

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140305003

郑佳佳, 王睿睿, 林志浩, 等. 壬基酚、五氯酚及硝基苯对端足类河螺赢蜚 (*Corophium acherusicum*) 的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1104-1111
Zheng J J, Wang R R, Lin Z H, et al. Toxic effects of nonylphenol, pentachlorophenol and nitrobenzene on the amphipoda *Corophium acherusicum* (Arthropoda, Malacostraca) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1104-1111 (in Chinese)

壬基酚、五氯酚及硝基苯对端足类河螺赢蜚 (*Corophium acherusicum*) 的毒性效应

郑佳佳^{1, 2}, 王睿睿², 林志浩¹, 梁军辉¹, 闫启仑^{2, *}

1. 大连海洋大学, 大连 116023
2. 国家海洋环境监测中心, 大连 116023

收稿日期: 2014-03-05 录用日期: 2014-05-08

摘要: 为检测海洋中环境激素及芳烃类化合物对端足类生物的污染危害, 实验选择端足类河螺赢蜚 (*Corophium acherusicum*) 为受试生物, 研究了其在壬基酚、五氯酚、硝基苯三种有机污染物暴露下的 96 h 急性致死毒性效应和 7 d 慢性 DNA 损伤毒性效应。计算获得壬基酚、五氯酚和硝基苯对河螺赢蜚的 96 h 半致死浓度 (LC_{50}) 分别为 70、465、25 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 三种有机污染物对河螺赢蜚的毒性强弱顺序为壬基酚 > 五氯酚 > 硝基苯。运用碱解旋法检测壬基酚、五氯酚和硝基苯对河螺赢蜚 DNA 损伤的程度, 计算得到 7 d 半效应浓度 (EC_{50}) 分别为 30、256、11 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验结果表明: 三种有机污染物浓度的不断加大, 引起河螺赢蜚 DNA 损伤程度的不断增加, 呈显著的剂量-效应关系。

关键词: 河螺赢蜚; 壬基酚; 五氯酚; 硝基苯; DNA 损伤; 碱解旋

文章编号: 1673-5897(2014)6-1104-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Toxic Effects of Nonylphenol, Pentachlorophenol and Nitrobenzene on the Amphipoda *Corophium acherusicum* (Arthropoda, Malacostraca)

Zheng Jiajia^{1, 2}, Wang Ruirui², Lin Zhihao¹, Liang Junhui¹, Yan Qilun^{2, *}

1. Dalian Ocean University, Dalian 116023, China
2. National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China

Received 5 March 2014 accepted 8 May 2014

Abstract: Lethal and sublethal toxicities of nonylphenol, pentachlorophenol and nitrobenzene on *Corophium acherusicum* were tested to elucidate the toxic effects of environmental endocrine disruptors and aromatic compounds on marine amphipoda. Animals were exposed to these pollutants for 96 hours and 7 days in acute lethal and chronic tests, respectively. Results showed that the 96 h lethal concentration (LC_{50}) values for nonylphenol, pentachlorophenol and nitrobenzene were 70, 465, 25 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, and their acute toxicities ranked at nonylphenol > pentachlorophenol > nitrobenzene. Meanwhile, the DNA single strand breaks test using alkaline unwinding assay found that the median effective concentration (EC_{50}) after 7 d exposure for *C. acherusicum* were 30, 256, 11 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for nonylphenol, pentachlorophenol and nitrobenzene, respectively. This study illustrated that the

基金项目: 海洋公益性行业科研项目(201005016) 国家自然科学基金(41106078)

作者简介: 郑佳佳(1988-), 女, 硕士, 研究方向为生态毒理学, E-mail: mengyixinsheng@163.com

* 通讯作者(Corresponding author) E-mail: qlyan@nmemc.gov.cn

level of DNA single strand breaks increased with the increasing concentrations of the chemicals, and had a significant dose-effect relationship.

Keywords: *Corophium acherusicum*; nonylphenol; pentachlorophenol; nitrobenzene; DNA single strand breaks; alkaline unwinding assay

壬基酚(nonylphenol)和五氯酚(pentachlorophenol)属于环境激素类有机污染物,具有模拟雌激素的作用,进入生物体会对内分泌系统造成干扰,影响机体正常发育和繁殖,出现性成熟时间延缓、发育畸形、雌雄比例失调,甚至雌雄同体等异常现象^[1-2]。美国环保署(EPA)推荐标准,在淡水中,壬基酚的含量应不高于 $6.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,在咸水中应不高于 $1.7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。大量文献证实五氯酚对动植物有基因毒性、细胞毒性和免疫毒性作用^[3]。硝基苯(nitrobenzene)为芳烃类化合物,是合成苯胺的重要原料,属于低毒污染物,但由于其难降解、易在生物体内富集等特性及有机化工、印染、制药等行业中硝基苯的大量使用,也对生态系统和人体有较大的危害^[4]。由于大量工农业污水的排放,三种污染物在我国很多水体(如渤海)中都可检出。我国有机污染物标准分析方法还不够完善,适时、全面、系统地开展水中有毒有机物的检测是十分必要的^[5]。

