

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20240119003

张瑛, 陈晓倩, 杨婧. 三氯生和三氯卡班对稀有鮕鲫长期暴露及不同发育阶段毒性效应的研究[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(3): 319-330

Zhang Y, Chen X Q, Yang J. Toxic effects of triclosan and triclocarban on *Gobiocypris rarus* at various developmental stages during long-term exposure [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(3): 319-330 (in Chinese)

三氯生和三氯卡班对稀有鮕鲫长期暴露及不同发育阶段毒性效应的研究

张瑛, 陈晓倩*, 杨婧

上海市检测中心, 上海 201203

收稿日期: 2024-01-19 录用日期: 2024-03-18

摘要: 三氯生(triclosan, TCS)和三氯卡班(triclocarban, TCC)是2种高效广谱抗菌剂,均具有胚胎毒性、内分泌干扰性和生殖毒性,并可能引发癌症、DNA损伤和不良妊娠结局等,是目前一类广泛关注的新污染物。美国食品与药品监督管理局(US FDA)于2016年已禁止含有TCS和TCC等抑菌剂的非处方抗菌洗浴产品进入市场,而目前我国其为化妆品准用防腐剂,允许限量使用,且皂类产品不在限制范围内。TCS和TCC作为新兴的外源性化学污染物能够随生活污水的排放进入自然环境,对我国本土水生生物、生态安全和人身健康构成了潜在威胁。为探究TCS和TCC对我国本土鱼种稀有鮕鲫(*Gobiocypris rarus*)长期暴露及4个不同发育阶段(胚胎期、卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段)的毒性效应,本研究将稀有鮕鲫的受精卵暴露于TCS和TCC中,直至孵化后60 d(60 days post hatch, 60 dph),试验过程中监测胚胎期的孵化率,卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段的成活率,长期暴露过程中的生长情况、性分化及内分泌干扰效应等多个指标。研究结果显示,在胚胎期,6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS和0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC对稀有鮕鲫的胚胎孵化率没有显著的毒性效应。在仔鱼阶段,6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS和0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组30 dph成活率的最高无可观察效应浓度分别为100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和0.938 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,根据我国国家标准,TCC对水生环境的危害可判定为长期慢性类别1,而TCS由于试验中的最高浓度未达到1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,无法作出明确的判断,但能判断其对水生环境的危害为非长期慢性类别1。在幼鱼阶段,6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS和0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC均对雌性及雄性稀有鮕鲫体内卵黄蛋白原具有一定的诱导作用,但在性分化上没有显著影响。在胚后发育过程中,通过长期暴露,6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS对稀有鮕鲫体质量有显著毒性效应,随TCS浓度的升高,稀有鮕鲫体质量逐渐降低,TCS对稀有鮕鲫体质量具有抑制作用;0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC对稀有鮕鲫体质量及体长等生长均无显著影响。此外,研究发现稀有鮕鲫在不同发育阶段的毒性效应存在差异,稀有鮕鲫胚胎期的耐受能力明显高于胚后发育阶段,卵黄囊吸收阶段及仔鱼阶段的耐受能力低于幼鱼阶段。可见,当更多的生命阶段被包括在一个测试中,能够通过较少的试验动物,获得较多的毒性终点,且测试中不同生命阶段的毒性效应来自同一批试验动物,使不同生命阶段的试验结果更具可比性。

关键词: 三氯生;三氯卡班;稀有鮕鲫;毒性效应;长期暴露;不同发育阶段

文章编号: 1673-5897(2024)3-319-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Toxic Effects of Triclosan and Triclocarban on *Gobiocypris rarus* at Various Developmental Stages during Long-term Exposure

Zhang Ying, Chen Xiaoqian*, Yang Jing

Shanghai Academy of Public Measurement, Shanghai 201203, China

Received 19 January 2024 accepted 18 March 2024

基金项目: 国家重点研发计划课题(2023YFC3905305)

第一作者: 张瑛(1986—),女,学士,研究方向为生态毒理学, E-mail: zhangy@apm.sh.cn

* 通信作者(Corresponding author), E-mail: chenxq@apm.sh.cn

Abstract: Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) are two highly effective broad-spectrum antimicrobial agents having embryo toxicity, endocrine disruption, and reproductive toxicity. These two chemicals are presently emerging pollutants of wide concerns and may cause cancer, DNA damage, and adverse pregnancy outcomes. In 2016, the US Food and Drug Administration (US FDA) has banned market entry of the over-the-counter antibacterial bath products containing antibacterial agents such as TCS and TCC. In China, however, TCS and TCC are still allowed to be used in a limited quantity as quasi-preservatives for cosmetics, and are not restricted for soap products. As emerging exogenous chemical pollutants, TCS and TCC can enter the natural environment with domestic wastewater and pose potential threats to local aquatic lives, ecological security and human health. In order to investigate the toxic effects of TCS and TCC on the long-term exposure and four different developmental stages (i.e., embryo, yolk sac absorption, larval, and juvenile stages) of the Chinese native fish species of *Gobiocypris rarus* (GR), the fertilized eggs of GR were exposed to TCS and TCC until 60 days post hatching (60 dph) in this study. The results showed that TCS and TCC in the ranges of 6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, had no significant toxic effects on the embryo hatchability of GR. In the larval stage, the no observed effect concentration (NOEC) of the 30 dph survival rate in the exposure groups of 6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ TCS and 0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ TCC were 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 0.938 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. According to the national standards of China, the hazards of TCC to the aquatic environment were classified as long-term chronic category 1. In contrast, it is impossible to make a clear judgment for TCS because its maximum testing concentration did not reach 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, but the hazards of TCS to the aquatic environment can be judged as the non-long-term chronic category 1. At the juvenile stage, TCS (6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and TCC (0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) could induce vitellogenin in both females and males of GR, but did not affect sexual differentiation. During the postembryonic development, TCS of 6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ could significantly affect the fish body weight, which gradually decreased with increasing TCS concentration, indicating that TCS could inhibit the body weight of GR. TCC of 0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ had no significant effect on the fish body weight and body length. In addition, it was found that the toxic effects on the different developmental stages of GR were different. The tolerance of GR at embryonic stage was significantly higher than that at postembryonic development stage, while the tolerance at yolk sac absorption stage and larvae stage was lower than that at the juvenile stage. Therefore, when more of these life stages are included in a test, more toxicity endpoints can be obtained by fewer test animals. Moreover, the toxic effects of different life stages in the tests are all from the same batch of the test animals, making the test results of different life stages more comparable.

