

典型有机磷酸酯阻燃剂暴露下米氏凯伦藻生长及其抗氧化响应研究

张虹^{1,2}, 周寒琳^{1,2}, 王涛^{1,2}, 马帅^{1,2}, 郭杭婷^{1,2},
张勇^{1,2}, 韩永和^{1,2}

(1.福建师范大学 环境与资源学院, 碳中和现代产业学院, 福建 福州 350117; 2.福建省污染控制与资源循环利用重点实验室, 福建 福州 350117)

摘要: 有机磷酸酯阻燃剂是一类对海洋微藻具有显著毒性作用的典型新污染物。本文选取两种典型结构的有机磷酸酯阻燃剂磷酸三(2-氯乙基)酯(TCEP)和磷酸三苯酯(TPhP), 研究不同浓度(0.5 µg/L、5 µg/L、50 µg/L、500 µg/L 和 5000 µg/L)阻燃剂暴露对米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)生长及其抗氧化特征的影响。结果表明, TCEP 和 TPhP 暴露均对米氏凯伦藻的生长产生明显的抑制作用。在暴露第 6 d 时, TCEP 和 TPhP 对米氏凯伦藻细胞密度的平均抑制率分别达到 36.39% 和 36.69%。藻细胞内可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶(superoxidase dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性均随 TCEP 和 TPhP 暴露浓度的增加呈现先增加后减少的趋势。其中, 藻细胞内可溶性蛋白含量和 SOD 活性对 TCEP 胁迫的响应变化较敏感, 而 CAT 活性则对 TPhP 胁迫的响应变化更敏感。同时, 藻细胞内丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量随 TCEP 和 TPhP 暴露浓度的增加而增加, 呈现明显的剂量-效应关系。高浓度(500 µg/L 和 5000 µg/L) TCEP 暴露下, 藻细胞的 MDA 含量均显著高于对照组($p < 0.05$), 而 MDA 含量仅在 5000 µg/L TPhP 浓度组显著高于对照组($p < 0.05$)。研究结果可为评估有机磷酸酯阻燃剂的生态效应提供理论依据。

关键词: 米氏凯伦藻; 磷酸三(2-氯乙基)酯; 磷酸三苯酯; 氧化应激

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2024)04-0649-08

Growth and antioxidant responses of *Karenia mikimotoi* under exposure to typical organophosphate flame retardants

ZHANG Hong^{1,2}, ZHOU Hanlin^{1,2}, WANG Tao^{1,2}, MA Shuai^{1,2}, GUO Hangting^{1,2},
ZHANG Yong^{1,2}, HAN Yonghe^{1,2}

(1.College of Environmental and Resource Sciences, College of Carbon Neutral Modern Industry, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; 2.Fujian Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Fuzhou 350117, China)

Abstract: Organophosphate flame retardants (OPFRs) are a class of typical emerging contaminants with significant toxicity to marine microalgae. In this study, the effects of growth and antioxidant characteristics of *Karenia mikimotoi* under exposure to different concentrations (0.5, 5, 50, 500 and 5000 µg/L) of two typical OPFRs [tris(2-chloroethyl)phosphate (TCEP) and triphenyl phosphate (TPhP)] were studied. The results showed that the growth of *K. mikimotoi* were significantly inhibited by TCEP and TPhP. The average inhibitory

收稿日期: 2023-10-25, 修订日期: 2024-01-02

基金项目: 福建省中青年教育科研项目(JAT190081); 福建师范大学高层次人才引进人才启动经费项目(Y0720304X13)

作者简介: 张虹(1991—), 女, 福建福州人, 博士, 主要研究方向为环境有机污染物的生态毒理效应, E-mail: zhanghong@fjnu.edu.cn

rates of TCEP and TPhP on growth of algal cells on the sixth day of exposure were 36.39% and 36.69%, respectively. The soluble protein content and activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) both increased first and then decreased with the increased exposure concentrations of TCEP and TPhP. Furthermore, the contents of soluble protein and the activity of SOD in algal cells showed higher sensitivity to the stress of TCEP, while the activity of CAT was more sensitive to the stress of TPhP. The content of malondialdehyde (MDA) in algal cells increased with the increase of the TCEP and TPhP concentrations in a dose-dependent manner. And the content of MDA in algal cells treated with 500 $\mu\text{g/L}$ and 5000 $\mu\text{g/L}$ TCEP concentrations was significantly higher than that in the control ($p<0.05$), while similar results were found for TPhP only at 5000 $\mu\text{g/L}$ ($p<0.05$). The results can provide a theoretical basis for evaluating the ecological effects of OPFRs.

