

五氯酚钠对梨形环棱螺的毒理效应研究

王元川, 侯建军, 陈亚琼, 舒 晓, 夏晓芬

(湖北师范学院生命科学学院, 黄石 435002)

摘要:采用在体暴露试验的方法,研究了不同浓度五氯酚钠(Na-PCP)在不同暴露时间(24、48、72和96 h)下对梨形环棱螺的急性毒性,以及Na-PCP对肝脏、鳃和腹足中精氨酸激酶(AK)活性的影响。结果显示,Na-PCP对梨形环棱螺的半致死浓度为0.411 mg/L,安全浓度为0.0411 mg/L;在Na-PCP暴露下,梨形环棱螺肝脏中单位蛋白AK活性在低浓度下被诱导增长,在高浓度下则出现被抑制的现象,鳃和腹足中单位蛋白AK活性伴随Na-PCP浓度的增加而下降,表现出时间剂量效应,且腹足中下降幅度相对鳃中较大。试验结果表明AK活性可以作为指示五氯酚钠对梨形环棱螺毒理效应的生物标志物。

关键词:五氯酚钠;梨形环棱螺;急性毒性试验;毒理效应;精氨酸激酶

中图分类号:X171.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2012)04-0118-06

水环境污染的问题受到人们的普遍关注,其中持久性有机污染物的生态毒理效应已经成为环境科学关注的热点问题之一。目前,我国土壤和水体的有机污染十分严重,其中五氯酚钠对环境的污染和对人畜的毒害必须引起人们的高度重视(徐立红等,1995)。五氯酚钠(Sodium pentachlorophenol, Na-PCP)曾是氯代烃类杀虫剂和杀真菌剂,最初被用于木材防腐和防虫蛀,灭杀钉螺,具有广谱生物杀伤性,对人畜的毒性也大,它具有强烈的致癌、致畸和致突变作用。世界卫生组织已经将其列为高危农药并逐渐禁用(常浩,2002)。虽然Na-PCP已被列为严格限制使用的药品,但由于其价格低廉,在杀虫杀菌方面尚无很好的替代品,目前尚对Na-PCP使用缺乏有效的监督管理机制,仍有一些人员受利益驱使,继续使用该药。Na-PCP相关研究迅速发展,但Na-PCP对水生动物尤其是对腹足动物的生态毒理学研究鲜见报道。精氨酸激酶(AK)属于磷酸原激酶家族中的重要一员,广泛的存在于无脊椎动物(如螺)中,起着类似于脊椎动物中肌酸激酶的作用,是一个与细胞内能量运转、肌肉收缩、ATP(三磷

酸腺苷)再生有直接关系的重要激酶(肖涛和王维娜,2006)。鉴于其在能量代谢中的作用及与毒理效应的关系,有望将其作为指示污染状况的生物标志物。梨形环棱螺在我国分布广泛,多生活在池塘、湖泊等水体,是大型底栖生物的重要组成部分,在水生态系统中起着重要的作用(侯建军等,2009),它们容易在室内饲养繁殖。大量研究表明,底栖无脊椎动物对水质的变化比较敏感,可以在一定程度上反映水体的污染状况(孔繁翔,2000)。本研究目的是探讨有机污染物Na-PCP对腹足动物梨形环棱螺的急性毒性及AK作为指示Na-PCP污染的生物标志物的可行性,为深入开展梨形环棱螺在Na-PCP暴露下敏感生物标志物的筛选及其致毒机理等后续研究提供基础资料,为水环境有机污染的早期诊断及生态风险评估提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验动物梨形环棱螺采集于湖北黄石市磁湖,在实验室进行培养和繁殖。养殖池温度保持在20~25℃,pH控制在7.5左右。每天交替投喂新鲜的植物叶子和配合饲料。

1.2 急性毒性试验

急性毒性试验在38 cm×28 cm×15 cm的水箱内进行,每箱盛试验用水10 L,挑选比较活跃、体重在1.6~2.5 g的螺10只放入水箱,试验期间温度为22~25℃,pH控制在7左右;试验期间每天换相应浓度的药液,不投饵。试验分组设置如下:对照组(不含Na-PCP),Na-PCP暴露组(分为0.10、0.14、