Keywords: triclosan; triclocarban; *Gobiocypris rarus*; toxic effects; long-term exposure; different developmental stages

药物与个人护理品 (pharmaceuticals, personal care products, PPCPs) 在人们日常生活中大量使用, 三氯生(triclosan, TCS)和三氯卡班(triclocarban, TCC) 是2种高效广谱抗菌剂, 已被广泛应用于纺织品、清洁剂、洗衣粉、洗手液、除臭剂、皮肤护理品、牙膏和伤口消毒剂等各类产品中, 具有杀菌、抑菌和除臭等有益效果。但有研究发现, TCS和TCC均具有胚胎毒性^[1-4]、内分泌干扰性^[5-10]和生殖毒性^[11-12], 并可能会引发癌症^[13-14]、DNA损伤^[15]和不良妊娠结局^[16-19]等, 且在环境中具有持久性, 是一类广泛关注的新污染物。美国食品与药品监督管理局(US FDA)于

2016年已禁止含有TCS和TCC等抑菌剂的非处方抗菌洗浴产品进入市场, 产品种类包括液体、泡沫和凝胶洗手液、肥皂以及沐浴液等。而目前, 在我国、欧盟、日本、俄罗斯等世界各国/地区市场, TCS和TCC是允许使用的。在我国, 根据《化妆品安全技术规范》(2015版)的要求, 将TCS和TCC列为化妆品准用防腐剂, 允许限量使用, TCS和TCC允许使用的最大浓度分别为0.30%和0.20%。但皂类产品在卫生许可证审批中, 既不属于“妆字号”(卫妆准字), 也不属于“消字号”(卫消证字), 不在限制范围内。而TCC和TCS作为新兴的外源性化学污染物

能够随生活污水的排放进入自然环境,在我国辽河、海河、黄河、珠江、东江、长江、九龙江、香港的河流及海水等多个流域水体和沉积物中被频繁检出,TCS和TCC在水体中的浓度分别为 $1.51 \sim 1\,023 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.299 \sim 423.448 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[20-25],对我国本土水生生物、生态安全和人身健康构成了潜在威胁。

因此,开展TCS和TCC对我国本土水生生物的毒性研究具有非常重要的实际意义。稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)是我国特有的一种鲤科小鱼,具有体形小、繁殖周期短、基因纯、周年繁殖、饲养方便等优点,在我国环境、鱼类遗传、鱼类病害等领域被广泛作为实验鱼类使用,其对环境污染物极其敏感,已被越来越多地应用于遗传学、环境科学、胚胎学、生态毒理学等诸多领域,现已成为我国化学品环境管理中的模式生物。稀有鮡鲫的生命阶段主要包括胚胎期、卵黄囊吸收阶段、仔鱼、幼鱼及成鱼阶段,其中前4个阶段为其发育阶段,通过长期暴露,可以发现有毒污染物对稀有鮡鲫不同发育阶段的毒性影响,并有助于获得污染物长期暴露的安全浓度。虽然稀有鮡鲫的生物学背景已较为完善,但其在慢性毒性和内分泌干扰等方面的研究尚未成熟,为进一步拓展该模式物种的应用还需作更进一步的研究,且目前尚未有关于TCS和TCC对稀有鮡鲫慢性毒性的相关研究。

此外,国际上,许多国家会考虑不同区域物种间存在的敏感性差异,在国际标准化组织(ISO)、经济合作与发展组织(OECD)等国际组织编制测试指南时,会提议将自己国家的本土物种作为推荐模式生物,以保护自己国家的生态环境安全。我国是化学品生产及进出口大国,在我国的化学品环境管理中,通过研究推出中国特有的受试生物,既能精准保护我国的生态环境安全,又可对欧美发达国家主导的化学品测试体系进行补充。

基于此,本研究利用TCS和TCC对稀有鮡鲫进行长期暴露,监测胚胎的孵化率、孵化后的成活率、生长情况及内分泌干扰效应等,探究了TCS和TCC对稀有鮡鲫长期暴露及4个不同发育阶段(胚胎期、卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段)的毒性效应,为利用稀有鮡鲫评价TCS和TCC生态毒性提供基础数据,同时为稀有鮡鲫在环境保护及化学品管理等领域的实际应用、为我国化学品管理和风险评估、为推动稀有鮡鲫的国际化储备技术力量,提供技术支撑。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 主要仪器与试剂

仪器:蔡司体式显微镜(Zeiss Lumar V12,美国);酶标仪(TECAN SPARK,瑞士);WTW多参数水质分析仪(WTW Multi 3430,德国);无线温湿度采集器(WASON WS-TH23G,中国);KIMO精密型照度仪(KIMO HQ 210,法国);微电脑总硬度浓度测定仪(HANNA HI96735,意大利);总有机碳分析仪(Jena Multi N/C 3100,德国);XS205DU电子分析天平(Mettler Toledo XS205DU,瑞士);AL204电子分析天平(Mettler Toledo AL204,瑞士);标准量尺(得力20 cm,中国);蠕动泵(MasterFlex 07550-50和07551-10型,德国)。

试剂:TCS(纯度99%,阿拉丁);TCC(纯度99%,Sigma);三卡因甲烷环酸盐(MS-222)(HPLC级,Sigma);二甲基亚砷(HPLC级,Sigma)。

试验用水:试验用水为经活性炭过滤、紫外灭菌的自来水,并在恒温储水箱中连续曝气至氧饱和,恒温 $(26\pm 1)^\circ\text{C}$ 。总有机碳含量 $< 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,硬度为 $100 \sim 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (以 CaCO_3 计),pH为 $6.5 \sim 8.5$,试验期间变化不超过1.5个单位。

1.2 受试生物

受试生物为稀有鮡鲫受精卵,其来源于40尾亲鱼(20尾雌鱼、20尾雄鱼)。其亲代稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)由上海市检测中心生物与安全检测实验室自行繁育,繁殖之前驯养14 d以上,驯养温度 $(23\pm 2)^\circ\text{C}$,光暗比为12 h:12 h,每日喂食2次,驯养用水同试验用水,溶解氧浓度 $> 80\%$ 空气饱和值。驯养期间未发现疾病和死亡现象。

1.3 三氯生和三氯卡班长期暴露对稀有鮡鲫的毒性测试

1.3.1 测试溶液配制

TCS:称取适量添加到一定体积的试验用水中,避光连续磁力搅拌24 h,配制浓度为 $1.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品母液。根据TCS对稀有鮡鲫96 h的 LC_{50} 值 $293 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26],试验设置3个暴露组,配制浓度分别为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,同时设置一个试验用水的空白对照组。

TCC:称取适量受试物添加到一定体积的助溶剂DMSO中,配制浓度为 9.38 、 37.5 和 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品母液。根据TCC对稀有鮡鲫96 h的 LC_{50} 值 $53 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26],试验设置3个暴露组,配制浓度分别为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,同时设置一个试验用水

的空白对照组和 DMSO 的溶剂对照组,溶剂的最终浓度不大于 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

样品母液通过蠕动泵与试验用水同时注入混匀器中,混匀后注入暴露容器,流速为 $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。在测试期间供试物的流速与稀释水的流速在整个测试中不超过 10% 的变化。

