

磷酸三(1,3-二氯二丙基)酯(TDCPP) 对斑马鱼胚胎急性毒性研究

王伟彤, 赵雪松

(吉林师范大学 环境科学与工程学院, 吉林 四平 136000)

摘要:磷酸三(1,3-二氯二丙基)酯(TDCPP)是环境中广泛存在的新兴持久性有机污染物。实验将受精 1 h 后的斑马鱼胚胎暴露于 TDCPP(0, 5 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$, 80 $\mu\text{g/L}$ 和 180 $\mu\text{g/L}$)至受精后 168 h, 在特定时间点观察并记录胚胎/幼鱼的存活率(24~120 haf)、孵化率与畸形率(72 haf)、心率(48 haf, 84 haf)、体重与体长(168 haf)。结果显示:与对照组相比,急性暴露 TDCPP 使斑马鱼胚胎/幼鱼的存活率与孵化率降低、畸形率增加、心率以及体长受到显著抑制,表明 TDCPP 对斑马鱼胚胎存在显著的急性毒性,并且这种影响随着暴露液 TDCPP 浓度的增大更为明显。

关键词:斑马鱼胚胎;磷酸三(1,3-二氯二丙基)酯(TDCPP);急性毒性

中图分类号:X171.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-349X(2019)03-0030-05

DOI:10.16160/j.cnki.tsxyxb.2019.03.008

Study on Acute Toxicity of Tris (1,3-dichloro-2-propyl) Phosphate (TDCPP) to Zebra Fish Embryo

WANG Wei-tong, ZHAO Xue-song

(School of Environmental Science and Engineering, Jilin Normal University, Siping 136000, China)

Abstract: Tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) is a new organic long-lasting pollutant widely existing in the environment. This experiment exposed zebrafish embryos (1 hour after fertilization) to TDCPP(0, 5 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$, 80 $\mu\text{g/L}$ and 180 $\mu\text{g/L}$) to 168 hours after fertilization. During the experiment, survival rate (24~120 haf), incubation rate and malformation rate (72 haf), heart rate (48 haf, 84 haf), weight and body length (168 haf) were observed and recorded at a specific time. The results show that acute toxic exposure to TDCPP have an obvious impact on embryonic development. Compared with the control group, the survival rate and incubation rate decreased, the malformation rate increased, and the heart rate and body length was significantly inhibited, which indicates that TDCPP had significant acute toxicity to zebra fish embryos, and the impact is more serious with the increase of TDCPP concentration.

Key Words: zebra fish embryo; tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP); acute toxicity

基金项目:吉林省教育厅项目(JJKH20180765KJ);吉林省教育厅项目(JJKH20191027KJ)

作者简介:王伟彤(1995—),女,吉林人,硕士研究生,主要从事环境毒理学研究。

0 引言

阻燃剂被广泛应用在电子、电器、化工、交通、建材、纺织品、石油、采矿等领域,成为仅次于增塑剂的材料助剂^[1]。以多溴联苯醚(Poly-brominated diphenyl ethers, PBDEs)为代表的溴代阻燃剂因其性能优越及价格低廉,曾成为最重要的有机阻燃剂^[2],但由于其在环境中具有持久性、生物富集性和生态毒性,欧盟、美国、加拿大和中国等相继发布系列政策限制或禁止PBDEs的使用。而有机磷阻燃剂(Organo-phosphorus flame retardants, OPFRs)因能满足新型阻燃剂高效、低烟、低毒、多功能的要求,产量和使用量逐年增加,现成为当今阻燃剂研究的热点^[3]。磷酸三(1,3-二氯二丙基)酯(TDCPP)是一种典型的有机磷阻燃剂,广泛应用于建材、纺织、化工以及电子等行业^[4]。由于TDCPP属于添加剂,以非化学键方式添加到产品中,导致其易于扩散到周围环境中^[5],因此它虽作为溴代阻燃剂的替代品,但是也属于环境中广泛存在的新兴持久性有机污染物。环境监测的数据显示,目前全球室内和室外空气、地表和地下水、沉积物和生物群TDCPP的检测率极高。例如:美国加利福尼亚地区室内灰尘中TDCPP的浓度为2 100 g/g^[6];Green等研究发现挪威垃圾填埋场与机动车销毁处沉积物中OPFRs浓度较高,分别为746 000~1 790 000 g/kg与27 700~33 800 g/kg,其中TDCPP的浓度分别为250~8 800 g/kg与1 500~4 100 g/kg^[7];Chen等研究发现,挪威沿海地区黑背鸥和银鸥的鸟蛋中TDCPP浓度分别达到1.9 ng/g与0.17 ng/g^[8];我国厦门与青岛附近海域TDCPP的浓度范围为24.1~377 ng/L^[9];珠江中草鱼(*Clarius fuscus*)与鲢鱼(*Cyprinus idellus*)体内TDCPP的浓度均达到了251 ng/g(湿重)^[10]。

