

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140504001

徐湘博,史雅娟,吕永龙,等. 四溴双酚 A 对赤子爱胜蚓的生长和基因表达的影响[J]. 生态毒理学报 2014, 9(6): 1053-1059

Xu X B, Shi Y J, Lu Y L, et al. Effects of tetrabromobisphenol A on growth and gene expression of earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1053-1059 (in Chinese)

## 四溴双酚 A 对赤子爱胜蚓的生长和基因表达的影响

徐湘博<sup>1,2</sup>, 史雅娟<sup>1,\*</sup>, 吕永龙<sup>1</sup>, 郑晓奇<sup>1,2</sup>

1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域国家重点实验室 北京 100085

2. 中国科学院大学 北京 100049

收稿日期: 2014-05-04 录用日期: 2014-06-10

**摘要:** 试验采用人工土壤法,通过 14 d 急性毒性试验,研究了不同剂量 TBBPA 对赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)生长、基因表达的影响。在 14 d 急性毒性试验中,随着暴露时间和浓度的增加,蚯蚓生长受到了显著抑制,未出现死亡现象。超氧化物歧化酶(SOD)的基因表达量在低浓度( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )时受到诱导上调;谷胱甘肽转移酶(GST)的基因表达量在  $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  染毒组受到明显诱导,是对照组的 8.73 倍;热休克蛋白(Hsp70)的基因表达量在 50、100 和  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  染毒组被诱导上调。基因表达量的变化显示,在 50、100、 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  浓度条件下,蚯蚓可以利用自身的抗氧化能力维持体内的动态平衡稳定,使得机体免受损伤。但是在超过  $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  浓度后,TBBPA 的毒性效应超过了机体的应对能力,使机体遭受损伤,外在特征主要表现为蚯蚓身体蜷缩、变细变硬。从生物标志物角度,基因表达量的变化对 TBBPA 毒性效应的指示作用较生长抑制率更为敏感。

**关键词:** 四溴双酚 A; 赤子爱胜蚓; 急性毒性; 生长抑制率; 基因表达

文章编号: 1673-5897(2014)6-1053-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Effects of Tetrabromobisphenol A on Growth and Gene Expression of Earthworms(*Eisenia fetida*)

Xu Xiangbo<sup>1,2</sup>, Shi Yajuan<sup>1,\*</sup>, Lu Yonglong<sup>1</sup>, Zheng Xiaoqi<sup>1,2</sup>

1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Beijing 100085, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 4 May 2014 accepted 10 June 2014

**Abstract:** In this study, the acute toxicity of TBBPA on the earthworm *Eisenia fetida* was assessed by growth inhibition and changes in gene transcript. The growth inhibition rates of all TBBPA dose groups were significantly higher than those of controls, but no death was found. Superoxide dismutase (SOD) gene expression was up-regulated at the concentration of  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Significant up-regulation of glutathione transferase (GST) gene expression was only found at the concentrations of  $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Earthworms exposed to TBBPA provoked a significant up-regulation of heat shock protein (Hsp70) gene expression levels at the concentrations of 50, 100,  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . With the changes of gene expression levels at the concentrations of 50, 100,  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , earthworms maintained the stability of dynamic balance, and protected the body from damage by using the antioxidant system. However, the toxic effects of TBBPA made the antioxidant system useless over the concentration of  $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , thus made earthworms thin.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 41271487); 国家国际科技合作专项(No. 2012DFA91150)

作者简介: 徐湘博(1988-),男,硕士研究生,研究方向为污染生态学; E-mail: xuxiangbo\_hi@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author) E-mail: yajuanshi@rcees.ac.cn

and stiff. Change in gene expression was more sensitive than growth inhibition rate for indicating the toxic effects of TBBPA.