收稿日期:2012-06-25

基金项目:湖北省教育厅2010年度重点项目(D20102505);中国水产科学研究院淡水生态与健康养殖重点开放实验室项目(2007FEA0205);中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室项目(YM2007-03);湖北师范学院2008年度人才项目(2008F14)。

通讯作者:侯建军,教授,硕士生导师。E-mail: jzhou@mail.hzau.edu.cn

作者简介:王元川,1991年生,湖北师范学院本科在读,从事水环境的生态毒理学研究。

0.20、0.28、0.40、0.56和0.80 mg/L 7个处理浓度),每个处理组做3个平行样。急性毒性试验开始后,分别于24、48、72和96 h取样,采用改进寇氏(Korbor)法计算96 h的半致死浓度 LC_{50} 及各自的95%可信限(孟紫强,2000),采用常规方法96 h $LC_{50} \times 0.1$ 计算安全质量浓度。

1.3 在体五氯酚钠暴露分组

在毒性急性试验基础上,暴露96 h后选择对照组和试验组0.01、0.02和0.04 mg/L的水箱进行在体慢性毒性暴露试验,各随机选取6只试验用螺,用纱布擦干螺的体表,置冰盘内进行解剖,分离其肝脏、鳃和腹足,用滤纸吸干,置于1.5 mL离心管内,液氮速冻后于-80℃冰箱中保存备测。

1.4 酶样制备

分别取肝脏、鳃和腹足组织约0.05、0.15和0.25 g(每组重复取6只螺的样品),加入50 μL叠氮化钠、50 μL PMSF,再加入预冷的0.01 mol/L pH 7.4磷酸缓冲溶液(肝脏和鳃加入50 μL,腹足加入100 μL),冰上剪碎,用电动匀浆机冰浴中低速匀浆,高速冷冻离心机4℃下离心(12 000 g,10 min),取上清液,即为组织酶的提取液。

1.5 精氨酸激酶活性测定

采用本课题组改进的方法测定精氨酸激酶的活性。反应体系含有5.7 mmol/L精氨酸、4.8 mmol/L ATP、6.6 mmol/L乙酸镁、复合酸碱指示剂(麝香草酚蓝-甲基红)和20 mmol/L Tris-Cl,pH 8.2,反应底物溶液25℃预热10 min。测定活力是将1 mL反应液加入光径1 cm,容积为3 mL的塑料比色杯中,加入50 μL的酶提取液启动反应,在紫外分光光度计(TU-1901)中测定575 nm处光吸收值在60 s之内的变化(Yao et al, 2005;Liu et al, 2009)。采用直接紫外光吸收法测定酶的浓度(戴雅奇和由文辉,2005),并结合考马斯亮蓝试剂盒(南京建成生物工程研究所,A045-2)测定酶的浓度。

1.6 试验数据处理

试验结果采用平均值±标准误(mean±SEM)表示,全部试验数据均采用SPSS 15.0软件进行统计分析。各组间的显著性检验采用单因素方差分析,对照组与各剂量组的两两比较采用LSD法。采用Origin 8绘图软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 Na-PCP对梨形环棱螺的急性毒性分析

随着暴露时间延长和五氯酚钠剂量的提高,梨

形环棱螺的死亡数逐渐升高(见表1)。在暴露24 h后,所有剂量组的梨形环棱螺都没有死亡。在Na-PCP对照组和低剂量组(0.10 mg/L)暴露期间没有出现死亡。Na-PCP中剂量组(0.56 mg/L)和高剂量组(0.80 mg/L)48 h后开始出现死亡,随着暴露时间的延长死亡数增加。在暴露96 h后,随着Na-PCP浓度的升高,梨形环棱螺死亡数逐渐增加。不同Na-PCP剂量组的环棱螺随着暴露时间的延长,死亡数也在增加;相同暴露时间内,Na-PCP高剂量组环棱螺死亡数均要显著高于低剂量组。

表1 五氯酚钠对梨形环棱螺的急性毒性
Tab.1 Acute toxicity of Sodium pentachlorophenol on *Bellamya purificata*

五氯酚钠 浓度/ mg·L ⁻¹	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡 数	死亡 率/%	死亡 数	死亡 率/%	死亡 数	死亡 率/%	死亡 数	死亡 率/%
对照	0	0	0	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0	0	0	0
0.14	0	0	0	0	0	0	1	10
0.20	0	0	0	0	0	0	1	10
0.28	0	0	0	0	0	0	2	20
0.40	0	0	0	0	1	10	3	30
0.56	0	0	2	20	3	30	7	70
0.80	0	0	4	40	6	60	10	100