1.3.2 鱼卵收集及暴露

为避免遗传上存在偏差,试验开始时任意收集后混合鱼卵,试验开始前,在显微镜下选取健康有活力,且发育水平处于同一阶段的受精卵,在卵胚层分裂前,随机挑选置于 8 个 1 000 mL 容器中(其中 3 个容器装 TCS 各浓度组溶液,3 个容器装 TCC 各浓度组溶液,1 个装空白对照组溶液,1 个装溶剂对照组溶液),每个容器 150 粒受精卵。然后,从上述每个容器的 150 粒受精卵中随机选取 120 颗用于不同试验组,每个试验组 4 个平行,随机选取 30 粒卵分配至各试验组的每个平行试验容器中。试验周期为受精卵开始至空白对照组所有存活的受试卵孵化后 60 d(60 days post hatch, 60 dph)。

1.3.3 暴露条件

试验期间用流水的方式进行暴露,溶解氧浓度维持在空气饱和值的 60% 以上,温度维持在 $25 \sim 29 \text{ }^{\circ}\text{C}$,变化范围不超过 $\pm 1.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$,光暗比为 12 h:12 h,光照强度在 $540 \sim 1\,080 \text{ lx}$ 。

每日喂食 2 次,每次间隔 6 h。剩余的食物及鱼类排泄的粪便每天清理一次,避免废弃物的积累。实验结束 24 h 前停止饲喂。

1.3.4 测试及观察

试验期间,每日观察并记录胚胎死亡数量、鱼孵出数量、死亡数量和其他异常现象及行为,并及时清除死亡胚胎、幼鱼,避免感染其他的鱼。

试验结束时,对所有存活的鱼使用 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ MS-222 进行安乐死,用小鱼网把需要处理的鱼捞入麻醉剂中,直到鱼没有任何生理反应。将鱼进行安乐死后,测量每尾鱼的湿质量和长度,随后将每一尾鱼的头部和尾部切割分离,称重后冷冻储存,最后通过 ELISA 试剂盒定量分析 VTG 含量。

1.4 数据分析

采用软件 Toxcalc v5.0.32 对实验数据进行统计分析,通过假设检验法比较分析暴露组与对照组之间的差异,当 $P < 0.05$ 时,认为差异具有统计学意义;通过点估计法计算 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{50} 值及其 95% 的置信限。

2 结果(Results)

2.1 对稀有鮕鲫胚胎孵化率的影响

由图 1 分析可知,在胚胎期,空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的胚胎孵化率分别为 86.7% 和 88.3%, 6.25 、 25 和 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组胚胎孵化率分别为 84.2%、84.2% 和 85.0%, 0.938 、 3.75 和 $15 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组胚胎孵化率分别为 88.3%、85.0% 和 85.8%,空白对照组、溶剂对照组和各暴露组中未孵化的卵均呈乳白色。统计分析结果显示,溶剂对照组胚胎孵化率与空白对照组相比无

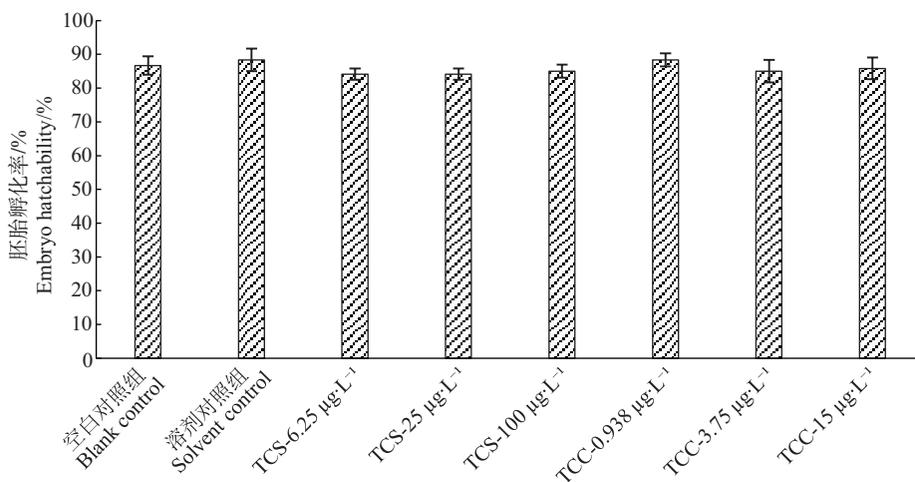


图 1 三氯生和三氯卡班对稀有鮕鲫胚胎孵化率的影响

注: TCS 表示三氯生, TCC 表示三氯卡班。

Fig. 1 Effects of triclosan and triclocarban on hatching rate of *Gobiocypris rarus*

Note: TCS stands for triclosan, and TCC stands for triclocarban.

统计学意义($P=0.47$),浓度为 $6.25 \sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组的胚胎孵化率与空白对照组相比无统计学意义($P=0.310$),浓度为 $0.938 \sim 15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组的胚胎孵化率与空白对照组相比无统计学意义($P=0.350$)。结果表明, $6.25 \sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组和 $0.938 \sim 15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组对稀有鮕鲫的胚胎孵化率没有显著的毒性效应。

2.2 对稀有鮕鲫胚后不同发育阶段成活率的影响

由图 2 分析可知,在卵黄囊吸收阶段(0 ~ 5 dph),空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的成活率分别下降了 4.77% 和 3.70%,浓度为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组分别下降了 4.92%、4.92% 和 2.00%,浓度为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组分别下降了 5.70%、14.6% 和 36.0%。

在仔鱼阶段(5 ~ 30 dph),与卵黄囊吸收阶段相比,空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的成活率分别下降了 0.926% 和 2.85%,浓度为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组分别下降了 2.96%、2.96% 和 0.962%,浓度为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组分别下降了 0.962%、17.7% 和 18.4%。

在幼鱼阶段(30 ~ 60 dph),与仔鱼阶段相比,空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的成活率分别下降了 0% 和 0.926%,浓度为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组分别下降了 1.00%、1.00% 和 0.962%,浓度为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组分别下降了 3.70%、4.00% 和 6.89%。

在胚后的暴露过程中(0 ~ 60 dph),空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的成活率分别为 94.3% 和 92.5%,浓度为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露

组成活率分别为 91.1%、91.1% 和 96.1%,浓度为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组成活率分别为 89.6%、63.7% 和 38.8%,空白对照组、溶剂对照组、TCS 暴露组和 $0.938 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组试验鱼均未出现异常现象及行为, $3.75 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组中有 2 尾试验鱼出现了身体失衡现象, $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组中有 6 尾试验鱼出现了身体失衡现象,有 1 尾试验鱼体色发白、脊柱侧弯。