**Keywords:** tetrabromobisphenol A (TBBPA); *Eisenia fetida*; acute toxicity; growth inhibition rate; gene expression

四溴双酚 A (tetrabromobisphenol A, TBBPA) 作为溴化阻燃剂, 阻燃性能良好, 现阶段在世界范围内, 特别是在经济高速发展的中国家里, 不仅会持续使用 TBBPA, 而且使用量还将保持较高的增长速度。从 1994-2001 年, 全球 TBBPA 年产量从 64 000 t 增长到 119 700 t<sup>[1]</sup>, 2003 年全球 TBBPA 年产量为 145 100 t<sup>[2]</sup>, 2007 年全球 TBBPA 年产量就已经超过 170 000 t<sup>[3]</sup>, 生产量增长迅速。TBBPA 会从产品中进入到环境中<sup>[4]</sup>, 造成环境污染, TBBPA 已经在水、空气、土壤、牛奶和鱼等环境介质中被检出<sup>[5-8]</sup>。人体通过食用被污染的食品、吸入被污染的空气及皮肤接触吸收 TBBPA。在中国深圳, 每天每千克人体对 TBBPA 的室内灰尘吸入量和摄入量分别为 17.62 pg 和 966.2 pg<sup>[9]</sup>。法国普通女性血清和母乳中 TBBPA 含量分别是 100 pg·kg<sup>-1</sup> 和 7 000 ng·kg<sup>-1</sup><sup>[10]</sup>。来自美国纽约的人体脂肪样品中 TBBPA 的含量分别为 (0.048 ± 0.102) ng·g<sup>-1</sup><sup>[11]</sup>。

研究表明 TBBPA 具有毒性效应, 包括肝脏毒性、神经毒性、细胞毒性、生殖发育毒性、氧化胁迫和内分泌干扰毒性等<sup>[6, 12-16]</sup>。TBBPA 对水蚤、海藻和小鼠的半数致死浓度分别是 0.96 mg·L<sup>-1</sup>、0.09 mg·L<sup>-1</sup> 和 5 g·kg<sup>-1</sup><sup>[17]</sup>。在 TBBPA 最大浓度为 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 对鲫鱼血清抗氧化系统的影响研究中, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性在高浓度暴露时被显著诱导, 鱼体受到不同程度的氧化胁迫会倾向于选择不同的应激补偿机制来消除胁迫<sup>[18]</sup>。另有研究发现 2 mg·L<sup>-1</sup> 的 TBBPA 对鲫鱼血清内谷胱甘肽转移酶 (GST) 活性有显著的诱导效应, 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的 TBBPA 对鲫鱼血清内 GST 活性则无显著影响<sup>[19]</sup>。TBBPA 对人体的先天免疫系统的自然杀伤细胞有毒性作用, 降低细胞毒素功能、溶解功能和结合能力<sup>[20]</sup>。TBBPA 有很强的免疫毒性, 能够抑制蛋白质 CD25 的表达<sup>[21]</sup>, 可能会造成有机体对细菌、病毒和肿瘤的免疫力下降。TBBPA 抑制三碘甲状腺氨酸和甲状腺运送蛋白, 促进大鼠脑垂体瘤细胞和小鼠下垂体细胞的繁殖, 刺激生长激素的分泌<sup>[22]</sup>。

蚯蚓是一种很好的土壤污染指示生物。经济合作与发展组织 (OECD) 等机构将赤子爱胜蚓作为标准毒理试验动物。已有的 TBBPA 对蚯蚓毒性效应

的研究显示, TBBPA 对蚯蚓具有低等毒性, 对抗氧化酶活性具有诱导效应<sup>[23-24]</sup>。本实验通过 TBBPA 对蚯蚓的急性毒性试验, 以蚯蚓的生长抑制率和基因表达水平 (SOD、CAT、GST 和 Hsp70) 两项指标的变化来揭示 TBBPA 的生态生理毒性, 并且为 TBBPA 土壤生态风险评价提供科学依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试动物

赤子爱胜蚓 (*Eisenia fetida*) 购自北京润丰蚯蚓养殖场。选用 2~3 月龄, 体重 0.35~0.45 g, 生殖带明显且无损伤的成熟个体。实验前用无菌水进行清洗。

#### 1.1.2 主要试剂

四溴双酚 A (TBBPA) (CAS No. 79-94-7, 纯度 98%) 购自梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司 (中国); 丙酮 (分析等级) 购自国药集团。

### 1.2 暴露方法

本实验人工土壤采用 OECD Guideline No. 207 标准<sup>[25]</sup>, 其成分比例是: 石英砂 70%, 高岭土 20%, 草炭 10%, 去离子水调节人工土壤湿度为 35%, pH 为 6.0 ± 0.5。

将一定量的 TBBPA 溶解在 20 mL 丙酮中, 然后将该溶液均匀拌入人工土壤中, 使各处理 TBBPA 浓度 (干重) 为: 0.50、100、200、400、800 mg·kg<sup>-1</sup>, 设置溶剂空白, 置于通风橱中使得丙酮完全挥发干净。

暴露试验前, 赤子爱胜蚓在人工土壤中驯养 24 h, 且用去离子水清洗干净后置于放有潮湿滤纸的培养皿中 (黑暗环境, (20 ± 1) °C, 24 h), 去除消化系统内容物。每个处理设置四个重复, 每个重复挑选 10 条符合条件的蚯蚓放入装有 750 g 人工土的 1000 mL 烧杯中, 放置于人工气候箱中 (控制条件: 温度 (20 ± 1) °C, 湿度 83% ± 3%, 光照 400~800 lx), 24 h 连续光照培养。急性暴露试验时长为 14 d, 分别在 0 d、4 d、7 d、10 d 和 14 d 称重, 并且在 14 d 取样进行基因表达水平的测定。在培养的过程中, 在 7 d 补充一次水分。

