

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190726001

迟潇, 陈碧鹃, 孙雪梅, 等. 基于 IBR 模型研究 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 192-202

Chi X, Chen B J, Sun X M, et al. Toxic effects of BDE-47 and BDE-153 on *Cynoglossus semilaevis* Gunther based on IBR model [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(4): 192-202 (in Chinese)

基于 IBR 模型研究 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应

迟潇^{1,2}, 陈碧鹃^{2,3}, 孙雪梅^{2,3}, 朱琳^{2,3}, 唐学玺¹, 夏斌^{2,3,*}, 曲克明²

1. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266071

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业资源可持续发展重点实验室, 山东省渔业资源与生态环境重点实验室, 青岛 266071

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266237

收稿日期: 2019-07-26 录用日期: 2019-09-30

摘要: 多溴联苯醚(PBDEs)是应用广泛的溴代阻燃剂。选择 2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)和 2,2',4,4',5,5'-六溴联苯醚(BDE-153)对半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Gunther)进行 15 d 的暴露实验,测定了不同暴露浓度下半滑舌鳎肝脏的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、7-乙氧基-3-异吩恶唑酮-脱乙基酶(7-ethoxyresorufin-o-deethylase, EROD)的活性、雌激素受体(estrogen receptor, ER)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,并运用综合生物标志物响应(integrated biomarker response, IBR)模型研究 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应。结果表明,环境浓度 BDE-47 和 BDE-153 暴露下半滑舌鳎的抗氧化酶活性、ER 含量和 EROD 活性无显著变化;中高浓度组(500 ng·L⁻¹和 50 000 ng·L⁻¹)与对照组基本上都有显著差异。运用 IBR 方法进行计算发现,BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应呈现出显著的剂量效应。将 2 种污染物暴露组 IBR 值进行比较,发现 BDE-47 各浓度组的 IBR 值均大于 BDE-153 组,这表明 BDE-47 的毒性要高于 BDE-153。IBR 指数能够有效地对 PBDEs 的海洋环境风险进行科学评价。

关键词: BDE-47; BDE-153; 半滑舌鳎; 毒性效应; 综合生物标志物响应

文章编号: 1673-5897(2020)4-192-11 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Toxic Effects of BDE-47 and BDE-153 on *Cynoglossus semilaevis* Gunther Based on IBR Model

Chi Xiao^{1,2}, Chen Bijuan^{2,3}, Sun Xuemei^{2,3}, Zhu Lin^{2,3}, Tang Xuexi¹, Xia Bin^{2,3,*}, Qu Keming²

1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266071, China

2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries of Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Fishery Resources and Ecological Environment in Shandong Province, Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

3. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China

Received 26 July 2019 accepted 30 September 2019

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费资助项目(2017HY-ZD0202, 2020TD12); 国家自然科学基金委-山东省联合基金资助项目(U1606404)

第一作者: 迟潇(1994—), 女, 博士研究生, 研究方向为海洋生态毒理学, E-mail: ouctedly@163.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: xiabin@ysfri.ac.cn

Abstract: Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used as brominated flame retardants. In this study, *Cynoglossus semilaevis* Gunther was exposed to 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ether (BDE-47) or 2,2',4,4',5,5'-hexabrominated diphenyl ether (BDE-153) alone for 15 d. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), estrogen receptor (ER) and 7-ethoxyresorufin-o-deethylase (EROD) of the liver in *C. semilaevis* under different exposure concentrations were measured. Integrated biomarker response (IBR) model was used to elucidate the toxic effects of BDE-47 and BDE-153 on *C. semilaevis*. The results showed that BDE-47 and BDE-153 with environmental relevant concentration had no significant effects on the antioxidant enzyme activities, ER contents and EROD activity. While, significant differences in the medium and high concentration treatments ($500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ and $50\,000 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) were observed when compared with the control group. BDE-47 and BDE-153 showed significant dose-effects on *C. semilaevis* using IBR method. It was found that the IBR values of BDE-47 in each concentration treatment were higher than those of BDE-153, which indicated that the toxicity of BDE-47 was higher than BDE-153. Therefore, IBR model can effectively evaluate the risk of PBDEs in marine environments.

Keywords: BDE-47; BDE-153; *Cynoglossus semilaevis* Gunther; toxic effects; integrated biomarker response

多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)是一类常用的溴代阻燃剂,由于其阻燃效率高、热稳定性好、所需添加量小、对材料性能影响小及价格便宜等优点,被广泛应用于电子、化工、建筑、纺织和石油等生产生活领域中^[1]。作为添加型阻燃剂, PBDEs 不会和聚氨酯、树脂或者聚苯乙烯等物质形成稳定化学键而紧密连接,因此,在各种产品使用、废弃、填埋、老化和降解等过程中,容易从这些产品表面挥发脱离,释放到环境中,随后通过大气沉降和地表径流等方式进入到海洋中^[2-3]。如胶州湾养殖区海水中 PBDEs 含量范围为 $\text{ND} \sim 630.8 \text{ pg} \cdot \text{L}^{-1}$,其中, BDE-47 为主要污染物^[4];中国香港附近海域水体中 PBDEs 的含量约为 $311 \sim 1\,187 \text{ pg} \cdot \text{L}^{-1}$,达到 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平^[5]。研究表明, PBDEs 属于环境内分泌干扰物,对生物作用的主要靶器官有甲状腺、肝脏和肾脏等,其毒理学效应主要表现为神经毒性、内分泌系统毒性、生殖发育毒性、免疫毒性和细胞毒性^[6-8]。目前的研究主要集中于高浓度 PBDEs 对水生生物的毒性效应,但是关于环境浓度 PBDEs 对海洋生物的毒性效应研究还很少。

近年来,已在大量水生生物体内检测到 PBDEs,包括鱼类、白鲸(*Delphinapterus leucas*)、环斑海豹(*Phoca hispida*)和北极熊(*Ursus maritimus*)等海洋哺乳类生物^[9-11],特别是在鱼体内的富集情况尤为严重^[12]。目前,已开展 6 种 PBDEs 同系物(BDE-28、BDE-47、BDE-99、BDE-100、BDE-153 和 BDE-183)对斑马鱼(*Barchydanio rerio var*)的毒性效应研究^[13]。但是 PBDEs 对海洋经济鱼类的毒性效应研究较少,

鱼类是海洋生态系统中的顶级群落,在海洋生态系统中起着重要作用,因此,研究 PBDEs 对海洋鱼类的毒性效应具有重要意义。半滑舌鳎,属鲽形目、舌鳎科、舌鳎属,主要分布在我国渤海和黄海等近海海域,是我国重要的名贵海水鱼类,也是近海增养殖品种,但是目前关于 PBDEs 对半滑舌鳎毒性效应的研究还未见报道。