统计分析结果显示,溶剂对照组 5 dph、30 dph 和 60 dph 的成活率与空白对照组相比无统计学意义($P=0.67$ 、 0.69 、 0.48); $6.25 \sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组 5 dph、30 dph 和 60 dph 成活率与空白对照组相比无统计学意义($P=0.325$ 、 0.125 、 0.0679),5 dph、30 dph 和 60 dph 的最高无可观察效应浓度(NOEC)均为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,最低可观察效应浓度(LOEC)均大于 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $3.75 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组 5 dph、30 dph 和 60 dph 的成活率与空白对照组相比存在显著差异($P=1.77 \times 10^{-10}$ 、 4.85×10^{-15} 、 1.18×10^{-13}),NOEC 和 LOEC 均为 $0.938 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $3.75 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,5 dph 的 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{50} 分别为 $3.49 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $2.30 \sim 5.42 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、 $8.37 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $5.85 \sim 10.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和 $>15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,30 dph 的 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{50} 分别为 $1.91 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $1.35 \sim 2.03 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、 $2.94 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $2.57 \sim 3.09 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和 $14.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,60 dph 的 LC_{10} 、 LC_{20} 和 LC_{50} 分别为 $1.54 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $0.905 \sim 1.94 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、 $2.55 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $2.00 \sim 3.06 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和 $11.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95% 置信限为 $9.87 \sim 13.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。结果表明, 6.25

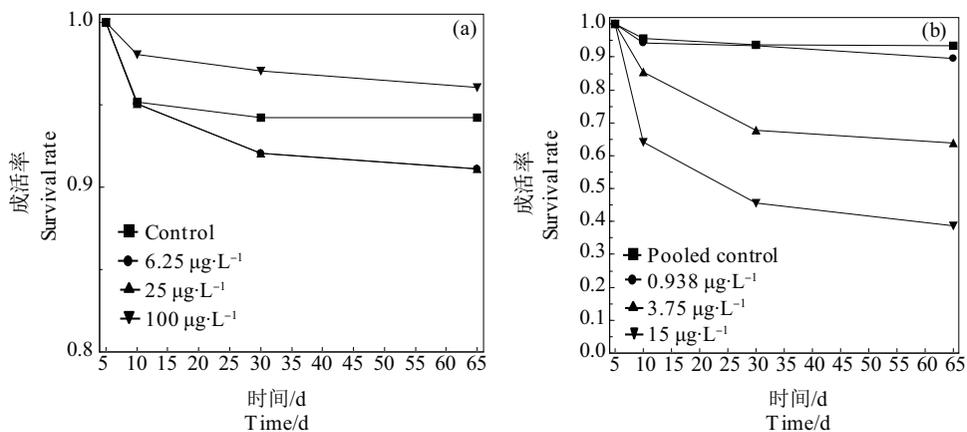


图 2 三氯生 (a) 和三氯卡班 (b) 对稀有鮕鲫成活率的影响

Fig. 2 Effects of triclosan (a) and triclocarban (b) on survival rate of *Gobiocypris rarus*

~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露组和0.938 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组对孵化后稀有鮕鲫无显著致死效应,3.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组对稀有鮕鲫具有显著死亡效应。

2.3 对稀有鮕鲫体质量及体长的影响

由图3分析可知,暴露试验结束时空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的平均体质量分别为96.40 mg和99.16 mg;浓度为6.25、25和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露组的平均体质量分别为87.71、86.07和74.04 mg;浓度为0.938、3.75和15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组的平均体质量分别为99.79、100.23和99.29 mg。统计分析结果显示,溶剂对照组体质量与空白对照组相比无统计学意义($P=0.12$);6.25、25和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露组体质量与空白对照组相比存在显著差异($P=7.37\times 10^{-8}$),NOEC和LOEC分别为<6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和6.25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组体质量与空白对照组及溶剂对照组相比无统计学意义($P=0.433$)。结果表明,6.25、25和

100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS对稀有鮕鲫的生长(体质量)具有一定影响,随TCS浓度的升高,稀有鮕鲫体质量逐渐降低;0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC对试验鱼的生长(体质量)无显著影响。

由图4分析可知,暴露试验结束时空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的平均体长分别为19.1 mm和18.5 mm,浓度为6.25、25和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露组的平均体长分别为18.8、19.5和19.5 mm,浓度为0.938、3.75和15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组的平均体长分别为18.7、18.9和18.4 mm。统计分析结果显示,溶剂对照组体长与空白对照组相比无统计学意义($P=0.25$),6.25、25和100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露组体长与空白对照组相比无统计学意义($P=0.285$),0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组体长与空白对照组及溶剂对照组相比无统计学意义($P=0.623$)。结果表明,6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS和0.938~15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC对稀有鮕鲫生长(体长)无显著影响。

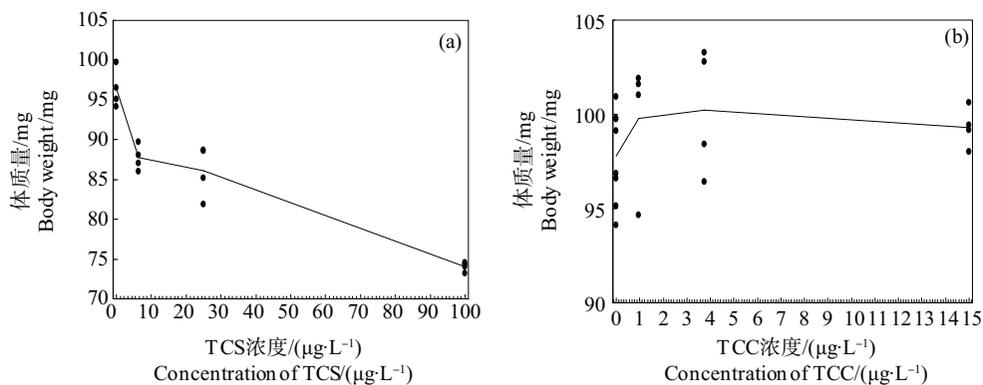


图3 三氯生(a)和三氯卡班(b)对稀有鮕鲫体质量的影响

Fig. 3 Effects of triclosan (a) and triclorcarban (b) on weight of *Gobiocypris rarus*

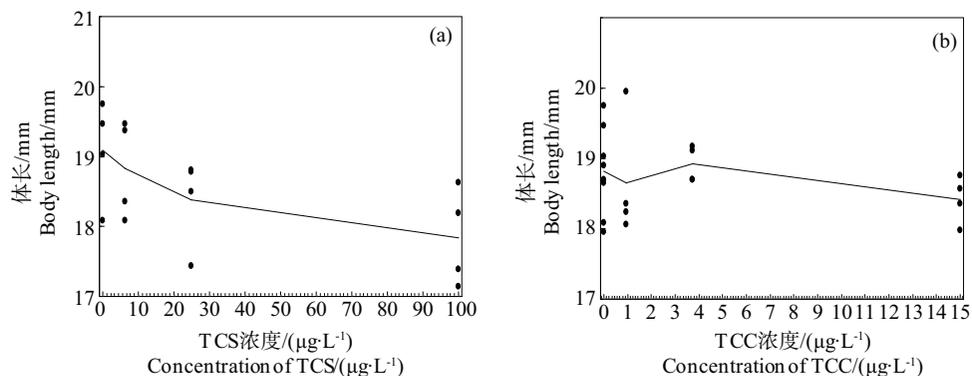


图4 三氯生(a)和三氯卡班(b)对稀有鮕鲫体长的影响

Fig. 4 Effects of triclosan (a) and triclorcarban (b) on length of *Gobiocypris rarus*