### 1.3 生长抑制率

急性毒性试验时长为 14 d, 分别在 0 d、4 d、7 d、10 d 和 14 d 称重, 采用  $I_n = (W_0 - W_t) \times 100\% / W_0$

公式计算生长抑制率<sup>[26]</sup>  $I_n$  是  $n \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理的蚯蚓生长抑制率,  $W_0$  是试验开始时蚯蚓的平均体重 (mg),  $W_t$  是第  $t$  天蚯蚓的平均体重 (mg)。

1.4 基因表达水平测定

从每个重复中随机挑选 3 条蚯蚓, 用去离子水清洗干净后置于放有潮湿滤纸的培养皿中, 在黑暗环境中控制温度 ( $20 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$  放置 24 h 以去除消化系统内容物。蚯蚓全 RNA 提取采用 Trizol 法, 用琼脂糖凝胶电泳 (2%) 检测提取的 RNA 的纯度和完整度。蚯蚓总 RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  值介于 1.8 ~ 2.0。总 RNA 经 RNase-Free Dnase (Fermentas 加拿大) 处理纯化后, 取 1  $\mu\text{g}$  总 RNA 采用逆转录酶合成 cDNA。

选用实时定量 PCR 试剂盒 (TaKaRa, 日本), 反应体系总体积 20  $\mu\text{L}$ , 成分如下: 2  $\mu\text{L}$  cDNA 模板, 上下游引物各 0.4  $\mu\text{L}$  ( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 10  $\mu\text{L}$  SYBR $\cdot$ Premix Ex TaqTM (2  $\times$ ), 0.4  $\mu\text{L}$  ROX Reference Dye (50  $\times$ ) (2 和 6.8  $\mu\text{L}$  ddH $_2$ O)。仪器选用 7300 Real-Time PCR system (ABI, 美国), PCR 反应程序如下: 95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s, 55 $^{\circ}\text{C}$  退火 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸采集荧光信号 45 s, 40 个循环; 溶解曲线反应程序依照软件自动设定。

内参基因  $\beta$ -actin、SOD、CAT 和 Hsp70 引物设计参照文献<sup>[27-28]</sup>。根据 GenBank 发表的蚯蚓 GST 序列设计扩增 GST 基因片段的引物, 引物序列如表 1 所示。

表 1 实时定量 PCR 引物序列信息  
Table 1 Sequence of primers used for RT-qPCR

| 基因<br>Gene     | 登录号<br>Accession number | 上游引物<br>Forward primer       | 下游引物<br>Reverse primer     |
|----------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------|
| $\beta$ -actin | GU177854                | 5'-TCCATCGTCCACAGAAAG-3'     | 5'-AAATGTCCTCCGCAAGCT-3'   |
| SOD            | GU177856                | 5'-TGCTCACTTCAACCCATT-3'     | 5'-TTGGCAACACCACCTTTCA-3'  |
| CAT            | GU177857                | 5'-CATTGCGGATGGAACATA-3      | 5'-CCAAGGACAACAACCTGCTC-3' |
| GST            | HQ693699                | 5'-ATGCCATTCTGCGCTACGTTGC-3' | 5'-TCCGGCGCCTCCTTGATTTC-3' |
| Hsp70          | GU177858                | 5'-CCAAGGACAACAACCTGCTC-3'   | 5'-CGGCCTTCTTACCATTTC-3'   |

通过标准曲线求得斜率, 根据方程式  $E = (10^{-1/\text{slope}}) - 1$  求得实时定量 PCR 的扩增效率  $E$  分别为:  $\beta$ -actin 0.997,  $R^2 = 0.999$ ; SOD 0.991,  $R^2 = 0.997$ ; CAT 0.988,  $R^2 = 0.997$ ; GST 0.994,  $R^2 = 0.999$ ; Hsp70 0.992,  $R^2 = 0.997$ 。基因表达水平采用以下方程式进行计算:

$$R = (E_{Tg})^{CPTg} / (E_{act})^{CPact}$$
 ,目的基因(  $T_g$  ) ,内参基因(  $act$  )<sup>[27-29-30]</sup>。

