

· 论著 ·

# 重庆市主城区长江和嘉陵江水中有机污染物对斑马鱼胚胎仔鱼的毒性研究

崔志鸿 李鹏 曹波 徐盈 刘晋祎 刘胜学 周燕虹 黄晓春 曹佳\*

**【摘要】**目的 以重庆市主城区大溪沟(嘉陵江)和寸滩(长江)两个点为代表,研究 2004~2005 年度重庆市水源水中有机污染物的组成和对斑马鱼胚胎仔鱼的毒性。方法 固相萃取法萃取水中有机污染物,GC/MS 检测有机污染物的种类;将萃取的有机污染物溶于 DMSO 中,并用斑马鱼胚胎仔鱼实验研究水中有机污染物对斑马鱼胚胎孵化率和仔鱼畸形率的影响。结果 四个水样中均可检出有机污染物,污染物的种类以酞酸酯类和多环芳烃类为主;污染物可导致斑马鱼胚胎孵化率降低及仔鱼畸形率增加,其毒性呈现出时间和剂量依赖性;同一采样点中,枯水期水样毒性大于丰水期水样。结论 重庆市主城区嘉陵江和长江水中有机污染物对斑马鱼具有降低胚胎孵化率及增加仔鱼畸形率的毒性作用。

**【关键词】**有机污染物;斑马鱼胚胎仔鱼实验;重庆

**【中图分类号】**R123 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1006-2483(2007)01-0005-04

**Toxicity test of the organic pollutants on the Embryo Larva of Zebra Fish in the Yangtze and Jialing River (Chongqing District)** CUI Zhi-hong, LI Peng, CAO Bo, XU Ying, LIU Jin-yi, LIU Sheng-xue, ZHOU Yan-hong, HUANG Xiao-cun, CAO Jia\*. Department of Military Toxicology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

**【Abstract】 Objective** Cuntan (Yangtze River) and Daxigou (Jialing River) were selected to study the component of the organic pollutant and its toxicity on the Embryo Larva of Zebra Fish in Chongqing district during 2004 to 2005. **Methods** Solid phase extraction was used to extract organic pollutants and the composition was tested by GC/MS; Organic pollutants were dissolved in DMSO, and the extracts were exposed to the zebra fish eggs, the embryo hatching rate and the larva malformation rate were calculated. **Results** The organic pollutants were found in the Yangtze and Jialing River of Chongqing City, and the main components were polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) and phthalate acid esters (PAEs). These pollutants could reduce the hatching rate of the zebra fish embryo and increase the larva malformation rate. The toxicity of these organic pollutants showed time- and dose- dependence. The toxicity of low water period samples was higher than that of the high water period samples at the same sampling site. **Conclusion** The organic pollutants in the Yangtze and Jialing River of Chongqing City have the toxicity of reducing the hatching rate of the zebra fish embryo and increasing the larva malformation rate.

**【Key words】** Organic pollutants; Zebra fish embryo larva test; Chongqing

重庆市是三峡库区最大的城市,嘉陵江和长江是重庆市的主要水源,研究水中有机污染物的种类和时空变化以及对一些生物标记物的影响,对于评价三峡库区生态系统的安全性和预测对人群健康的影响都十分必要。该文对 2004~2005 年度重庆市

主城区长江和嘉陵江段水中有机污染物的组成和对斑马鱼胚胎仔鱼的毒性进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 水中有机污染物的萃取

选择重庆市主城区大溪沟作为嘉陵江的取水点,寸滩作为长江取水点,分别于 2004 年 8 月(丰水期)和 2005 年 1 月(枯水期)进行水样采集。

参照 Onodera 的方法<sup>[1]</sup>,在不锈钢柱中按树脂:江水 = 1:2000 (v:v) 的比例装填已活化的 XAD-2 树脂(SUPELCO),将江水用玻璃纤维棉过滤除去水中悬浮物后通过不锈钢柱,控制流速为 0.5~1 倍柱体