综合生物标志物响应(integrated biomarker response, IBR)指数能够综合所有的生物标志物对污染物的响应,转换成一个“压力指数”值,已经成功应用于评估石油烃等多种污染物的生物毒性效应研究中^[14-15]。本文测定了不同暴露浓度下半滑舌鳎肝脏的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)和 7-乙氧基-3-异吩唑酮脱乙酰基酶(7-ethoxyresorufin-o-deethylase, EROD)的活性以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,并运用 IBR 模型来研究 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎的毒性效应,为客观评价 PBDEs 的海洋生态风险评估提供理论依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验生物及其驯养

半滑舌鳎购于莱州市金益源水产公司,体长为 $(3.0 \pm 0.5) \text{ cm}$,体重为 $(2.4 \pm 0.5) \text{ g}$ 。

实验前,暂养 3 ~ 5 d,自然死亡率低于 1%;暂养过程中水温 $22 \text{ }^\circ\text{C}$,连续充气,每天喂食 1 次,每天

更换 1/3 水量。

1.1.2 仪器与试剂

2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)、2,2',4,4',5,5'-六溴联苯醚(BDE-153)均购于 AccuStandard 公司(色谱纯)。PBDEs 微溶于水,以二甲基亚砜(DMSO)(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司)为溶剂,配制每种 PBDEs 浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液,4 °C 下保存备用。实验前,用 F/2 培养基依次稀释成所需浓度的实验溶液。

丙二醛试剂盒、超氧化物歧化酶试剂盒、谷胱甘肽试剂盒、谷胱甘肽硫转移酶试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒、过氧化氢酶试剂盒、考马斯亮蓝总蛋白试剂盒和标准蛋白均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 实验设计

本实验设置 5、500 和 50 000 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 这 3 组实验浓度,并设有空白对照组、溶剂对照组,每组 3 个平行。其中,5 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 为环境浓度^[6]。暴露时间为 15 d,挑选体长相近、健康的半滑舌鲷用于实验,每组放入半滑舌鲷幼鱼 15 尾,实验期间每天早上适量投喂 1 次饲料,24 h 不间断微量充气。采用半静水接触染毒法,每隔 24 h 换相同浓度的新鲜试验液。实验开始后,于 1、5、7 和 15 d 随机选取一尾,将随机捞取的样本鱼麻醉后在冰盘上进行解剖,取出肝脏并去除表面附带的结缔组织,在 4 °C 生理盐水中漂洗干净,用滤纸拭干表面水分,称取适量样品。生理盐水作为匀浆介质,在冰水浴条件下,用匀浆器制成 10% 的肝脏组织匀浆液。在 4 °C、2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min,上清液即为粗酶液,用于酶活性测定。测定用试剂盒均购于南京建成生物工程研究所,并使用酶标仪进行测定。

1.3 测定方法

SOD 通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应产生超氧阴离子自由基,后者与胺盐可形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,在 450 nm 处可测定其吸光度值。SOD 活性单位定义:每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中,SOD 抑制率达 50% 时所对应的酶量。

GSH-Px 可以促使 H_2O_2 与还原性谷胱甘肽(GSH)反应生成 H_2O 和氧化性谷胱甘肽(GSSG),而 GSH 可与二硫代二硝基苯甲酸作用,生成的 5-六代二硝基苯甲酸阴离子呈现黄色,在 412 nm 处测吸光度,从而得到 GSH-Px 活性。GSH-Px 活性单位定义:每毫克蛋白质每分钟扣除非酶反应,使 GSH 浓度降低 $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为一个酶活力单位。

CAT 分解 H_2O_2 的反应通过钼酸铵而中止,剩余的 H_2O_2 与钼酸铵作用产生淡黄色的络合物,可在 405 nm 处测定其生成量,由此计算 H_2O_2 的反应量,计算 CAT 活性。CAT 活性单位定义:每毫克组织蛋白每秒钟分解 $1 \text{ } \mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 的量。

MDA 与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成红棕色产物,在 532 nm 处有最大吸收峰,可测定此波长处的吸光值,从而确定 MDA 含量。

用纯化 ER 捕获抗体包被微孔板,制成固相抗体,微孔中加入 ER,与辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)显色,在 450 nm 波长下测定吸光度,从而确定 ER 含量。

EROD 酶采用快速终止荧光光度法,在催化剂作用下,催化 7-乙氧基-异吩噻嗪酮转化成为荧光代谢产物异吩噻酮,经代谢后富集,异吩噻酮的量与 EROD 活性成正比,可以通过测定荧光密度得到 EROD 活性。EROD 活性单位定义:用每分钟每毫克蛋白产生的 9-羟基-3-异吩噻酮相对量来表示。

1.4 IBR 计算方法

IBR 值的计算方法参照文献[17],首先计算生物标志物在各阶段的平均值(x_i)、总平均值(\bar{x})和标准差(s),然后按照下列公式对各阶段的 x_i 进行均一化处理。

$$x_i' = (x_i - \bar{x})/s \quad (1)$$

式中: x_i' 为 x_i 均一化后的值。

各阶段生物标志物的得分(B_i 值)计算公式为:

$$B_i = Z + |x_{\min}| \quad (2)$$

式中: $|x_{\min}|$ 为各阶段生物标志物均一化处理后的数据最小值的绝对值, B_i 值大小在星状图中以辐射线的长度代表,星状图面积(即图中由相邻生物标志物的辐射线围成的星状图面积 A_i 之和)按照下式计算:

$$\text{IBR} = \sum_{i=1}^n A_i \quad (3)$$

式中: $A_i = B_i/2 \sin\beta(B_i \cos\beta + B_{i+1} \sin\beta)$ (4)

$$\beta = \arctan(B_{i+1} \sin\alpha / B_i - B_{i+1} \cos\alpha) \quad (5)$$

式中: n 为生物标志物数量, β 为相邻两辐射线围成的三角形的夹角, α 为相邻的 2 条辐射线夹角, $\alpha = 2\pi/n$; $B_{n+1} = B_1$ 。

1.5 数据处理与分析

所有数据均以平均值 \pm 标准差 (Means \pm SD) 表示,应用 SPSS 16 对数据进行分析,采用 One-way ANOVA 对数据进行单因素方差分析,并用 Dun-

can's 进行显著性差异,显著性水平 $P < 0.05$ 。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 SOD 活性的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 SOD 活性的影响如图 1 所示。空白对照组半滑舌鳎肝脏组织中 SOD 活性在实验期间基本保持不变,溶剂对照组的 SOD 活性基本保持不变,与空白对照组没有显著差异。BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组的 SOD 活性与对照组相比变化不大,在 7 d 时 SOD 活性略有升高但无显著性差异;500 ng·L⁻¹ 浓度组的 SOD 活性先升高后有所降低,在 1 d 和 3 d 时显著升高,分别为 45.62 U·mg prot⁻¹ 和 48.39 U·mg prot⁻¹,在 7 d 和 15 d 时 SOD 活性虽然有所降低但仍高于对照组;而 50 000 ng·L⁻¹ 浓度组 SOD 活性在暴露之后迅速降低,在 3 d 以后,显著低于对照组。BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组的 SOD 活性略有浮动但无显著变化;500 ng·L⁻¹ 浓度组的 SOD 活性在 1 d 时迅速升高,后逐渐降低;而 50 000 ng·L⁻¹ 浓度组 SOD 活性在暴露之后迅速降低,在 7 d 以后,显著低于对照组。