1.5 数据处理

在满足正态分布 (Shapiro-Wilk test) 和方差齐次 (Levene's test) 的前提下, 采用单因素方差分析 (ANOVA), 多重比较采用 LSD, 与对照比较时  $p < 0.05$  为具有显著性差异。相关性分析采用 Pearson 相关性分析。所有统计均采用 SPSS18.0 软件完成, 绘图采用 Origin8.6 完成。

2 结果 (Results)

2.1 TBBPA 对蚯蚓生长的影响

在赤子爱胜蚓暴露于 TBBPA 后的 4 d、7 d、10 d 和 14 d 的生长抑制率见图 1。数据显示对照空白 (CK) 和溶剂空白 (CKs) 之间无显著性差异, 说明经过挥发后的溶剂对赤子爱胜蚓并没有产生影响。随

着暴露时间的延长, 对照组的生长抑制率有上升的趋势, 可能是由于人工土壤中营养物质的消耗而造成营养不足, 导致体重下降。所有处理组蚯蚓均没有出现死亡现象。

在 TBBPA 的急性毒性试验中, 随着 TBBPA 浓度的提高, 染毒组赤子爱胜蚓的生长抑制率与对照组相比具有显著差异, 并且在 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和 800  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理组在 4 d 的时候, 赤子爱胜蚓的生长受抑制程度就很明显, 与对照组相比有显著性差异。其中在 800  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  染毒组 14 d 的生长抑制率达到最大值 29.8%。经过相关性分析, 生长抑制率与浓度之间存在显著的线性相关 ( $r = 0.734$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.844$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.894$ ,  $p < 0.01$ ;  $r = 0.926$ ,  $p < 0.01$ )。

2.2 TBBPA 对蚯蚓体内 SOD、CAT、GST 和 Hsp70 基因表达水平的影响

2.2.1 SOD 基因表达量的变化

TBBPA 对赤子爱胜蚓 SOD 基因表达量的影响如图 2 所示。可以看出, 蚯蚓暴露于 TBBPA 14 d 后, 对照空白组和溶剂空白组的基因表达量无显著性差异。SOD 基因表达在染毒组 50  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  显著上调 (1.77 倍,  $p < 0.01$ ), 虽然其余染毒组与对照空白组相比并没有显著性差异, 但是 SOD 基因表达水平一直高于对照组。

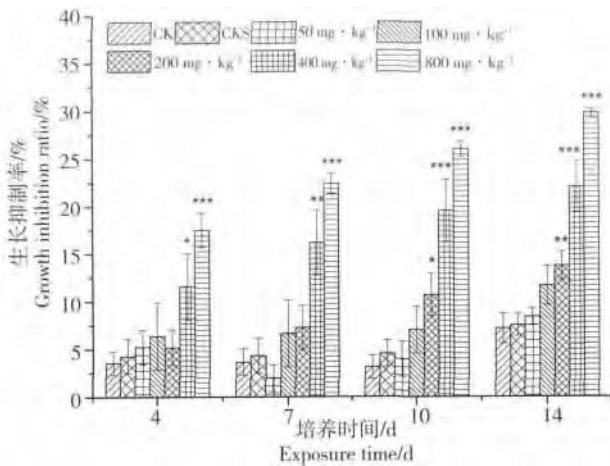


图1 TBBPA 暴露 14 d 后对蚯蚓生长抑制率的影响

Fig. 1 Changes in growth inhibition rates of earthworms *Eisenia fetida* with different TBBPA treatments after 14 days exposure

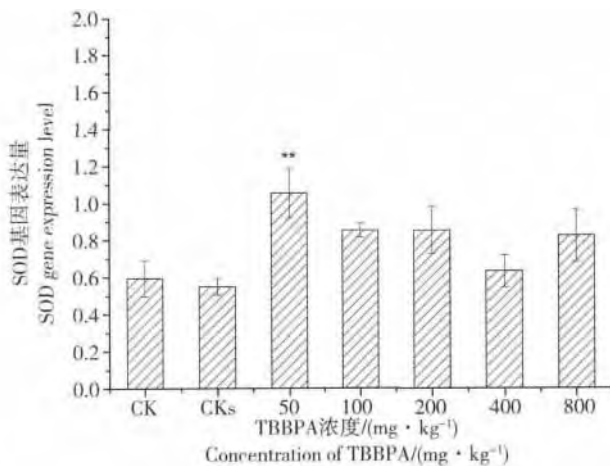


图2 TBBPA 暴露 14 d 后对蚯蚓 SOD 基因表达量的影响

Fig. 2 Changes in SOD gene expression in earthworms *Eisenia fetida* tissues with different TBBPA treatments after 14 days exposure