基金项目: 国家科技部西部引导项目(2003BA869C)和国家博士后研究基金(20060390172)资助

作者单位:400038 重庆,第三军医大学军事毒理学教研室(崔志鸿、李鹏、曹波、刘晋祎、刘胜学、周燕虹、黄晓春、曹佳);中国科学院水生生物研究所(徐盈)

第一作者简介:崔志鸿(1974-),副教授,博士后,主要从事水生生态毒理学研究

通讯作者:曹佳,Email: caojia@mail.tmmu.com.cn

积/min。过柱完毕,用真空泵将柱中水份吸干,用丙酮:正己烷(1:1)洗脱 XAD-2 树脂中吸附的有机污染物,旋转蒸发,氮气吹干,正己烷定容,取一小部分用于 GC/MS 分析,其余再旋转蒸发,氮气吹干后溶于 DMSO, -20℃ 保存。

### 1.2 气相色谱/质谱 (gas chromatography/mass spectrum, GC/MS) 分析

仪器:安捷伦 6890/5973N 型气相色谱/质谱联用仪, HP-5MS 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样温度:250℃; 进样体积:1 μl; 载气:氮气; 流量为 1 ml/min; 进样方式为自动, 不分流; 以程序升温方式升温, 初始温度:80℃, 保持 2 min, 持续升温:4℃/min; 升温至 280℃, 保持 20 min。离子化方式为 EI, 离子化能量 70 eV, scan 模式, 扫描 m/z:50 ~ 600 (全扫描)。

### 1.3 斑马鱼胚胎仔鱼实验

将产卵 2 h 内的健康受精斑马鱼卵按 100 个/500 ml 养在 28℃ 恒温鱼缸内 (12 h 光照/12 h 黑暗), 加入溶于 DMSO 的有机污染物进行染毒, 设立空白对照组 (曝气 24 h 自来水)、DMSO 溶剂对照

组、2.5 倍污染物组、10 倍污染物组、25 倍污染物组; 每 12 h 换水一次, 每次所换水中有机污染物浓度与最初浓度保持一致, 每组鱼卵为 300 只。每隔 12 h 在倒置显微镜下观察各组胚胎整体及重点器官 (脊索、视杯、肾、心脏、肝胰脏) 发育情况。鱼卵孵化后统计胚胎孵化率和仔鱼畸形率, 仔鱼畸形的主要判别标准是体轴畸形、视杯畸形和卵黄囊肿胀。

## 2 结果

### 2.1 水中有机污染物的成分

GC/MS 分析结果表明, 各水样中都可检出有机污染物。水中主要有有机污染物以酞酸酯类及多环芳烃类为主, 其它还包括烷烃、磷酸酯类、酯类、酮、酚、杂环等成分。表 1 列出了各水样中含量最为丰富的 6~8 种化合物。从表中可以看出, 邻苯二甲酸酯二丁酯 (Dibutyl phthalate) 和荧蒹 (Fluoranthene) 这两种美国 EPA 和中国水环境优先控制物在每个样品中都可检出, 而且具有相对较高的色谱峰。此外各种菲类 (Phenanthrene)、芘类 (Pyrene) 化合物及苯衍生物等也有较高的含量。

表 1 各水样中有机提取物的主要成分

化合物	保留时间 (min)	分子量	2004.08 大溪沟	2005.01 大溪沟	2004.08 寸滩	2005.01 寸滩
蒹	14.675	178.08		✓		
邻苯二甲酸二异丁酯	15.447	278.15	✓		✓	✓
邻苯二甲酸 1,2-二异丙基酯	15.910	250.12				✓
2-甲基菲	15.927	192.09		✓		✓
邻苯二甲酸二丁酯	16.384	278.15	✓	✓	✓	✓
4-羟基-9-蒽酮	16.453	196.05	✓			
2,5-二甲基菲	17.224	206.11				✓
3,6-二甲基菲	17.362	206.11	✓			
荧蒹	17.510	202.98	✓	✓	✓	✓
芘	18.030	202.98	✓	✓		
2,3,5-三甲基菲	18.333	220.13	✓			
1-甲基-7-(1-异丙基)菲	18.893	234.14	✓		✓	
邻苯二甲酸乙己基酯	21.425	278.15		✓	✓	✓
邻苯二甲酸正辛酯	21.442	390.28	✓			