SOD 是机体内主要抗氧化酶,其功能是清除超氧阴离子自由基(O₂⁻),将 O₂⁻ 歧化成 H₂O₂ 和 O₂,从而保护机体免受 O₂⁻ 的毒性,降低细胞的过氧化性损伤,减少脂质过氧化物的形成,并加强机体内过量脂质过氧化物的分解,是抗氧化系统的重要组成部分。实验结果显示,5 ng·L⁻¹ 浓度组中 SOD 活性无明显变化,说明环境浓度 BDE-47 和 BDE-153 不会对半滑舌鳎 SOD 活性产生显著影响;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 SOD 活性先迅速增大后回归正常水平,说明

当机体受到环境轻度的胁迫时,抗氧化系统受到刺激而迅速响应,SOD 的活性会迅速升高,但随着时间的延长,机体会产生一定的耐受性,并通过整体系统调控使其回到正常水平,这与 Ji 等^[18]的研究结果相一致;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 SOD 活性逐渐降低,与对照组差异显著,说明环境胁迫严重,抗氧化系统受到损伤,SOD 活性无法恢复到正常水平。已有研究表明,当生物受到有害物质短时间胁迫时,SOD 活性会被诱导增加^[19],但随着时间的延长,开始表现为抑制作用^[20]。周科等^[21]研究了不同浓度 BDE-47 对铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*)肝胰脏 SOD 活性的影响,发现 SOD 活性受到低剂量诱导和长时间或高剂量抑制;BDE-47 暴露下菲律宾蛤仔的 SOD 活性呈逐渐下降趋势,呈现出明显的抑制效应^[22];PBDEs 对细胞 SOD 活性有“低浓度诱导、高浓度抑制”的效应^[18]。

2.2 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 GSH-Px 活性的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 GSH-Px 活性的影响如图 2 所示。空白对照组半滑舌鳎肝脏 GSH-Px 活性基本保持不变,溶剂对照组的 GSH-Px 活性也基本保持不变,与空白对照组无明显差异。在 BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组中 GSH-Px 活性无显著变化;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 GSH-Px 活性迅速升高后逐渐降低,在 1 d 时 GSH-Px 活性为 32.81 U·mg prot⁻¹,显著高于对照组,随后逐渐降低至对照组水平;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 GSH-Px 活性随时间增长不断降低,在 7 d 和 15 d 时分别为 15.61 U·mg prot⁻¹ 和 13.60 U·mg prot⁻¹,显著低于对照组。在 BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组中 GSH-Px 活性无

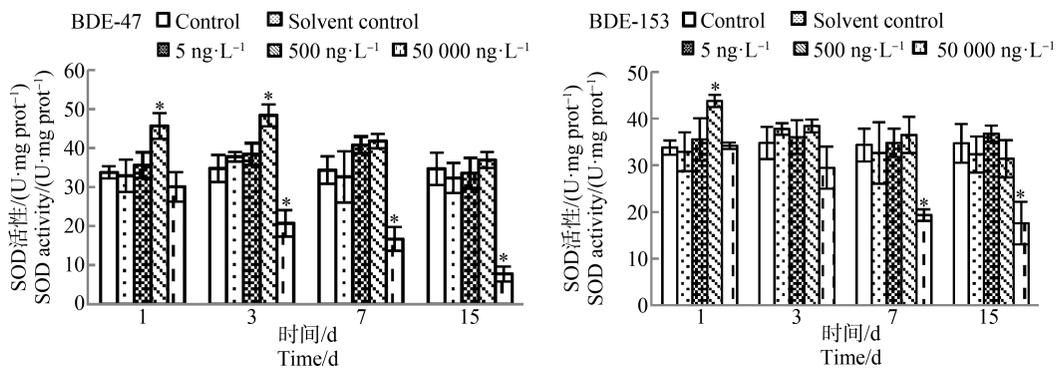


图1 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响($n=3$)

注:*表示显著性差异, $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effects of BDE-47 and BDE-153 on superoxide dismutase (SOD) activity in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther ($n=3$)

Note: * indicates significant differences, $P < 0.05$.

显著变化;500 ng·L⁻¹浓度组中 GSH-Px 活性先升高后降低,在 1 d 时 GSH-Px 活性为 31.36 U·mg prot⁻¹,显著高于对照组,随后逐渐降低;50 000 ng·L⁻¹浓度组中 GSH-Px 活性逐渐降低,在 7 d 和 15 d 时分别为 16.90 U·mg prot⁻¹和 16.62 U·mg prot⁻¹,显著低于对照组。

GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要过氧化物分解酶,它能催化 GSH 变为 GSSG,同时促进 H₂O₂ 的分解,分解产生的物质可以清除在细胞呼吸代谢过程中产生的过氧化物和羟自由基,使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害^[23-24]。

有研究发现,BDE-47 和 BDE-209 对鲫鱼(*Carassius auratus auratus*)GSH-Px 活性影响呈现显著的剂量效应^[22]。本实验结果表明,5 ng·L⁻¹浓度组中 GSH-Px 活性无显著变化,说明环境浓度的 BDE-47 和 BDE-153 不会对半滑舌鳎 GSH-Px 活性产生显著影响;500 ng·L⁻¹浓度组中 GSH-Px 活性先升高后降低,这是由于低浓度刺激使得机体抗氧化系统清除体内产生的自由基,从而迅速抵御外界环境的刺激;但是 50 000 ng·L⁻¹浓度组中 GSH-Px 活性逐渐降低,在后期显著低于对照组,说明在长时间的高浓度胁迫下,机体抗氧化系统出现损伤,使得其 GSH-Px 活性不断降低。