由表1数据计算出五氯酚钠对梨形环棱螺96 h的 LC_{50} 为0.4110 mg/L,其95%置信区间为0.3310~0.5360 mg/L,五氯酚钠对梨形环棱螺的安全浓度为0.0411 mg/L。

2.2 Na-PCP对梨形环棱螺AK活性的影响

2.2.1 单位蛋白AK活性 五氯酚钠在体染毒的情况下,肝脏、鳃和腹足中单位蛋白AK活性变化见图1。肝脏中单位蛋白AK活性的响应较为敏感。低剂量组(0.01 mg/L) Na-PCP在暴露72 h时,其单位蛋白AK活性极显著高于对照组($P<0.01$),呈现出显著被诱导的特征;但随着暴露时间的进一步延长,单位蛋白AK活性开始下降,呈现被抑制现象。中、高剂量组表现出明显的时间剂量效应,在暴露24、48和96 h时,与对照组比均有显著或极显著差异。除了中剂量组(0.02 mg/L)在暴露72 h时与对照组无显著差异外,其他时间段与对照组相比均呈现出显著差异($P<0.05$),表现出被显著抑制的现象。高剂量组(0.04 mg/L)在暴露48和96 h时,AK活性被极显著抑制。高剂量组在暴露96 h时,其单位蛋白AK活性达到各组的最低值。

在Na-PCP低剂量组(0.01 mg/L)的暴露下,梨形环棱螺鳃中单位蛋白AK活性的变化不太明显。中剂量组(0.02 mg/L)仅在暴露72 h时,其单位蛋

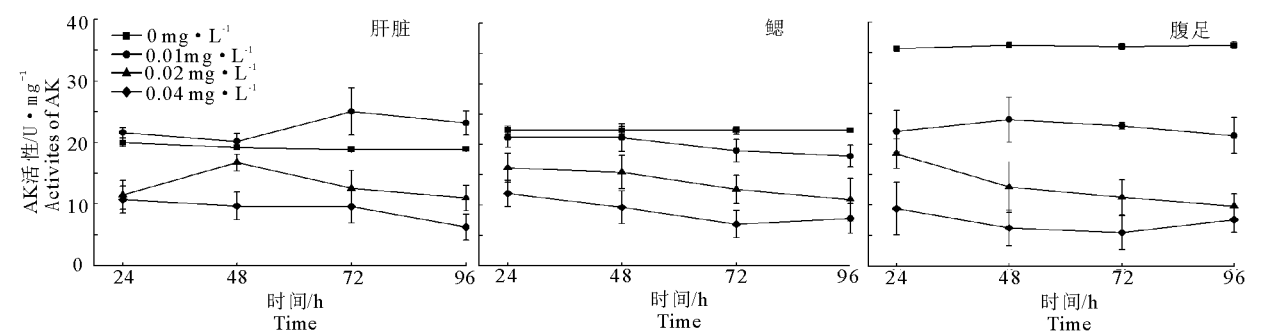


图1 五氯酚钠对梨形环棱螺肝脏、鳃和腹足中单位蛋白 AK 活性的影响

Fig.1 Effects of Na-PCP on activites of AK (per unit weight of protein) in liver, gill and gastropoda of *B. purificata*

白 AK 活性与对照组有显著差异 ($P < 0.05$),表现出被抑制的现象。高剂量组(0.04 mg/L)单位蛋白 AK 活性则随着暴露时间延长,呈现出显著或极显著被抑制的现象;高剂量组在暴露 72 h 时,其单位蛋白 AK 活性达到各组的最低值,表现出极显著被抑制的特点 ($P < 0.01$)。总体来看,不同剂量组的单位蛋白 AK 活性均降低,显示出被抑制的现象。