螺赢蜚属(*Corophium*)约60余种,分布较广,多数为潮间带和浅滩栖息,我国海域发现有20余种^[6]。河螺赢蜚(*Corophium acherusicum*)隶属于端足亚目螺赢蜚属,在我国海域均有分布,是毒性实验的优选受试生物之一,Soto E.^[7]等检测了端足类对有机和无机毒物的急性敏感性,我国学者也做了生物学和毒

理学方面的研究^[8-10]。鉴于我国对壬基酚、五氯酚、硝基苯等污染物的毒性效应的研究对象一般集中在脊椎动物中,如鱼类、哺乳动物、两栖类,少数在甲壳类(枝角类)、贝类等,少见于端足类这方面的研究^[11]。以河螺赢蜚为受试生物,探究壬基酚、五氯酚及硝基苯对河螺赢蜚的急性毒性效应和慢性的DNA单链断裂损伤效应,以期检测壬基酚、五氯酚、硝基苯等有机污染物对海洋生物毒性影响提供基础数据。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 主要仪器和试剂

仪器: Fluoscence 荧光分光光度计(Cary Eclipse 公司),3-48K 台式高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司),DK-8D 型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司),DY89-II 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

试剂: 丙酮(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);二苯丙咪唑(Hoechst dye 33258)(美国 Sigma 公司);蛋白酶 K、十二烷基磺酸钠(Sodium dodecyl sulfonate, SDS)、RNA 酶、醋酸钠、TE 及乙醇(国药集团化学试剂有限公司);壬基酚、五氯酚、硝基苯(纯度>99.9%,美国 Sigma 公司),三种污染物的结构性质见表 1。

表 1 壬基酚、五氯酚、硝基苯三种污染物的结构及性质

Table 1 The chemical structure and physical properties of nonylphenol, pentachlorophenol and nitrobenzene there pollutants

污染物名称 Pollutants name	结构式 Chemical structure	物理性质 Physical properties	备注 Remarks
壬基酚 NonylPhenol		无色或淡黄色液体,相对密度 $0.94 \sim 0.95 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$,熔点 $43 \sim 45 \text{ }^\circ\text{C}$,沸点 $283 \sim 302 \text{ }^\circ\text{C}$ 。不溶于水,易溶于丙酮、酒精等有机溶剂。辛醇水分配系数 $4.48 \sim 5.71/20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。	联合国环境保护署(UN-EP)制定的27种有毒化学污染物之一。
五氯酚 Pentachlorophenol		白色针状结晶,相对密度 $1.98 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$,熔点 $190 \sim 191 \text{ }^\circ\text{C}$,沸点 $309 \sim 310 \text{ }^\circ\text{C}$ 。难溶于水,溶于稀碱液、乙醇、乙醚、丙酮、苯等溶剂。辛醇水分配系数 $5.12/20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。	联合国环境保护署(UN-EP)制定的27种有毒化学污染物之一。
硝基苯 Nitrobenzene		淡黄色油状液体,相对密度 $1.199 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$,熔点 $5.85 \text{ }^\circ\text{C}$,沸点 $210.9 \text{ }^\circ\text{C}$ 。微溶于水,易溶于乙醇、乙醚、苯等有机溶剂。辛醇水分配系数 $1.6 \sim 2.0/20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。	12种优先控制单环芳族化合物之一。

1.2 实验材料

受试生物:河螺赢蜚于大连市龙王塘潮间带采集后及时移至实验室,分选大小个体,放入内置沉积物(重金属和有机物含量均符合海洋沉积物质量一类标准^[12]) 3~4 cm 并盛有 4~5 cm 水深海水(重金属和有机物含量均符合一类海水水质标准^[13])的培养盆(40×20×10 cm)中驯养。驯养条件:日光灯模拟自然光照,光暗比 12 h:12 h 24 h 连续充氧气,盐度 25,温度 20 °C^[14],隔天换水(换水量体积为 2/3) 1:1 投喂新月菱形藻和青岛大扁藻,并辅以人工复合饲料^[15]。驯养 2 周后挑选大小一致、活动敏捷的个体用于急性及慢性毒性实验^[16]。

1.3 急性毒性试验

根据预实验结果,设定三种化合物的浓度分别为:壬基酚 50、60、70、80、90、100、110 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,五氯酚 25、50、100、200、400、800、1 600、3 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,硝基苯 5、10、20、40、80、160 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每个实验浓度均设置 3 个平行样。于每个试验样(1 L 烧杯)中倒入 700 mL 化合物溶液,随机放入 20 只挑选好的河螺赢蜚个体。由于壬基酚、五氯酚和硝基苯均易溶于有机溶剂,在海水中的溶解性不好,因此在实验中添加了浓度为 0.001($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$, V/V)的丙酮作为助溶剂以使化合物更好的溶解于海水中,为消除丙酮助溶剂对实验结果的影响,实验过程中,均设置海水和丙酮两个空白对照组,丙酮空白组浓度为 0.001($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$, V/V)。观察河螺赢蜚的行为及形态变化情况,并记录其 24、48、72 及 96 h 的死亡数(探针刺激无反应视为死亡,否则视为存活),计算死亡率。实验方法为半静水式,每天更换全部实验溶液,具体实验条件如下表 2 所示:

1.4 慢性毒性试验

1.4.1 加标实验

据急性毒性实验结果设定实验浓度,壬基酚为

0.3、5、7、17.5、35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,五氯酚浓度 0、50、100、250、500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,硝基苯浓度 0、1.5、3.0、7.5、15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。每个烧杯倒入 700 mL 实验溶液,随机放入 20 只河螺赢蜚,分别设置 4~7 个平行样。均设置空白和丙酮两个对照组。实验具体条件同表 2,实验持续进行 7 d,每天更换全部实验溶液。

1.4.2 河螺赢蜚 DNA 的提取

加标实验结束后,将各组全部存活的河螺赢蜚个体取出,用滤纸吸干附着的水分,称量,分别称取 0.2 g 装入 1.5 mL 离心管内,采用苯酚-氯仿法^[17]提取 DNA。

1.4.3 DNA 荧光值测定

解旋 DNA 荧光测定:取分离得到的 DNA 样品 100 μL ,加入 50 μL 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH,混匀后于 38 °C 水浴 30 min,快速加入 50 μL 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 及 5 μL 含 0.2% SDS 的 2 $\mu\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA。再加入 3 mL 0.2 mol 磷酸钾缓冲液(pH=6.9) 3 μL 二苯丙咪唑,混匀后置于暗处反应 15 min 后测荧光(激发波长为 360 nm,发射波长为 450 nm)。

单、双链 DNA 荧光测定:将分离纯化提取的双链 DNA 样品于 80 °C 热变性 30 min,即可得单链 DNA。分别取单链样品和双链样品 100 μL 于测试管中,每个样品设置三个平行样,依次分别加入 100 μL 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 5 μL 含 0.2% SDS 的 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA 3 mL 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲液(pH=6.9)和 3 μL 二苯丙咪唑,混匀置于阴暗处 15 min 后测荧光值(激发波长为 360 nm,发射波长为 450 nm)。

1.4.4 F 值

DNA 完整性通常以 F 值表示,F 表示解旋后存留双链 DNA 的比例,F 值越小,损伤程度越大。F 值的计算公式为:

$$F = \frac{X_{\text{sample}} - X_{\text{ssDNA}}}{X_{\text{dsDNA}} - X_{\text{ssDNA}}}$$

式中: X_{sample} 为样品解旋后的荧光值, X_{ssDNA} 为样品单链 DNA 的荧光值, X_{dsDNA} 为样品双链 DNA 的荧光值。

1.5 数据处理

采用概率单位法^[18]计算壬基酚、五氯酚、硝基苯对河螺赢蜚的半致死浓度/半效应浓度($\text{LC}_{50}/\text{EC}_{50}$)。SPSS17.0 软件进行统计分析,采用对比假设检验法得到与对照组无显著差异的最大实验浓度和与对照组有显著差异的最小实验浓度,即污染物对河螺赢蜚的无可见效应浓度(NOEC)和最低可见

表 2 急性毒性试验条件

Table 2 Acute toxicity test conditions

实验条件 Experiment conditions	内容 Contexts	实验条件 Experiment conditions	内容 Contexts
光照 Illumination	昼:夜=12h:12h Day: night = 12h: 12h	pH 值 pH value	7.8 ± 0.3
温度 Temperature	(20 ± 1) °C	投饵情况 Feedings	不投饵 No feeding
盐度 Salinity	25 ± 1	试验时间 Testing time	96 h

效应浓度 (LOEC), 用单因素 (One-Way ANOVA) 方差分析中 Duncan's 法比较各组间差异的显著性, 使用 Excell2003 软件作图。

2 结果 (Results)

2.1 急性毒性实验过程中河螺赢蜚的行为及形态变化

实验中观察到河螺赢蜚在壬基酚、五氯酚、硝基苯三种污染物影响下的行为及形态表现发生了较大的变化。将实验中的壬基酚、五氯酚和硝基苯各自的前三个浓度组看作低浓度组, 剩余为高浓度组。低浓度组中河螺赢蜚个体开始快速无规则游动, 随后游动频率逐渐降低, 游动幅度减小; 个别个体在水平方向缓慢游动, 垂直方向的上下游动明显减少; 随时间延长, 多数个体蜷缩成团状沉于杯底; 高浓度组中个体大多数个体很快微曲, 沉于杯底, 腹部向上仅有附肢无规律的骚动, 个别个体有身体抽搐的表现。死亡个体的状态在高、低浓度组中均相同, 为沉于杯底, 身体僵直, 体色由半透明变为灰白色。

2.2 壬基酚、五氯酚、硝基苯对河螺赢蜚的急性毒性效应

壬基酚、五氯酚、硝基苯对河螺赢蜚的 96 h 急性半致死毒性结果数据见表 3。实验结果如图 1 所示。以纵轴浓度和横轴死亡率呈现的图形来看, 壬基酚、五氯酚、硝基苯三者的毒性效应整体走势相同, 均随浓度和作用时间的增加河螺赢蜚死亡数增加。空白和丙酮两个对照组的死亡率均在 10% 以下, 满足质量控制要求。

2.3 壬基酚、五氯酚、硝基苯对河螺赢蜚的慢性毒性结果

壬基酚、五氯酚和硝基苯对河螺赢蜚 7 d 的 EC_{50} 分别为 30、256、11 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 这些数值是急