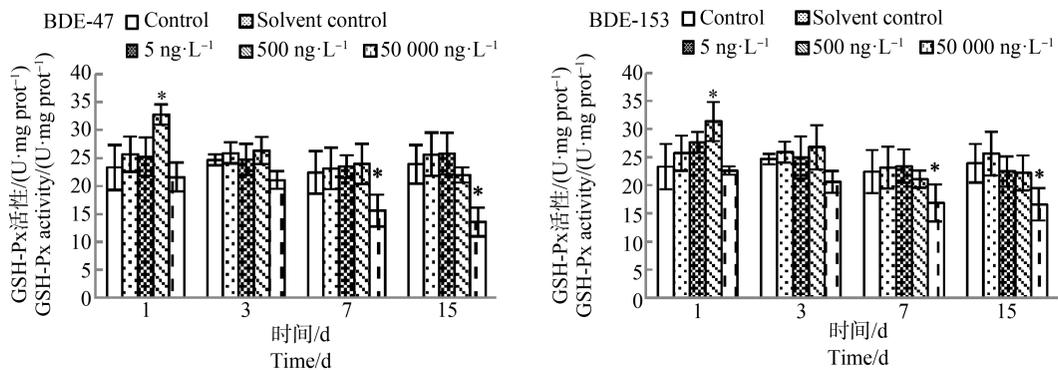


图2 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性的影响 ($n=3$)

注: *表示显著性差异, $P < 0.05$ 。

Fig. 2 Effects of BDE-47 and BDE-153 on glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther ($n=3$)

Note: * indicates significant differences, $P < 0.05$.

2.3 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 CAT 活性的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 CAT 活性的影响如图 3 所示。空白对照组与半滑舌鳎肝脏组织中 CAT 活性基本保持不变,溶剂对照组的 CAT 活性也基本保持不变,与空白对照组无明显差异。在 BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性无显著变化;500 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性在 3 d 内逐渐升高,在 3 d 时 CAT 活性显著高于对照组,随后降低,CAT 活性显著低于对照组;50 000 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性在 3 d 内随时间增长不断升高,明显高于对照组,随后降低,显著低于对照组。在 BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性无显著变化;500 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性在 3 d 内逐渐升高,但与对照组无显著差异,随后降低,显著低

于对照组;50 000 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性在 3 d 内随时间增长不断升高,显著高于对照组,随后下降,显著低于对照组。

CAT 是生物体内重要的抗氧化酶,可以促使 H₂O₂ 分解为 O₂ 和 H₂O,排除生物体内的 H₂O₂,从而保护细胞避免受到 H₂O₂ 的损伤,是生物体内抗氧化防御系统的重要组成部分^[25-26]。CAT 活性也经常被用作监测环境污染物的生物标志物。研究表明,较低浓度的污染物对 CAT 产生诱导激活作用,可增强机体消除活性氧自由基的能力,高浓度污染物对 CAT 产生抑制是污染物对生物体的作用超过机体的适应能力而产生的中毒反应的前兆^[27];低浓度 BDE-47 可诱导黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium* Burdsall) 细胞内 CAT 活性的升高^[28]。本实验结果表明,5 ng·L⁻¹浓度组中 CAT 活性无显

著变化,说明环境浓度 BDE-47 和 BDE-153 不会对半滑舌鳎 CAT 活性产生显著影响;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 CAT 活性先短暂升高后显著降低,说明短暂的 PB-

DEs 胁迫刺激了机体的抗氧化系统,使其发挥功能从而清除体内的 H₂O₂,但由于长时间的暴露,抗氧化系统受到了严重损伤,使其 CAT 活性无法恢复。

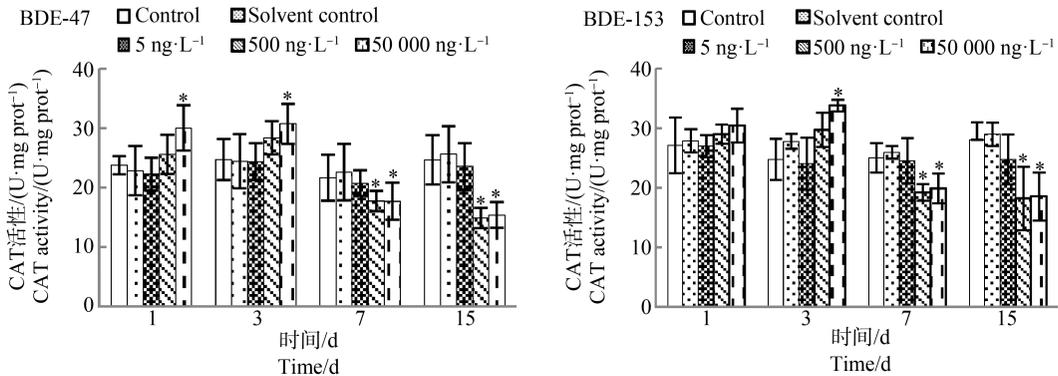


图3 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响 ($n=3$)

注: *表示显著性差异, $P < 0.05$ 。

Fig. 3 Effects of BDE-47 and BDE-153 on catalase (CAT) activity in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther ($n=3$)

Note: * indicates significant differences, $P < 0.05$.

2.4 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 MDA 含量的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 MDA 含量的影响如图 4 所示。空白对照组半滑舌鳎肝脏 MDA 含量基本保持不变,溶剂对照组的 MDA 含量基本保持不变,与空白对照组无显著差异。在 BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 MDA 含量与对照组无显著差异;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量先升高后逐渐降低,在 1 d 时达到 8.6 nmol·mg prot⁻¹,显著高于对照组,后逐渐降低,在 15 d 时与对照组无显著差异;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量与对照组相比显著升高,在 1 d 达到对照组含量的 2 倍,后在 15 d 中逐渐降低,但都显著高于对照组。在 BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 MDA 含量与对照组无显著差异;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量先升高后逐渐降低,在 1 d 时达到 7.99 nmol·mg prot⁻¹,显著高于对照组,后逐渐降低,在 15 d 恢复至对照组水平;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量显著升高,在 1 d 达到 12.23 nmol·mg prot⁻¹,后在 15 d 中逐渐降低,但均显著高于对照组。

MDA 含量是反映机体抗氧化潜在能力的重要参数,可以反映机体脂质过氧化速率和强度,也能间接反映组织过氧化损伤程度^[29]。已有研究发现,暴露于 BDE-47 的太平洋真宽水蚤 (*Eurytemora pacifica*) 和日本虎斑猛水蚤 (*Tigriopus japonicus* Mori) 的

MDA 含量随其浓度的升高而增加^[30];暴露于 BDE-47 的剑尾鱼肝脏 MDA 含量随浓度升高而增加^[31];暴露于 BDE-209 的双叶杜鹃叶片的 MDA 随其浓度升高而增加^[32]。本实验结果表明,5 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量无显著变化,说明环境浓度 BDE-47 和 BDE-153 不会对半滑舌鳎 MDA 产生显著影响;500 ng·L⁻¹ 浓度组中 MDA 含量迅速升高,说明肝脏中抗氧化系统已不足以消除过量的自由基,肝脏受到损伤,导致 MDA 在肝脏中积累,含量迅速增加,但随着暴露时间的延长,体内的抗氧化系统被激活,MDA 被逐渐清除,使得其含量降低到正常水平,但 MDA 含量在高浓度组中暴露 15 d 时仍显著高于对照组 ($P < 0.05$),其原因可能是由于长时间的高浓度暴露,使其体内抗氧化系统的解毒能力受损,导致 MDA 在肝脏中积累而无法清除。