斑马鱼(zebrafish, *danio rerio*),又名蓝条鱼,体长约4~5 cm,体呈纺锤形,其体侧斑纹酷似斑马。近年来,斑马鱼作为一种非常好的实验模型,被越来越多的应用到毒性测试和独立研究中。美国环境保护署(USEPA ECOTOX Database, 2000)和经济合作发展组织

(OECD, 1998)曾将斑马鱼列为研究内分泌干扰化学物质对脊椎动物影响的模式生物之一。本实验以斑马鱼胚胎作为受试生物,观察TDCPP暴露对水生生物急性发育毒性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

TDCPP,纯度>99.9%,购自Sigma公司。二甲基亚砜(DMSO)购自Sigma公司。储备液配置方法:取1 g/L TDCPP 1 mL和DMSO 9 mL混合均匀,即把1 g/L TDCPP溶液稀释为100 mg/L TDCPP储备液。稀释液为经过珊瑚砂、陶粒、活性炭和滤棉过滤灭菌超过24 h的自来水。用移液枪分别取50 μ L, 200 μ L, 800 μ L和1.8 mL TDCPP储备液,各自用稀释液定容到1 L,即为浓度分别为5 μ g/L, 20 μ g/L, 80 μ g/L和180 μ g/L的暴露液。

1.2 斑马鱼的养殖与胚胎的收集

实验所用的斑马鱼购自中国科学院武汉水生生物研究所,健康状况良好。将斑马鱼雄雌分开放置在实验条件相同的鱼缸中,鱼缸所用水来自经过充分曝气且灭菌后的循环水箱。水温恒温28 $^{\circ}$ C, pH值6.5~7,每日投喂三次新鲜的丰年虫卵。丰年虫卵孵化方法如下:取出卵3 g和食用盐20 g加入到1 L水中,曝气孵化28 h,水温恒温28 $^{\circ}$ C。亲代斑马鱼养殖30天后,可用于孵化胚胎。按照雌鱼与雄鱼1:2选取健康活泼的成年斑马鱼进行交配。在鱼缸内铺放两层网,防止亲鱼误食鱼卵。前一天晚上将雌雄斑马鱼共同放置在黑暗环境下12 h,第二天光照追逐,光照1 h后在显微镜下挑选囊胚期的胚胎用于暴露实验。

1.3 暴露实验

实验共设置浓度为0, 5 μ g/L, 20 μ g/L, 80 μ g/L和180 μ g/L的TDCPP暴露组,在5个直径为180 mm的结晶皿中分别放入200 mL不同浓度的暴露液以及600个健康的斑马鱼胚胎,暴露斑马鱼胚胎至受精后168 h(168 haf)。每隔一天更换染毒溶液,并挑选出杂物和死亡胚胎。

