

食物中多氯联苯 PCB 126 对南方鲇的致死效应及代谢胁迫的研究

袁伦强 谢小军 闫玉莲

(西南大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要: 于 2007 年 10—12 月, 为探讨食物中多氯联苯 126 (3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl PCB 126) 对南方鲇 (*Silurus meridionalis* Chen) 的致死效应及代谢胁迫作用, 将 72 尾南方鲇幼鱼分为 6 个实验组, 配制 PCB 126 含量分别为 0.50、100、200、400 和 800 $\mu\text{g/kg}$ 的 6 组饲料, 采用室内养殖系统, 在 $(27.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 水温条件下以 3% BW/d 的日粮水平单尾喂养 8 周。观测结果表明: PCB 126 含量为 0.50 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 的饲料组在实验期间无实验鱼死亡, 至实验结束时的 PCB 126 总摄入量分别为 0.30、56 和 66、66 $\mu\text{g/kg}$ 而 200、400 和 800 $\mu\text{g/kg}$ 的饲料组有实验鱼死亡, 半致死时间 (Median lethal time LT_{50}) 分别为 34d、16d 和 11d 与饲料中 PCB 126 水平呈负相关, 至半致死时 PCB 126 总摄入量分别为 90.18、92.05 和 94.11 $\mu\text{g/kg}$ 三者间无显著差异, 但均显著高于无实验鱼死亡饲料组的 PCB 126 总摄入量 ($p < 0.05$); 肝指数 (Hepatosomatic index, HSI) 及静止代谢率随饲料中 PCB 126 水平的增加而升高; 在无实验鱼死亡的饲料组, 肝线粒体代谢耗氧率和细胞色素 c 氧化酶 (Cytochrome c oxidase, CCO) 活性随饲料中 PCB 126 水平的增加而升高, 而在有实验鱼死亡的饲料组, 肝线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性则随饲料中 PCB 126 水平的增加而呈下降趋势。本研究提出, PCB 126 对南方鲇的致死临界累计摄入量在 92 $\mu\text{g/kg}$ 左右; PCB 126 对南方鲇在整体水平表现为使静止代谢增强的胁迫效应, 但在肝线粒体水平表现为低浓度使其代谢耗氧率增强, 这应当是该种鱼应对多氯联苯类污染物的一种生理调节结果, 而高浓度的 PCB 126 则使肝脏功能受到不可耐受的损害, 不能对胁迫做出进一步的代谢调节。

关键词: 南方鲇; 多氯联苯 PCB 126; 半致死时间; 静止代谢率; 细胞色素 c 氧化酶

中图分类号: Q494 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)03-0391-09

多氯联苯 (Polychlorinated biphenyls PCBs) 等持久性有机污染物 (Persistent organic pollutants POPs) 在环境中能够长期存在, 易于通过食物链在各种生物体内富集, 对人和动物的健康以及生态环境造成严重影响, 已经引起了广泛的关注^[1-4]。多氯联苯 126 (3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl PCB 126) 是具有高生物累积性和高毒性的 PCBs 同系物之一^[5-6]。已有研究表明, 该污染物通过不同途径进入水生动物体内后主要积蓄在肝脏等多脂肪组织中, 导致组织结构和功能发生变化, 如组织肿大、代谢功能改变、免疫和内分泌系统紊乱、生殖和发育过程受到抑制、生长迟缓、神经调节及行为活动异常, 甚至导致动物死亡^[7-8], 而有关 PCB 126 影响鱼类线粒体代谢耗氧率的研究国内外尚未见报道。线粒体是体内合成 ATP 的主要场所, 在能量代谢过程中至关重要^[7-9]。动物在组织细胞水平的有氧代谢能

力可以用线粒体代谢耗氧率、细胞色素 c 氧化酶 (Cytochrome c oxidase, CCO) 活性和柠檬酸合酶 (Citrate synthase CS) 活性等指标来评价^[7-10]。已有研究多集中于探讨温度、氧气、营养条件等因素对动物整体及器官组织线粒体代谢耗氧率的影响^[11-13]。三峡成库后, 由于水体自净化能力下降, 库区鱼类生态系统受到 POPs 的影响加剧, 可能导致鱼体发生结构和功能变化, 鱼类资源数量减少, 多样性降低。南方鲇 (*Silurus meridionalis* Chen) 是专性肉食性鱼类, 处于库区水生生态系统食物链的最高营养级, 由于生物累积效应, POPs 类污染物对其生理状况的影响应当更为突出。本实验室已对南方鲇的能量生态学进行了较为系统的研究^[14-17]。本研究讨论了饲料中添加不同水平的 PCB 126 对南方鲇幼鱼的致死效应以及对静止代谢率、肝脏线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性的影响, 旨在为探讨 PCBs

收稿日期: 2008-11-10 修订日期: 2009-03-10

基金项目: 重庆市自然科学基金项目 (CSTC 2005BA1011) 资助

作者简介: 袁伦强 (1964—), 男, 汉族, 四川乐山人; 博士研究生; 主要从事鱼类生理生态学研究。E-mail: yuanlq@swu.edu.cn

通讯作者: 谢小军, E-mail: xjxie@swu.edu.cn

等 POPs类污染物对肉食性鱼类的生理生态学影响提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 饲料配制 以白鱼粉、玉米油、糊化淀粉分别作为蛋白质、脂肪和碳水化合物源,以 PCB 126(德国