2.5 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 ER 含量的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 ER 含量的影响如图 5 所示。空白对照组半滑舌鳎肝脏 ER 含量基本保持不变,溶剂对照组的 ER 含量基本保持不变,与空白对照组无显著差异。在 BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 ER 含量在 15 d 内无显著变化,1 d 中不同浓度组 ER 含量相差不大;随时间增长,500 ng·L⁻¹ 浓度组中 ER 含量逐渐升高,在 3 d 后显著高于对照组;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 ER 含

量从1 d开始随时间逐渐升高,且显著高于对照组。在 BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 ER 含量在 15 d 内无显著变化,1 d 中不同浓度组 ER 含量相差不大,但随时间增长,500 ng·L⁻¹ 浓度组中 ER 含量逐渐升高,在 7 d 以后与对照组有显著差异;50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 ER 含量从 3 d 开始与对照组有显著差异。

ER 主要有 2 种亚型,可通过参与雌性脊椎动物

中性腺组织基因的表达与调控,从而进一步影响雌性的第二性征、繁殖周期、生殖力及妊娠^[33]。ER 选择性激活剂注射实验证明,ER 可以反馈抑制促性腺激素的表达^[34]。目前,已有研究发现,BDE-47 可以干扰细胞内 ER 从而影响雌激素相关基因的表达,产生内分泌毒性^[35];Dang 等^[36]也发现,BDE-47 暴露可降低猪卵巢滤泡细胞中 ER,从而加强了雌激素对卵巢的刺激作用,干扰动物性激素的作用。

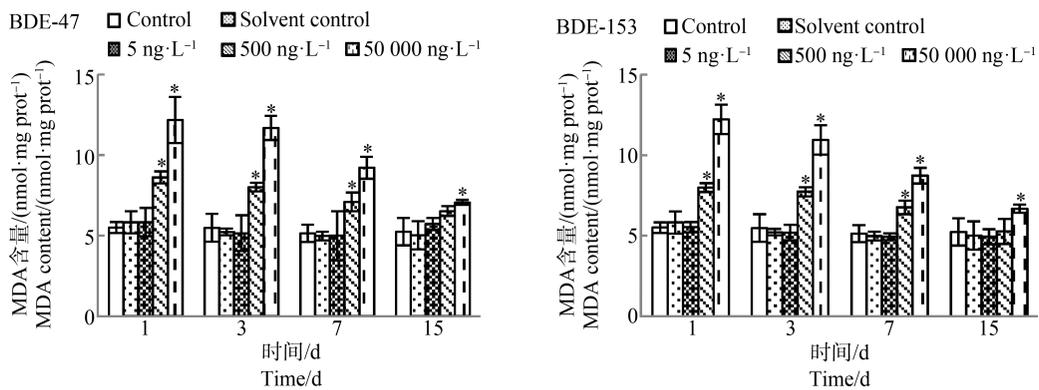


图4 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鲷肝脏丙二醛 (MDA) 含量的影响 (n=3)

注: *表示显著性差异, P 0.05。

Fig. 4 Effects of BDE-47 and BDE-153 on the content of malondialdehyde (MDA) in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther (n=3)

Note: * indicates significant differences, P 0.05.

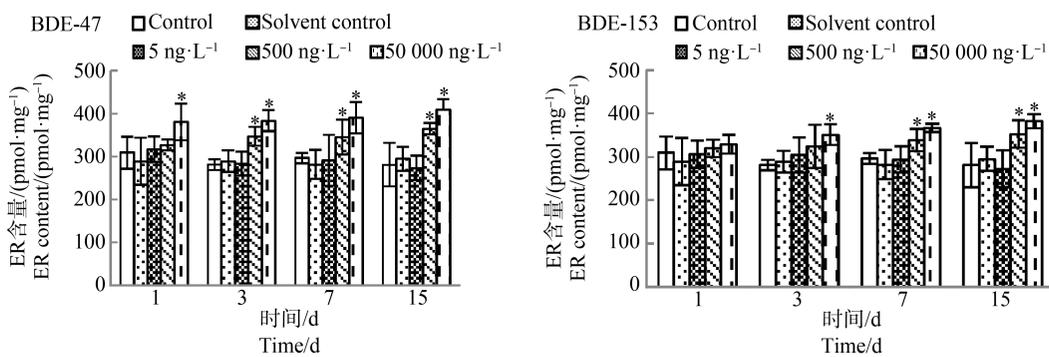


图5 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鲷肝脏雌激素受体 (ER) 含量的影响 (n=3)

注: *表示显著性差异, P 0.05。

Fig. 5 Effects of BDE-47 and BDE-153 on the content of estrogen receptor (ER) in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther (n=3)

Note: * indicates significant differences, P 0.05.

2.6 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鲷肝脏 EROD 活性的影响

BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鲷肝脏 EROD 活性的影响如图 6 所示。空白对照组半滑舌鲷肝脏 EROD 活性基本保持不变,溶剂对照组的 EROD 活

性基本保持不变,与空白对照组无显著差异。在 BDE-47 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 EROD 活性在 15 d 内无显著变化,1 d 中不同浓度组 EROD 活性相差不大,但随时间增长,500 ng·L⁻¹ 和 50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 EROD 活性逐渐升高,在 7 d 时到达峰值,后

在 15 d 时略有降低,均与对照组有显著差异。在 BDE-153 暴露下,5 ng·L⁻¹ 浓度组 EROD 活性在 15 d 内无显著变化,1 d 中不同浓度组 EROD 活性相差不大,但随时间增长,500 ng·L⁻¹ 和 50 000 ng·L⁻¹ 浓度组中 EROD 活性逐渐升高,在 7 d 时到达峰值,后在 15 d 时略有降低,但均与对照组有显著差异。

海洋鱼类混合功能氧化酶的典型反应为包括芳烃羟化酶和 EROD 的反应,其中,EROD 的反应更具代表性。在正常环境中,生物体内混合功能氧化酶的活性相对较低,但在外来某些特定的化学污染物的诱导下,它的活性异常增高^[37]。结果表明,5 ng