性毒性 LC_{50} 值的近 1/2 倍, 见表 3。河螺赢蜚 DNA 的损伤情况分别如图 2 所示, 三种有机污染物对河螺赢蜚的 DNA 都造成了不同程度的损伤, 且均随污染物浓度不断的增加, F 值呈不同程度的降低, 即 DNA 的单链断裂损伤增加。

3 讨论 (Discussion)

3.1 急性毒性实验

确定了壬基酚、五氯酚、硝基苯三种物质的 LC_{50} 分别为 70、465、25 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 壬基酚对河螺赢蜚的毒性约为五氯酚的 6.6 倍, 硝基苯的 357.1 倍, 五氯酚毒性约为硝基苯的 53.8 倍; 在相同时间条件下, 河螺赢蜚死亡率随三种有机污染物浓度的升高而升高; 在相同浓度条件下, 河螺赢蜚死亡率随暴露时间的延长而升高。壬基酚、五氯酚和硝基苯对河螺赢蜚死亡率的影响表现出良好的剂量-效应关系。毒性强弱为: 壬基酚 > 五氯酚 > 硝基苯。

物质的结构通过其理化性质影响其生物活性, 壬基酚、五氯酚、硝基苯分子结构中均含有苯环, 属于取代芳烃化合物。芳烃取代化合物毒性与结构有以下主要关系^[19-22]:

取代芳烃化合物不易失去电子而易得电子, 具有氧化性, 进入生物体对生物体产生危害作用。

苯环电子云密度较大, 苯环上的取代反应大都是亲电取代, 越强的吸电子取代基拉走的电荷越多, 相应的取代芳烃化合物毒性越高。

随分子体积增大, 其疏水参数 ($\log P$) 增大, 即正辛醇/水分配系数 (K_{ow}) 增大 (壬基酚、五氯酚及硝基苯的 K_{ow} 分别为 5.71、5.12、1.85), 使其极化度增大, 化合物毒性也增大。

苯环上取代基个数增多, 苯环上负电荷越少, 化合物毒性越高。

表 3 壬基酚、五氯酚、硝基苯的 96 h LC_{50} 、NOEC、LOEC 及 7 d - EC_{50} 、NOEC、LOEC

Table 3 *C. acherusicum's* 96 h- LC_{50} , NOEC, LOEC and 7 d EC_{50} , NOEC, LOEC towards the three toxic substances

污染物 Pollutants	96 h 急性毒性实验 / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 96 h acute toxicity test / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)			7d 慢性毒性实验 / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 7d chronic toxicity test / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		
	LC_{50}	NOEC	LOEC	EC_{50}	NOEC	LOEC
壬基酚 Nonylphenol	70	50	60	30	3.5	7.0
五氯酚 Pentachlorophenol	465	100	200	256	100	250
硝基苯 Nitrobenzene	25 000	10 000	20 000	11 000	7 500	15 000

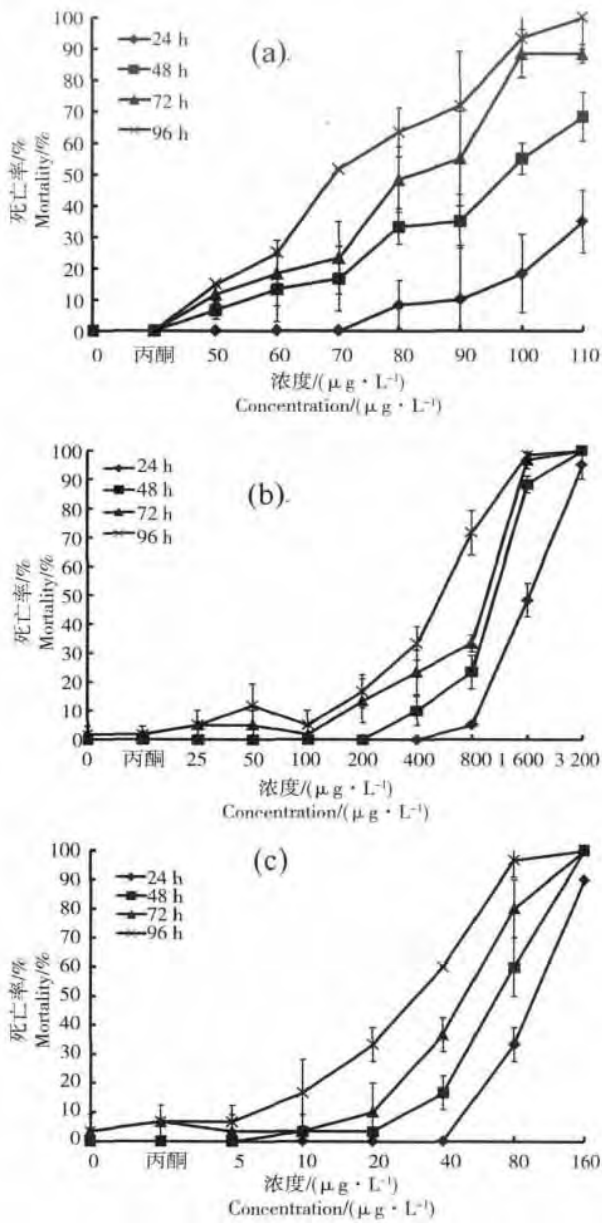


图1 壬基酚(a)、五氯酚(b)、硝基苯(c)对河螺赢蜚的96 h 毒性效应

Fig. 1 96h toxic effects of nonylphenol (a) , pentachlorophenol (b) and nitrobenzene (c) on *C. achersucum*