Key words: *Karenia mikimotoi*; tris(2-chloroethyl) phosphate; triphenyl phosphate; oxidative stress

有机磷酸酯阻燃剂 (organophosphate flame retardants, OPFRs) 是一类备受关注的新污染物, 具有良好的阻燃性和增塑性, 被广泛添加于塑料、纺织物、涂漆、电子以及橡胶等产品^[1]。根据取代基的不同, OPFRs 可分为烷烃类 OPFRs、芳烃类 OPFRs 和卤代类 OPFRs。随着斯德哥尔摩公约对传统溴系阻燃剂的严格限制使用^[2], 作为其替代品的 OPFRs 的生产和消费量急剧增加。据报道, 全球 OPFRs 消费量已经从 2001 年的 18.6 万吨增加到 2018 年的 100 万吨^[3-4]。中国是 OPFRs 的主要生产国, 其产量已经从 2014 年的 14.2 万吨增加到 2020 年的 29.4 万吨^[5]。因为 OPFRs 与高分子材料之间主要以非化学键的形式相连, 所以在生产和使用过程中, OPFRs 易通过挥发、磨损、浸出、溶解等方式进入环境^[6]。

目前, 不仅在陆地环境中频繁检出 OPFRs, 在海洋环境中也有诸多 OPFRs 污染的报道^[7]。例如, 在我国渤海^[8]、黄海^[9]、东海^[9]、北部湾^[10]及珠江口^[11]海水、沉积物和海洋生物^[12]中均可检出 OPFRs。研究表明, OPFRs 在海洋生态系统中存在生物富集^[7,13]甚至生物放大的潜力^[13-15]。其中, 作为卤代类 OPFRs 和芳烃类 OPFRs 的代表性单体, 磷酸三(2-氯乙基)酯 [tris(2-chloroethyl) phosphate, TCEP] 和磷酸三苯酯 (triphenyl phosphate, TPhP) 在海洋环境中检出率较高, 且易于在生物体内积累, 是部分海域的主要污染单体^[13-14]。体内、体外研究证明, 包括 TCEP 和 TPhP 在内的 OPFRs 可能会对水生生物、哺乳动物、人类的内分泌系统和神经发育系统造成干扰^[16]。因此, OPFRs 的海洋生态风险日益受到关注。

海洋浮游植物是海洋生态系统的重要组成

部分, 也是海洋环境中 OPFRs 进入食物网的重要载体, 其种类多样性和初级生产力会直接影响海洋生态系统的结构与功能^[17]。目前已有研究报道了 OPFRs 对浮游植物的毒性效应, 相关研究的受试生物以小球藻 (*Chlorella vulgaris*)、斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 等淡水生物为主^[18-20]。现阶段关于 OPFRs 对海洋微藻的生长及抗氧化系统响应的研究仍然有限。作为甲藻门、裸甲藻目、凯伦藻属的重要成员, 米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 是海洋中常见的微藻, 也是近年来我国沿海赤潮高发区主要的赤潮微藻^[21]。有研究显示, 常见的溴代阻燃剂 2,2',4,4'-四溴联苯醚 (2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether, BDE-47) 暴露会对米氏凯伦藻产生急性和亚急性毒性作用^[22]。磺胺嘧啶和盐酸四环素暴露也会抑制米氏凯伦藻的生长^[23]。然而在实验室条件下米氏凯伦藻对 OPFRs 暴露的响应研究还鲜有报道。因此, 本研究选取米氏凯伦藻为受试生物, 选择海域中常检出的两种结构典型且毒性作用较强的 OPFRs (TCEP 和 TPhP) 为主要暴露因子, 开展不同浓度的 TCEP 和 TPhP 对米氏凯伦藻的毒性实验。本文重点探讨 TCEP 和 TPhP 对米氏凯伦藻细胞生长的影响, 并进一步揭示 TCEP 和 TPhP 对藻细胞抗氧化系统生理指标的差异性作用特征, 以期了解 OPFRs 对海洋初级生产力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料及藻种培养

实验所用的 TCEP 和 TPhP 标准品购自北京百灵威科技有限公司, 纯度为 99.5%。将上述两

种 OPFRs 溶于 DMSO 中配制储备液,置于 4 ℃ 冰箱保存。实验藻种选用米氏凯伦藻 (*K. mikimotoi*),购自厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室海洋藻类收集中心。

微藻培养实验所用海水采集自福建平潭海域,海水盐度为 (32 ± 2) ,经 0.22 μm 滤膜过滤后于 121 ℃ 灭菌 20 min 备用。在米氏凯伦藻培养过程中,将已知初始密度的目标藻种接种于 250 mL 的玻璃三角烧瓶,静置于恒温光照培养箱 (MQD-SING, 上海旻泉) 中培养,培养温度为 22 ± 1 ℃,光照强度为 3000 Lx,光暗比为 12 h : 12 h,培养基为添加 F/2 的灭菌天然海水。