·L⁻¹ 浓度组 EROD 活性无显著变化,说明环境浓度剂量下的 BDE-47 和 BDE-153 不会对半滑舌鳎 EROD 活性产生显著影响;500 ng·L⁻¹ 和 50 000 ng·L⁻¹ 浓度组 EROD 活性都随暴露时间的增长而不断升高。目前,有研究表明,PBDEs 对生物体内的 EROD 活性有影响,如 McDonald^[38] 在研究 BDE-71 对雄性大鼠(*Rattus norvegicus*)的毒性效应时,发现大鼠体内 EROD 活性增加。Eggens 等^[39] 在研究红鲷鱼(*Limanda limanda*)体内的 EROD 活性时发现,鱼体肝脏内多氯联苯(PCB-28)的浓度与 EROD 活性存在良好的正相关关系。

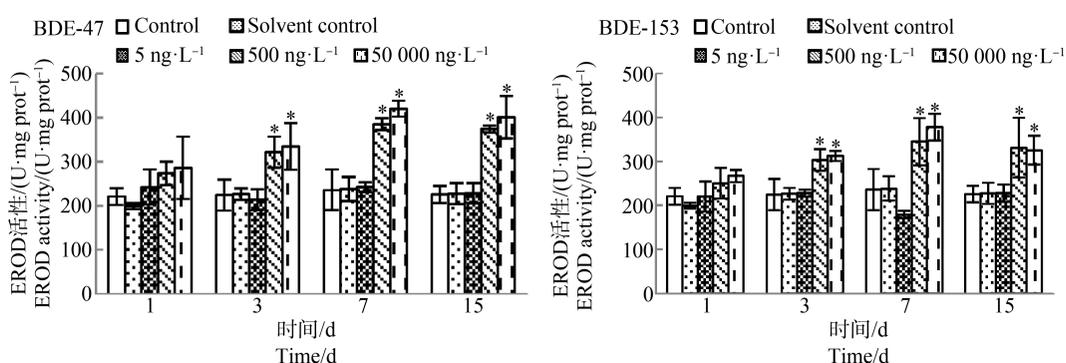


图6 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎肝脏 7-乙氧基-3-异吩唑酮脱乙酰基酶 (EROD) 活性的影响 ($n=3$)

注: *表示显著性差异, $P < 0.05$ 。

Fig. 6 Effects of BDE-47 and BDE-153 on 7-ethoxyresorufin-o-deethylase (EROD) activity in liver of *Cynoglossus semilaevis* Gunther ($n=3$)

Note: * indicates significant difference, $P < 0.05$.

2.7 IBR 分析

由于各种酶活性在污染胁迫下,既有抑制,又有诱导,而且各种酶在生物毒性暴露响应中具有不同步性,表明不同的酶对污染物刺激的敏感程度有所差异,所以单一的酶活性不能很好地定量评价污染状况。应该将各种酶以及其他的生物标志物结合起来,运用 IBR 指数消除随机误差和变化,才能准确客观地评估海洋环境的污染状况^[40-41]。IBR 值越大,表明生物受到的影响越大^[42]。本文选择 SOD、CAT、GSH-Px、MDA、ER 和 EROD 这 6 个指标进行整合,进行 IBR 分析。BDE-47 和 BDE-153 暴露 15 d 时半滑舌鳎肝脏的星状图及 IBR 值如图 7 所示, BDE-47 和 BDE-153 的 IBR 值呈现出显著的剂量效应,浓度越高,IBR 值越大,表明 BDE-47 和 BDE-153 对半滑舌鳎生物体产生的毒性越大。另外,不同浓度 BDE-47 的 IBR 值均大于 BDE-153 组,这表

明低溴代的 BDE-47 的毒性要高于高溴代的 BDE-153。谢嘉^[43] 运用 IBR 模型评估 BDE-47 对牡蛎 (*Ostrea gigas thunberg*) 的复合毒性效应,发现不同站位的长牡蛎组织中,生物标志物的响应值存在较大的空间差异。Kim 等^[44] 运用 IBR 模型评估全氟辛酸磺酸和全氟辛酸对鱼类的毒性效应,发现全氟辛酸磺酸的毒性效应要高于全氟辛酸。Zheng 等^[44] 运用 IBR 对污染物进行毒性效应比较,发现邻苯二甲酸二环己基酯毒性最大,邻苯二甲酸二乙酯毒性最小。Xie 等^[45] 研究了 BDE-209 及其与 BDE-47 和 BDE-99 的混合物对金鱼 (*Carassius auratus*) 的毒性效应,并测定了暴露 4 d 后的 SOD 等酶活生物标志物,运用 IBR 模型将多个生物标志物进行整合计算,用于定量评估不同 PBDEs 同系物的毒性效应: BDE-47>BDE-99>BDE-209。综上所述,IBR 模型能够有效地对 PBDEs 的海洋环境风险进行科学评价。