梨形环棱螺在体染毒过程中,腹足中单位蛋白 AK 活性的变化幅度较大。低、中、高剂量组均表现出明显的时间剂量效应,在暴露的各个时间段,与对照组相比均呈现出显著或极显著被抑制的现象。在 Na-PCP 低剂量组(0.01 mg/L)暴露 96 h 时,腹足中单位蛋白 AK 活性与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$),其他时间段均较对照组有显著差异 ($P < 0.05$)。在中剂量组(0.02 mg/L)暴露 72 h 时,腹足中单位蛋白 AK 活性表现为被显著抑制的特点,而在暴露 24、48 和 96 h 时,则表现为被极显著抑制。高剂量组(0.04 mg/L)各个时间段均较对照组有显著或极显著差异。其中,高剂量组在暴露 72 h 时,腹足中单位蛋白 AK 活性达到各组的最低值,呈现出被显著抑制的特点。

2.2.2 单位组织 AK 活性 进行 Na-PCP 在体毒性暴露时,其对梨形环棱螺鳃和腹足中单位组织 AK 活性均有明显的影响,2 者总体上都表现出被诱导(见表 2)。Na-PCP 暴露对肝脏中单位组织 AK 活性也有明显的影响,但表现出被抑制。受 Na-PCP 诱导的鳃和腹足中单位组织 AK 活性,以及受 Na-PCP 抑制的肝脏中单位组织 AK 活性,与 Na-PCP 暴露无明显的剂量和时间效应关系。肝脏 Na-PCP 中剂量组(0.02 mg/L)暴露 48 h 时,单位组织 AK 活性与对照组有显著差异 ($P < 0.05$),而其他各剂量组、各时间段与对照组相比无显著性差异。在 Na-PCP 低剂量组(0.01 mg/L)鳃和腹足的单位组织 AK 活性在各个时间段与对照组相比无显著差异,

其响应规律不突出。鳃的单位组织 AK 活性,中剂量组(0.02 mg/L)仅在暴露 96 h 时,与对照组相比被显著地诱导增长;高剂量组(0.04 mg/L)在暴露 72 和 96 h 时,较对照组有显著差异 ($P < 0.05$)。腹足单位组织 AK 活性较肝脏和鳃的响应稍敏感些,中剂量组(0.02 mg/L)和高剂量组(0.04 mg/L)在暴露 72 和 96 h 时其活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

表 2 Na-PCP 对梨形环棱螺肝脏、鳃和腹足单位组织 AK 活性的影响

Tab.2 Effects of Na-PCP on activites of AK (per unit weight of issue) in liver, gill and gastropoda of *B. purificata*

Na-PCP/ mg · L ⁻¹	时间/ h	肝脏 AK 活性/ U · g ⁻¹	鳃 AK 活性/ U · g ⁻¹	腹足 AK 活性/ U · g ⁻¹
0(对照)	24	9.17 ± 0.39	22.41 ± 6.78	12.23 ± 3.73
	48	8.93 ± 0.68	32.96 ± 4.52	15.54 ± 4.67
	72	7.35 ± 0.31	25.17 ± 5.86	29.33 ± 5.63
	96	7.41 ± 0.18	24.74 ± 0.81	14.71 ± 2.69
0.01	24	8.34 ± 0.92	37.14 ± 4.72	13.57 ± 6.21
	48	8.84 ± 0.71	24.55 ± 5.17	17.86 ± 4.57
	72	6.83 ± 0.19	29.40 ± 7.45	37.35 ± 3.25
	96	7.11 ± 5.12	28.27 ± 6.67	18.71 ± 2.01
0.02	24	5.98 ± 0.46	35.53 ± 3.90	39.86 ± 4.43
	48	7.99 ± 0.78 *	30.44 ± 6.07	36.04 ± 3.92
	72	6.25 ± 0.67	37.27 ± 6.14	33.73 ± 4.39 *
	96	7.23 ± 0.33	32.93 ± 4.52 *	34.22 ± 1.22 *
0.04	24	6.05 ± 0.40	40.99 ± 5.12	30.08 ± 5.67
	48	5.92 ± 0.43	45.07 ± 4.93	31.17 ± 4.33
	72	6.13 ± 0.14	38.87 ± 4.86 *	35.27 ± 5.46 *
	96	6.21 ± 0.02	41.17 ± 2.51 *	32.27 ± 4.38 *

注: * 表示 $P < 0.05$, 处理组与对照组之间差异显著。
Note: * indicated significant differences between Na-PCP treated groups and the control groups ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 Na-PCP 对梨形环棱螺的急性毒性作用特点
试验中各浓度组梨形环棱螺的中毒症状基本相似,随着毒性暴露时间延长,螺体表现为由水中上层