Ehrensbrfer公司生产,纯度 98.5%)作为 PCBs源,配制等蛋白质(含量为 45%)、等脂肪(含量为 12%)、等碳水化合物(含量为 15%)、PCB 126 含量分别为 0(对照)、50、100、200、400和 800 $\mu\text{g/kg}$ 的 6组饲料,分别作为 A、B、C、D、E 和 F 组饲料(表 1)。每组饲料分别取定量样品于 70℃烘干后进行成分分析。

表 1 实验饲料配方及成分含量表(%干重)
Tab 1 Formulation and proximate composition of experimental diets (% dry weight)

配方 Formulation	饲料编号 Diet No. (PCB126 $\mu\text{g/kg}$)					
	A (0)	B (50)	C (100)	D (200)	E (400)	F (800)
鱼粉 Fishmeal	58.42	58.42	58.42	58.42	58.42	58.42
玉米淀粉 Corn starch	15.28	15.28	15.28	15.28	15.28	15.28
玉米油 Corn oil	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48	6.48
牛肝 Ox liver	4.45	4.45	4.45	4.45	4.45	4.45
微晶纤维素 MCC	7.87	7.87	7.87	7.87	7.87	7.87
无机盐预混剂 Mineral premix ¹⁾	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
维生素预混剂 Vitamin premix ²⁾	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
羧甲基纤维素 CMC	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
多氯联苯 126 PCB126 ($\mu\text{g/kg}$)	0	50	100	200	400	800
成分分析 Proximate analysis						
粗蛋白质 Crude protein	43.52	44.23	43.27	44.39	44.19	45.68
粗脂肪 Crude lipid	11.74	11.83	12.01	12.07	10.47	12.50
碳水化合物 Carbohydrate	15.88	15.15	15.32	15.04	16.66	16.86
灰分 Ash	16.28	16.34	16.30	16.26	16.36	16.25
多氯联苯 126 PCB126 ($\mu\text{g/kg}$)	0	43.46	86.92	153.43	306.85	695.35

注: 1)无机盐预混剂 Mineral premix (mg/kg diet): NaF 2mg KI 0.08mg CoCl₂ · 6H₂O 1mg CuSO₄ · 5H₂O 10mg FeSO₄ · H₂O 74mg ZnSO₄ · H₂O 50mg MnSO₄ · H₂O 60mg MgSO₄ · 7H₂O 1000mg K₂HPO₃ · 3H₂O 6000mg NaH₂PO₃ · 2H₂O 5000mg NaCl 100mg CaCO₃ 4g
2)维生素预混剂 Vitamin premix (mg or IU/kg diet): B₁ 20mg B₂ 40mg B₆ 20mg B₁₂ 0.1mg K₃ 10mg Inositol 1000mg Pantothenic acid 60mg Niacin acid 200mg H. 1. 23mg A 2500IU D 2500IU E 1200mg C 3000mg Choline chloride 2500mg

1.2 实验鱼来源及驯化 采用本实验室当年同批次人工孵化繁殖的南方鲇幼鱼,实验前在室内养殖水箱中以对照饲料,每天投喂一次,单尾饱足投喂驯化喂养 2周,水温维持在 (27.5 ± 0.2)℃,溶氧量大于 5 mg/L 光制为 14 L :10 D。

1.3 实验过程 选取 72尾经驯化的初始体重为 (24.74 ± 0.66)g的南方鲇幼鱼进行单尾喂养,共设 6个组,其中 1个对照组,5个实验处理组,每组 12尾鱼。分别投喂 A、B、C、D、E 和 F 组饲料,日粮水平为 3% BW /d 实验喂养期为 8周。水温、溶氧、光制条件同驯化期,每天换水 1/2 废水经活性炭处理后排放。喂养期间有实验鱼死亡的饲料组,至半致死时将尚存活的实验鱼取样测定其静止代谢率、体重、肝重以及肝脏线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性,

无实验鱼死亡的饲料组,待 8周喂养期结束后取样测定以上几个指标。记录每日饵料投喂量、残饵量、死亡个体数、死亡时间。

1.4 分析测定方法

1.4.1 饲料化学成分分析 用恒温干燥法测定样品水分含量;凯氏定氮法测定样品粗蛋白含量;索氏提取法测定样品粗脂肪含量;水杨酸法测定样品碳水化合物含量;马福炉灼烧法测定样品灰分含量;PCB 126的测定参照 Manirakiza和 Naccari et al 的方法^[1-18],以正己烷为溶剂,经索氏抽提、硫酸去除杂质、固相萃取柱净化、旋转蒸发器浓缩等步骤后,采用带电子捕获检测器的气相色谱仪 (Agilent 6890N)测出其含量。

1.4.2 静止代谢率测定 采用本实验室设计的鱼

类流水式呼吸仪及相应方法测定南方鲇幼鱼的静止代谢率^[14-17]。实验期间采用全光照以减少昼夜节律的影响,水温控制在(27.5±0.1)℃。

1.4.3 肝脏线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性测定

线粒体提取、线粒体蛋白含量测定以及线粒体代谢耗氧率和呼吸控制率(Respirabry control ratio RCR)的测定均参照本实验室已采用的方法^[13]。测定的温度与实验鱼静止代谢率测定时的温度一致。