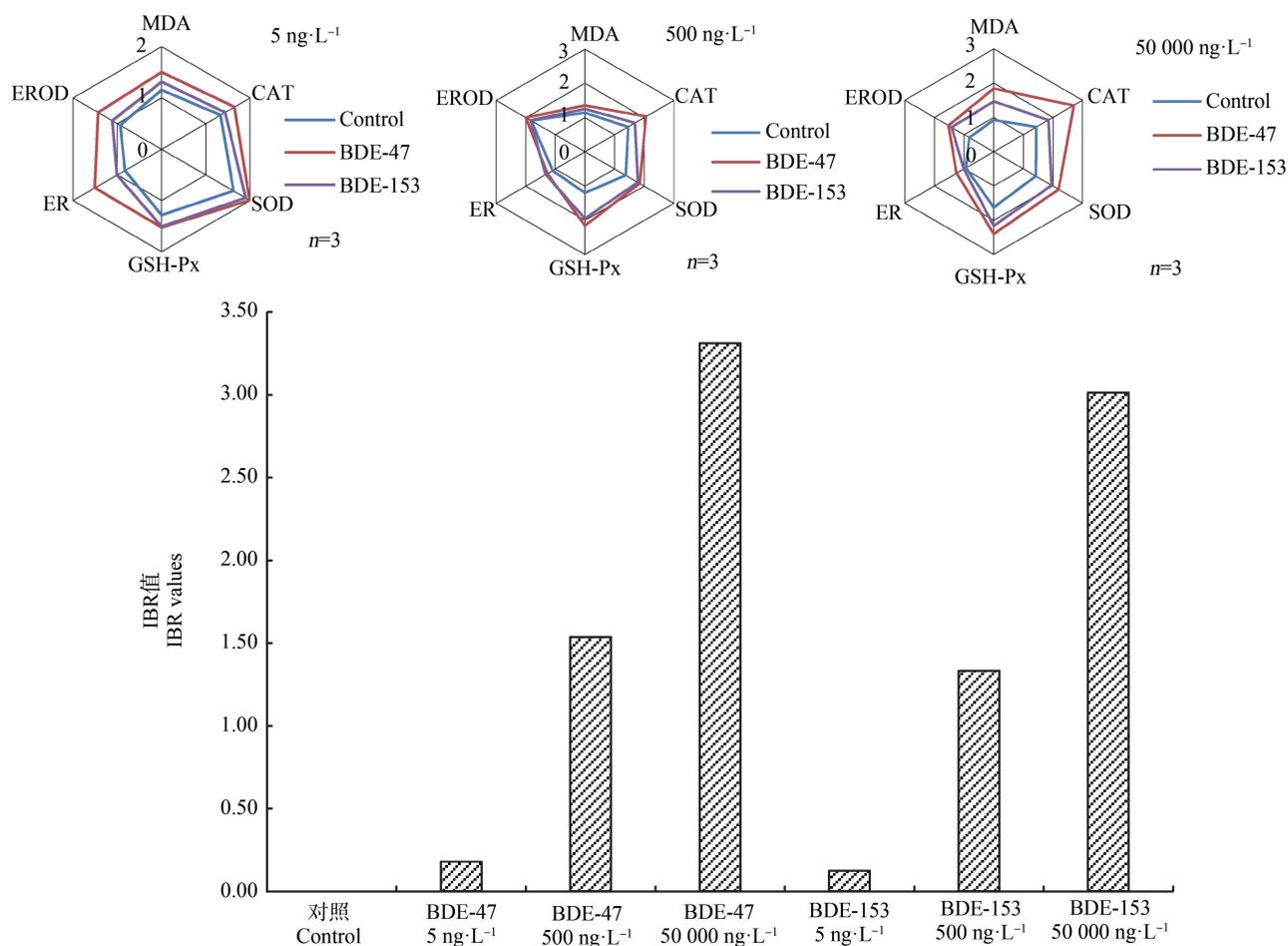


图7 BDE-47和BDE-153暴露下半滑舌鲷的综合生物标志物响应指数(IBR)星状图和数值

Fig. 7 The integrated biomarker response (IBR) star-shaped diagram and values of *Cynoglossus semilaevis* Gunther after exposure to BDE-47 or BDE-153

通讯作者简介:夏斌(1981—),男,博士,副研究员,主要研究方向为海洋生态毒理学。

参考文献(References):

- [1] Hooper K, McDonald T A. The PBDEs: An emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs [J]. Environmental Health Perspectives, 2000, 108(5): 387-392
- [2] Martin M, Lam P K S, Richardson B J. An Asian quandary: Where have all of the PBDEs gone [J]. Marine Pollution Bulletin, 2004, 49(5-6): 375-382
- [3] Wang Y, Jiang G, Lam P K S, et al. Polybrominated diphenyl ether in the East Asian environment: A critical review [J]. Environment International, 2007, 33(7): 963-973
- [4] 周明莹, 张惠珍, 夏斌, 等. 多溴联苯醚在胶州湾养殖水域含量水平与分布[J]. 海洋环境科学, 2010, 29(6): 884-888
- Zhou M Y, Zhang H Z, Xia B, et al. Residue levels and

distribution character of PBDEs in aquaculture zone of Jiaozhou Bay [J]. Marine Environmental Science, 2010, 29(6): 884-888 (in Chinese)

- [5] Wurl O, Lam P K S, Obbard J P. Occurrence and distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the dissolved and suspended phases of the sea-surface microlayer and seawater in Hong Kong, China [J]. Chemosphere, 2006, 65(9): 1660-1666
- [6] Del R D, Stewart A J, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress [J]. Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2005, 15(4): 316-328
- [7] Branchi I, Capone F, Vitalone A, et al. Early developmental exposure to BDE 99 or Aroclor 1254 affects neurobehavioural profile: Interference from the administration route [J]. Neurotoxicology, 2005, 26(2): 183-192
- [8] Feng M, Qu R, Wang C, et al. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to six

- current-use brominated flame retardants: A combined experimental and theoretical study [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 140-141: 314-323
- [9] Zhang K, Wan Y, Giesy J P, et al. Tissue concentrations of polybrominated compounds in Chinese sturgeon: Origin, hepatic sequestration, and maternal transfer [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44 (15): 5781-5786
- [10] Voorspoels S, Covaci A, Neels H, et al. Dietary PBDE intake: A market-basket study in Belgium [J]. *Environment International*, 2007, 33(1): 93-97
- [11] Routti H, Letcher R J, Chu S, et al. Polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated analogues in ringed seals from Svalbard and the Baltic Sea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(10): 3494-3499
- [12] 赵静. 多溴联苯醚对鱼类毒性效应的研究进展[J]. 上海第二工业大学学报, 2015, 32: 177-184
Zhao J. Advances in toxic effects of polybrominated diphenyl ethers on fish [J]. *Journal of Shanghai Second University of Technology*, 2015, 32: 177-184 (in Chinese)
- [13] Usenko C Y, Robinson E M, Usenko S, et al. PBDE developmental effects on embryonic zebrafish [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30 (8): 1865-1872
- [14] Zheng Q, Feng M, Dai Y. Comparative antioxidant responses in liver of *Carassius auratus* exposed to phthalates: An integrated biomarker approach [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 36 (3): 741-749
- [15] Xia B, Chen B, Sun X, et al. Toxicological effects of crude oil: Integrated biomarker responses in the hepatopancreas of clam *Ruditapes philippinarum* [J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2014, 26(12): 3631-3638
- [16] Stapleton H M, Baker J E. Comparing polybrominated diphenyl ether and polychlorinated biphenyl bioaccumulation in a food web in Grand Traverse Bay, Lake Michigan [J]. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*, 2003, 45(2): 227-234
- [17] Kim J H, Kim W K. Use of the integrated biomarker response to measure the effect of short-term exposure to dibenz[*a,h*]anthracene in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 2016, 96(4): 496-501
- [18] Ji K, Choi K, Giesy J P, et al. Genotoxicity of several polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hydroxylated PBDEs, and their mechanisms of toxicity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(11): 5003-5008
- [19] 张鼎元, 曹潇, 郭春阳, 等. 乙酸铜对银鲳幼鱼急性毒性及抗氧化酶活性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11 (4): 221-276
- Zhang D Y, Cao X, Guo C Y, et al. Effects of copper acetate on acute toxicity and antioxidant enzyme activity of juvenile silver pomfret [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(4): 221-276 (in Chinese)
- [20] 王辅明, 朱祥伟, 马永鹏, 等. 低浓度五氯酚暴露对稀有鮰体内 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 pentachlorophenol exposure on SOD activity, GSH and HSP70 content in rare goosefish [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(3): 415-421 (in Chinese)
- [21] 周科, 马陶武, 朱程, 等. 2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)污染沉积物对铜锈环棱螺肝脏的 SOD、CAT 和 EROD 活性的影响[J]. *环境科学学报*, 2010, 30 (8): 1666-1673
- Zhou K, Ma T W, Zhu C, et al. 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) sediments *Bellamya aeruginosa* hepatopancreas oxidative stress 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(8): 1666-1673 (in Chinese)
- [22] 吴伟, 聂凤琴, 瞿建宏, 等. 2,2',4,4'-四溴联苯醚对鲫鱼离体肝脏组织的氧化胁迫[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(5): 1005-1009
- Wu W, Nie F Q, Qu J H, et al. Oxidative stress of 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ether on isolated liver tissue of crucian carp [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(5): 1005-1009 (in Chinese)
- [23] 郑清川, 吕绍武, 赵勇山, 等. GSH 对两种谷胱甘肽过氧化物酶模拟物活性影响的研究[J]. *高等学校化学学报*, 2008, 29(12): 2337-2340
- Zheng Q C, Lv S W, Zhao Y S, et al. Effects of GSH on the activities of two glutathione peroxidase mimics [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2008, 29(12): 2337-2340 (in Chinese)
- [24] 马森. 谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶研究进展[J]. *动物医学进展*, 2008, 29(10): 53-56
- Ma S. Research progress of glutathione peroxidase and glutathione transsulfur enzyme [J]. *Advances in Animal Medicine*, 2008, 29(10): 53-56 (in Chinese)
- [25] Solé M. Assessment of the results of chemical analyses combined with the biological effects of organic pollution on mussels [J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2000, 19 (1): 1-9
- [26] Solé M, Porte C, Albaigés J. The use of biomarker for assessing the effects of organic pollution in mussels [J]. *Sci-*