#### 2.2.2 CAT 基因表达量的变化

TBBPA 对赤子爱胜蚓 CAT 基因表达量的影响如图 3 所示。由图 3 可以看出,蚯蚓暴露于 TBBPA 14 d 后,随着暴露浓度的升高,对照组和所有染毒组之间的基因表达量无显著性差异。

#### 2.2.3 GST 基因表达量的变化

TBBPA 对赤子爱胜蚓 GST 基因表达量的影响如图 4 所示。由图 4 可以看出,蚯蚓暴露于 TBBPA 14 d 后,对照空白组和溶剂空白组的基因表达量无显著性差异。染毒组 50、100、200  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  与对照组的基因表达量相比变化不大,直到 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (8.73 倍  $p < 0.01$ ) 才出现显著性差异,染毒组 800  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的基因表达量虽然高于对照组,但是并不具有显著性差异。

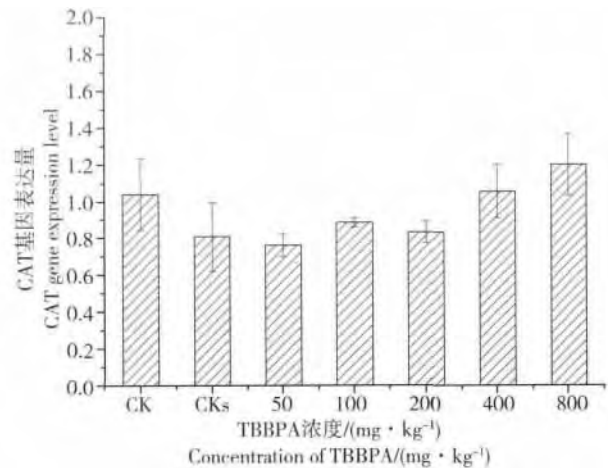


图3 TBBPA 暴露 14 d 后对蚯蚓 CAT 基因表达量的影响

Fig. 3 Changes in CAT gene expression in earthworms *Eisenia fetida* tissues with different TBBPA treatments after 14 days exposure

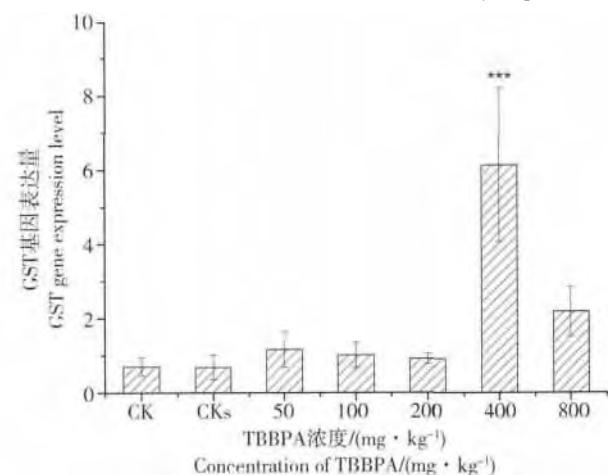


图4 TBBPA 暴露 14 d 后对蚯蚓 GST 基因表达量的影响

Fig. 4 Changes in GST gene expression in earthworms *Eisenia fetida* tissues with different TBBPA treatments after 14 days exposure

#### 2.2.4 Hsp70 基因表达量的变化

TBBPA 对赤子爱胜蚓 Hsp70 基因表达量的影响如图 5 所示。由图 5 可以看出,蚯蚓暴露于 TBBPA 14 d 后,对照空白组和溶剂空白组的基因表达量也无显著性差异。Hsp70 基因表达量在染毒组 50、100、200  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  被诱导上调 (2.19 倍  $p < 0.01$ ; 2.17 倍  $p < 0.01$ ; 2.16 倍  $p < 0.01$ ) 染毒组 400、800  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  诱导效应减弱,与对照组相比无显著性差异。

### 3 讨论 (Discussion)

本文研究了 TBBPA 14 d 的急性暴露对赤子爱胜蚓生长和相关基因表达的影响。生物量变化是联系化学胁迫、化学效应与能量动态变化的一个很好的指标,最终反映在生长抑制率的变化上<sup>[26,31]</sup>。由