1.2 TCEP 和 TPhP 对米氏凯伦藻暴露实验

选取对数生长期的藻液进行接种,将藻液分装于 50 mL 玻璃三角瓶,暴露实验藻液体积为 20 mL,在藻细胞初始密度达到 1000 cells/mL 时,分别加入不同浓度的 TCEP 和 TPhP 溶液。不同浓度的 TCEP 和 TPhP 溶液采用培养基逐步稀释储备液得到,最终暴露实验中 DMSO 体积控制在 0.01% 以下。实验设置 5 个暴露处理(浓度梯度分别为 0.5 μg/L、5 μg/L、50 μg/L、500 μg/L、5000 μg/L)和 1 个对照处理(不添加 OPFRs),每个处理设置 3 个平行。培养周期为 10 d,分别在第 0 d、2 d、4 d、6 d、8 d、10 d 取样,通过细胞计数评价不同浓度 OPFRs 暴露下藻细胞的生长状况。

1.3 藻细胞计数及计算

采用显微镜计数法测定藻细胞密度。具体而言,取 1 mL 藻液立即加入 15 μL 鲁哥氏液固定并混合均匀,再从中吸取 100 μL 于 0.1 mL (2 mm × 2 mm) 浮游生物计数框,采用徕卡显微镜 (E100, Nikon Eclipse, 上海) 进行藻细胞计数。

抑制率 (IR) 按照以下公式计算:

$$IR = \left(1 - \frac{N_t}{N_0}\right) \times 100\%$$

式中: N_t 为培养第 t 天后暴露组的藻细胞密度 (cells/mL); N_0 为相同时间对照组的藻细胞密度 (cells/mL)。

1.4 生理指标的测定

受试藻种经不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露处理 96 h 后,取 10 mL 藻液经高速冷冻离心机

(3K15, 德国 Sigma Laborzentrifugen GmbH 公司) 在 4 ℃、5000 g 转速条件下离心 15 min,弃上清液后收集藻细胞。将细胞悬浮于 4 ℃ 预冷的 PBS 缓冲液中,于冰上超声破碎藻细胞,取匀浆测定藻体可溶性蛋白含量。剩余匀浆继续在 4 ℃、5000 g 转速条件下离心 15 min,取上清液测定抗氧化系统相关酶类的活性及含量。可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶 (superoxidase dismutase, SOD) 活性、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量均按照相应试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 的使用说明进行分析。每个实验组设置 3 个平行。

1.5 数据分析

采用 Origin 2019 软件进行制图,采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计分析,实验结果采用平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示,采用配对 t 检验法进行两组间数据的差异分析,并通过单因素方差分析 (one way-ANOVA) 检验各暴露组之间的差异性,显著差异结果以 $p < 0.05$ 表示。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露对米氏凯伦藻生长的影响

不同浓度的 TCEP 和 TPhP 暴露均对米氏凯伦藻细胞增长产生抑制作用,且呈现出明显的时间—效应关系 (图 1)。对 TCEP 而言,在同一浓度下随着暴露时间的增加,米氏凯伦藻细胞的相对生长速率趋于平缓,且暴露 4 d 后米氏凯伦藻细胞密度均小于对照组。在暴露第 2 d 时,米氏凯伦藻在 0.5 μg/L 和 5 μg/L 的 TCEP 暴露处理组的细胞密度分别比对照组增加了 21.12% 和 41.09%。这种藻细胞密度在污染物低浓度暴露下出现的变化符合“低剂量促进效应”现象,并且在多种藻类的毒性研究中得到证实^[17,24-25]。例如,低浓度 (0.1 mg/L) 的氯代阻燃剂得克隆暴露会对纤丝裸藻 (*Euglena gracilis*) 的生长产生促进作用,而高浓度 (8 mg/L) 暴露则出现抑制效应^[17]。引起该结果的可能原因是污染物暴露诱导了藻细胞内自由基含量的升高,但尚不足以导致细胞严重损伤,进而引起藻细胞生理生化代谢活性增

加和补偿性增殖,短时间内表现出对藻细胞生长的刺激效应。而在暴露第6 d时,不同浓度的TCEP暴露对米氏凯伦藻细胞密度的平均抑制率可达36.39%。配对t检验结果表明,暴露组(5 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$)与对照组之间的差异均达到显著水平($p < 0.05$)。

