

# 多氯联苯(PCB<sub>1254</sub>)对栉孔扇贝渗透调节的影响

任加云,单长青,许兰娟,于 祥

(滨州学院 城市与环境系/黄河三角洲生态环境重点实验室,山东 滨州 256617)

**摘要:**为了给我国沿海有机物污染地区栉孔扇贝健康养殖提供监测依据,研究了多氯联苯(PCB<sub>1254</sub>)对栉孔扇贝血淋巴渗透压和鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力的影响。结果表明:PCB<sub>1254</sub>浓度为 1.0 μg·L<sup>-1</sup>以上处理组栉孔扇贝血淋巴渗透压变化明显,其中 1.0 μg·L<sup>-1</sup>处理组扇贝血淋巴渗透压显著上升,而 10.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup>处理组栉孔扇贝的血淋巴渗透压呈先上升后下降的趋势,最后与海水对照组相近;低浓度(0.5 和 1.0 μg·L<sup>-1</sup>)处理组扇贝鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力明显被激活,而高浓度(10.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup>)处理组 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力在测定的每个时间点明显被抑制。因此认为多氯联苯影响下,机体所产生的有害代谢物可导致栉孔扇贝应激性反应和细胞膜结构的改变,导致血淋巴渗透压和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力的变化,而且 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力变化与 PCB<sub>1254</sub> 浓度呈现一定相关性,能反映机体受 PCB<sub>1254</sub> 影响的程度,可以作为评价 PCB<sub>1254</sub> 污染的生理学指标。

**关键词:**多氯联苯;栉孔扇贝;渗透压;Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase

**中图分类号:**X171

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)12-0079-04

近几年我国沿海有机物污染日益加重,对养殖水环境造成严重危害,成为诱导病害的重要因素,其中多氯联苯自然环境中难以降解,且具有高度的生物富集性,成为了很多学者研究的污染物<sup>[1-3]</sup>,目前,各类污染物对于甲壳类水产动物渗透调节影响的研究较多,而对于贝类渗透压调节的研究较少,多氯联苯对栉孔扇贝渗透调节影响的研究鲜见报道。

该文系统研究了水体中不同浓度多氯联苯(PCB<sub>1254</sub>)对栉孔扇贝血淋巴渗透压和鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力的影响,旨在初步研究多氯联苯对栉孔扇贝渗透调节影响的规律和机理,同时也为我国沿海有机物污染地区栉孔扇贝健康养殖提供监测依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所用栉孔扇贝壳高 4.8±0.5 cm(采购于 2011 年 3 月)。试验开始前用自然海水暂养栉孔扇贝 10 d,养殖密度为 320 个·m<sup>-3</sup>,暂养海水盐度为 31,pH 为 8.0,温度为 10~12℃,连续充气,

日换水 1/2,并投喂硅藻。

### 1.2 方法

1.2.1 试验梯度的设置 试验所用 PCB<sub>1254</sub> 为 Fluka 公司的产品,试验时用自然海水分别稀释为 4 个梯度:0.5、1.0、10.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup>,分别以不加入多氯联苯自然海水组作为对照组,所有试验梯度均设 3 个平行组。试验期间,每 2 d 用 ECD 气相色谱法测定各处理梯度水体中 PCB<sub>1254</sub> 含量,PCB<sub>1254</sub> 水中浓度平均为 0.48±0.09 μg·L<sup>-1</sup>,1.150±0.06 μg·L<sup>-1</sup>,10.75±0.20 μg·L<sup>-1</sup>,46.65±2.73 μg·L<sup>-1</sup>。

试验在 50 cm×40 cm×30 cm 的塑料水槽内进行,各试验梯度分别养殖健康的栉孔扇贝各 36 只,换水时分别加入相对应各浓度 PCB<sub>1254</sub> 的养殖用水,其余养殖管理与暂养期间完全相同,试验期间,除高浓度 PCBs(1.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup>)处理组的栉孔扇贝有个别死亡和活力不强外(对取样无影响),其它处理组均无死亡现象。