1.4 急性发育指标统计方法

在暴露期间,观察胚胎的形态发育,记录并统计胚胎 24 haf, 48 haf, 72 haf, 96 haf 以及 120 haf 的存活率、48 haf 和 84 haf 的心率、72 haf 的孵化率和畸形率,以及 168 haf 的体长、体重,并绘制成柱形图进行比较分析。具体统计方法参照文献[11]。

2 结果与讨论

2.1 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎存活率的影响

图 1 为急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎存活率的影响。

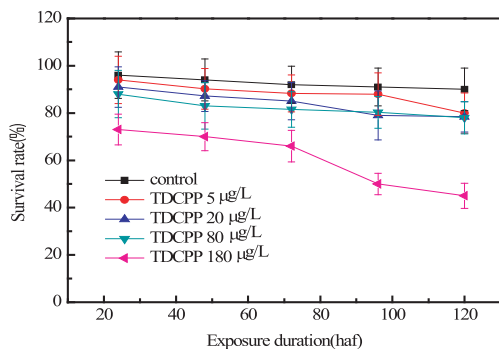


图 1 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎存活率的影响

由图 1 可知,与对照组相比,TDCPP 的急性暴露引起了斑马鱼胚胎存活率的降低,高浓度暴露组尤为明显。在浓度为 5 µg/L, 20 µg/L 与 80 µg/L 的 TDCPP 暴露液中,24~120 haf 胚胎/幼鱼存活率分别从 94%降低至 80%,91%降低至 78.4%,88%降低至 78%,但是与对照组 120 haf 时的 96%相比差异不太显著。在高浓度暴露组 180 µg/L TDCPP 中,24~120 haf 胚胎/幼鱼存活率由 73%显著降低至 45%,并且在 72~96 hpf,存活率降低幅度较大,说明幼鱼孵化出膜后,失去了绒毛膜的保护作用,直接暴露于高浓度的 TDCPP 导致其大量死亡。本实验结果说明 TDCPP 能够直接诱发胚胎死亡,且高浓度的 TDCPP 对胚胎死亡率的影响更大。Xu 等研究也发现较大浓度的 TDCPP 会直接诱发斑马鱼胚胎死亡[12]。

2.2 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎心率的影响

图 2 为 48 haf 和 84 haf 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎心率的影响。

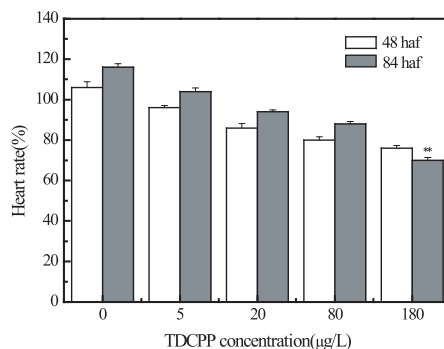


图 2 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎心率的影响

由图 2 可知,与对照组相比,TDCPP 暴露组斑马鱼胚胎心率有所降低,但是差异不显著;而在 84 haf,暴露浓度为 180 µg/L 时,TDCPP 对斑马鱼胚胎心率的抑制作用较为明显,呈现出浓度依赖关系,心率从对照组的 116 次/min 降低到 70 次/min,下降了 39.66%。通过此图还可以看出,在斑马鱼胚胎/幼鱼从 48 haf 到 84 haf 的生长发育过程中,各个实验组在两个时间点上的心率差有所减弱,说明胚胎/幼鱼适应了外源物质的刺激。石亚楠等研究也表明心率可以作为研究斑马鱼胚胎毒性的一个重要指标[13]。