### 2.2 水中有机污染物对斑马鱼卵孵化率和仔鱼畸形率的影响

从斑马鱼卵产出 2 h 内开始染毒, 连续观察到染毒 96 h。96 h 后基本所有健康的鱼卵都可以孵化, 但在各水样高剂量处理组都有一些不能孵化的鱼卵, 这些鱼卵在倒置显微镜下都显示出心脏停止跳动、循环系统停止工作, 为已死亡的卵。各水样的处理都呈现出鱼卵的孵化率随染毒剂量的增加而减

少, 而仔鱼畸形率则显示随染毒剂量的增加而增加的趋势, 只有 2004 年 8 月的寸滩水样在高浓度处理后与中浓度处理相比仔鱼畸形率稍有下降 (表 2)。从斑马鱼的鱼卵孵化率和仔鱼畸形率这两个指标来看, 大溪沟水样毒性略大于寸滩水样毒性, 而枯水期两个点水样的毒性都大于对应点丰水期水样的毒性。

表 2 各水样处理对斑马鱼胚胎孵化率和仔鱼畸形率的影响

水 样	48 h 孵化率 (%)	60 h 孵化率 (%)	72 h 孵化率 (%)	84 h 孵化率 (%)	96 h 孵化率 (%)	仔鱼畸形率 (%)
空白对照	96.67	96.67	96.67	96.67	96.67	1.61
DMSO 对照	59.42	96.16	96.16	96.16	96.16	7.02
2004.08 大溪沟	2.5 倍	19.05	86.04	95.45	95.45	15.07
	10 倍	38.67	78.67	88.67	93.67	16.67
	25 倍	23.78	39.11	60.16	72.43	33.33
2004.08 寸滩	2.5 倍	74.50	94.50	94.50	94.50	14.29
	10 倍	83.84	94.10	94.10	94.10	23.68
	25 倍	10.15	76.71	93.84	93.84	20.00
2005.01 大溪沟	2.5 倍	47.12	81.36	93.52	93.52	16.32
	10 倍	35.70	59.53	86.36	92.45	15.07
	25 倍	12.98	33.53	68.36	82.63	31.52
2005.01 寸滩	2.5 倍	58.20	92.10	95.36	95.36	12.36
	10 倍	62.10	69.56	83.50	95.40	26.35
	25 倍	12.30	62.80	71.63	93.25	27.18

### 3 讨论

大溪沟位于重庆主城区,距嘉陵江与长江交汇处上游约 3 km,该点上游工业和人口稠密,是渝中区水厂的取水点。寸滩位于嘉陵江和长江交汇处下游约 5 km,重庆主城区所有排入江中的污染物都在此汇集。从 GC/MS 的结果来看,两个点有机污染物的种类比较类似,两个点枯水期和丰水期有机污染物的种类也比较类似。实验的结果与以往报道<sup>[2,3]</sup>相比,有机污染物的种类也比较类似,但增加了多种非类物质。菲是一种多环芳烃类物质,主要由石油燃烧产生,菲类物质的增加可能与重庆主城区机动车辆及水上交通船舶的增加有关。