1.2.2 样品制备 分别于试验开始后 0、0.5、1.0、3.0、6.0、9.0、15.0、21.0 和 30.0 d 取样。用 1.5 mL 针管从扇贝闭壳肌处抽取血液直接测定其渗透压。用镊子取其鳃丝部位,用预冷重蒸水洗净、滤纸吸干后,置于 1.5 mL 离心管中,于 -20℃ 保存。所有样品取样后 24 h 内迅速测定。

Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力测定时取鳃丝样品加入 9 倍体积预冷的提取液(250 mmol·L<sup>-1</sup>蔗糖,

收稿日期:2011-07-29

基金项目:滨州学院青年人才创新工程资助项目(BZXYQN-LG200505)

第一作者简介:任加云(1980-),男,山东省莱芜市人,硕士,讲师,从事养殖环境毒理学研究。E-mail: renjiayun@163.com。

6 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA, 50 mmol·L<sup>-1</sup> 咪唑-HCl 缓冲液, 0.1% 脱氧胆酸钠, pH 6.8), 冰浴中用匀浆机 10 000 r·min<sup>-1</sup>, 匀浆 5 min, 匀浆液在高速冷冻离心机中以 8 000 r·min<sup>-1</sup>, 离心 30 min, 取上清液, 8 000 r·min<sup>-1</sup>, 再离心 10 min, 上清液保存于 -4℃ 冰箱中, 8 h 内测定 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力。

1.2.3 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力的测定 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性的测定主要参考 Whealty 和 Henry<sup>[4]</sup> 的方法, 通过测定 K<sup>+</sup> 存在和 K<sup>+</sup> 不存在时 (乌本苷存在) 底物 ATP-Na<sub>2</sub> 释放出无机磷 (Pi) 量的差值来计算, 活性单位用微摩尔无机磷/毫克蛋白/小时 (μmol·mg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>) 表示。

取 0.1 mL 酶液在 2 mL 培养介质中进行培养, K<sup>+</sup> 存在组培养介质含 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 20 mmol·L<sup>-1</sup> KCl, 20 mmol·L<sup>-1</sup> 咪唑-HCl (pH 7.8); K<sup>+</sup> 不存在 (乌本苷存在) 培养介质含 130 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, 5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 1 mmol·L<sup>-1</sup> 乌苯甘, 20 mmol·L<sup>-1</sup> 咪唑-HCl (pH 7.8)。所有试管中加入 0.2 mL 的 50 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>ATP 反应开始, 在 25℃ 水浴 45 min, 再加入 0.1 mL 50% TCA 终止反应。0℃, 5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min。取上清液

用钼蓝法测定无机磷。酶蛋白含量参考 Bradford<sup>[5]</sup> 方法测定。

1.2.4 血淋巴渗透压测定 取 20 μL 血淋巴用 Fiske Micro-Osmometer Model 210 冰点渗透压计测定血淋巴渗透压。

1.2.5 数据的处理和分析 试验数据用 SPSS 软件 (10.0) 进行处理, 所有数据以 3 个重复组数据的平均值 ± 标准差 (Means ± SD) 表示, 并采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Duncan 检验法统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 多氯联苯对栉孔扇贝血淋巴渗透压调节的影响

由表 1 可知, 低浓度 0.5 μg·L<sup>-1</sup> PCB<sub>1254</sub> 处理组血淋巴渗透压随时间变化不明显 ( $P>0.05$ ), 而 1.0 μg·L<sup>-1</sup> PCB<sub>1254</sub> 处理组的渗透压水平在前 6 d 呈显著上升 ( $P<0.05$ ) 趋势, 9 d 后变化不明显, 两个高浓度处理组 (10.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup>) 栉孔扇贝血淋巴渗透压呈现出先上升最后下降的趋势, 从 15 d 开始与对照组相比变化不显著 ( $P>0.05$ )。