2.3 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎孵化率的影响

图 3 为 72 haf 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎孵化率的影响。

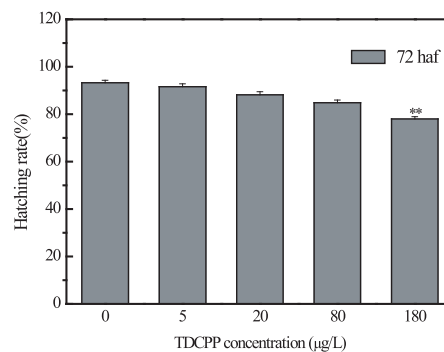


图 3 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼胚胎孵化率的影响

如图3所示,与对照组相比,72 haf TDCPP暴露组中斑马鱼胚胎的孵化率呈下降趋势,180 $\mu\text{g/L}$ 暴露组显著下降了19.56%,说明TDCPP能够抑制胚胎的孵化,并且呈浓度依赖关系。由此可知在卵裂前,TDCPP就可以通过生物膜渗透进去,对胚胎进行毒性作用,进而抑制胚胎的孵化出膜。高丹等研究表明有机磷阻燃剂浓度与斑马鱼胚胎的孵化率呈负相关关系^[14],与本研究结果一致。

2.4 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼畸形率的影响

图4为72 haf 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼畸形率的影响。

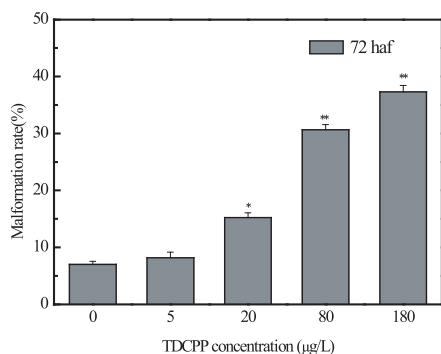


图4 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼畸形率的影响

由图4可知,20 $\mu\text{g/L}$, 80 $\mu\text{g/L}$, 180 $\mu\text{g/L}$ 暴露组72 haf 幼鱼畸形率较对照组显著增加,分别由对照组的6.98%增加至15.23%, 30.64%与37.3%。在5 $\mu\text{g/L}$ 暴露组中虽然幼鱼也出现了形态学的异常,但是与对照组没有显著差异。高浓度暴露组致畸的主要原因可能是因TDCPP的浓度超过了胚胎所能承受的范围,导致胚胎细胞凋亡,或者发生DNA损伤,影响与发育直接相关的功能基因和蛋白表达,最终诱发幼鱼畸形。图5为在急性暴露期间TDCPP导致的幼鱼形态学异常,包括尾部畸形、卵黄囊水肿和心包水肿。本研究结果说明TDCPP对斑马鱼胚胎具有明显的致畸效应。