壬基酚和五氯酚的苯环取代官能团数大于硝基苯, 毒性均较硝基苯强; 正壬基取代基团疏水性极强, 使其取代苯酚后 logP 大于五氯取代苯酚, 壬基酚的 Kow 大于五氯酚, 分子体积也较五氯酚大, 所以壬基酚的毒性大于五氯酚。

由表4可见, 壬基酚、五氯酚、硝基苯三种物质对不同受试生物的终点效应浓度大致依次增加, 硝基苯尤为前两者高出3个数量级, 毒性强弱与本实

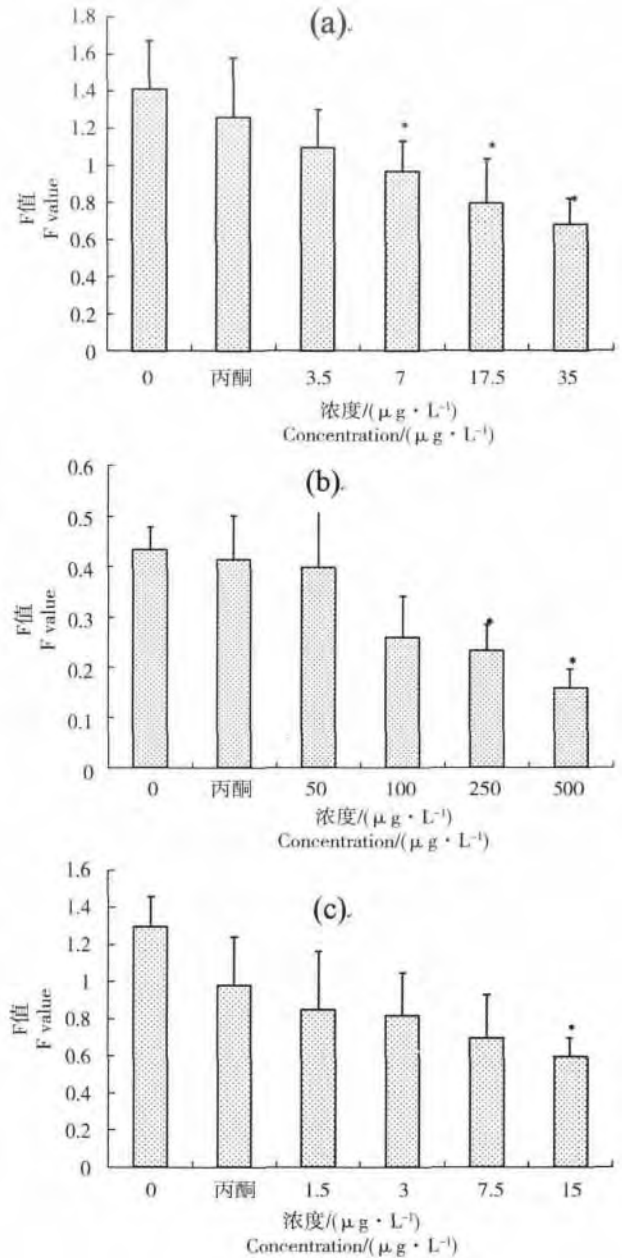


图2 壬基酚(a)、五氯酚(b)、硝基苯(c)引起河螺赢蜚 DNA 单链断裂的剂量 - 效应曲线

注: 误差棒代表均值的一个标准偏差 “*”表示对该组数据与对照组数据进行单因素方差分析结果存在差异显著 ($p < 0.05$)

Fig. 2 DNA single strand breaks of *C. achersucum* versus nonylphenol (a) , pentachlorophenol (b) and nitrobenzene (c) concentration concentration

Note: Error bars represent one standard deviation of the mean; * designates significant difference ($p < 0.05$) from control.

验的结果相吻合, 即壬基酚 > 五氯酚 > 硝基苯。与三种物质对藻类、鱼类、贝类等受试生物的 LC₅₀ 比较, 河螺赢蜚的 LC₅₀ 值均较小, 尤其是对硝基苯的 LC₅₀ 值更低于其他生物(低1个数量级)。

表 4 壬基酚、五氯酚、硝基苯对不同受试生物的毒性

Table 4 EC₅₀ or LC₅₀ for three toxic substances to different experimental organisms published by other authors