表 1 不同浓度 PCB<sub>1254</sub> 对栉孔扇贝血淋巴渗透压的影响

取样时间/d	血淋巴渗透压/mOsm·kg <sup>-1</sup>				
	海水对照	0.5 μg·L <sup>-1</sup> 处理组	1.0 μg·L <sup>-1</sup> 处理组	10.0 μg·L <sup>-1</sup> 处理组	50.0 μg·L <sup>-1</sup> 处理组
0	871.8±8.4 aA	871.8±8.4 aA	871.8±8.4 aA	871.8±8.4 aA	871.8±8.4 aA
0.5	872.6±9.6 aA	875±8.7 aAB	877.0±11.1 bBC	879.0±12.1 bC	911.0±12.3 bC
1	872.2±19.3 aA	876.0±18.2 aAB	890.0±7.0 bB	894.7±14.2 bB	922.±21.4 bcBC
3	871.3±29.8 aA	879.0±16.1 aA	891.7±21.1 bAB	905.0±14.5 bBC	923±14.1 cBC
6	873.5±11.5 aA	896.0±10.4 abB	902.3±12.3 bB	920.0±18.0 bBC	902.0±19.4 cC
9	872.3±9.1 aA	909.0±11.7 bB	923.0±15.0 bBC	918.0±15.1 bBC	889.0±21.7 aA
15	873.2±14.6 aA	902±13.7 bAB	926.6±14.6 bBC	899.4±10.2 aA	875.4±10.5 aA
21	875.6±14.1 aA	909.0±18.4 bB	928.7±18.2 bBC	892.0±21.5 a/A	872.0±11.5 aA
30	875.6±9.5 aA	909.7±17.8 bB	926.7±14.3 bBC	872.7±16.8 bB	869±17.5 cC

注: 数据右侧具有相同字母的数据表示相互之间无显著差异, 小写字母表示  $P>0.05$ , 大写字母表示  $P>0.01$ 。

### 2.2 多氯联苯对栉孔扇贝鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性的影响

由图 1 可见, 栉孔扇贝鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 的活性与水体中 PCB<sub>1254</sub> 浓度有关。在整个试验过程中, 海水对照组的栉孔扇贝鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 的活性一直保持较稳定的水平; 在低浓度组 (0.5 和 1.0 μg·L<sup>-1</sup> 处理组) 其活力在前 3 d 明显上升, 而后, 0.05 μg·L<sup>-1</sup> 处理组其活力维持在稳定水平, 1.0 μg·L<sup>-1</sup> 处理组活力呈现下降趋势; 高浓度组 (10.0 和 50.0 μg·L<sup>-1</sup> 处理组) 其活力在测定的各

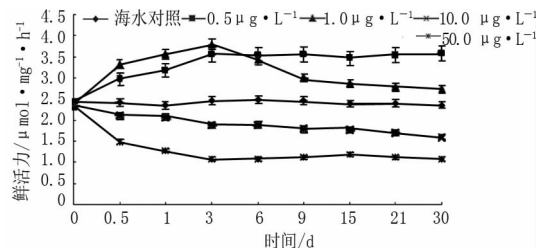


图 1 多氯联苯影响下栉孔扇贝鳃丝 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活力的变化

个时间点都明显被抑制, 从第 3 天开始呈现稳定状态, 但还是明显低于对照组水平。

### 3 结论与讨论

水产动物的渗透压调节方式多种多样,作为贝类也需要进行渗透压调节来适应外部环境,从该文的试验结果来看,浓度为  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  以上处理组影响了栉孔扇贝的渗透压,扇贝的渗透压随着 PCB<sub>1254</sub> 的浓度改变而改变,说明扇贝具有一定的渗透压调节能力,属于渗透调节者<sup>[6]</sup>,试验中  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  PCB<sub>1254</sub> 处理组呈现上升趋势,说明 PCB<sub>1254</sub> 影响下扇贝体内的离子浓度升高,认为低浓度污染物处理下栉孔扇贝的渗透压提高主要是为了抵制过多的 PCB<sub>1254</sub> 进入到其身体内部,造成了应激性的体内高渗反应,而  $10.0$  和  $50.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  PCB<sub>1254</sub> 处理组在试验开始阶段也呈现这种情况;目前有研究发现很多水产动物在污染物例如重金属的影响下,其渗透压会降低<sup>[7-9]</sup>,这与该文高浓度处理组( $10.0$  和  $50.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )15 d 之后渗透压的变化结果相似,高浓度组多氯联苯影响下,细胞内产生的自由基产物蓄积影响了细胞内线粒体离子主动转运体系的损伤<sup>[7]</sup>,导致血淋巴渗透压的改变,Johnson 和 Jones 等人的研究认为污染物导致血淋巴渗透压的降低与  $\text{Na}^+$  浓度降低有一定关系<sup>[9]</sup>,而且这与血液内某些酶活力调节例如  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活性变化导致细胞膜的通透性改变也相关。