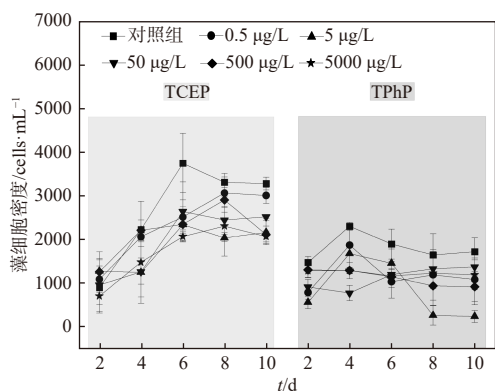


图1 不同浓度TCEP和TPhP暴露下米氏凯伦藻的细胞密度变化

Fig. 1 Changes in cell concentrations of *K. mikimotoi* under the exposure to different concentrations of TCEP and TPhP

与TCEP不同的是,暴露于0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ TPhP时,藻细胞生长呈现先增加后减少的趋势,其他高浓度组的变化不显著。有趣的是,各浓度TPhP处理下的米氏凯伦藻细胞密度均小于对照组,表明TPhP暴露对米氏凯伦藻细胞生长起到了抑制作用。在暴露第4 d时,高浓度暴露组(50 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$)的藻细胞密度显著低于对照组($p < 0.05$)。在暴露第6 d时,不同浓度的TPhP暴露对米氏凯伦藻细胞密度的平均抑制率为36.69%。并且在暴露6 d后,TPhP各暴露组的相对生长速率变化不明显,藻细胞基本停止生长,表明TPhP对米氏凯伦藻有明显的毒性胁迫作用。

2.2 不同浓度TCEP和TPhP暴露对米氏凯伦藻可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白是存在于细胞中的非膜结合蛋白体系,在生物体内参与细胞代谢,有贮存营养、抵抗极端环境等作用,其含量变化直接反映了细胞代谢水平的变化^[26-27]。由图2a可知,随着TCEP浓度升高,米氏凯伦藻的可溶性蛋白含

量出现先上升后下降的趋势。在0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ 浓度暴露下,米氏凯伦藻的可溶性蛋白含量显著高于对照组($p < 0.05$),最大值为160.1 mg/L 。该结果表明,低浓度刺激可能导致藻细胞内与代谢或抗氧化系统相关的酶被显著激活。在500 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 浓度暴露下,米氏凯伦藻的可溶性蛋白含量显著低于对照组($p < 0.05$),这可能与高浓度TCEP胁迫条件下米氏凯伦藻细胞密度显著下降有关。对TPhP而言,随着暴露浓度的增加,米氏凯伦藻细胞内的可溶性蛋白含量变化不明显(图2b)。在低浓度(0.5 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$)暴露下,米氏凯伦藻细胞内的可溶性蛋白含量略高于对照组,但无显著差异。在50 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 和 5000 $\mu\text{g/L}$ 浓度暴露下,米氏凯伦藻的可溶性蛋白含量先降低后升高。其中,50 $\mu\text{g/L}$ 浓度暴露下米氏凯伦藻的可溶性蛋白含量(110.2 mg/L)显著低于对照组,这可能与此条件下米氏凯伦藻的

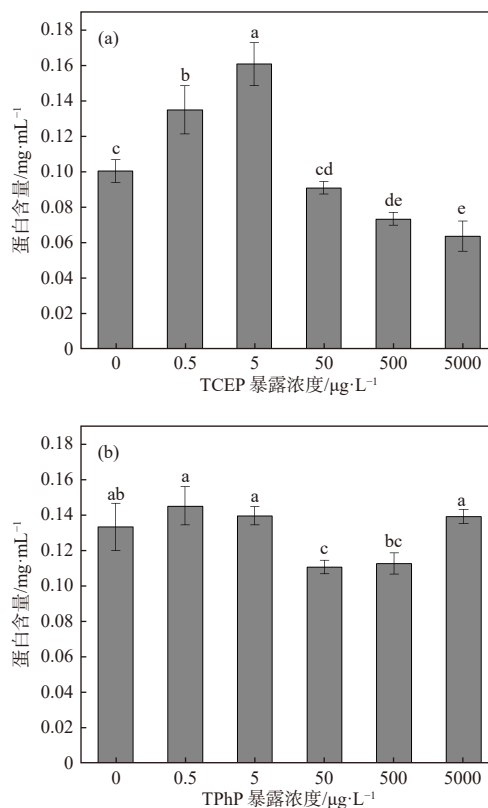


图2 不同浓度TCEP和TPhP暴露下米氏凯伦藻细胞内的可溶性蛋白含量变化

Fig. 2 Changes in cellular content of soluble protein of *K. mikimotoi* under the exposure to different concentrations of TCEP and TPhP