污染物 Pollutants	受试生物 Test organisms	终点指标 Endpoint indicators	浓度 / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Concentration / ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	文献 References
壬基酚 NP	中肋骨条藻 (<i>Skeletonema costatum</i>)	96h-EC ₅₀	130	[23]
	<i>Hyallolella azteca</i> (Amphipod)	96h-LC ₅₀	150	[24]
	大西洋鲟鱼 (<i>Atlantic sturgeon</i>)	96h-LC ₅₀	50	[25]
五氯酚 PCP	斜生栅藻 (<i>Soenedessmus obliquus</i>)	96h-EC ₅₀	168	[26]
	梨形环梭螺 (<i>Bellamyia purificata</i>)	96h-LC ₅₀	411	[27]
硝基苯 NB	斑马鱼 (<i>Danio rerio</i>)	96h-LC ₅₀	61.195	[28]
	纤细裸藻 (<i>Euglena pisciformis</i>)	96h-EC ₅₀	119 780	[29]
	中华圆田螺 (<i>Cipangopaludina cahayensis</i>)	96h-LC ₅₀	104 230	[30]
	白鲢 (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)	96h-LC ₅₀	80000 ~ 120 000	[31]

3.2 慢性毒性实验

在图 2 中 a 图表明, 壬基酚浓度升高致使河螺赢蜚的 DNA 单链断裂损伤程度加大。壬基酚浓度为 7、17.5、35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 各自对应的 F 值与海水和丙酮两对照组的 F 值呈显著差异, 即引起受试生物河螺赢蜚 DNA 的单链断裂损伤程度与对照组中差异显著。有机污染物进入生物体代谢过程中, 转化为多种活性极高的亲电中间产物, 可与 DNA 等大分子结合而造成 DNA 单链断裂等损伤^[32-33], 同时有机污染物代谢产生大量自由基及脂质过氧化物也会引起 DNA 分子单链或双链的断裂^[34]。

b 图显示, F 值随五氯酚浓度不断增加而下降, 则 DNA 的单链断裂损伤加大。马永鹏^[35]等研究了鮡 DNA 损伤情况, 发现五氯酚对核酸物质具有较强的毒性, 引起 DNA 明显的断裂和迁移。五氯酚浓度高于 250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理组与对照组呈显著差异, 这一结果说明, 五氯酚对河螺赢蜚 DNA 的损伤程度较壬基酚弱, 同急性毒性实验所得的毒性强弱相同。

由 c 图可见, 硝基苯浓度小于 7.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 实验组的 F 值与对照组没有显著差异, 当浓度增到 15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, F 值则显著差异于对照组。一些研究表明^[36], 硝基苯对生物体 DNA 有损伤作用。陈伟兴^[37]等发现斑马鱼不同组织的 DNA 对硝基苯的敏感度不同, 硝基苯浓度在国家地表水环境质量标准时 (0.017 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 斑马鱼的鳍表皮细胞 DNA 受损最严重达 69%, 而斑马鱼体细胞和精子细胞的 DNA 损伤在高硝基苯浓度 (1.7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 下才显著差异于对照组。这也说明, 实验指标的选择合适与否也会很大程度的影响试验的敏感性^[38]。

综上所述, 壬基酚、五氯酚和硝基苯三种污染物均会对端足类河螺赢蜚造成急慢性损伤, 三种污染物的毒性强弱为壬基酚 > 五氯酚 > 硝基苯, 受试生物河螺赢蜚表现出较好的毒理敏感性。

通讯作者简介: 闫启仑 (1966—), 男, 博士, 国家海洋环境监测中心研究员, 主要从事海洋生物学和生态毒理学研究, 发表论文 60 余篇。

参考文献:

- [1] Nice H E, Morritt D, Crane M, et al. Long-term and transgenerational effects of nonylphenol exposure at a key stage in the development of *Crassostrea gigas*, possible endocrine disruption [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 256: 293 - 300
- [2] Nice H E, Thorndyke M C, Morritt D, et al. Development of *Crassostrea gigas* larvae is affected by 4-nonylphenol [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2000, 40(6): 491 - 496
- [3] 王辅明, 朱祥伟, 马永鹏, 等. 低浓度五氯酚暴露对稀有鮡体内 SOD 活性、GSH 和 HSP70 含量的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(3): 415 - 421
Wang F M, Zhu X W, Ma Y P, et al. Effects of low concentration of pentachlorophenol exposure activity, GSH and HSP70 content in rare Minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(3): 415 - 421 (in Chinese)
- [4] 李俊生, 徐靖, 罗建武, 等. 硝基苯环境效应的研究综述 [J]. *生态环境学报*, 2009, 18(1): 368 - 373
Li J S, Xu J, Luo J W, et al. A review on the research of environmental effects of nitrobenzene [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(1): 368 - 373 (in Chinese)

