑组织 AChE 活性的影响

如图 3 所示, DBP 对红鳍笛鲷幼鱼脑组织中的 AChE 活性影响明显。与对照组比较, 暴露

48 h 后各浓度组 AChE 活性显著升高($P<0.01$), 增加幅度分别为 32.07%、62.07%和 61.60%; DBP 暴露 96 h 后各浓度组 AChE 活性均受到明显抑制, 相对于对照组差异极显著($P<0.01$), 抑制率分别为 28.87%、20.12%和 21.14%。

3 讨论

3.1 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的毒性

本研究发现, DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的 96 h LC_{50} 为 6.66 mg/L, 为高毒性, 与其对虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 的 96 h LC_{50} (6.47 mg/L) 相近, 但高于对斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 的 96 h LC_{50} (2.91 mg/L)^[7], 低于斑马鱼的 96 h LC_{50} (8.51 mg/L)^[14]。一些研究证实, DBP 对水生生物的慢性毒性较为明显, 影响生物进食, 导致生长缓慢, 仔鱼身长明显变短^[9-11]。林玲等^[16]研究发现, DBP 对成年斑马鱼染毒 1 个月后, 0.062 mg/L 的剂量即可导致斑马鱼胚胎发育迟缓。因此即使在安全浓度下, DBP 对水生生物的慢性毒性仍是不可忽视的。

3.2 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼抗氧化防御系统的影响

生物体内 SOD 和 MDA 等抗氧化防御系统酶在有毒物质的胁迫下可表现出明显的诱导效应, 并具有时间-剂量效应^[17-18]。本研究发现, 鳃 SOD 活性随时间变化表现为先诱导后抑制, 其时间-效应关系也随胁迫浓度升高呈现不同的表现形式; 肝 SOD 活性随时间变化表现为反复的诱导-抑制, DBP 胁迫的剂量-效应关系并不明显。2.0 mg/L

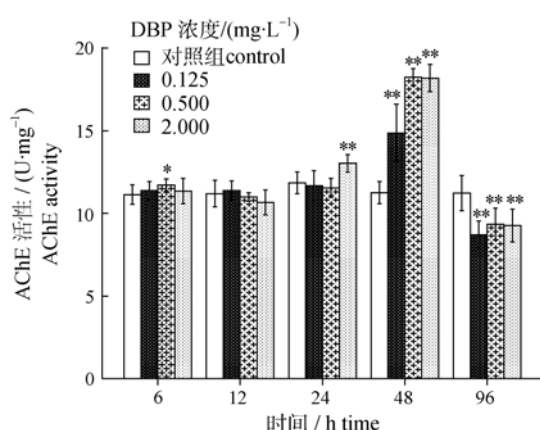


图3 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对红鳍笛鲷脑组织 AChE 的影响

*表示与对照组相比差异显著($P<0.05$), **表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$).

Fig.3 Effects of di-n-butyl phthalate (DBP) on acetylcholinesterase(AChE) activity in brain of *Lutjanus erythropterus*

* donates significant difference compared with control($P<0.05$).

** donates extremely significant difference ($P<0.01$).

浓度组 MDA 含量在鳃、肝两组织中的时间-效应关系比较明显, 但剂量-效应不明显, 可能与浓度设置超出“毒物兴奋效应”范围有关。吴众望等^[19]研究重金属对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) SOD 活力的影响时发现, 在重金属胁迫下凡纳滨对虾各组织中的 SOD 活性呈现明显的剂量-时间效应。

本研究发现, 红鳍笛鲷幼鱼鳃和肝组织中的 SOD 活性和敏感性明显不同。鳃中的 SOD 活性随时间表现为先诱导后抑制, 具有明显的时间-效应, 而肝变化为“诱导-抑制”反复; 鳃中的 SOD 活性是肝的 2 倍, 主要因为它们的生理功能不同。鳃是毒物的直接作用器官, 污染物胁迫直接诱导其酶活性; 肝是机体主要的解毒器官, 可对污染物进行代谢转化, 因此肝中的 SOD 活性高且敏感性高。陈海刚等^[20]研究氯化三丁基锡(TBTCl)对黑鲷(*Sparus macrocephalus*)鳃和肝的 SOD 活性影响时发现, TBTCl 对鳃 SOD 活性有抑制作用, 而对肝 SOD 活性表现出促进作用。杨丽华等^[21]对鲫(*Carassius auratus*)的研究表明, 重金属镉胁迫条件下鲫肝 SOD 活性则比鳃的高 10 倍左右, 肝组织 SOD 也较鳃中的先被激活。另外, 本研究中 DBP 胁迫初期两组织都受到强烈的氧化损伤, 6 h 和 12 h 后, 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L 浓度组肝中 SOD 酶活性虽然都被明显诱导, 但此时 MDA 含量仍显著升高, 说明高剂量的 DBP 短时间暴露虽激活了红鳍笛鲷幼鱼肝 SOD 酶活性, 但过多的活性氧自由基仍引起了严重的脂质过氧化。而 0.125 mg/L 浓度组中 SOD 活性与对照组相比无显著差异($P>0.05$), 说明低剂量的 DBP 短时间内对红鳍笛鲷幼鱼肝损伤不明显。96 h 后各剂量组 SOD 活性和 MDA 含量都基本恢复到对照组水平, 表明 DBP 持续暴露中, 机体内的防御性酶作用可能平衡了 DBP 引起的氧化胁迫。红鳍笛鲷幼鱼鳃和肝中 SOD 活性与 MDA 的含量变化规律存在明显差异, 说明在 DBP 胁迫下红鳍笛鲷抗氧化酶体系内各种酶对污染物的敏感性差异较大。因此, 生态毒理学研究中, 评价污染物对水生生物的影响时,