细胞密度显著下降有关。上述结果表明,高浓度的 TCEP 和 TPhP 对藻细胞生长具有一定的毒性作用,可表现为对藻细胞内正常蛋白合成代谢的抑制效应。

2.3 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露对米氏凯伦藻 SOD 活性的影响

SOD 是生物体自身合成的天然活性物质,在预防机体的外界损伤等方面起到关键作用^[28]。作为抗氧化防御系统的第一道防线,其活性反映了细胞的抗氧化能力^[28]。本研究,藻细胞 SOD 活性随着 TCEP 暴露浓度的升高呈现先上升后下降的趋势(图 3a)。与对照组相比,在低浓度(0.5 $\mu\text{g/L}$ 、5 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$)TCEP 暴露下,米氏凯伦藻细胞的 SOD 活性显著高于对照组($p<0.05$),且 SOD 活性在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 浓度的暴露下达到峰值,比对照组高 47.41%。随着 TCEP 暴露浓度的增加,米氏凯伦藻细胞内的 SOD 活性受到抑制,当暴露浓度高达 5000 $\mu\text{g/L}$ 时,其 SOD 活性比对照组低 19.92%。该研究结果表明,在低浓度 TCEP 暴露下,米氏凯伦藻细胞能迅速启动抗氧化防御机制,以缓解细胞遭受的氧化损伤。当暴露浓度超出一定范围时,TCEP 会对米氏凯伦藻的抗氧化系统造成破坏,细胞内 SOD 酶活性降低,使得藻细胞生长受到抑制。类似地,Zhao 等研究了不同浓度 BDE-47 处理下微小亚历山大藻(*Alexandrium minutum*)的 SOD 活性变化,发现高浓度 BDE-47 处理会导致 SOD 活性显著低于对照组,随着处理浓度的降低,BDE-47 对藻类 SOD 活性的抑制作用显著高于对照组,结果与本研究基本一致^[29]。对 TPhP 而言(图 3b),在各浓度梯度处理下,米氏凯伦藻细胞的 SOD 活性同样呈现先升高后下降的趋势。当 TPhP 暴露浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 时,藻细胞内的 SOD 活性比对照组高 64.95%($p<0.05$)。该研究结果表明,米氏凯伦藻对 TCEP 和 TPhP 胁迫有不同的响应方式,TCEP 暴露对藻细胞 SOD 抗氧化酶活性的影响更显著。

2.4 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露对米氏凯伦藻细胞 CAT 活性的影响

不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露下米氏凯伦藻的 CAT 活性变化情况如图 4 所示。结果表明,

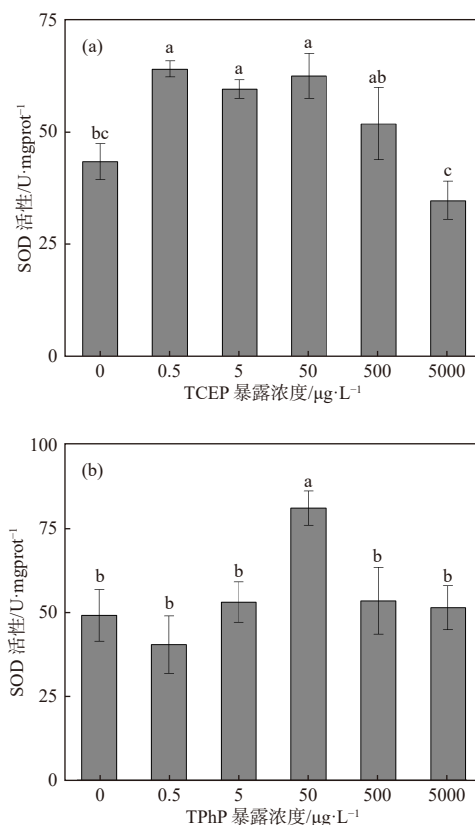


图3 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露下米氏凯伦藻细胞内的 SOD 活性变化

Fig. 3 Changes in cellular SOD activity of *K. mikimotoi* under the exposure to different concentrations of TCEP and TPhP

随着 TCEP 和 TPhP 暴露浓度的增加,米氏凯伦藻的 CAT 活性呈现先上升后下降的趋势,且 TCEP 和 TPhP 各暴露浓度组的 CAT 活性均高于对照组。在 TCEP 的暴露浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 时,CAT 活性达到最高值(127.5 U/mgprot),显著高于对照组($p<0.05$),但 TCEP 其余各组浓度无显著差异($p>0.05$)。不同的是,在 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、5 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 和 500 $\mu\text{g/L}$ TPhP 暴露下,藻细胞内 CAT 活性均显著高于对照组($p<0.05$),其 CAT 活性分别为 62.52 U/mgprot、67.84 U/mgprot、123.5 U/mgprot 和 43.76 U/mgprot。CAT 是一种广泛分布于动植物细胞内的常见抗氧化酶,可分解机体代谢过程中产生的过氧化氢、超氧阴离子等活性氧,这些物质可造成机体(尤其是质膜)损伤^[30-31]。因此,CAT 活性是反映机体氧化损伤的常用指标^[32]。本研究中,低浓度 TCEP 和 TPhP 暴露均