缓慢向底部游动,面盘摆动逐渐变慢,面盘及腹足随之收缩,原地转动或几只聚成一堆,最后静止不动直至死亡。不同浓度 Na-PCP 的毒性有所不同,浓度愈高,毒性愈强。对照组和低剂量组(0.10 mg/L)中环棱螺面盘在水体中均匀展开,游动正常;而在中剂量组(0.20 mg/L),中毒反应较为缓慢,要经过较长时间才出现中毒症状;高剂量组(0.40 mg/L)中,梨形环棱螺的中毒反应迅速,在 24 h 内就有个体出现明显中毒症状。对玻璃棒触及 5 min 内无反应的螺视为死亡。从试验结果可知,梨形环棱螺对五氯酚钠比较敏感。污染物进入机体后对各器官产生不同的毒理效应。

在研究急性毒性时,单因子污染胁迫对生物的毒害作用基本上取决于其自身的理化性质,但受暴露浓度影响较大。由于实际水环境的多样性、物质存在形态的多样性和物质之间作用的复杂性(存在吸附、聚沉、拮抗和协同等作用)(王志铮等,2005),以及动物个体大小、生理状态和物种之间的差异等许多因素,导致同一物种对不同污染物具有抗性差异,同一污染物对不同物种的毒性效应也有不同。研究表明,氯酚类可在动物肝和肾等器官内大量富集,造成肝、肾及中枢神经系统严重损害,破坏体内电子传递体系并造成氧化损伤,对动物细胞也具有一定的细胞毒性和遗传毒性。此外,还可引起细胞染色体错位分离,诱导肝癌、淋巴瘤和血癌(房彦军等,2009)。氯原子有较强的吸电子效应,可使有机氯代烃分子极性增强,在体内易和酶系统结合(田秀梅等,2005)。据此推测,五氯酚钠杀灭梨形环棱螺的原理是氯原子干扰了环棱螺体内的酶系统,使得环棱螺的物质代谢和能量代谢出现紊乱,最终导致梨形环棱螺死亡。

3.2 Na-PCP 对梨形环棱螺组织 AK 活性的影响

从试验结果可知,低剂量组(0.01 mg/L)五氯酚钠对组织 AK 活性影响不大,仅在暴露 72 h 时对肝脏单位蛋白 AK 活性有较明显影响。分析可能的原因是肝脏是解毒器官,肝脏在一定的污染物浓度范围内,能通过生物转化将终毒物排除,或者阻止毒性副产物形成,所以对 AK 的影响有限。当毒物刺激机体时,梨形环棱螺的肝脏启动了解毒机制,以消除 Na-PCP 暴露引发的毒性作用(Huang & Cunningham, 1996)。但随着 Na-PCP 浓度的增加和暴露时间进一步延长,其单位蛋白 AK 活性受到抑制,可能的原因是污染物作用强度超过环棱螺的生理阈值及肝脏的解毒能力,肝脏清除高浓度污染物毒性作

用的能力降低(Hayes, 1994),肝脏不足以排解五氯酚钠的毒性致使 AK 活性受到了影响。

鳃中单位蛋白 AK 活性伴随着 Na-PCP 浓度的增加而下降,表现出时间剂量上被抑制的现象,可能因为鳃是腹足动物梨形环棱螺的呼吸器官,是最先与污染物产生接触的器官(甘家安等,1996),一般污染物的吸收速率与该物质在吸收部位的浓度有关,并取决于该化学物溶解的速率和纯度、接触部位面积、吸收部位的特性、微循环以及毒物的理化特性(孟紫强,2000),因此,鳃中的 AK 受 Na-PCP 暴露而被抑制的现象比较明显。

腹足是梨形环棱螺的运动器官,属于肌肉组织,而 AK 在无脊椎动物肌肉组织中的能量代谢中起着重要作用(Brown et al, 2004a; 张彤晴等,2007),因此腹足中的 AK 活性相对于其他器官较多,Na-PCP 暴露可能影响到腹足的能量代谢,或者直接影响 AK 活力,导致其对污染物暴露的响应非常敏感(孟紫强,2000)。