2.4 对稀有鮕鲫性别分化的影响

由图 5 分析可知,暴露试验结束时空白对照组和溶剂对照组稀有鮕鲫的雌雄比分别为 42:58 和 40:60,浓度为 6.25、25 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组稀有鮕鲫的雌雄比分别为 40:60、41:59 和 44:56,浓度为 0.938、3.75 和 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组稀有鮕鲫的雌雄比分别为 44:56、40:60 和 43:57。统计分析结果显示,溶剂对照组性别比与空白对照组相比无统计学意义($P=0.25$),浓度为 6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组的性别比与空白对照组相比无统计学意义($P=0.0864$),浓度为 0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组的性别比与空白对照组相比无统计学意义($P=0.187$)。结果表明,6.25 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组和 0.938 ~ 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组对稀有鮕鲫没有引起显著的性别比改变。

2.5 对雄性稀有鮕鲫头尾匀浆液中 VTG 含量的影响

由图 6 分析可知,暴露试验结束时空白对照组和溶剂对照组雄性稀有鮕鲫的 VTG 含量分别为 13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;浓度为 6.25、25 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组雄性稀有鮕鲫的 VTG 含量分别为 17、23 和 44 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;浓度为 0.938、3.75 和 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组雄性稀有鮕鲫的 VTG 含量分别为 20、49 和 87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。统计分析结果显示,溶剂对照组雄性稀有鮕鲫头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组相比无统计学意义($P=0.07$);6.25、25 和 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组雄性稀有鮕鲫头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组相比存在显著差异($P=1.28\times 10^{-7}$);0.938、3.75 和 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组雄性稀有鮕鲫头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组及溶剂对照组相比存在显

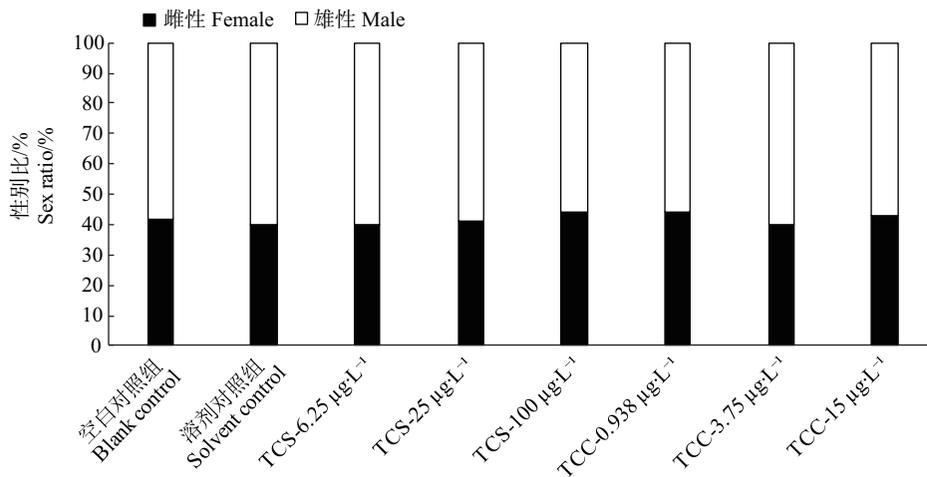


图 5 三氯生和三氯卡班对稀有鮕鲫性别比的影响

Fig. 5 Effects of triclosan and triclocarban on the sex ratio of *Gobiocypris rarus*

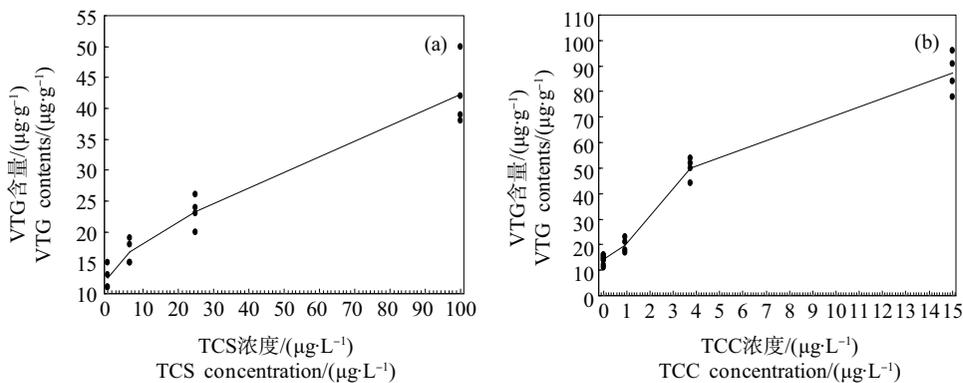


图 6 三氯生 (a) 和三氯卡班 (b) 对雄性稀有鮕鲫体内卵黄蛋白原含量的影响

Fig. 6 Effects of triclosan (a) and triclocarban (b) on vitellogenin content in males of *Gobiocypris rarus*

著差异($P=2.97 \times 10^{-14}$)。结果表明,在浓度为 $6.25 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 和 $0.938 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露下,雄性稀有鮕鮒体内 VTG 含量呈显著增长趋势。

2.6 对雌性稀有鮕鮒头尾匀浆液中 VTG 含量的影响

由图 7 分析可知,暴露试验结束时空白对照组和溶剂对照组雌性稀有鮕鮒的 VTG 含量分别为 $119 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $115 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;浓度为 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组雌性稀有鮕鮒的 VTG 含量分别为 122 、 175 和 $315 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;浓度为 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组雌性稀有鮕鮒的 VTG 含量分

别为 137 、 785 和 $1348 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。统计分析结果显示,溶剂对照组雌性稀有鮕鮒头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组相比无统计学意义($P=0.42$); 6.25 、 25 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组雌性稀有鮕鮒头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组相比存在显著差异($P=1.60 \times 10^{-12}$); 0.938 、 3.75 和 $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组雌性稀有鮕鮒头尾匀浆液中 VTG 含量与空白对照组及溶剂对照组相比存在显著差异($P=6.47 \times 10^{-22}$)。结果表明,在浓度为 $6.25 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 和 $0.938 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露下,雌性稀有鮕鮒体内 VTG 呈显著增长趋势。