导致藻细胞内 CAT 活性水平提高,表明低浓度 TCEP 和 TPhP 刺激可诱导细胞激活抗氧化防御系统以对抗氧化应激,且 CAT 对 TPhP 的响应更敏感。高浓度 TCEP 和 TPhP 暴露使藻细胞 CAT 活性降低,可能与 TCEP 和 TPhP 在藻细胞体内积累造成的毒害作用导致细胞生长受到抑制有关。这与卢桂蓉等的研究结论一致^[26],即生物体在轻度逆境中 CAT 活性会相应升高,但严重逆境会显著降低生物体的 CAT 活性。

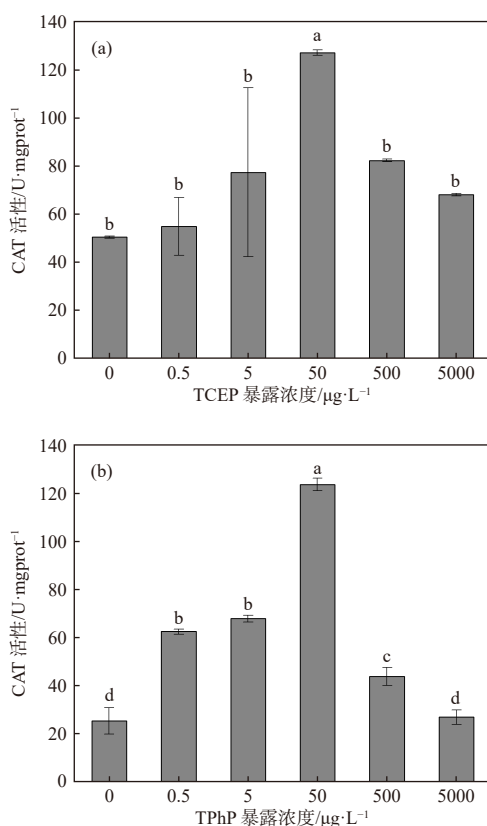


图4 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露下米氏凯伦藻细胞内的 CAT 活性变化

Fig. 4 Changes in cellular CAT activity of *K. mikimotoi* under the exposure to different concentrations of TCEP and TPhP

2.5 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露对米氏凯伦藻细胞 MDA 含量的影响

MDA 是细胞膜脂质过氧化的产物,其含量变化可反映机体内脂质过氧化的程度^[17]。在不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露下,米氏凯伦藻细胞内的 MDA 含量变化表现出较为统一的剂量—效应关系(图 5),即暴露浓度与 MDA 含量变

化呈现典型的正相关关系。其中,低浓度 TCEP 和 TPhP 暴露(0.5 µg/L、5 µg/L 和 50 µg/L)促进了米氏凯伦藻细胞内 MDA 的积累,但变化不显著($p>0.05$)且 MDA 含量处于较低水平。在 500 µg/L 和 5000 µg/L 的 TCEP 暴露下,藻细胞内的 MDA 含量显著高于对照组($p<0.05$),分别比对照组高 193.4%、214.1%。当 TPhP 达到 5000 µg/L 时,MDA 含量达到最大值(419.1 nmol/mgprot),显著高于对照组($p<0.05$)。该结果表明, TCEP 和 TPhP 暴露均对藻细胞造成了氧化损伤,其中 TCEP 对藻细胞的损伤程度更高。此外,MDA 含量与 SOD、CAT 酶活性呈对应关系。在低浓度的 TCEP 和 TPhP 暴露下,藻细胞为维持正常的生理功能,其可溶性蛋白含量、SOD 和 CAT 抗氧化酶活性升高,以消除过多的氧自由基损伤;此时细胞内 MDA 含量较低,细胞受到的氧化损伤较小。随着 TCEP 和 TPhP 暴