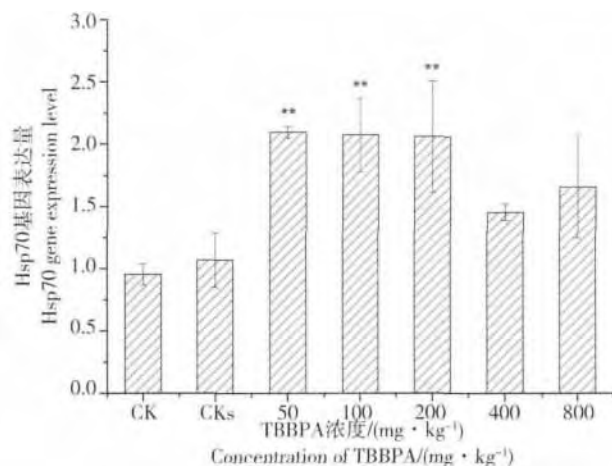


图5 TBBPA 暴露 14 天后对蚯蚓 Hsp70 基因表达量的影响

Fig. 5 Changes in Hsp70 gene expression in earthworms *Eisenia fetida* tissues with different TBBPA treatments after 14 days exposure

于人工土壤中营养成分的下降,对照组蚯蚓生长抑制率随着时间的变化而升高,但是与各染毒组相比,仍然具有显著性差异。在毒性暴露过程中,蚯蚓会减少食物的摄入来调节杀虫剂的吸收,这种饮食策略可能导致了蚯蚓生长率的下降<sup>[32]</sup>。在其他生态毒理实验中,饮食策略也被用来解释生长抑制率的升高<sup>[26 33-34]</sup>。在实验过程中,尤其是高毒染毒组,蚯蚓在光照条件下进入土壤的速度慢,说明蚯蚓对染毒土壤有一个趋避行为。蚯蚓体重的下降是一个综合过程,摄食量的减少和污染物的毒性两方面可能是导致蚯蚓生物量下降的主要原因。

氧化胁迫会造成线粒体内的脂质过氧化,进而导致细胞色素 C 的释放,氧化胁迫甚至还会造成 DNA 损伤,进而诱发细胞凋亡机制<sup>[35]</sup>。生物细胞为应对氧化胁迫的影响,发展出一套抗氧化系统,其中包括抗氧化酶系统,该系统中酶类包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽转移酶(GST)等。活性基团(ROS)不仅可以调节蛋白质前体和酶的活性,而且可能会影响相关基因的表达<sup>[28]</sup>。

在本研究中,SOD 基因表达在染毒组 50 mg · kg<sup>-1</sup> 显著上调(1.77 倍,  $p < 0.01$ ),说明基因的转录过程受到氧化胁迫的促进作用。SOD 催化超氧阴离子自由基变成过氧化氢和氧气<sup>[36]</sup>。在受到胁迫的条件下,SOD 通过上调 SOD 基因的表达量来满足机体清除超氧化物自由基的需要,保持机体内部的动态平衡。相似的机理作用在吐纳麝香对蚯蚓的毒性效应实验中也有说明<sup>[28]</sup>。

CAT 催化过氧化氢变成水和氧气<sup>[37]</sup>,并且 CAT

基因表达量的变化可以作为化学物质对细胞造成损伤的指标。过氧化氢的产生可以诱导 CAT 酶活性的上升,同样过氧化氢的大量积聚也会对 CAT 酶造成损伤,酶活性下降<sup>[38]</sup>。在蚯蚓暴露于 TBBPA 14 d 后,CAT 的基因表达量与对照组相比无显著性差异。这表明 SOD 基因的上调表达使得超氧化物自由基转化成过氧化氢和氧气,同时也有足够的 CAT 来催化过氧化氢,来保护机体免受损伤。

与对照组相比,400 mg · kg<sup>-1</sup> 染毒组 GST 基因表达量出现明显诱导的现象。GST 催化谷胱甘肽和外源亲电子基团结合并移出体外<sup>[39]</sup>。可以推断蚯蚓暴露在含有 400 mg · kg<sup>-1</sup> TBBPA 的土壤中,被诱导产生大量谷胱甘肽转移酶来应对氧化胁迫,而在 800 mg · kg<sup>-1</sup> 染毒组中 GST 基因表达量下调说明 TBBPA 毒性超过了蚯蚓的耐受范围,对蚯蚓的机体造成了损伤。

Hsp70 是分子伴侣的一种,在细胞氧化应答过程中起到重要的保护作用,研究发现它可以作为监测环境污染的一种潜在的生物标记物<sup>[28]</sup>,已经被应用在一些毒性效应的研究中<sup>[28 40]</sup>。目前 Hsp70 基因表达量的诱导机制还不明确,例如 4-壬基酚、4-辛基酚、佳乐麝香和吐纳麝香可诱导 Hsp70 基因下调,双酚 A 却可以诱导 Hsp70 基因上调<sup>[28 41]</sup>。在本研究中,Hsp70 基因表达量被诱导上调显著,从一定程度上说明蚯蚓受到了 TBBPA 的毒性效应影响,具体机制还有待进一步的研究。