需对多种酶活性变化进行综合考虑。

3.3 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼的神经毒性效应

乙酰胆碱脂酶(AChE)是生物神经传导中的关键性酶, 目前已有许多报道以鱼 AChE 作为指示酶或者敏感材料, 或制成相应的酶传感器监测有机磷农药污染^[22]。一般认为, 鱼体 20%以上的 AChE 被抑制可认为胁迫作用存在; 50%AChE 被抑制可认为危害鱼体生存, 70%~80%AChE 被抑制则可导致死亡。本实验中, 96 h 后 DBP 各剂量组 AChE 的抑制率均在 20%以上, 说明安全浓度下 DBP 对红鳍笛鲷存在毒性较低的胁迫作用。Torre 等^[23]也发现鱼在污染水体中其脑组织 AChE 被明显抑制, AChE 对胁迫的反应灵敏, 可以利用 AChE 长期跟踪监测水体污染状况。相对于急性毒性试验中的 96 h LC_{50} , 本研究中红鳍笛鲷脑组织 AChE 的抑制率也可考虑作为低浓度 DBP 胁迫条件下的生物监测指标。有研究表明, 大鼠 AChE 含量的提高与脑组织中酶蛋白的加速合成有关^[24], 李少男等^[25]也认为三唑磷对鱼脑组织中 AChE 的诱导, 可以认为是机体为弥补酶受到抑制后的生理功能下降而采取的一种应激反应。本研究中发现, DBP 胁迫 48 h 后各浓度组红鳍笛鲷脑组织 AChE 活性显著升高($P<0.01$), 与对照组相比, 各浓度组升高幅度分别高达 32.07%, 62.07%和 61.60%, 高于三唑磷对鱼脑组织中 AChE 的最大诱导幅度(50%)。由于存在诱导效应, DBP 胁迫早期对 AChE 的抑制在某种程度上被酶含量的提高所替代, 诱导效应可能降低了 AChE 作为 DBP 胁迫效应检测指标的灵敏度, 其影响机理有待进一步深入研究。综上考虑, 可以认为 DBP 对红鳍笛鲷幼鱼存在明显的神经毒性效应。

致谢: 实验得到南海水产研究所海南热带水产研究开发中心李有宁副研究员和陈明强助理研究员的大力支持, 在此表示由衷感谢!

参考文献:

- [1] 张蕴晖, 陈秉衡. 邻苯二甲酸二丁酯研究进展[J]. 卫生研究, 2003, 32(4): 407-409.