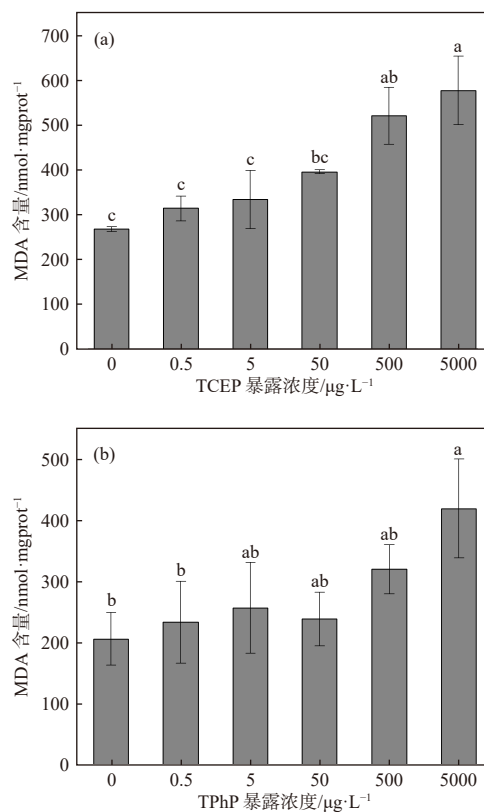


图5 不同浓度 TCEP 和 TPhP 暴露下米氏凯伦藻细胞内的 MDA 含量变化

Fig. 5 Changes in cellular contents of the MDA of *K. mikimotoi* under the exposure to different concentrations of TCEP and TPhP

露浓度逐渐增加,藻细胞内的可溶性蛋白含量、SOD和CAT酶活性降低,而MDA含量升高,表明藻细胞生长受到抑制。该结果表明,高浓度TCEP和TPhP暴露对藻细胞的毒害作用超过了细胞的耐受能力,藻细胞的抗氧化能力减弱,机体内脂质过氧化程度上升,引起藻细胞发生严重的氧化损伤效应甚至死亡^[19]。这与目前国内报道的多种外源污染物对藻细胞的胁迫作用类似^[18-19,33-35]。

3 结论

(1)在实验浓度范围内(0.5~5000 µg/L),TCEP和TPhP暴露均明显抑制米氏凯伦藻细胞生长。相较而言,米氏凯伦藻对TCEP胁迫更敏感。

(2)在不同浓度(0.5~5000 µg/L)的TCEP和TPhP暴露下,藻细胞内可溶性蛋白含量、SOD活性和CAT活性表现为低浓度促进、高浓度抑制的特征。其中,藻细胞内可溶性蛋白含量和SOD活性对TCEP暴露下的响应变化更敏感,而CAT活性对TPhP暴露下的响应变化更敏感。

(3)在实验浓度范围内(0.5~5000 µg/L),TCEP和TPhP暴露均诱导米氏凯伦藻细胞内MDA含量升高,表明TCEP和TPhP暴露会对米氏凯伦藻造成氧化损伤。

参考文献:

- [1] VAN DER VEEN I, DE BOER J. Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis[J]. *Chemosphere*, 2012, 88(10): 1119-1153.
- [2] YANG J W, ZHAO Y Y, LI M H, et al. A review of a class of emerging contaminants: the classification, distribution, intensity of consumption, synthesis routes, environmental effects and expectation of pollution abatement to organophosphate flame retardants (OPFRs)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(12): 2874.
- [3] FU J, FU K H, HU B Y, et al. Source identification of organophosphate esters through the profiles in proglacial and ocean sediments from Ny-Ålesund, the arctic[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(5): 1919-1929.
- [4] ZHU H K, AL-BAZI M M, KUMOSANI T A, et al. Occurrence and profiles of organophosphate esters in infant clothing and raw textiles collected from the United States[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2020, 7(6): 415-420.
- [5] HE J, WANG Z X, ZHAO L Y, et al. Gridded emission inventory of organophosphorus flame retardants in China and inventory validation[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 290: 118071.
- [6] WANG X W, HE Y Q, LIN L, et al. Application of fully automatic hollow fiber liquid phase microextraction to assess the distribution of organophosphate esters in the Pearl River Estuaries[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 470/471: 263-269.
- [7] YAN Z F, FENG C L, LEUNG K M Y, et al. Insights into the geographical distribution, bioaccumulation characteristics, and ecological risks of organophosphate esters[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 445: 130517.
- [8] XING R G, ZHANG P, ZHENG N, et al. Organophosphate esters in the seawater of the Bohai Sea: environmental occurrence, sources and ecological risks[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023, 191: 114883.
- [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] LIU F, WEI C S, ZHANG R J, et al. Occurrence, distribution, source identification, and risk assessment of organophosphate esters in the coastal waters of Beibu Gulf, South China Sea: impacts of riverine discharge and fishery[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 436: 129214.
- [11] SHI Y F, ZHANG Y, DU Y M, et al. Occurrence, composition and biological risk of organophosphate esters (OPEs) in water of the Pearl River Estuary, South China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(13): 14852-14862.
- [12] 马玉欣, 罗雨晨, 蔡明红. 海洋环境有机磷酸酯的来源、分布与生物地球化学过程[J]. *应用海洋学学报*, 2022, 41(3): 533-542.
- [13] KANG Y R, ZHANG R J, YU K F, et al. Organophosphate esters (OPEs) in a coral reef food web of the Xisha Islands, South China Sea: occurrence, trophodynamic, and exposure risk[J]. *Chemosphere*, 2023, 313: 137652.
- [14] FU J, FU K H, GAO K, et al. Occurrence and trophic magnification of organophosphate esters in an Antarctic ecosystem: insights into the shift from legacy to emerging pollutants[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 396: 122742.
- [15] BRANDSMA S H, LEONARDS P E G, LESLIE H A, et al. Tracing organophosphorus and brominated flame retardants and plasticizers in an estuarine food web[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 505: 22-31.