线粒体 CCO活性测定采用液相氧电极(型号为 Oxythem 英国 Hansatech公司生产)测定。反应液总体积为 2 mL。先往反应室中加入 1.98 mL呼吸缓冲液(7.5 mmol/L KH₂PO₄, 3.75 mmol/L 抗坏血酸, 0.3 mmol/L 2HCl四甲基对苯二胺, pH 7.4 其中抗坏血酸为氧化底物),待基线斜率稳定后,用微量进样器将 10 μL 线粒体悬浮液和 10 μL 的 30 μmol/L 细胞色素 c 加入反应室,测出稳定的最大耗氧率^[12]。

1.5 数据处理方法

1.5.1 半致死时间及 PCB 126总摄入量 半致死时间(Median lethal time LT₅₀)为每组 12尾实验鱼因中毒而累计死亡一半时的所需时间(d)。在实验期间有实验鱼死亡的饲料组,以各组达半致死时死亡个体平均累计摄入 PCB 126量作为各组的总摄入量;无实验鱼死亡的饲料组,则以喂养期结束后各组平均累计摄入量为各组的总摄入量,总摄入量以单位体重的累计摄入量(μg/kg)表达。

1.5.2 线粒体 CCO活性表示方法 采用测得的

加入线粒体悬浮液和细胞色素 c后的稳定的最大耗氧率减去加入缓冲液后的基准耗氧率作为计算线粒体 CCO活性的依据,线粒体 CCO活性表示为单位线粒体蛋白重量的线粒体耗氧率(mol O₂ / min·mg)。

1.5.3 肝指数 以测得的实验鱼肝重和体重为依据,将肝指数(Hepatosomatic index, HSI)表示为肝重占体重的百分率(%)。

1.5.4 统计分析方法 采用 Excel(2003)、SPSS (11.5)软件进行数据的整理及统计分析,统计数据以平均值±标准误表示,差异显著性检验采用方差分析(ANOVA)及最小显著差数法(LSD)多重比较,以 p<0.05作为数据均值差异达到显著性的标准。

2 结果

2.1 PCB 126对南方鲇半致死时间及肝指数的影响

在 8 周的实验期间,D、E 和 F 组出现了实验鱼死亡现象,LT₅₀分别为 34d、16d 和 11d(表 2),与饲料中 PCB 126水平呈负相关关系,而 A、B 和 C 组在实验期间没有出现死亡现象;各饲料组南方鲇的 HSI随饲料中 PCB 126水平升高而升高,两者具有正相关关系。饲料 B、C、D、E 和 F 组的 HSI分别为(1.33±0.08)%、(1.48±0.04)%、(1.51±0.03)%、(1.77±0.10)%和(1.95±0.12)%,均显著高于饲料 A 组的 HSI(0.96±0.03)% (df=5 F=21.72 p<0.05)(表 2)。

表 2 饲料中 PCB 126水平对南方鲇半致死时间(LT₅₀)、PCB 126总摄入量及肝指数(HSI)的影响
Tab 2 The median lethal time (LT₅₀), total amounts of PCB 126 intake and hepatosomatic index (HSI) in *Silurus meridionalis* fed with different experimental diets

饲料编号 Diet No	饲料 PCB126 水平 PCB 126 in diet (μg/kg)	半致死时间 LT ₅₀ (d)	PCB126总摄入量 Total PCB126 intake (μg/kg)	肝指数 HSI (%)
A	0	> 56	0 ^d	0.96±0.03 ^c
B	50	> 56	30.56±1.38 ^c	1.33±0.08 ^b
C	100	> 56	66.66±2.01 ^b	1.48±0.04 ^b
D	200	34	90.18±2.13 ^a	1.51±0.03 ^b
E	400	16	92.05±1.48 ^a	1.77±0.10 ^a
F	800	11	94.11±1.19 ^a	1.95±0.12 ^a

注:半致死时间以每组鱼死亡达 50%时的时间表示,其余数据用平均值±标准误表示(mean±S.E. n=6),同列中具有不同上标者表示差异显著(p<0.05)

Note: LT₅₀ was expressed as the lethal time needed to cause 50% mortality of the fish; other data were expressed as mean±S.E. n=6; different superscripts in each column indicate significant differences among dietary treatments (p<0.05)

2.2 PCB 126对南方鲇静止代谢率及肝脏线粒体代谢水平的影响

南方鲇静止代谢率随饲料中 PCB 126水平增加呈逐渐上升趋势, B、C、D、E和 F组的静止代谢率分别为(112.68±3.22)、(127.37±2.95)、(131.75±

2.26)、(192.68±8.12)和(191.12±9.35)mg O₂/h·kg均显著高于 A组的(93.36±6.50)mg O₂/h·kg(df=5 F=52.21, p<0.05); E组和 F组的静止代谢率还显著高于 B、C和 D组(p<0.05)(表 3)。

表 3 饲料中 PCB 126水平对南方鲇静止代谢率、肝脏线粒体代谢耗氧率、呼吸控制率(RCR)以及线粒体细胞色素 c氧化酶(CCO)活性的影响
Tab 3 Effects of dietary levels of PCB 126 on resting metabolic rate, oxygen consumption rate, respiratory control ratio (RCR) and activity of cytochrome c oxidase (CCO) of mitochondria in liver of Silurus meridionalis