- ence of the Total Environment, 1995, 159(2-3): 147-153
- [27] 沙婧婧, 王悠, 王鸿, 等. 2种多溴联苯醚(BDE-47、BDE-209)对褶皱臂尾轮虫单一和联合毒性效应研究[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2015, 46(9): 69-77
Sha J J, Wang Y, Wang H, et al. Single and combined toxicity effects of two polybrominated diphenyl ethers (BDE-47 and BDE-209) on *Brachionus plicata* [J]. Journal of Ocean University of China: Natural Science Edition, 2015, 46(9): 69-77 (in Chinese)
- [28] Feng M, Yin H, Cao Y J, et al. Cadmium-induced stress response of *Phanerochaete chrysosporium* during the biodegradation of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 154: 45-51
- [29] Darnerud P O, Wong J, Bergman A, et al. Common viral infection affects pentabrominated diphenyl ether (PBDE) distribution and metabolic and hormonal activities in mice [J]. Toxicology, 2005, 210(2): 159-167
- [30] 徐风风, 朱丽岩, 巩文静, 等. 四溴联苯醚(BDE-47)对两种海洋桡足类动物的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(5): 737-747
Xu F F, Zhu L Y, Gong W J, et al. Toxic effects of tetrabrominated diphenyl ether (BDE-47) on two marine copepods [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(5): 737-747 (in Chinese)
- [31] 范灿鹏, 王奇, 刘昕宇, 等. 四溴联苯醚对剑尾鱼毒性及其抗氧化系统的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(3): 642-648
Fan C P, Wang Q, Liu X Y, et al. Effects of tetrabrominated diphenyl ether on toxicity and antioxidant system of swordtail [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31(3): 642-648 (in Chinese)
- [32] Farzana S, Tam N F Y. A combined effect of polybrominated diphenyl ether and aquaculture effluent on growth and antioxidative response of mangrove plants [J]. Chemosphere, 2018, 201: 483-491
- [33] 郭军, 章双杰, 汤青萍. 雌激素受体在垂体中的作用[J]. 生命科学, 2011, 23(10): 28-53
Guo J, Zhang S J, Tang Q P. The role of estrogen receptor in pituitary [J]. Life Sciences, 2011, 23(10): 28-53 (in Chinese)
- [34] Macaulay L J, Chen A, Rock K D, et al. Developmental toxicity of the PBDE metabolite 6-OH-BDE-47 in zebrafish and the potential role of thyroid receptor β [J]. Aquatic Toxicology, 2015, 168(2): 38-47
- [35] 肖悦, 张建清, 蒋友胜, 等. 2,2',4,4'-四溴联苯醚对视黄醛受体和雌激素受体的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2016, 28(3): 161-168
Xiao Y, Zhang J Q, Jiang Y S, et al. Effects of 2,2',4,4'-tetra polybrominated diphenyl ether on retinoid receptor and estrogen receptor [J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2016, 28(3): 161-168 (in Chinese)
- [36] Dang V H, Choi K C, Jeung E B. Tetrabromodiphenyl ether (BDE 47) evokes estrogenicity and calbindin-d9k expression through an estrogen receptor-mediated pathway in the uterus of immature rats [J]. Toxicological Sciences, 2007, 97(2): 504-511
- [37] Galgani F, Bocquene G, Truquet P, et al. Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the French coasts [J]. Oceanologica Acta, 1992, 15(4): 355-364
- [38] McDonald T A. A perspective on the potential risks of PBDEs [J]. Chemosphere, 2002, 46: 745-755
- [39] Eggens M, Galgani F, Klungsoyr J, et al. Hepatic EROD activity in dab *Limanda limanda* in the German Bight using an improved plate-reader method [J]. Marine Ecology Progress Series, 1992, 91(1-3): 71-75
- [40] Beliaeff B, Burgeot T. Integrated biomarker response: A useful tool for ecological risk assessment [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2010, 21(6): 1316-1322
- [41] Lu G H, Yang X F, Li Z H, et al. Contamination by metals and pharmaceuticals in northern Taihu Lake (China) and its relation to integrated biomarker response in fish [J]. Ecotoxicology, 2013, 22: 50-59
- [42] Wang C, Lu G H, Wang P F, et al. Assessment of environmental pollution of Taihu Lake by combining active biomonitoring and integrated biomarker response [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(8): 3746-3752
- [43] 谢嘉. 典型重金属(Cd^{2+} 、 Pb^{2+})和有机污染物(BaP、BDE-47)对长牡蛎的复合毒性效应研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2017: 170
Xie J. The combined toxicity effects of typical heavy metals (Cd^{2+} , Pb^{2+}) and organic pollutants (BaP, BDE-47) on oysters [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2017: 170 (in Chinese)
- [44] Kim W K, Lee S K, Jung J. Integrated assessment of biomarker responses in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to perfluorinated organic compounds [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 180(1-3): 395-400
- [45] Xie Z, Lu G, Qi P. Effects of BDE-209 and its mixtures with BDE-47 and BDE-99 on multiple biomarkers in *Carassius auratus* [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, 38(2): 554-561