- [16] 徐怀洲, 王智志, 张圣虎, 等. 有机磷酸酯类阻燃剂毒性效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 19-30.
- [17] 常叶倩, 于文汐, 俞爽, 等. 氯代阻燃剂得克隆对纤细裸藻的生态毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 366-372.
- [18] WANG L, HUANG X L, LASERNA A K C, et al. Metabolomics reveals that tris(1, 3-dichloro-2-propyl)phosphate (TDCPP) causes disruption of membrane lipids in microalga *Scenedesmus obliquus*[J]. Science of the Total Environment, 2020, 708: 134498.
- [19] CHU Y H, ZHANG C F, HO S H. Computational simulation associated with biological effects of alkyl organophosphate flame retardants with different carbon chain lengths on *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Chemosphere, 2021, 263: 127997.
- [20] WANG L, HUANG X L, LIM D J, et al. Uptake and toxic effects of triphenyl phosphate on freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*: insights from untargeted metabolomics[J]. Science of the Total Environment, 2019, 650: 1239-1249.
- [21] LI X D, YAN T, LIN J N, et al. Detrimental impacts of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* in Fujian coastal waters on typical marine organisms[J]. Harmful Algae, 2017, 61: 1-12.
- [22] 张鑫鑫, 唐学玺, 姜爽, 等. 2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚(BDE-47)对米氏凯伦藻的毒性效应[J]. 海洋环境科学, 2013, 32(4): 491-496.
- [23] 孙凯峰, 寇杰锋, 姜沅林, 等. 磺胺嘧啶和盐酸四环素对四种赤潮藻生长的影响[J]. 海洋环境科学, 2022, 41(2): 236-244.
- [24] 张哲, 王江涛, 谭丽菊. 草甘膦对旋链角毛藻和盐生杜氏藻的毒性兴奋效应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 685-691.
- [25] 张晓晗, 万甜, 程文, 等. 喹诺酮类和磺胺类抗生素对绿藻生长的影响[J]. 水资源与水工程学报, 2018, 29(4): 115-120.
- [26] 卢桂蓉, 王应军, 范子奇. 稀土元素La(III)对铜绿微囊藻生长和生理特性的影响[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(6): 256-267.
- [27] KUMAR S, HABIB K, FATMA T. Endosulfan induced biochemical changes in nitrogen-fixing cyanobacteria[J]. Science of the Total Environment, 2008, 403(1/2/3): 130-138.
- [28] ALSCHER R G, ERTURK N, HEATH L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1331-1341.
- [29] ZHAO Y, WANG Y, LI Y J, et al. Response of photosynthesis and the antioxidant defense system of two microalgal species (*Alexandrium minutum* and *Dunaliella salina*) to the toxicity of BDE-47[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 124(1): 459-469.
- [30] MALLICK N, MOHN F H. Reactive oxygen species: response of algal cells[J]. Journal of Plant Physiology, 2000, 157(2): 183-193.
- [31] DAT J, VANDENABEELE S, VRANOVÁ E, et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses[J]. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 2000, 57(5): 779-795.
- [32] 郭子毓, 徐玉艳, 代恒美, 等. 常见环境污染物致斑马鱼机体氧化应激的研究进展[J]. 环境化学, 2024, doi: 10.7524/j.issn.0254-6108.2022073101.
- [33] LIU Q, TANG X X, WANG Y, et al. ROS changes are responsible for tributyl phosphate (TBP)-induced toxicity in the alga *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Aquatic Toxicology, 2019, 208: 168-178.
- [34] 孙颖颖, 刘筱潇, 阎斌伦, 等. 对羟基苯甲酸对2种赤潮微藻生长的影响[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(7): 36-39, 124.
- [35] 赵建刚, 唐涛, 张健能, 等. 地西他滨暴露下2种典型甲藻生长及其抗氧化响应研究[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(3): 468-476.

(本文编辑: 胡莹莹)