饲料编号 Diet No.	饲料 PCB 126 水平 PCB 126 in diet (μg/kg)	静止代谢率 Resting metabolic rate (mg O ₂ /h·kg)	线粒体代谢耗氧率 Oxygen consumption rate by mitochondria (nmol O ₂ /min·mg)	线粒体 CCO 活性 CCO activity of mitochondria (nmol O ₂ /min·mg)	呼吸控制率 RCR
A	0	93.36±6.50 ^d	22.78±3.27 ^b	125.23±2.88 ^d	4.17±0.25 ^b
B	50	112.68±3.22 ^c	24.49±3.83 ^{ab}	137.17±7.19 ^{cd}	4.27±0.19 ^b
C	100	127.37±2.95 ^b	31.51±3.13 ^a	191.64±3.67 ^b	4.41±0.22 ^b
D	200	131.75±2.26 ^b	32.43±1.31 ^a	253.76±6.64 ^a	6.68±0.22 ^a
E	400	192.68±8.12 ^a	24.07±0.65 ^{ab}	191.45±14.88 ^b	3.73±0.52 ^b
F	800	191.12±9.35 ^a	21.19±1.69 ^b	155.55±7.43 ^c	2.73±0.27 ^b

注:数据用平均值±标准误表示(mean±S.E. n=6) 同列中具有不同上标者表示差异显著(p<0.05)
Note: Data were expressed as mean±S.E. n=6, different superscripts in each column indicate significant differences among dietary treatments (p<0.05)

无实验鱼死亡的 A、B和 C组,肝脏线粒体代谢耗氧率随饲料中 PCB 126水平的升高呈上升趋势,分别为(22.78±3.27)、(24.49±3.83)和(31.51±3.13)nmol O₂/min·mg C组的线粒体代谢耗氧率显著高于 A组(p<0.05),这 3组的 RCR 组间无显著差异,分别为 4.17±0.25、4.27±0.19和 4.41±0.22;有实验鱼死亡的 D、E和 F组在到达半致死时尚存活南方鲇的肝脏线粒体代谢耗氧率分别为(32.43±1.31)、(24.07±0.65)和(21.19±1.69)nmol O₂/min·mg 随饲料中 PCB 126水平的升高呈下降趋势,这 3组的 RCR 随饲料中 PCB 126水平的升高也呈下降趋势,分别为 6.68±0.22、3.73±0.52和 2.73±0.27(表 3)。

无实验鱼死亡的 A、B和 C组,肝脏线粒体 CCO 活性随饲料中 PCB 126水平的升高呈上升趋势,分别为(125.23±2.88)、(137.17±7.19)和(191.64±3.67)nmol O₂/min·mg C组的线粒体 CCO 活性显著高于 A组(p<0.05);有实验鱼死亡的 D、E和 F组在到达半致死时尚存活南方鲇的肝脏线粒体 CCO 活性分别为(253.76±6.64)、(191.45±14.88)和(155.55±7.43)nmol O₂/min·mg 随饲料中 PCB 126水平的升高呈下降趋势,各

组该指标均显著高于 A组(df=5 F=25.68 p<0.05)(表 3)。

3 讨论

3.1 PCB 126对南方鲇的致死效应

已有研究发现多种 PCBs同系物对动物具有强毒性,通过不同途径在体内累积到一定量时,会导致动物死亡。LT₅₀是反映有毒物质对动物的致死毒性的重要指标之一^[19-21]。本研究检验了饲料中 PCB 126不同浓度水平对南方鲇的致死效应,发现饲料中 PCB 126含量水平在 200 μg/kg及其以上才会在 8 周的实验时间内发生南方鲇死亡的现象。在实验期间出现死亡的 D、E和 F组,随饲料中 PCB 126水平的增加,南方鲇的 LT₅₀缩短,与 PCB 126水平呈负相关关系,这与其他 PCBs通过不同途径在体内累积导致动物死亡的情况相似^[22-24]。我们计算了 D、E和 F组南方鲇达半致死时,各组实验鱼的 PCB 126总摄入量分别为(90.18±2.13)、(92.05±1.48)和(94.11±1.19)μg/kg 经统计检验这 3组之间无显著差异(df=2 F=1.42 p>0.05)而 A、B和 C组实验期间没有出现南方鲇死亡,实验结束时 PCB 126总摄入量分别为 0、(30.56±1.38)和

(66.66 ± 2.01) $\mu\text{g/kg}$ 均显著低于出现实验鱼死亡的 D、E 和 F 组 ($\text{df}=5$ $F=645.95$ $p<0.05$) (表 2), 表明只有当南方鲇从食物中累计摄入 PCB 126 至某一临界水平才会导致鱼体死亡, 这一临界水平在该种鱼应当是在 $92 \mu\text{g/kg}$ 左右。已有关于五溴联苯醚或二甲基次肿酸分别对西非爪蛙 (*Xenopus tropicalis*) 和大鼠 (*Rattus norvegicus*) 的毒性实验^[23-24]。研究结果表明, 实验动物的 LT_{50} 与食物中的污染物浓度呈负相关关系 (表 4), 这与本研究的结果相似, 但半致死的污染物累计摄入量在高浓度组均大大高于低浓度组, 而本研究有南方鲇死亡各浓度处理组的半致死累计摄入量也呈现这样的趋势, 但相互之间并无显著差异。比较表 4 中三项研究的实验处理条件和结果可以看出, 虽然利用三种不同动物进行了三种不同污染物的摄入实验, 且食物中污染物的浓度差异在几个数量级以上, 而三者一致的趋势是食物中污染物的浓度越高, 半致死时