- [5] 周雯,王连生. 水体有毒有机污染研究[J]. 中国环境监测, 2006, 22(1): 94-95
Zhou W, Wang L S. Research of poisonous organic pollution in water body [J]. Environmental Monitoring in China, 2006, 22(1): 94-95 (in Chinese)
- [6] 任先秋. 中国河螺赢蜚 Genus Corophium 的研究[C]. 甲壳动物学分会成立 20 周年暨刘瑞玉院士从事海洋科教工作 55 周年学术研讨会论文(摘要)集, 2002
- [7] Soto E, Larrain A, Bay-Schmith E. Sensitivity of *Ampelisca araucana* Juveniles (Crustacea: Amphipoda) to organic and inorganic toxicants in tests of acute toxicity [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity, 2000, 64: 574-578
- [8] 王睿睿, 闫启仑, 韩明辅, 等. 河螺赢蜚对镉的急性毒性响应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(1): 87-90
Wang R R, Yan Q L, Han M F, et al. Acute toxic effects of cadmium on *Corophium acherusicum* (Crustacean, Amphipod) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(1): 87-90 (in Chinese)
- [9] 韩明辅, 闫启仑, 陈红星, 等. 盐度对端足类日本大螯蜚生长发育的影响[J]. 海洋环境科学, 1998, 17(2): 40-44
Han M F, Yan Q L, Chen H X, et al. Effects of salinity on growth of amphipod *Grandiolierella japonica* [J]. Marine Environmental Science, 1998, 17(2): 40-44 (in Chinese)
- [10] 梁俊辉, 王睿睿, 闫启仑. Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 、 Hg^{2+} 三种金属对河螺赢蜚(*Corophium acherusicum*) [J]. 海洋环境科学, 2013, 32(4): 209-210
Liang J H, Wang R R, Yan Q L. Acute toxic effects of cadmium, chromium, mercury on *Corophium acherusicum* [J]. Marine Environmental Science, 2013, 32(4): 209-210 (in Chinese)
- [11] 黄长江, 董巧香, 马茹飞. 壬基酚对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 的急性毒性研究[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(4): 309-315
Hang C J, Dong Q X, Ma R F. Nonylphenol: a toxicant to hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2006, 37(4): 309-315 (in Chinese)
- [12] 国家海洋局. GB 18668-2002 海洋沉积物质量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
State Oceanic Administration. GB 18668-2002 Marine Sediment Quality [S]. Beijing: Standards Press of China, 2002 (in Chinese)
- [13] 国家海洋局. GB 3097-1997 海水水质标准[S]. 北京: 环境科学出版社, 1997
State Oceanic Administration. GB 3097-1997 Water quality standards [S]. Beijing: Environmental Science Press, 1997 (in Chinese)
- [14] 王超, 王睿睿, 闫启仑, 等. 温度对底栖端足类河螺赢蜚(*Corophium acherusicum*) 存活、生长和发育的影响[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(2): 139-141
Wang C, Wang R R, Yan Q L, et al. Effects of temperature on survival, growth and development of amphipod (*Corophium acherusicum*) [J]. Marine Environmental Science, 2009, 28(2): 139-141 (in Chinese)
- [15] 陈红星, 闫启仑, 韩明辅, 等. 室内培养底栖端足类日本大螯蜚饵料研究[J]. 海洋环境科学, 1998, 17(1): 22-24
Chen H X, Yan Q L, Han M F, et al. Study on marine amphipod *Grandiolierella japonica* cultured in lab as food [J]. Marine Environmental Science, 1998, 17(1): 22-24 (in Chinese)
- [16] 王超, 闫启仑, 陈红星, 等. 端足类河螺赢蜚生活周期及沉积物毒理敏感性研究[J]. 华东师范大学报(自然科学版), 2009, 5(3): 2-3
Wang C, Yan Q L, Chen H X, et al. Study on life cycle and sensitivity in sediment toxicity tests of *Corophium acherusicum* (Crustacea, Amphipoda) [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science), 2009, 3: 1-6 (in Chinese)
- [17] 李艳和, 陈宏权, 汪留全. 2 种方法提取日本沼虾基因组 DNA [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5487-5488
Li Y H, Chen H Q, Wang L Q. DNA extraction methods for *Macrobrachium nipponense* DNA [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2006, 34(21): 5487-5488 (in Chinese)
- [18] GB 17378. 7-2007 海洋监测规范: 第 7 部分近海污染生态调查和生物监测[S]. 2007
GB 17378. 7-2007 Marine monitoring: Part 7 of offshore pollution ecological survey and biological monitoring [S]. 2007 (in Chinese)
- [19] 许旋, 罗一帆, 付俊仙. 取代芳烃化合物电子结构与其对发光菌毒性关系的研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2003, 3(3): 97-101
Xu X, Luo Y F, Fu J X. Study on quantitative relationships between structures and toxicities of substituted arenes to microtox [J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition), 2003, 3(3): 97-101 (in Chinese)
- [20] 罗一帆, 许旋. 氯苯类化合物的电子结构与其对花鱼毒性的关系[J]. 卫生研究, 1999, 2(28): 93-94
Luo Y F, Xu X. Study on the relationship between the structure of chlorobenzenes and their toxicity to Guppy [J]. Journal of Hygiene Research, 1999, 2(28): 93-94 (in Chinese)
- [21] 秦正龙. 含苯环有机污染物定量结构与活性相关性