在所采集的四个水样中主要有有机污染物以苯衍生物及多环芳烃类为主。每个水样中都检出了邻苯二甲酸二丁酯和荧蒽。邻苯二甲酸酯是一类增塑剂,在世界各地被大量使用,现在研究表明,邻苯二甲酸酯是一类环境雌激素类物质,对雄性和雌性均具有生殖毒性<sup>[4,5]</sup>,其在各种水体中的高检出率应引起足够重视。荧蒽与菲、芘等都是多环芳烃类物质,它们具有相似的作用途径,它们在细胞内有相同的受体——二芳烃受体<sup>[6,7]</sup>(aryl hydrocarbon receptor, AHR), AHR 激活后可作用于异形物反应元件(xenobiotic response element, XRE),使该元件调控的一系列基因,如细胞色素 P4501A1 (Cytochrome P450 1A1, CYP1A1) 等基因得以表达,而 CYP1A1 的活化可将多环芳烃类化合物代谢活化成为亲电子物质,亲电子物质在细胞内作用于 DNA 和蛋白质,产生 DNA 和蛋白质加合物,导致细胞最终产生一系列的生物学反应和毒性效应,如体重减轻、肝脏毒性、免疫功能紊乱、基因突变、甚至癌变等<sup>[8,9,10]</sup>。

斑马鱼是水生生态毒理学研究常用的一种模式动物。用斑马鱼对其它水体的研究表明,对于水中的各种有机物,包括二恶英类似物、亲电子物质、有机重金属、抗生素等物质,甚至 DMSO,斑马鱼都有非常敏感的反应,反映在其胚胎孵化率、幼鱼畸形率、幼鱼成活率、成鱼性别比例、成鱼体重、体长、产卵间隔等各个方面<sup>[11,12]</sup>。研究的结果表明,斑马鱼胚胎和仔鱼对嘉陵江和长江水中有机污染物也非常敏感。2.5 倍浓缩的水样即可表现出斑马鱼卵孵化的延迟和仔鱼畸形率的增加。斑马鱼胚胎仔鱼实验的结果显示,大溪沟水样毒性略大于寸滩水样毒性,而枯水期两个点水样的毒性都大于对应点丰水期水样的毒性。结果可能是由于长江水流速大于嘉陵江水流速,而丰水期流速又大于枯水期流速,流速快的江水的稀释自净能力强而导致的。

### 【参考文献】

- [1] Onodera S. Characterization and determination of organic compounds in the mutagenic XAD-2 extracts of drinking water[J]. Journal of Chromatography, 1991, 557:413-427.
- [2] 李锦秀,廖文根. 水流条件巨大变化对有机污染物降解速率影响研究[J]. 环境科学研究, 2002, 15(3):45-48.
- [3] 田怀军,舒为群,张学奎,等. 长江、嘉陵江(重庆段)源水有机污染物的研究[J]. 长江流域资源与环境, 2003, 12(2):118-123.
- [4] McKinnell C, Sharpe RM, Mahood K, et, al. Expression of insulin-like factor 3 protein in the rat testis during fetal and postnatal development and in relation to cryptorchidism induced by in utero exposure to di (n-Butyl) phthalate [J]. Endocrinology, 2005, 146:4536-44.
- [5] Garuthers CM, Foster PM. Critical window of male reproductive tract development in rats following gestational exposure to di-n-butyl

- tyl phthalate[J]. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol, 2005, 74:277-85.
- [6] Barron MG, Heintz R, Rice SD. Relative potency of PAHs and heterocycles as aryl hydrocarbon receptor agonists in fish[J]. Marian Environment Research, 2004, 58:95-100.2.
- [7] 崔志鸿,李鹏,刘晋祎,等.重庆市嘉陵江水中有机提取物对大鼠肝细胞 AHR 信号途径的诱导[J]. 毒理学杂志,2006, 20(6):24-27.
- [8] Behnisch PA, Hosoe K, Kasai S. Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds-a review of bioassay/biomarker technology [J]. Environment International, 2001, 27: 413-439.
- [9] Overmeire IV, Clark GC, Brown DJ, et al. Trace contamination with dioxin-like chemicals: evaluation of bioassay-based TEQ determination for hazard assessment and regulatory response [J]. Environment Science Policy, 2001, 4:345-357.
- [10] Hahn ME. Biomarkers and bioassays for detecting dioxin-like compounds in the marian environment[J]. The Science of the Total Environment, 2002, 289:49-69.
- [11] Caryan MT 3rd, Dalton TP, Stuart GW, et al. Transgenic zebrafish as sentinels for aquatic pollution[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000, 919:133-147.
- [12] Hertell UV, Horstgen-Schwark G, Langloz HJ, et al. Family studies on genetic variability in growth and reproductive performance between and within test fish populations of the zebrafish, Brachydanio rerio[J]. Aquaculture, 1990, 85:307-315.
- (收稿日期:2006-03-07)  
(本文编辑:赵珣)