的摄入累积量越高。污染物在体内组织中的浓度决定其毒理效应的大小, 该浓度由体内污染物的累积存留量所决定, 后者应当受三方面因素的影响: 污染物的摄入量、消化吸收率和排出率。在一定的消化吸收率条件下, 摄入污染物量越高, 则体内浓度越高。已有研究表明, 体内污染物的累积浓度与其转化排出率呈正相关^[25-29], 因此, 当体内累积污染物的浓度达到致死效应水平时, 含高浓度污染物食物处理的动物的摄入总量相对越高; 动物体内对污染物的转化排出功能越强, 达致死效应时的污染物摄入总量在不同浓度处理间相差就会越明显。本研究中出现南方鲇死亡的不同浓度 PCB 126 处理组之间的半致死摄入总量差别不明显, 表明该种鱼对此污染物的转化排出功能很弱。Brown et al 的研究已经证实了 PCB 126 在虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 体内的生物转化速率很慢^[9], 这应当是 PCB 126 对鱼类毒害作用迅速且效应明显的重要原因。

表 4 几种动物从饲料中摄入持久性有机污染物时的半致死累计摄入量

Tab. 4 The accumulative amounts of contaminants intake at 50% mortality of several experimental animals by dietary exposure to persistent organic pollutants					
实验动物 Animals for experiment	污染物 Contaminant	饲料中污染物浓度 Concentration of contaminant in diet (mg/kg)	半致死时间 LT_{50} (d)	污染物累计摄入量 Accumulative contaminant intake (mg/kg BW)	资料来源 References
南方鲇 <i>Silurus meridionalis</i>	多氯联苯 126 PCB 126	0.2	34	0.090	本研究 This study
		0.4	16	0.092	
		0.8	11	0.094	
西非爪蛙 <i>Xenopus tropicalis</i>	五溴联苯醚 Pentabromodiphenyl ether BDE-99	1000	14	560	[24]
		10000	8	3200	
大鼠 <i>Rattus norvegicus</i>	二甲基次肿酸 Dimethylarsinic acid DMA	40	728	2256.8	[23]
		100	686	5350.8	

3.2 PCB 126对南方鲇肝指数的影响

已有研究表明, PCBs等 POPs对鱼类组织器官形态会产生影响。在评价污染物对肝脏组织结构的影响时, HSI是一个常用指标。Brown et al 发现 PCB 126经食物暴露进入虹鳟幼鱼体内后, 导致肝脏体积增大, HSI显著增加, 肝细胞数量有增多趋势, 但肝细胞体积没有受到影响, 并将 HSI的增加解释为 PCB 126导致肝细胞数量增多^[9]。类似的结果在虹鳟成鱼暴露在五氯联苯呋喃后也观察到^[27]; 也有研究者在实验条件下发现罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 摄入含 PCB 126的饲料后, 导致肝细胞面积增大, 脂滴增多等现象^[28]; 此外, 有人观察到大

鼠在饲喂含 PCB 153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) 的饲料后, 肝细胞体积的增加与剂量呈正相关^[29]。本研究发现 PCB 126处理组的南方鲇 HSI 随饲料中 PCB 126水平的升高而增加, 并且均显著高于对照组 ($p<0.05$) (表 2), 这一结果可能与较高浓度的 D、E 和 F 组出现实验鱼死亡有关。

3.3 PCB 126对南方鲇静止代谢率的影响

本研究结果表明, 摄食含 PCB 126饲料的南方鲇的静止代谢率显著高于对照组 (表 3)。已有一些研究涉及 PCBs同系物或其他 POPs如有机磷农药、石油芳烃、卤素苯或酚以及有机氯化物等通过不同方式进入水生动物体内后影响到机体的代谢耗氧

率^[10-30]。Cchen et al 在实验条件下观察到暴露在含石油芳烃水体中的澳洲鲈鱼 (*Macquaria novemaculeata*) 幼鱼, 其整体水平的代谢耗氧率显著高于对照组, 并认为这一现象是由石油芳烃对鱼体产生了较高的代谢胁迫所致^[30]; Toro et al 发现, 长期暴露在多环芳烃污染环境的巨型贻贝 (*Choromytilus chorus*) 也具有很高的代谢耗氧率, 并且提出这与体内较高的污染物浓度引起了更多的能量消耗有关^[31]。

Verreault et al 提出, 污染物进入动物体后与体内某些激素如甲状腺素等发生相互作用, 导致代谢耗氧率增加^[32]。已有大量研究证明 PCBs 等 POPs 对激素内分泌有扰乱作用^[33-34]。PCB 126 经腹腔注射或通过食物进入湖鲑 (*Salvelinus namaycush*) 幼鱼体内后, 引起甲状腺上皮细胞增大, 血浆甲状腺激素水平升高^[34]; PCB 77 (3, 3', 4, 4'-tetrachlorobiphenyl) 进入细须石首鱼 (*Micropogonias undulatus*) 体内可引起血浆中甲状腺激素水平的升高^[35]; PCB 118 (2, 3, 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl) 会明显扰乱大鼠的下丘脑-垂体-甲状腺轴, 导致体内甲状腺激素水平显著升高^[36]。本研究发现南方鲇静止代谢率与 PCB 126 摄入的浓度呈正相关, 表明在 PCB 126 的胁迫下, 机体可以通过激素诱导机制调整其代谢强度达到更高水平。