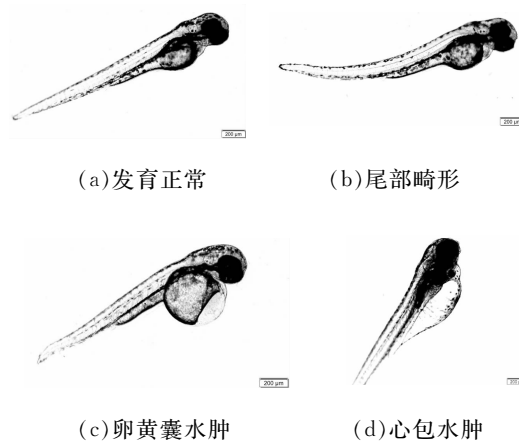


图5 斑马鱼发育形态

2.5 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼幼鱼体重、体长的影响

图6为168 haf 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼幼鱼体重、体长的影响。

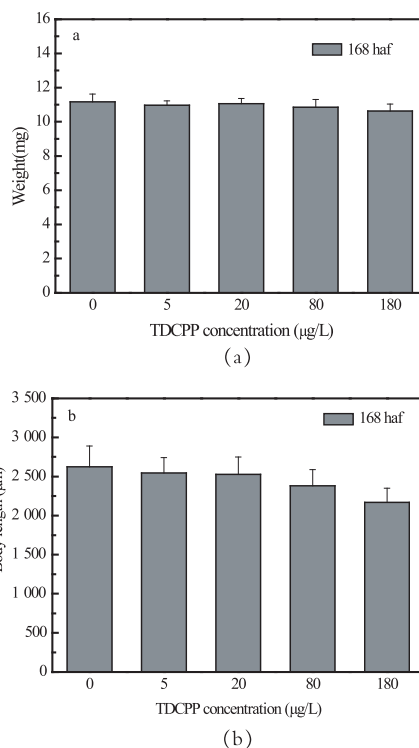


图6 急性暴露 TDCPP 对斑马鱼幼鱼体重、体长的影响

由图6可知,在暴露实验进行7天后,幼鱼的体重没有显著的变化(图6a),高浓度暴露组幼鱼体重仅从对照组的11.165 mg减少到10.632 mg,差异不显著,但是体长则受到显著抑制(图6b),高浓度暴露组幼鱼的体长由对照组的

2 624.35 μm 显著降低至 2 170.18 μm , 表明急性暴露 TDCPP 能够显著抑制幼鱼的生长发育。

3 结论

实验证明, 急性暴露 TDCPP 能够影响斑马鱼胚胎/幼鱼的发育, 表现为存活率降低、畸形率增加、孵化率降低以及心率和体长受到显著的抑制, 并且这种影响随着暴露液 TDCPP 浓度的增大而明显。

参考文献:

- [1] FU J, HAN J, ZHOU B S, et al. Toxicogenomic responses of zebrafish embryos/larvae to Tris (1, 3-dichloro-2-propyl) Phosphate (TDCPP) reveal possible molecular mechanisms of developmental toxicity[J]. Environ. Sci. Technol. 2013, 47 (18), 10574 – 10582.
- [2] LATRONICO S, GIORDANO M E, URSO E, et al. Effect of the flame retardant tris (1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) on Na^+ - K^+ -ATPase and Cl^- transport in HeLa cells[J]. Toxicology Mechanisms and Methods, 2018, 28 (8): 599 – 606.
- [3] HE X J, LI S T, FANG X X, et al. TDCPP protects cardiomyocytes from hypoxia-reoxygenation injury induced apoptosis through mitigating calcium overload and promotion GSK-3 β phosphorylation [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2018, 92: 39 – 45.
- [4] XIANG P, LIU R Y, LI C, et al. Effects of organophosphorus flame retardant TDCPP on normal human corneal epithelial cells: implications for human health[J]. Environmental Pollution, 2017, 230: 22 – 30.
- [5] ZHONG X L, QIU J H, KANG J M, et al. Exposure to tris (1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) induces vascular toxicity through Nrf2-VEGF pathway in zebrafish and human umbilical vascular endothelial cells[J]. Environmental Pollution, 2018, 247: 293 – 301.
- [6] DODSON R E, PEROVICH L J, COVACI A, et al. After the PBDE phase-out: a broad suite of flame retardants in repeat house dust Samples from California [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(24): 13056 – 13066.
- [7] GREEN N, SCHLABACH M, BAKKE T, et al. Screening of selected metals and new organic contaminants 2007[R]. Norwegian Pollution Control Authority, 2008-10-14.
- [8] CHEN D, LETCHER R J, CHU S G. Determination of non-halogenated, chlorinated and brominated organophosphate flame retardants in herring gull eggs based on liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1220: 169 – 174.
- [9] HU M Y, LI J, ZHANG B B, et al. Regional distribution of halogenated organophosphate flame retardants in seawater samples from three coastal cities in China [J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 86 (1-2): 569 – 574.
- [10] MA Y Q, CUI K Y, ZENG F, et al. Microwave-assisted extraction combined with gel permeation chromatography and silica gel cleanup followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of organophosphorus flame retardants and plasticizers in biological samples [J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 786: 47 – 53.
- [11] 赵雪松, 刘远学, 任新. 碳纳米管与四溴二苯醚复合对斑马鱼胚胎急性发育毒性研究[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2017, 38(2): 101 – 105. (下转第 53 页)