比较相同暴露时间下、不同剂量组对梨形环棱螺单位组织 AK 活性的影响,发现肝脏中单位组织 AK 活性均比对照组低,这可能由于肝脏是生物体的解毒器官,卤代酚的污染导致过氧化反应加剧,机体启动解毒机制,由于生物体内的活性氧不能被有效清除,产生大量的自由基,影响了正常的能量代谢引起的(李响等,2004)。鳃和腹足中单位组织 AK 活性在低剂量组各时间段和中、高剂量组 24 h 和 48 h 与对照组相比均无显著差异,响应规律也不突出。Na-PCP 在体暴露对梨形环棱螺鳃、腹足中单位组织 AK 活性影响总体上都表现出被诱导,这可能是因为鳃是梨形环棱螺的呼吸器官,腹足是它的主要运动器官,2 者在生命活动过程中均需要大量的能量,其能量代谢水平高于其他器官,需要更多的蛋白 AK。

3.3 Na-PCP 对梨形环棱螺 AK 活性的影响机理

研究表明,AK 是无脊椎动物受到免疫刺激和病毒感染后变化最为明显的蛋白质之一(姚翠鸾等,2008)。在无脊椎动物体内,AK 的变化可能与外界的条件有关。有报道称,在缺氧、叠氮化钠和五氯苯酚等条件下,AK 表达量会上升(苏晓峰等,2011)。近年来发现,Na-PCP 能造成水生动物中枢神经系统、肝和肾等器官的损害,对鱼类等水生动物毒性极大(Brown & Grossman, 2004b)。同时,由于 Na-PCP 具有较高的稳定性和脂溶性,使之易被水体中的生物体尤其是底栖动物吸收,污染物进入机体

后引发了机体的抗氧化反应,产生氧自由基(张清顺等,2008)。在过氧化物的胁迫下,环棱螺 AK 活性与对照组相比有明显的变化,这些发现提示 AK 可能参加了抗氧化反应过程。AK 是无脊椎动物体内一种最主要的磷酸原,它为组织提供了空间和时间的高能需求。它能够将磷酸盐交换给 ADP(二磷酸腺苷),因而保持了稳定的 ATP(腺嘌呤核苷三磷酸)浓度: $\text{PA(磷酸精氨酸)} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{AK}} \text{arginine(精氨酸)} + \text{ATP}$,因而可以充当 ATP 的储存库(肖涛和王维娜,2006)。Na-PCP 进入机体分解为 PCP 后具有强大的解耦联作用,引起氧化磷酸化过程失调,使磷酸化作用受到抑制,ADP 不能磷酸化为 ATP。当 ADP 浓度增加刺激呼吸链作用增强,而氧化产生的大量能量不能通过磷酸化作用进行储存,只能以热能的形式散失掉(陈一资和胡惠民,1996)。由于 Na-PCP 中断了氧化磷酸化的偶联过程,ATPase 会受到显著影响,ATP 不能正常产生,导致细胞无法获得正常生命活动所需要的能量,使得原来的生化反应平衡被打破,最终会影响到与能量代谢有关的 AK 的活性。

目前,国内研究持久性有机污染物对 AK 活性的影响尚处于起步阶段,对 AK 的研究主要停留在功能结构研究和纯化表达上(王华兵和徐豫松,2006;姚翠鸾等,2008;刘陶陶和王希成,2011;苏晓峰等,2011)。本试验表明,梨形环棱螺肝脏、鳃和腹足中 AK 活性随 Na-PCP 暴露时间和暴露剂量的增加呈现明显的变化,但变化规律不一致。Na-PCP 对环棱螺肝脏、鳃和腹足中 AK 活性影响不一致是由于各组织器官的结构和功能不同,其 AK 的含量及活性存在差异造成的。AK 在污染物暴露过程中的整个趋势呈现波动性,可能的原因是肝脏启动非酶系统和抗氧化酶系统而导致 AK 的表达和活性受到影响。本试验结果提示,Na-PCP 暴露可能引起梨形环棱螺机体内氧化磷酸化过程失调,进而使环棱螺机体内的 ATP 不能正常合成;影响 ATP 的同时也影响与能量代谢相关的 AK 活性,其具体机理还待深入探讨。本研究结果也说明 AK 活性可以作为指示 Na-PCP 对梨形环棱螺毒理效应的生物标志物。

参考文献

常浩. 2002. 五氯酚的内分泌干扰作用研究进展[J]. 环境与健康杂志, 1(3): 79-81.
陈一资, 胡惠民. 1996. 五氯酚钠中毒牛病理变化及肉中残毒快速检验[J]. 肉品卫生, (7): 10-12.