3.4 PCB 126 对南方鲇肝脏线粒体代谢水平的影响

有关各种动物组织器官的线粒体代谢已经分别展开了大量的研究工作^[11-13]。肝脏作为体内的主要解毒和代谢器官, 对进入体内的污染物有生物转化的功能, 并伴随能量消耗^[37-38]。CCO 是位于线粒体内膜上的电子传递系统的终端酶, 其活性与细胞代谢耗氧率关系密切^[40]。本研究中, A、B 和 C 组, 其肝脏线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性均随饲料中 PCB 126 水平的升高而增加 (表 3), 提示食物中的 PCB 126 水平在较低浓度范围内升高时, 通过生理调节, 南方鲇肝脏线粒体能量代谢不断增强, 以满足在 PCB 126 胁迫下能量需求的增加。Tugiyono 和 Gagnon 发现 PCB 126 能够增强粉色笛鲷 (*Pagrus auratus*) 肝脏线粒体的 CCO 活性^[7]; Cchen et al 也观察到暴露在含石油芳烃水体中的澳洲鲈鱼 (*Macquaria novemaculeata*) 幼鱼, 其鳃和肝脏线粒体的 CCO 活性均明显高于对照组^[30]。有些研究者提出, 芳烃化合物和有机锡等 POPs 可以引起非偶联的氧化磷酸化从而使代谢耗氧率增加^[39]。此外,

Connell et al 观察到 PCB 126 经食物暴露进入大鼠体内后, 肝细胞的内质网和线粒体数量显著增多, 并认为这是肝细胞为了满足内质网合成必要的解毒酶而需要消耗更多能量的一种细胞水平的适应^[40]。但本研究观察到受 PCB 126 毒害, 临近致死状态的南方鲇在半致死实验结束时, 尚存活鱼体的肝脏线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性均随饲料中 PCB 126 水平的升高而减小, 能够反映线粒体结构与功能状态的 RCR 在这 3 个组也呈下降趋势 (表 3), 表明高浓度的 PCB 126 通过食物途径进入南方鲇体内并加以累积后, 有可能使肝细胞受到不同程度的结构和功能损害, 因而线粒体代谢耗氧率和 CCO 活性下降, 有氧代谢能力降低, 并最终导致鱼体死亡。已有的研究也发现在给大鼠饲喂含高浓度 PCB 153 的饲料后, 检测到肝细胞中正常线粒体数量减少, 异常线粒体数量增多^[29]; 成年鲃鱼 (*Barbus barbus*) 暴露在高浓度的 PCBs 后, 肝组织出现不同程度的肝糖元减少, 肝细胞线粒体崩解等结构和功能损害^[37]。因此我们认为, 低浓度的 PCB 126 对南方鲇产生了使其能量代谢增强的胁迫效应, 即机体为了处理进入体内的污染物, 需要消耗更多的能量, 其肝组织线粒体代谢供能水平产生调整提升, 这应当是该种鱼应对 PCBs 类 POPs 暴露时的一种生理调节机制, 但高浓度的 PCB 126 则使线粒体功能受到不可耐受的损害, 因此不能对 PCB 126 的胁迫做出进一步的代谢调节。

参考文献:

[1] Maniakiza R, Covaci A, Nizigimana L, et al. Persistent chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in selected fish species from Lake Tanganyika Burundi Africa [J]. Environmental Pollution, 2002, 117: 447-455

[2] Henry C J, Kaiser J L, Grove R A, et al. Biomagnification factors (Fish to osprey eggs from Willanette River Oregon U.S.A.) for PCDDs, PCDFs, PCBs and OC pesticides [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2003, 84: 275-315

[3] Zhao X, Zheng M, Liang L, et al. Assessment of PCBs and PCDD/Fs along the Chinese Bohai Sea coastline using mollusks as bioindicators [J]. Archives of Environment Contamination and Toxicology, 2005, 49: 178-185

[4] Nfon E, Cousins IT, Branan D. Biomagnification of organic pollutants in benthic and pelagic marine food chains from the Baltic Sea [J]. Science of the Total Environment, 2008, 397: 190-204

[5] Grinwis G C M, Brandhof E J, Engelsma M Y, et al. Toxicity of PCB-126 in European flounder (*Platichthys flesus*) with emphasis on histopathology and cytochrome P4501A induction in several