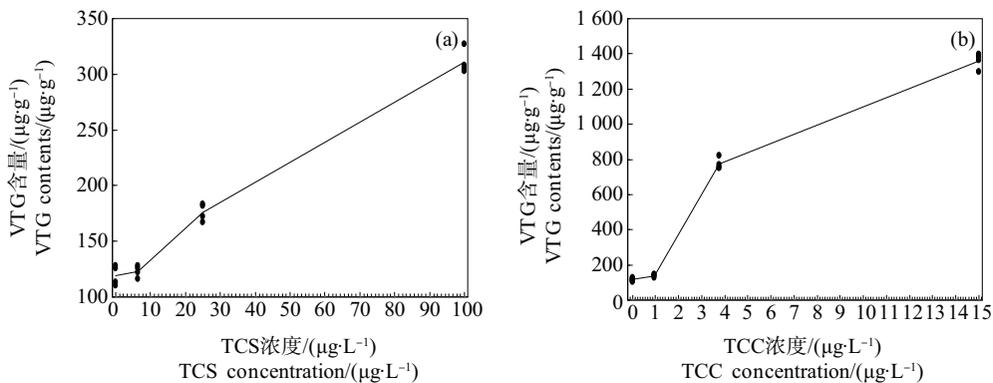


图 7 三氯生 (a) 和三氯卡班 (b) 对雌性稀有鮕鮒体内卵黄蛋白原含量的影响

Fig. 7 Effects of triclosan (a) and triclocarban (b) on vitellogenin content in females of *Gobiocypris rarus*

3 讨论 (Discussion)

本研究将我国本土鱼种稀有鮕鮒的受精卵暴露于不同浓度的 TCS 和 TCC 水溶液中直至 60 dph, 暴露周期涵盖了稀有鮕鮒的胚胎期、卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段,通过胚胎期的孵化率,卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段的成活率,长期暴露过程中的生长情况、性分化及内分泌干扰效应等多个指标来探究 TCS 和 TCC 的生态毒性。

在胚胎期, $6.25 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 和 $0.938 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 对稀有鮕鮒的胚胎孵化率均没有显著的毒性效应,有研究也表明,在 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露条件下,斑马鱼胚胎孵化率与对照组相比无显著性差异^[27]。而在卵黄囊吸收阶段、仔鱼及幼鱼阶段, $3.75 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 对稀有鮕鮒的成活率有显著的毒性效应。推测可能由于稀有鮕鮒胚胎期受卵膜的保护作用,对 TCC 的耐受力明显高于胚后发育阶段。徐关金等^[28]及周志诚^[29]研究也发现卵膜对鱼类胚胎具有较强的保护作用。

在仔鱼阶段, $6.25 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 暴露组 30 dph 成活率的 NOEC 为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; $0.938 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 暴露组的 NOEC 为 $0.938 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,根据《化学品分类和标签规范 第 28 部分 对水生环境的危害》(GB 30000.28—2013),可使用《化学品鱼类早期生活阶段毒性试验》(GB/T 21854)的 NOEC 或 EC_{50} 数据来判定化学品的慢性水生毒性类别,而本研究中的仔鱼阶段(胚胎期至 30 dph)即为鱼类早期生活阶段,结果表明,TCC 对水生环境的危害为长期慢性类别 1,而 TCS 由于试验中的最高浓度未达到 $1 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,无法作出明确的判断,但能判断其对水生环境的危害为非长期慢性类别 1。

在幼鱼阶段,浓度为 $6.25 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCS 和 $0.938 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TCC 对稀有鮕鮒性别比均没有显著的影响,稀有鮕鮒雌鱼及雄鱼体内 VTG 含量随 TCS 及 TCC 浓度的升高而呈显著增长趋势。稀有鮕鮒的幼鱼阶段,也是其进行性分化的阶段,本研究表明,TCS 和 TCC 具有雌激素活性,易与雌激素受体结合,对雌性及雄性稀有鮕鮒体内卵黄蛋白

原具有一定的诱导作用,但在性分化上没有显著影响。何锦^[30]研究发现,在 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS暴露作用下,斑马鱼VTG含量均发生显著上升。高铭^[31]的研究表明,与对照组相比,浓度为 0.25 、 1.25 和 $6.25\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC暴露组的斑马鱼性别比之间均无显著差别。这与本研究发现的现象类似。

在胚后发育过程中,鱼类的生长主要包括体长和体质量两方面,通过长期暴露, $6.25\sim 100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS对稀有鮕鲫体质量有显著毒性效应,随TCS浓度的升高,稀有鮕鲫体质量逐渐降低,TCS对稀有鮕鲫体质量具有抑制作用。有研究表明,TCS对斑马鱼体内甲状腺激素水平均具有一定的影响^[32],而甲状腺激素是调节能量与物质代谢的主要激素,对机体的生长发育有重要意义,因此推测TCS对稀有鮕鲫的甲状腺激素、代谢调控等产生了影响,从而影响了其生长,具体的作用机制需进行进一步的研究。

稀有鮕鲫在不同发育阶段的毒性效应存在差异。在胚后发育的各阶段,发现TCC暴露组在卵黄囊吸收阶段及仔鱼阶段时的死亡率高于幼鱼阶段,表明卵黄囊吸收阶段及仔鱼阶段的耐受力低于幼鱼阶段。卵黄囊吸收阶段是鱼孵化出膜至卵黄囊被吸尽的阶段,期间鱼体依靠卵黄吸收营养,不能主动摄食,在此阶段鳔一室形成、肠内开始分化;仔鱼阶段,稀有鮕鲫由内源性营养转为外源性营养,发育以鳔二室的形成、脊椎形成及各鳍的分化与形成为主干线;幼鱼阶段,全身鳞片出齐,除性腺外各形态、生态特征均似成鱼^[33]。推测稀有鮕鲫发育的不同时期对污染物表现出不同的敏感性是由于卵黄囊吸收阶段及仔鱼阶段的稀有鮕鲫发育尚未完全,对污染物的抗性较弱,而幼鱼阶段胚后发育完成,抗性增强的原因。

稀有鮕鲫与其他水生生物敏感性也不同。本研究中 $6.25\sim 100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCS和 $0.938\sim 15\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的TCC对稀有鮕鲫胚胎未产生急性毒性效应,在胚后的暴露过程中,TCS对稀有鮕鲫5 dph、30 dph和60 dph成活率的NOEC均为 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,LOEC均大于 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,TCC对稀有鮕鲫5 dph、30 dph和60 dph成活率的NOEC均为 $0.938\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,LOEC均为 $3.75\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而根据欧洲化学品管理局(ECHA)的数据^[34-35],TCS对大型蚤21 d-EC₁₀为 $9\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对黑头软口鲮21 d-NOEC为大于 13.5