## · 调查研究 ·

## 一起流行性腮腺炎暴发的调查报告

何晓辉 王学斌

【中图分类号】R183.3 【文献标识码】B 【文章编号】1006-2483(2007)01-0008-01

2006年3月27~29日,罗田县九资河镇濠泥畈中学发生流行性腮腺炎疫情,经流行病学调查证实,此次疫情系流行性腮腺炎暴发,现报告如下。

## 1 流行病学特征

## 1.1 基本情况

濠泥畈中学位于罗田县九资河镇徐风冲村,该校为小学和初中合办。有教职工30人,共有12个教学班,学生547人。其中幼儿班1个21人,一年级1个班36人,二、三年级(复式班)46人,四年级1个班44人,五年级2个班81人,六年级2个班124人,初中一年级2个班100人,初二年级2个班116人。学生主要来自该镇周边的9个村,该校学生自小学三年级至初二均在校寄宿,仅少数附近学生走读。全校547名学生中,在校寄宿生470人,走读生77人(含幼儿班及一、二年级)。

## 1.2 发病情况

首发病例为该校六(2)班学生王××,男,11岁,于3月20日发病,在村医务室治疗1周后返校,3月27~29日陆续有学生发病,三天内共发病30例,病例集中在六(2)班,共29例,占96.7%;患者中男生16例,占53.33%,女生14例,占46.67%;年龄分布:11岁2例,占6.67%,12岁10例,占33.33%,13岁17例占56.67%,14岁1例占3.33%;时间分布:3月27日发病6例,占20%,3月28日发病12例,占40%,3月29日发病12例,占40%;发病的学生均采取了隔离治疗并全部治愈。

## 2 临床特征

30例患者均有不同程度的发热,其中体温37.4~37.9℃ 29例,38.0~38.9℃ 1例,30例均有不同程度的双侧腮腺肿大,无其它并发症。

## 3 讨论

3.1 此次疫情经流行病学调查证实为一起流行性腮腺炎暴发。该镇既往未发生过腮腺炎流行,也未开展腮腺炎疫苗的普种工作。疫情发生后,一是对病例进行隔离治疗;二是对学校实行封闭管理,对未患病学生进行监测,每日测量体温2次;三是对在校学生用板兰根、大青叶等中草药进行预防服药;四是对教室、宿舍每天进行空气消毒,并对全校师生进行呼吸道传染病防治知识宣传;五是加强个人防护,经常开窗通风,常晒被褥,搞好环境卫生。采取上述措施后,疫情很快控制。

3.2 首例患者未及时彻底隔离治疗,是导致此次疫情暴发的主要原因,发病学生全部为寄宿生,而且集中在六(2)班,居住拥挤,易感人群集中,密切接触机会多,加快了传播的速度。流行性腮腺炎在学校、托幼机构传播快,影响面广。学校要切实落实对学生晨检、夜查制度,发现患病学生及时报告,及时隔离治疗。宿舍、教室经常开窗通风换气,积极倡导学生接种腮腺炎疫苗。全面落实学校卫生工作条例,确保广大学生的安全。

(收稿日期:2006-08-15)

(本文编辑:宋晓东)