- organ systems [J]. *Archives of Toxicology* 2001 **75**: 80—87
- [6] Brown S B, Fisk A T, Brown M, et al. Dietary accumulation and biochemical responses of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) [J]. *Aquatic Toxicology* 2002 **59**: 139—152
- [7] Tugiyono, Gagnon M M. Metabolic disturbances in fish exposed to sodium pentachlorophenolate (NaPCP) and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB126), individually or combined [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 2002 **132**: 425—435
- [8] Beckett K J, Yamini B, Bursian S J. The effects of 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) on mink (*Mustela vison*) reproduction and kit survivability and growth [J]. *Archives of Environment Contamination and Toxicology* 2008 **54**: 123—129
- [9] Birkedal R, Gesser H. Regulation of mitochondrial energy production in cardiac cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Comparative Physiology Part B* 2004 **174**: 255—262
- [10] Webb D, Gagnon M M, Rose T. Metabolic enzyme activities in black bream (*Acanthopagrus butcheri*) from the Swan-Canning Estuary, Western Australia [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 2005 **141**: 356—365
- [11] Chamberlin M E. Top-down control analysis of the effect of temperature on ectotherm oxidative phosphorylation [J]. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2004 **287**: 794—800
- [12] Zhang X Y, Wang D H. Energy metabolism, thermogenesis and body mass regulation in Brandt's voles (*Lasiodon brandtii*) during cold acclimation and rewarming [J]. *Hormones and Behavior* 2006 **50**: 61—69
- [13] Yan Y L, Xie X J, Yuan L Q. Effects of temperature on oxygen consumption rate in metabolism of mitochondria isolated from liver of the southern catfish *Silurus meridionalis* Chen [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica* 2008 **32**(2): 237—243 [闫玉莲, 谢小军, 袁伦强. 温度对南方鲈肝组织离体线粒体代谢耗氧率的影响. 水生生物学报, 2008 **32**(2): 237—243]
- [14] Xie X J, Sun R Y. The bioenergetics of southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen): Resting metabolic rate as a function of body weight and temperature [J]. *Physiological Zoology* 1990 **63**: 1181—1195
- [15] Xie X J, Sun R Y. The daily total metabolism and specific dynamic action in the southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica* 1992 **16**(3): 200—207 [谢小军, 孙儒泳. 南方鲈的日总代谢和特殊动力作用的能量消耗. 水生生物学报, 1992 **16**(3): 200—207]
- [16] Xie X J, Sun R Y. The pattern of energy allocation in the southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. *Journal of Fish Biology* 1993 **42**: 197—207
- [17] Fu S J, Xie X J, Cao Z D. Effect of fasting on resting metabolic rate and postprandial metabolic response in southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. *Journal of Fish Biology* 2005 **67**(1): 279—285
- [18] Naccari F, Giofre F, Licata P, et al. Organochlorine pesticides and PCBs in wild boars from Calabria (Italy) [J]. *Environmental Monitoring and Assessment* 2004 **96**: 191—202
- [19] Fisher S W, Chordas S W, Landrum P F. Lethal and sublethal body residues for PCB intoxication in the oligochaete *Lumbricus variegatus* [J]. *Aquatic Toxicology* 1999 **45**: 115—126
- [20] Brown K G, Strickland J A. Utilizing data from multiple studies (meta-analysis) to determine effective dose-duration levels: Example: rats and mice exposed to hydrogen sulfide [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2003 **37**: 305—317
- [21] Hussain A R A, Koh H L, DeAngelis D, et al. Modeling the long-term effect of PCBs on everglades fish communities [J]. *Wetlands Ecology and Management* 2005 **13**: 73—81
- [22] Zabel E W, Cook P M, Peterson R E. Toxic equivalency factors of polychlorinated dibenzo-p-dioxin, dibenzofuran and biphenyl congeners based on early life stage mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology* 1995 **31**: 315—328
- [23] Arnold L L, Eldan M, Nyska A, et al. Dimethylarsinic acid: Results of chronic toxicity/oncogenicity studies in F344 rats and in B₆C₃F₁ mice [J]. *Toxicology* 2006 **223**: 82—100
- [24] Carlsson G, Kuikumi R, Larsson P, et al. Distribution of BDE-99 and effects on metamorphosis of BDE-99 and -47 after oral exposure in *Xenopus tropicalis* [J]. *Aquatic Toxicology* 2007 **84**: 71—79
- [25] Doerge D R, Twaddle N G, Boettcher M I, et al. Urinary excretion of acrylamide and metabolites in Fischer 344 rats and B₆C₃F₁ mice administered a single dose of acrylamide [J]. *Toxicology Letters* 2007 **169**: 34—42
- [26] Woodburn K B, Marino T A, McLymont E L, et al. Determination of the dietary absorption efficiency of hexachlorobenzene with the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2008 **71**: 419—425
- [27] Brown S B, DeBome P D, Evans R E, et al. Biochemical and histological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1998 **17**: 915—921
- [28] Quabius E S, Nolan D T, Bain P H M, et al. The influence of polychlorinated biphenyl 126 on tilapia (*Oreochromis mossambicus*) liver [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 1998 **120**: 57—63
- [29] Peng J, Singh A, Ireland W R, et al. Polychlorinated biphenyl congener 153-induced ultrastructural alterations in rat liver: a quantitative study [J]. *Toxicology* 1997 **120**: 171—183
- [30] Chen A, Nuggeoda D, Gagnon M M. Metabolic responses of fish following exposure to two different oil spill remediation techniques [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2001 **48**: 306—310
- [31] Toro B, Navarro J M, Fleming H P. Relationship between bioenergetics responses and organic pollutants in the giant mussel *Choromytilus chorus* (Mollusca: Mytilidae) [J]. *Aquatic Toxicology* 2003 **63**: 257—269