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对斑马鱼9 d-NOEC为 $29\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;TCC对大型蚤21 d-NOEC为 $2.9\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对黑头软口鲮35 d-NOEC为 $5\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对斑马鱼9 d-NOEC为 $24\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。数据显示,TCS对鱼类的慢性毒性由高到低依次是大型蚤、黑头软口鲮、斑马鱼、稀有鮕鲫,TCC为稀有鮕鲫、大型蚤、黑头软口鲮、斑马鱼,不同水生生物对不同污染物的慢性毒性效应不同,但TCS对稀有鮕鲫及其他水生生物的慢性毒性效应均低于TCC。此外,对不同水生生物的急性毒性研究显示,TCS和TCC对藻类的72 h-EC₅₀分别为 $0.53\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $17\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[36],对四膜虫的24 h-EC₅₀分别为 $1\ 063\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $295\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[37],对丰年虾的24 h-LC₅₀分别为 $171.1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $17.8\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[38],对青鳉鱼96 h-LC₅₀分别为 $210\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $85\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[39],对稀有鮕鲫96 h-LC₅₀分别为 $293\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $53\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26],对稀有鮕鲫胚胎96 h-LC₅₀分别为 $260\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $295\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26],对斑马鱼胚胎96 h-LC₅₀分别为 $154\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $70.4\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[26]。数据显示,TCS对藻类的急性毒性最强,其后依次是斑马鱼胚胎、丰年虾、青鳉鱼、稀有鮕鲫胚胎、稀有鮕鲫,对四膜虫的毒性相对较弱;TCC对藻类的急性毒性最强,其后依次是丰年虾、稀有鮕鲫、斑马鱼胚胎、青鳉鱼、对四膜虫和稀有鮕鲫胚胎的毒性相对较弱。且与TCS相比,TCC对藻类的急性毒性较弱,而对甲壳类、鱼类和原生动物的急性毒性较强。对于不同的鱼类,TCS对稀有鮕鲫的急性毒性低于青鳉鱼,而TCC对稀有鮕鲫的急性毒性高于青鳉鱼。可见,不同水生生物对污染物的急性及慢性毒性效应均不同,这是由于不同受试生物敏感性不同,对不同污染物的耐受性不同造成的。对于不同鱼类的胚胎,TCS和TCC对稀有鮕鲫胚胎的毒性均低于斑马鱼胚胎,有研究发现稀有鮕鲫和斑马鱼卵径分别约为 $1.024\ \text{mm}$ ^[40]和 $0.7\ \text{mm}$ ^[41],卵膜厚度分别约为 $7.167\ \mu\text{m}$ ^[40]和 $3.5\ \mu\text{m}$ ^[41],推测是稀有鮕鲫胚胎直径相对较大、胚胎卵壳膜比斑马鱼胚胎的更厚,从而导致敏感性差异。TCS和TCC对水生生物有不同程度的毒性作用,具有潜在的生态风险,其对水生生物的长期影响仍值得关注。

综上所述,本研究结果表明稀有鮕鲫胚胎期的耐受力明显高于胚后发育阶段,这可能与稀有鮕鲫胚胎期受卵膜的保护作用相关;不同发育阶段的死亡效应不同,表明稀有鮕鲫发育的不同时期对化学物质的敏感性是有差异的;TCS和TCC具有雌激素

活性,均能促进稀有鮡鲫雌鱼及雄鱼体内 VTG 的合成,具有一定的内分泌干扰作用;TCS 对稀有鮡鲫的生长有影响,能使其体质量减轻,可能是由于对甲状腺激素、代谢调控等产生了影响。根据本研究结果及我国国家标准,TCC 对水生环境的危害为长期慢性类别 1,而 TCS 由于试验中的最高浓度未达到 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,无法作出明确的判断,但能判断其对水生环境的危害为非长期慢性类别 1。可见,与使用不同生命阶段的鱼类进行多个仅包含单个生命阶段的测试相比,当更多的生命阶段被包括在一个测试中,能够通过较少的试验动物,获得较多的毒性终点,更加符合动物福利的 3R 原则(优化,减少,替代),且测试中不同生命阶段的毒性效应来自同一批试验动物,减小了多个单一生命阶段测试中不同批次试验动物间的敏感性差异,使不同生命阶段的试验结果更具可比性。同时,稀有鮡鲫作为我国化学品环境管理中的本土模式生物,在研究过程中可获得鱼类在不同发育阶段的毒性效应,终点较多,且在内分泌干扰物的筛选中具有一定的适用性,可用于化学品危害风险评估及化学品分类。

通信作者简介:陈晓倩(1975—),女,学士,实验室副主任,高级工程师,主要研究方向为新兴有机污染物的生态毒理学研究及其标准化研究。

参考文献(References):

- [1] Falisse E, Voisin A S, Silvestre F. Impacts of triclosan exposure on zebrafish early-life stage: Toxicity and acclimation mechanisms [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 189: 97-107
- [2] Shi Q M, Zhuang Y H, Hu T T, et al. Developmental toxicity of triclocarban in zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2019, 33(5): e22289
- [3] Wei J J, Zhou T, Hu Z Y, et al. Effects of triclocarban on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos [J]. *Chemosphere*, 2018, 210: 93-101
- [4] Liu F, Zhang Y, Wang F. Environmental relevant concentrations of triclosan affected developmental toxicity, oxidative stress, and apoptosis in zebrafish embryos [J]. *Environmental Toxicology*, 2022, 37(4): 848-857
- [5] Anderson S E, Franko J, Kashon M L, et al. Exposure to triclosan augments the allergic response to ovalbumin in a mouse model of asthma [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2013, 132(1): 96-106
- [6] James M O, Li W J, Summerlot D P, et al. Triclosan is a potent inhibitor of estradiol and estrone sulfonation in sheep placenta [J]. *Environment International*, 2010, 36(8): 942-949
- [7] Paul K B, Hedge J M, Devito M J, et al. Developmental triclosan exposure decreases maternal and neonatal thyroxine in rats [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(12): 2840-2844
- [8] Rodríguez P E A, Sanchez M S. Maternal exposure to triclosan impairs thyroid homeostasis and female pubertal development in Wistar rat offspring [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 2010, 73(24): 1678-1688
- [9] Witorsch R J. Critical analysis of endocrine disruptive activity of triclosan and its relevance to human exposure through the use of personal care products [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2014, 44(6): 535-555
- [10] Zorrilla L M, Gibson E K, Jeffay S C, et al. The effects of triclosan on puberty and thyroid hormones in male Wistar rats [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2009, 107(1): 56-64
- [11] Costa N O, Forcato S, Cavichioli A M, et al. *In utero* and lactational exposure to triclocarban: Age-associated changes in reproductive parameters of male rat offspring [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2020, 401: 115077
- [12] Raj S, Singh S S, Singh S P, et al. Evaluation of triclosan-induced reproductive impairments in the accessory reproductive organs and sperm indices in the mice [J]. *Acta Histochemica*, 2021, 123(5): 151744
- [13] Kim J Y, Yi B R, Go R E, et al. Methoxychlor and triclosan stimulates ovarian cancer growth by regulating cell cycle- and apoptosis-related genes via an estrogen receptor-dependent pathway [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2014, 37(3): 1264-1274
- [14] Sood S. Ability of triclocarban (3,4,4'-trichlorocarbanilide) to induce premalignant breast cell carcinogenesis and enhance 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo (4,5-b) pyridine (PhIP)-induced breast cell carcinogenesis [D]. Knoxville: University of Tennessee, 2013: 1-171
- [15] 李林朋, 马慧敏, 胡俊杰, 等. 三氯生和三氯卡班对人体肝细胞 DNA 损伤的研究[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(12): 2897-2901
- Li L P, Ma H M, Hu J J, et al. The genotoxicity of triclosan and triclocarban in human hepatocyte LO2 cell [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(12): 2897-2901 (in Chinese)
- [16] Axelstad M, Boberg J, Vinggaard A M, et al. Triclosan

- exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring [J]. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2013, 59: 534-540
- [17] Han J, Won E J, Hwang U K, et al. Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) cause lifespan reduction and reproductive impairment through oxidative stress-mediated expression of the defensome in the monogonont rotifer (*Brachionus koreanus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology*, 2016, 185/186: 131-137
- [18] Kennedy R C, Menn F M, Healy L, et al. Early life triclocarban exposure during lactation affects neonate rat survival [J]. *Reproductive Sciences*, 2015, 22(1): 75-89
- [19] Pycke B F, Geer L A, Dalloul M, et al. Human fetal exposure to triclosan and triclocarban in an urban population from Brooklyn, New York [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(15): 8831-8838
- [20] Peng X Z, Yu Y Y, Tang C M, et al. Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China [J]. *The Science of the Total Environment*, 2008, 397(1/3): 158-166
- [21] Wu J L, Lam N P, Martens D, et al. Triclosan determination in water related to wastewater treatment [J]. *Talanta*, 2007, 72(5): 1650-1654
- [22] Zhao J L, Zhang Q Q, Chen F, et al. Evaluation of triclosan and triclocarban at river basin scale using monitoring and modeling tools: Implications for controlling of urban domestic sewage discharge [J]. *Water Research*, 2013, 47(1): 395-405
- [23] 刘畅伶, 张文强, 单保庆. 珠江口典型河段内分泌干扰物的空间分布及风险评价[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(1): 115-124
- Liu C L, Zhang W Q, Shan B Q. Spatial distribution and risk assessment of endocrine disrupting chemicals in the typical station of Pearl River [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(1): 115-124 (in Chinese)
- [24] 吕敏, 孙倩, 李妍, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱测定九龙江流域水中药品和个人护理用品[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2012, 51(6): 1047-1053
- Lyu M, Sun Q, Li Y, et al. Determination of pharmaceuticals and personal care products in Jiulong River by solid phase extraction and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2012, 51(6): 1047-1053 (in Chinese)
- [25] 孙静, 赵汝松, 王霞, 等. 液液萃取-HPLC-ESI-MS法同步测定环境水样中的三氯卡班和三氯生[J]. *山东轻工业学院学报(自然科学版)*, 2011, 25(1): 35-37
- Sun J, Zhao R S, Wang X, et al. Simultaneous determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples by liquid extraction combined with HPLC-ESI-MS [J]. *Journal of Shandong Institute of Light Industry (Natural Science Edition)*, 2011, 25(1): 35-37 (in Chinese)
- [26] 王绿平, 张京佶, 赵华清. 稀有鮕鲫作为鱼类胚胎急性毒性试验受试鱼种的敏感性研究[J]. *生态毒理学报*, 2021, 16(5): 102-112
- Wang L P, Zhang J J, Zhao H Q. Sensitivity of Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*) for fish embryo acute toxicity test [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2021, 16(5): 102-112 (in Chinese)
- [27] Zhou S B, Chen Q Q, di Paolo C, et al. Behavioral profile alterations in zebrafish larvae exposed to environmentally relevant concentrations of eight priority pharmaceuticals [J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 664: 89-98
- [28] 徐美金, 徐善良, 王丹丽. 竹醋液对花鲈胚胎及仔鱼存活率的影响[C]// 中国水产学会海水养殖分会. 2008年全国海水养殖学术研讨会论文集. 舟山: 中国水产学会海水养殖分会, 2008: 281-287
- [29] 周志诚. 斑马鱼繁殖生物学与 $\alpha 2ML$ 基因表达型式初步研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015: 1-63
- Zhou Z C. Preliminary study on biology of reproduction and $\alpha 2ML$ gene expressive type of zebrafish [D]. *Zhanjiang Guangdong Ocean University*, 2015: 1-63 (in Chinese)
- [30] 何锦. 三氯生对斑马鱼性别分化和生殖系统的影响及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2023: 1-80
- [31] 高铭. 三氯卡班长期暴露下对斑马鱼内分泌系统及子代生长发育的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2021: 1-57
- Gao M. Effects of long-term exposure to triclocarban on endocrine system and offspring development in zebrafish [D]. *Chongqing: Southwest University*, 2021: 1-57 (in Chinese)
- [32] 马鹏程. 环境剂量三氯生对斑马鱼甲状腺轴及氧化应激毒性影响研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2017: 1-63
- Ma P C. Effects of environmental dose of TCS on thyroid axis and oxidative stress toxicity of zebrafish [D]. *Jinzhou: Jinzhou Medical University*, 2017: 1-63 (in Chinese)
- [33] 王剑伟, 宋天祥, 曹文宣. 稀有鮕鲫胚后发育和幼鱼生长的初步研究[J]. *水生生物学报*, 1998, 22(2): 128-134
- Wang J W, Song T X, Cao W X. Postembryonic development and growth of cultured rare minnow, *Gobiocypris*

- rarus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, 22 (2): 128-134 (in Chinese)
- [34] European Chemicals Agency (ECHA). Chemicals database: Triclosan [EB/OL]. [2024-02-27]. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12675/6/2/1>
- [35] European Chemicals Agency (ECHA). Chemicals database: Triclocarban [EB/OL]. [2024-02-27]. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12075/6/2/1>
- [36] Yang L H, Ying G G, Su H C, et al. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (5): 1201-1208
- [37] Gao L, Yuan T, Cheng P, et al. Effects of triclosan and triclocarban on the growth inhibition, cell viability, genotoxicity and multixenobiotic resistance responses of *Tetrahymena thermophila* [J]. *Chemosphere*, 2015, 139: 434-440
- [38] Xu X L, Lu Y, Zhang D Y, et al. Toxic assessment of triclosan and triclocarban on *Artemia salina* [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, 95 (6): 728-733
- [39] Tamura I, Kagota K, Yasuda Y, et al. Ecotoxicity and screening level ecotoxicological risk assessment of five antimicrobial agents: Triclosan, triclocarban, resorcinol, phenoxyethanol and p-thymol [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2013, 33(11): 1222-1229
- [40] 王永明. 稀有鮡鲫受精生物学研究[D]. 重庆: 西南大学, 2011: 1-79
Wang Y M. Studies on the fertilization biology of *Gobio-cypris rarus* [D]. Chongqing: Southwest University, 2011: 1-79 (in Chinese)
- [41] Hamm J T, Ceger P, Allen D, et al. Characterizing sources of variability in zebrafish embryo screening protocols [J]. *ALTEX*, 2019, 36(1): 103-120 ◆