- [2] 刘慧杰, 舒为群. 邻苯二甲酸二丁酯生殖发育毒性研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(2): 122-124.
- [3] 孙俊红, 梁妹. 一次性使用塑料制品中邻苯二甲酸酯的含量[J]. 环境与健康杂志, 2002, 19(4): 314-316.
- [4] 沙玉娟, 夏星辉, 肖翔群. 黄河中下游水体中邻苯二甲酸酯的分布特征[J]. 中国环境科学, 2006, 26(1): 120-124.
- [5] 王凡, 沙玉娟, 夏星辉, 等. 长江武汉段水体邻苯二甲酸酯分布特征研究[J]. 环境科学, 2008, 29(5): 1163-1169.
- [6] 胡晓宇, 张克荣, 孙俊红, 等. 中国环境中邻苯二甲酸酯类化合物污染的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 9-14.
- [7] Mayer Jr F L, Sanders H O. Toxicology of phthalic acid esters in aquatic organisms[J]. Environ Health Perspect, 1973 (6): 153-157.
- [8] Tanaka A, Matsumoto A, Yamaha T. Biochemical studies on phthalic esters. III. Metabolism of dibutyl phthalate (DBP) in animals [J]. Toxicology, 1978(9): 109-123.
- [9] 黄国兰, 孙红文, 高娟, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对大型蚤 (*Daphnia magna*) 的毒性作用研究[J]. 环境化学, 1998, 17(5): 428-433.
- [10] Laughlin R B, Neff J R, Neff J M, et al. The effects of three phthalate esters on the larval development of the grass shrimp *palaemonetes pugio* (Holthuis) [J]. Water Air Soil Poll, 1978 (9): 323-336.
- [11] Lee L S K, Veeramachaneni D N R. Subchronic exposure to low concentrations of di-n-butyl phthalate disrupts spermatogenesis in *Xenopus laevis* frogs[J]. Toxicol Sci, 2005, 84: 394-407.
- [12] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J]. Aquat Toxicol, 1991, 19(2): 137-161.
- [13] 胡芹芹, 熊丽, 田裴秀子, 等. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对斜生栅藻的致毒效应研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1): 87-92.
- [14] 李文英, 熊丽, 刘荣, 等. 邻苯二甲酸酯二丁酯(DBP)对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)生理生化特性的影响[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 117-122.
- [15] 孔志明. 环境毒理学[M]. 南京: 南京大学出版社, 2008: 239-242.
- [16] 林玲, 王玉柱, 丁训诚, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对斑马鱼胚胎发育毒性的研究[J]. 卫生研究, 2008, 37(3): 278-282.
- [17] 谭树华, 何典翼, 严芳, 等. 亚硝酸钠对鲫鱼肝丙二醛含量和总抗氧化能力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 21-24.
- [18] 罗义, 施华宏, 王晓蓉, 等. 2,4-二氯苯酚诱导鲫鱼肝自由基的产生和脂质过氧化[J]. 环境科学, 2005, 26(3): 29-32.
- [19] 吴众望, 潘鲁青, 张红霞. 重金属离子对凡纳滨对虾肝胰脏、鳃丝和血液 SOD 活力的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(10): 1962-1966.
- [20] 陈海刚, 马胜伟, 林钦, 等. 氯化三丁基锡对黑鲟鳃和肝组织 SOD、MDA 和 GPx 的影响[J]. 南方水产, 2009, 5(2): 23-27.
- [21] 杨丽华, 方展强, 郑文彪, 等. 镉对鲫鱼鳃和肝超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 安全与环境学报, 2003, 3(3): 13-17.
- [22] Abdel-Halin K Y, Salama A K, El-Khateeb E N, et al. Organophosphorus pollutants (opp) in aquatic environment at Damietta Governovate. Rgypt: Implications for monitoring and biomarker response [J]. Chemosphere, 2006, 63(9): 1491-1498.
- [23] de la Torre F R, Ferreari L, Salibian A. Freshwater pollution biomarker: response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species[J]. Comp Biochem Physiol, 2002, 131C: 271-280.
- [24] Kaufer D, Friedman A, Seidman S, et al. Anticholinesterase induce multigenic transcriptional feedback response suppressing cholinergic neurotransmission [J]. Chem Biol Interact, 1999, 1192 (120): 349-360.
- [25] 李少南, 谢显传, 谭亚军, 等. 三唑磷对麦穗鱼脑组织中乙酰胆碱酯酶的诱导[J]. 农药学报, 2005, 7(1): 59-62.

Effects of di-n-butyl phthalate (DBP) on activity of enzymes in different tissues of crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*)

QIN Jiefang^{1,2}, CHEN Haigang¹, CAI Wengui¹, YANG Tao^{1,2}, JIA Xiaoping¹

1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science; Key Laboratory of Fishery Ecology Environment, Guangdong Province of China; Key Field Scientific Experimental Station of South China Fishery Resource and Environment, Ministry of Agriculture; Guangzhou 510300, China;

2. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Di-n-butyl phthalate (DBP), a member of the phthalate acid ester (PAE) family, is thought to have an endocrine disrupting effect on vertebrates and humans and has been identified as priority controlled hazardous substance in the United States and China. In order to evaluate the effect of DPB, we examined liver and gill levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA), and brain levels of acetylcholinesterase (AChE) in the crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*). Groups of fish were exposed to 0, 0.125, 0.5, or 2.0 mg/L DBP for 0, 6, 12, 24, 48, or 96 h. The 24, 48 and 96h LC₅₀ values were 7.13, 7.02, and 6.75 mg/L, respectively. The safe concentration (SC) of DBP was 2.04 mg·L⁻¹. Gill superoxide dismutase (SOD) activity increased significantly as the concentration of DBP increased. In contrast, there was no clear pattern of induction or inhibition for liver SOD activity, though levels in the groups exposed to 0.5 and 2.0 mg/L were significantly different from the control ($P < 0.05$). Gill MDA content was significantly higher after 6 h, but decreased thereafter. Similarly, liver MDA content increased then decreased, and was not different from the control after 96 h ($P > 0.05$). Brain levels of acetylcholinesterase (AChE) were 32.07%, 62.07%, and 61.60% higher in fish exposed to 0.125, 0.5 or 2.0 mg/L, respectively, after 48 h. However, AChE activity was lower in the treatment groups than in the control group after 96 h exposure (28.87%, 20.12%, and 21.14% lower, respectively). Our results suggest that the effects of DBP on enzyme activity is related to the time of exposure. It could be concluded that DBP causes oxidative stress and neurotoxicity in aquatic organisms. Thus, attention should be given to the potential ecological risk posed by this contaminant.

Key words: di-n-butyl phthalate (DBP); LC₅₀; superoxide dismutase; malondialdehyde; acetylcholinesterase

Corresponding author: JIA Xiaoping. E-mail: jxp60@tom.com