- [32] Vereault J, Bedn G, Letcher R, et al. Organohalogen contamination in breeding glaucous gulls from the Norwegian Arctic: Associations with basal metabolism and circulating thyroid hormones [J]. *Environmental Pollution*, 2007, **145**: 138—145
- [33] Aoki Y. Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters—what we have learned from Yusho Disease [J]. *Environmental Research, Section A*, 2001, **86**: 2—11
- [34] Brown S B, Evans R E, Vandenbyllaedt L, et al. Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to coplanar 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, **67**: 75—85
- [35] LeRoy K D, Thomas R, Khan I A. Thyroid hormone status of Atlantic croaker exposed to Aroclor 1254 and selected PCB congeners [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 2006, **144**: 263—271
- [36] Kuriyama S, Fidalgo Neto A, Mathar W, et al. Effect of low dose mono-ortho 2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl on thyroid hormone status and EROD activity in rat offspring: consequences for risk assessment [J]. *Toxicology*, 2003, **186**: 11—20
- [37] Hugla J L, Thome J P. Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure, hepatic monooxygenases and reproductive success in the barbel [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, **42**: 265—273
- [38] Schmidt K, Staaks G B O, Pflugmacher S, et al. Impact of PCB mixture (Aroclor 1254) and TBT and a mixture of both on swimming behavior, body growth and enzymatic biotransformation activities (GST) of young carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, **71**: 49—59
- [39] Widdows J, Donkin R, Brinsley M D, et al. Scope for growth and contaminant levels in North Sea mussels *Mytilus edulis* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1995, **127**: 131—148
- [40] Connell B J, Singh A, Chu I. PCB congener 126-induced ultrastructural alterations in the rat liver: a stereological study [J]. *Toxicology*, 1999, **136**: 107—115

LETHAL EFFECT AND METABOLIC STRESS OF DIETARY PCB126 ON THE SOUTHERN CATFISH, *SILURUS MERIDIONALIS* CHEN

YUAN Lun-Qiang, XIE Xiao-Jun and YAN Yu-Lian

(School of Life Sciences, Southwest China University, Chongqing 400715)

Abstract 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB 126), a kind of typical persistent organic pollutant, is one of the polychlorinated biphenyls (PCBs) congeners with high bioaccumulation and strong toxicity. It has been considered to have detrimental effects on the health of the human and animals as well as on ecosystems for being difficult to be decomposed or be transformed in both environment and organisms. In order to test the lethal effect and metabolic stress of dietary PCB 126 on the southern catfish *Silurus meridionalis* Chen, from October to December, 2007, 72 one-year-old juvenile southern catfish acclimated with control diet for 2 weeks prior to study initiation were randomly divided into 6 experimental groups (12 fish in each group) for different dietary PCB 126 treatments. Six iso-nitrogenous (45% crude protein), iso-lipidic (12% crude lipid) and iso-carbohydrate (15% crude carbohydrate) experimental diets with different levels of PCB 126 were formulated. The dietary concentrations of PCB 126 were 0 (as control), 50, 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectively. In each group, the southern catfish were individually fed with each experimental diet in an indoor rearing system at 3% BW per day ration level for 8 weeks at $(27.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$. The median lethal time (LT_{50}), the total amounts of PCB 126 intake during the experiment, hepatosomatic index (HSI), the resting metabolic rate (RMR) as well as the rate of oxygen consumption and activity of cytochrome c oxidase (CCO) of the liver mitochondria in southern catfish were determined and calculated. The results showed that no mortality of the experimental fish occurred during the experiment in groups fed with the diets in the PCB 126 concentrations of 0, 50 and 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the total amounts of PCB 126 intake were 0, 30.56 and 66.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight at the termination of the experiment, respectively, whereas the mortality was observed in fish fed with the diets containing PCB 126 of 200, 400 and 800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the LT_{50} was 34d, 16d and 11d, respectively, which were negatively correlated to dietary levels of PCB 126. The accumulative amounts of PCB 126 intake at the median lethal time in these three groups were 90.18, 92.05 and 94.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight, respectively, and there was no significant difference among them, but all of them were significantly higher than those in the other three groups ($p < 0.05$). HSI and RMR increased with the increasing dietary level of PCB 126. The rate of oxygen consumption

and activity of CCO of the liver mitochondria increased with the increasing dietary level of PCB 126 in the groups without mortalities while decreased with the further increasing dietary level of PCB 126 in the groups with mortalities. The present study suggested that the accumulative lethal critical amounts of PCB 126 intake for the southern catfish were approximately $92 \mu\text{g/kg}$ body weight and the lethal time was concentration-dependent. The stress effects of dietary PCB 126 on the metabolism of the southern catfish caused an increase in the resting metabolic rate of individual fish. At the mitochondrial level of the liver, the stress effects of dietary PCB 126 on the metabolism exhibited that the metabolic rates were increased at a lower level of concentration; there was more energetic expenditure needed by the fish to resist the contaminants, and an increase in capacity of supplying metabolic energy by the liver mitochondria, which should be a physiologically regulative mechanism for this fish species to cope with persistent organic pollutants such as PCBs. However, the higher concentrations of dietary PCB 126 may cause an intolerable functional impairment of mitochondria, so that it was unable to have a further regulation of the metabolism to the stress of PCB 126.

Key words: *Silurus meridionalis*; 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB 126); Median lethal time (LT_{50}); Resting metabolic rate (RMR); Cytochrome c oxidase (CCO)