$\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  是生物体内广泛存在的一种重要的细胞膜酶,其功能主要是维持细胞内外的离子积渗透压平衡、跨膜电化学和细胞的能量代谢,即在能量代谢、离子平衡、物质输送等生化过程中起着重要作用<sup>[10]</sup>,该研究结果证实低浓度的 PCB<sub>1254</sub> 染毒栉孔扇贝,结果表现出明显激活的趋势,Wang 等人通过研究农药对鱼鳃丝组织结构的影响发现能引起其  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活力的升高<sup>[11]</sup>,低浓度的烃类化合物和杀虫剂可以引起鱼类鳃丝  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活力的升高<sup>[12-13]</sup>,另外有人发现氯氰菊酯和氰戊菊酯等有机物可以引起栉孔扇贝体内 ATP 酶活力的提高<sup>[14]</sup>,这与该文结果相似,因此认为虽然多氯联苯等污染物对于生物机体具有一定的威胁,但是开始染毒时,生物机体瞬间产生应激反应,来提高酶活力抵抗外来伤害,但是由于应激反应能力有限,所以随着处理时间的延长,酶活力不会无限上升,而会处于一个稳定的水平,此时机体的解毒和污染物致毒正好能达到一个平衡状态。该试验中高浓度处理组

的酶活力显著被抑制,说明扇贝在高浓度污染物超出了扇贝集体本身的应对能力,很多研究也证实高浓度有机锡、硝基芳烃等有机化合物对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)组织的  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  都有一定的抑制作用<sup>[15-16]</sup>,TBT 等污染物高浓度下具有抑制文蛤鳃丝  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活力的作用<sup>[17]</sup>,这与该文的研究结果一致,此时栉孔扇贝鳃丝 ATP 酶活力的大幅降低证明长时间或者高浓度 PCB 处理下产生大量的自由基代谢物,与  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  上位点结合影响其活性有关,从而细胞膜通透性造成一定影响,影响了鳃丝的基本功能,从外形来看,高浓度处理组栉孔扇贝鳃丝和外套膜呈现萎缩和不正常颜色变化,证明了高浓度 PCB<sub>1254</sub> 对其有机体的伤害程度,而且栉孔扇贝的  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活力在不同浓度的 PCB<sub>1254</sub> 影响下能够体现出一定的规律性,能从一定程度上反映机体受影响的程度,可以作为评价 PCB<sub>1254</sub> 污染的生理学指标。

#### 参考文献:

- [1] 储少刚,徐晓白,童逸平.多氯联苯在典型污染地区环境中的分布及其环境行为[J].环境科学学报,1995,15(4):42-43.
- [2] 聂湘平,张凤君,蓝崇玉.多氯联苯对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)毒性及其组织结构的影响[J].生态科学,2004,23(2):106-109.
- [3] Richard H M E, Wouter Z, Cor A S, et al. Effects of PCB<sub>126</sub> and Cadmium on the Anaerobic Metabolism of the Mussel *Mytilus edulis* L. [J]. Com. Biochem. Physiol, 1996, 113(2):267-272.
- [4] Whealty M G, Hentry R P. Branchial and antennal  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  dependent ATPase and carbonic anhydrase activity during salinity acclimation of the euryhaline crayfish *Pacifastacus leniusculus* [J]. J. Exp. Biol., 1987, 133:73-86.
- [5] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal. Biochem., 1976, 72(1):248-254.
- [6] 吕富.环境因子对中华绒螯蟹渗透调节的影响[D].青岛:中国海洋大学,2002.
- [7] 卢敬让,赖伟.镉对中华绒螯蟹鳃组织及其亚显微结构的影响[J].海洋与湖沼,1991,22(6):566-571.
- [8] Bjerregaard, Vislie P T. Effects of mercury on ion and osmoregulation in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1985, 82:227-230.
- [9] Johnson I T, Jones M B. Effect of zinc on osmoregulation of *Gammarus duebeni* (Crustacea: amphipoda) from the estuary and the sewage treatment works at Looe [J]. Cornwall. -