- 研究[J]. 安全与环境学报, 2004, 4(2): 13-16
- Qin Z L. Quantitative structure-activity relationships of organic chemicals with benzene ring [J]. Journal of Safety and Environment, 2004, 4(2): 13-16 (in Chinese)
- [22] 许旋, 罗一帆, 向彩云. 苯醛和含氮芳香化合物毒性与电子结构关系的研究[J]. 卫生研究, 2004, 33(1): 105-107
- Xu F, Luo Y F, Xiang C Y. Study on quantitative relationships between electronic structure and toxicities of phenyl-aldehydes and nitrogen-containing aromatic molecules [J]. Journal of Hygiene Research, 2004, 33(1): 105-107 (in Chinese)
- [23] 刘霞, 赵静, 但丽霞, 等. 壬基酚对胶州湾典型微藻的毒性效应[J]. 海洋环境科学, 2012, 31(5): 667-673
- Liu X, Zhao J, Dan L X, et al. Toxic effects of nonylphenol on dominant microalgae species in Jiaozhou Bay [J]. Marine Environmental Science, 2012, 31(5): 667-673 (in Chinese)
- [24] England D E, Bussard J B. Toxicity of Nonylphenol to the Amphipod *Hyallozetes azteca* [R]. Washington, D C: Chemical Manufacturers Association, 1994
- [25] Dwyer F J, Mayer F J, Sappington L C, et al. Assessing contaminant sensitivity of endangered and threatened aquatic species: Part I. Acute toxicity of five chemicals [J]. Archives of Environment Contamination and Toxicology, 2005, 48: 143-154
- [26] 洪华嫦, 周海云, 蓝崇钰. 五氯酚对斜生栅藻的毒性效应研究[J]. 环境科学研究, 2003, 16(6): 23-25, 28
- Hong H C, Zhou H Y, Lan C Y. Toxicity effects of Pentachlorophenol on growth, the contents of pigments and soluble protein of *Scenedesmus obliquus* [J]. Research of Environmental Sciences, 2003, 16(6): 23-25, 28 (in Chinese)
- [27] 王元川, 侯建军, 陈亚琼, 等. 五氯酚钠对梨形环梭螺的毒理效应研究[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(4): 118-123
- Wang Y C, Hou J J, Shen Y Q, et al. Studies on toxicological effect of sodium pentachlorophenol on *Bellamyia purificata* [J]. Journal of Hydrogeology, 2012, 33(4): 118-123 (in Chinese)
- [28] 宋志慧, 王庆伟, 杨鲁娜, 等. 三苯基锡和五氯酚对斑马鱼急性毒性作用和过氧化物酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(20): 12201-12204
- Song Z H, Wang Q W, Yang L N, et al. Effects of TPT and PCP on acute toxicity and POD activity of zebrafish [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2011, 39(20): 12201-12204 (in Chinese)
- [29] 朱小燕, 邓凤霞. 硝基苯在纤细裸藻中的毒性和降解吸附[J]. 华中师范大学研究生学报, 2006, 13(1): 156-158
- Zhu X Y, Deng F X. The toxicity, degradation and adsorption of nitrobenzene in *Euglena gracilis* [J]. Huazhong Normal University Journal of Postgraduates, 2006, 13(1): 156-158 (in Chinese)
- [30] 赵志刚, 张志生, 高士祥. 硝基苯对3种中国土著水生生物的毒性[J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27(1): 54-59
- Zhao Z G, Zhang Z S, Gao S X. Toxicity of nitrobenzene to three native species of aquatic organisms [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2011, 27(1): 54-59 (in Chinese)
- [31] 黄晓容, 钟成华, 邓春光. 苯胺·二甲苯和硝基苯对白鲢的急性毒性研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(25): 10908-10909
- Huang X R, Zhong C H, Deng C G. The preliminary experiment on acute toxicities of aniline, xylene and nitrobenzene to silver carp [J]. Journal of Agriculture Science, 2008, 36(25): 10908-10909 (in Chinese)
- [32] Harvey R G. Polycyclic hydrocarbons and cancer [J]. American Scientist, 1982, 70(4): 386-393
- [33] Phillips D H. Fifty years of benzo[a]pyrene [J]. Nature, 1983, 303: 468-472
- [34] Mamett L J. Oxyradicals and DNA damage [J]. Carcinogenesis, 2000, 21(3): 361-370
- [35] 马永鹏, 王燕, 朱祥伟, 等. 基于SCGE的五氯酚对稀有鮡鲫DNA损伤的研究[J]. 中国环境科学, 2010, 30(2): 269-274
- Ma Y P, Wang Y, Zhu X W, et al. Alkaline single cell gel electrophoresis assay (SCGE) based study on DNA damage of *Gobiocypris rarus* induced by pentachlorophenol [J]. China Environmental Science, 2010, 30(2): 269-274 (in Chinese)
- [36] 薛良义, 李卢, 周济胜. 硝基苯和氯苯对鲫鱼血细胞DNA损伤的研究[J]. 水利渔业, 2005, 25(3): 8-9
- Xue L Y, Li L, Zhou J S. Studies for nitrobenzene and chlorobenzene to the DNA damage of blood cells in *Carasius auratus* [J]. Reservoir Fisheries 2005, 25(3): 8-9 (in Chinese)
- [37] 陈伟兴, 范兆廷, 方静杰, 等. 硝基苯对斑马鱼细胞DNA的损伤[J]. 水产学报, 2009, 33(5): 865-870
- Chen W X, Fan Z T, Fang J J, et al. DNA damage induced by nitrobenzene in histiocyte of zebra fish (*Danio rerio*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(5): 865-870 (in Chinese)
- [38] Jager T, Vandenbrouck T, Baas J, et al. A biology-based approach for mixture toxicity of multiple endpoints over the life cycle [J]. Ecotoxicology, 2010, 19: 351-361