在本实验中,生长抑制率在所有测定时间点上,400 mg · kg<sup>-1</sup> 和 800 mg · kg<sup>-1</sup> 两个 TBBPA 浓度下均有显著变化差异;SOD 和 Hsp70 在 50 mg · kg<sup>-1</sup> 浓度下就有显著性变化;GST 直到 400 mg · kg<sup>-1</sup> 浓度下才有显著性的变化差异。说明在 50、100、200 mg · kg<sup>-1</sup> 浓度条件下,蚯蚓利用自身的抗氧化酶系统,可以维持内部的动态平衡稳定,使得机体免受损伤。但是在超过 400 mg · kg<sup>-1</sup> 的浓度后,TBBPA 的毒性效应超过了机体的应对能力范围,使机体遭受损伤,外在特征主要表现为蚯蚓身体蜷缩、变细变硬。在 50 mg · kg<sup>-1</sup> 条件下,基因表达量(SOD、Hsp70)就出现了显著的诱导效应,而蚯蚓的生长受到 TBBPA 的显著抑制作用最早出现于暴露 14 d 后的 200 mg · kg<sup>-1</sup>,说明基因表达量的变化对毒性效应的指示作用较生长抑制率更为敏感。

通讯作者简介:史雅娟(1971—),女,博士,副研究员,硕士

生导师,主要从事持久性有机污染物的生态效应、生态风险评价及管理对策研究。

#### 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] de Wit C A, Herzke D, Vorkamp K. Brominated flame retardants in the Arctic environment-trends and new candidates [J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408: 2885–2918
- [3] OSPAR. OSPAR List of Chemicals for Priority Action (Update 2007) [S]. London: Reference number 2004-12, 2007
- [4] Colnot T, Kacew S, Dekant W. Mammalian toxicology and human exposures to the flame retardant 2,2',6,6'-tetrabromo-4,4'-isopropylidenediphenol (TBBPA): Implications for risk assessment [J]. *Archives of Toxicology*, 2013, 1–21
- [5] 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(1): 48–52
- [6] 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]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(21): 5497–5504
- [7] Fujii Y, Nishimura E, Kato Y, et al. Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan [J]. *Environment International*, 2014, 63: 19–25
- [8] Hloušková V, Lanková D, Kalachová K, et al. Brominated flame retardants and perfluoroalkyl substances in sediments from the Czech aquatic ecosystem [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 470: 407–416
- [9] Ni H G, Zeng H. HBCD and TBBPA in particulate phase of indoor air in Shenzhen, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 458: 15–19
- [10] Cariou R, Antignac J P, Marchand P, et al. New multi-residue analytical method dedicated to trace level measurement of brominated flame retardants in human biological matrices [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 100(2): 144–152
- [11] Johnson-Restrepo B, Adams D H, Kannan K. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in tissues of humans, dolphins, and sharks from the United States [J]. *Chemosphere*, 2008, 70(11): 1935–1944
- [12] Ronisz D, FarnenFinne E, Karlsson H, et al. Effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane (HBCDD), and tetrabromobisphenol A (TBBPA), on hepatic enzymes and other biomarkers in juvenile rainbow trout and feral eelpout [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, 69(3): 229–245
- [13] Kuiper R V, Van den Brandhof E J, Leonards P E G, et al. Toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in zebrafish (*Danio rerio*) in a partial life-cycle test [J]. *Archives of Toxicology*, 2007, 81(1): 1–9
- [14] Nakajima A, Saigusa D, Tetsu N, et al. Neurobehavioral effects of tetrabromobisphenol A, a brominated flame retardant, in mice [J]. *Toxicology Letters*, 2009, 189(1): 78–83
- [15] Liang X F, Li W, Martyniuk C J, et al. Effects of dechlorane plus on the hepatic proteome of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014
- [16] Linhartova P, Gazo I, Shaliutina-Kolesova A, et al. Effects of tetrabromobisphenol A on DNA integrity, oxidative stress, and sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa quality variables [J]. *Environmental Toxicology*, 2014
- [17] WHO. Environmental Health Criteria 172: Tetrabromobisphenol A and Derivatives [S]. Geneva, Switzerland: 1995: 72
- [18] 苏燕, 范涤敏, 罗义, 等. 四溴双酚 A 对鲫鱼血清抗氧化系统的影响 [J]. *南京大学学报*, 2007, 43(2): 164–170
- Su Y, Fan D M, Luo Y, et al. Antioxidant response in serum of *Carassius auratus* under tetrabromobisphenol A exposure [J]. *Journal of Nanjing University*, 2007, 43(2): 164–170 (in Chinese)
- [19] Yang S W, Xu F F, Zheng B H, et al. Multibiomarker responses upon exposure to tetrabromobisphenol A in the freshwater fish *Carassius auratus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 142–143: 248–256
- [20] Celada L J, Whalen M M. Whalen. The effect of TBBPA on MAP3Ks in human natural killer cells [J]. *The FASEB Journal*, 2013, 27: 1042–1045
- [21] Pullen S, Boecker R, Tiegs G. The flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrabromobisphenol A bisallylether suppress the induction of interleukin-2 receptor  $\alpha$  chain (CD25) in murine splenocytes [J]. *Toxicology*, 2003, 184(1): 11–22
- [22] Kitamura S, Jinno N, Ohta S, et al. Thyroid hormonal