- Ophelia, 1990, 31: 187-196.
- [10] 沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [11] Wang Zhaohui, Yin Yiwei, Zhang Yongyuan. Effect of fenpropathrin on ATPase activity and cardiac muscle contraction of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [C]//Annual Report of State Key Laboratory for Freshwater Ecology and Biotechnology of China. Beijing: International Academic Publisher, 1992.
- [12] Yap H H, Desai K, Cutkomp L K, et al. *in vitro* inhibition of fish brain ATPase activity by cyclodiene insecticides and related compounds[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1975, 14(2): 163-167.
- [13] Boese B L, Johnson V G, Chapman D E, et al. Effects of petroleum refinery waste water exposure on gill ATPase and selected blood parameters in the pacific staghorn sculpin (*Leptocottus armatus*) [J]. Comp. Biochem Physiol., 1982, 71: 63-67.
- [14] 谭晓珍, 吴垠, 李韬, 等. 氯氰菊酯和氰戊菊酯对栉孔扇贝的急性毒性[J]. 大连水产学院学报, 2005, 2(3): 203-207.
- [15] 徐镜波, 景体淞. 硝基芳烃对鲤鱼鱼鳃 ATPase 的活性抑制和 QSARs[J]. 中国环境科学, 1998, 18(2): 158-161.
- [16] 袁锦芳, 王忠, 陈淑龙, 等. TBTCI 对鲤鱼组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的毒性研究[J]. 南开大学学报: 自然科学, 2001, 34(2): 104-108.
- [17] 黄周英, 陈奕欣, 赵扬, 等. 三丁基锡对文蛤鳃酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶活性的影响[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(3): 56-59.

## Effects of $\text{PCB}_{1254}$ on Osmotic Adjustment of the Scallop *Chlamys farreri*

REN Jia-yun, SHAN Chang-qing, XU Lan-juan, YU Xiang

(Urban and Environment Department of Binzhou University/Key Laboratory of Research Center for Eco-environmental Sciences of Yellow River Delta, Binzhou, Shandong 256600)

**Abstract:** In order to provide monitoring criterion for scallops healthy breeding in organic matter pollution area of China's coastal, the effects of  $\text{PCB}_{1254}$  (0.5, 1.0, 10.0 and 50.0  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on osmotic adjustment of the scallop *Chlamys farreri* were studied. The results showed that the osmotic pressure of hemolymph changed significantly under the  $\text{PCB}_{1254}$  of all concentrations except for the 0.5  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  treatment. The osmotic pressure increased significantly during all experimental time in 1.0  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , while the osmotic pressure increased soon and then decreased nearly to the seawater control levels in 10.0  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  and 50.0  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  groups. The  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity of gills of *Chlamys farreri* increased significantly in low concentrations (0.5  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  and 1.0  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of  $\text{PCB}_{1254}$ , but it was restrained by high concentrations of  $\text{PCB}_{1254}$  during all sampling time. It concluded that the metabolic production produced by  $\text{PCB}_{1254}$  could cause the excitation response and the changes of cell membrane of the scallop *Chlamys farreri*, so the osmotic pressure and  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity changed. The changes of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity showed certain regularity, it could reflect the whole ability of detoxification of the organism as well as the damage degrees caused by  $\text{PCB}_{1254}$ , so it could be used as the evaluated bio-marker for toxicity of  $\text{PCB}_{1254}$ .

**Key words:**  $\text{PCB}_{1254}$ ; *Chlamys farreri*; osmotic pressure;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$

### 立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展 2012 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊。是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国科学引文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库等多家权威数据库收录。

本刊内容丰富,栏目新颖,信息全面,可读性强。月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 5.00 元,全年 60.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 8.00 美元,全年 96.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另外,2010 年合订本已出版,还有少量 2007~2009 年合订本珍藏版。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010 年合订本 150.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部

邮编:150086 电话:0451-86668373 信箱:nykx13579@sina.com 网址:www.haasep.cn