4 政策与建议

实证表明,健康人力资本和教育人力资本对经济增长的影响力都是显著的,虽然教育人力资本对经济的影响超过了健康人力资本,但是健康人力资本的作用也不容忽视,一方面它是人力资本的基础,是实现其他人力资本的前提;另一方面,健康人力资本的积累能够促进教育资本的收益。因此,在经济发展中需重视健康人力资本的作用。

4.1 政府要重视公共健康投资

政府要重视居民健康方面的资金积累,优化健康投资结构,提升安徽省居民整体健康水平;应不断完善医疗救助机制,减少居民因高额自费医疗而导致的贫困;加大对医疗科研机构的投资力度,为优质的医院引进更前沿的医疗设备和人才;应通过政策提高城市居民收入,发挥家庭分担风险的积极作用。除此之外,安徽省农村人口众多,占据全省人口的46.5%,因此应重点加强农村医疗建设,同时加强城乡医疗卫生机构之间的联系,建立互相关照、彼此帮助、资源共享的公共卫生服务体系。

4.2 居民个人要重视健康保健投资

居民个人应加大对医疗保健的投资,定期对身体状况进行检查,及时发现身体潜在的疾病,做到早发现、早治疗;应提高医疗保健意识,勤加锻炼,多做运动,以提高自身的健康水平和对重大疾病的抵抗能力,降低发病率,减少在医疗卫生方面的支出;除此之外,居民个人应改掉不科学的饮食习惯,注意饮食卫生,合理膳食,形成健康的生活习惯。

参考文献:

- [1] LUCAS R E. On the mechanic of economic development[J]. Journal of Monetary Economics,1988,22(1):3-42.
- [2] NKETIAH-AMPONSAH E. Public spending and economic growth: evidence from Ghana(1970-2004)[J]. Development Southern Africa,2009,26(3):477-497.
- [3] 刘国恩, WILLIAM H D, 傅正泓, 等. 中国的健康人力资本与收入增长[J]. 经济学, 2004,4(1):101-118.
- [4] 罗凯. 健康人力资本与经济增长:中国分省数据证据[J]. 经济科学,2006,1(4):83-93.
- [5] 杨建芳, 龚六堂, 张庆华. 人力资本形成及其对经济增长的影响——一个包含教育和健康投入的内生增长模型及其检验[J]. 管理世界,2006,1(5):10-18.
- [6] 杨辉. 健康人力资本与经济增长[D]. 南京: 南京大学,2014:20-23.
- [7] 杨阳. 京津冀地区健康人力资本对经济增长的影响[D]. 北京: 首都经济贸易大学, 2017:32-34.
- [8] 梁巧. 健康人力资本对经济增长的影响[D]. 桂林: 广西师范大学经济管理学院, 2012:19-25.
- [9] 张军, 吴桂英, 张吉鹏. 中国省际物质资本存量估算: 1952-2000[J]. 经济研究, 2004,1(10):35-44.
- [10] 蔡海南. 健康人力资本对经济增长的影响研究[D]. 武汉: 湖北大学,2014:20-23.

(责任编辑:李秀荣)

(上接第34页)

- [12] XU T, WANG Q W, SHI Q P, et al. Bioconcentration, metabolism and alterations of thyroid hormones of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) in zebrafish. [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology,2015,40(2):581-586.

- [13] 石亚楠, 姚磊, 王佑华, 等. 氯化钡对斑马鱼心脏毒性的初步研究[J]. 中国药理学通报,2019,35(1):145-146.
- [14] 高丹, 同帆, 张圣虎, 等. 4种典型有机磷阻燃剂对斑马鱼胚胎毒性及风险评价[J]. 生态与农村环境学报,2017,33(9):836-844.

(责任编辑:李秀荣)