- activity of the flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 293 (1): 554 – 559
- [23] Xue Y G, Gu X Y, Wang X R, et al. The hydroxyl radical generation and oxidative stress for the earthworm *Eisenia fetida* exposed to tetrabromobisphenol A [J]. *Ecotoxicology*, 2009, 18(6): 693 – 699
- [24] 薛银刚, 王晓蓉, 顾雪元, 等. 四溴双酚 A 对赤子爱胜蚓的急性毒性及抗氧化防御系统酶的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(01): 93 – 100
- Xue Y G, Wang X R, Gu X Y, et al. Acute toxicity of tetrabromobisphenol A to earthworms *Eisenia fetida* and its effects on antioxidant defense system enzymes [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(01): 93 – 100 (in Chinese)
- [25] OECD. Guideline for Testing of Chemicals Test 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests [S]. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), 1984
- [26] Shi Y J, Shi Y J, Wang X, et al. Comparative effects of lindane and deltamethrin on mortality, growth, and cellulase activity in earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007, 89(1): 31 – 38
- [27] Brulle F, Mitta G, Cocquerelle C, et al. Cloning and real-time PCR testing of 14 potential biomarkers in *Eisenia fetida* following cadmium exposure [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(8): 2844 – 2850
- [28] Chen C, Xue S G, Zhou Q X, et al. Multilevel ecotoxicity assessment of polycyclic musk in the earthworm *Eisenia fetida* using traditional and molecular endpoints [J]. *Ecotoxicology*, 2011, 20(8): 1949 – 1958
- [29] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(9): 2002 – 2007
- [30] Chiu K H, Lin C R, Huang H W, et al. Toxic effects of two brominated flame retardants BDE-47 and BDE-483 on the survival and protein expression of the tubificid *Monopylephorus limosus* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 84: 46 – 53
- [31] Wu N, Herrmann T, Paepke O, et al. Human exposure to PBDEs: Associations of PBDE body burdens with food consumption and house dust concentrations [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(5): 1584 – 1589
- [32] Ribeiro S, Sousa J P, Nogueira A J A, et al. Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *porcellionid-latatus* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001, 49(2): 131 – 138
- [33] Bibić A, Drobne D, Štrus J, Byrne A R. Assimilation of zinc by *Porcellioscaber* (Isopoda, Crustacea) exposed to zinc [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 58(5): 814 – 821
- [34] Mosleh Y Y, Paris-Palacios S, Couderchet M, et al. Effects of the herbicide isoproturon on survival, growth rate, and protein content of mature earthworms (*Lumbricusterrestris* L.) and its fate in the soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2003, 23(1): 699 – 77
- [35] Gonzalez P, Dominique Y, Massabuau J C, et al. Comparative effects of dietary methylmercury on gene expression in liver, skeletal muscle, and brain of the zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(11): 3972 – 3980
- [36] Fridovich I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264(14): 7761 – 7764
- [37] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review [J]. *Annals of Botany*, 2003, 91(2): 179 – 194
- [38] Song Y, Zhu L S, Wang J, et al. DNA damage and effects on antioxidative enzymes in earthworm (*Eisenia foetida*) induced by atrazine [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(5): 905 – 909
- [39] Maity S, Roy S, Chaudhury S, et al. Antioxidant responses of the earthworm *Lampito mauritii* exposed to Pb and Zn contaminated soil [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 151(1): 1 – 7
- [40] Homa J, Stürzenbaum S R, Morgan A J, et al. Disrupted homeostasis in coelomocytes of *Eisenia fetida* and *Allolobophora chlorotica* exposed dermally to heavy metals [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2007, 43: S273 – S280
- [41] Rhee J S, Raisuddin S, Lee K W, et al. Heat shock protein (Hsp) gene responses of the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* to environmental toxicants [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 149(1): 104 – 112 ◆