戴雅奇, 由文辉. 2005. 苏洲河铜锈环棱螺生物标志物初步研究[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, (3): 105-108.
房彦军, 高先军, 查金苗, 等. 2009. 三氯酚暴露致稀有鮡鲫肝脏损伤的比较蛋白质组研究[J]. 生态毒理学报, 4(6): 834-840.
甘家安, 王西奎, 徐广通, 等. 1996. 肽酸酯在植物中的吸收和积累研究[J]. 环境科学, 17(5): 87-88.
侯建军, 张清顺, 熊邦喜. 2009. 二价镉对梨形环棱螺毒理效应研究[J]. 中国农业大学学报, 14(3): 54-62.
孔繁翔. 2000. 环境生物学[M]. 北京: 高等教育出版社: 157-163.
李响, 刘征涛, 沈萍萍, 等. 2004. 卤代酚类物质对抗氧化酶活性的影响研究及构效分析[J]. 环境科学学报, 24(5): 900-904.
刘陶陶, 王希成. 2011. 铜离子对海参精氨酸激酶活力与结构的影响[J]. 海洋科学, 35(1): 17-21.
孟紫强. 2000. 环境毒理学[M]. 北京: 中国环境科学出版社: 496-512.
苏晓峰, 陆国清, 程红梅. 2011. 精氨酸激酶蛋白及分子生物学的研究进展[J]. 生物技术通报, (4): 26-30.
田秀梅, 周启星, 王林山. 2005. 氯烃类污染物的生态行为与毒理效应研究进展[J]. 生态学杂志, 24(10): 1204-1210.
王华兵, 徐豫松. 2006. 家蚕精氨酸激酶基因的克隆、基因结构与表达分析[J]. 中国农业科学, 39(11): 2354-2361.
王志铮, 吕敢堂, 许俊. 2005. Cr, Zn, Hg 对凡纳滨对虾幼虾急性毒性和联合毒性研究[J]. 海洋水产研究, 26(2): 6-14.
肖涛, 王维娜. 2006. 海洋无脊椎动物体内能量物质[J]. 海洋湖沼通报, (2): 96-103.
徐立红, 张甫元, 陈宜瑜. 1995. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义[J]. 水生生物学报, 19: 171-185.
姚翠鸾, 王志勇, 相建海. 2008. 甲壳动物精氨酸激酶的结构与功能[J]. 中国生物化学和分子生物学报, 24(3): 203-208.
张清顺, 侯建军, 熊邦喜. 2008. 持久性有机污染物和重金属对腹足类的生态毒理效应[J]. 水利渔业, 28(4): 1-4.
张彤晴, 蒋丽娟, 葛家春, 等. 2007. 五氯苯酚对渔业环境的危害与对策研究进展[J]. 江苏农业科学, (4): 256-259.
Brown A E, France R M, Grossman S H. 2004. Purification and characterization of arginine kinase from the American cockroach (*Periplaneta americana*) [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 56: 51-60.

- Brown A E, Grossman S H. 2004. The mechanism and modes of inhibition of arginine kinase from the cockroach (*Periplaneta americana*) [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 57: 166 – 177.
- Hayes A W. 1994. Principles and methods of toxicology [M]. New York: Raven Press.
- Huang J M, Cunningham S D. 1996. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation [J]. New Phytologist, 134: 75 – 84.
- Liu Z, Xia L, Wu Y, et al. 2009. Identification and characterization of an arginine kinase as a major allergen from silkworm (*Bombyx mori*) larvae [J]. Int Arch Allergy Immunol, 150(1): 8 – 14.
- Yao C L, Wu C G, Xiang J H, et al. 2005. Molecular cloning and response to laminarin stimulation of arginine kinase in haemolymph in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* [J]. Fish Shellfish Immunol, 19(4): 317 – 329.
- (责任编辑 杨春艳)

Studies on Toxicological Effect of Sodium Pentachlorophenol on *Bellamya purificata*

WANG Yuan-chuan, HOU Jian-jun, CHEN Ya-qiong, SHU Xiao, XIA Xiao-fen

(College of Life Sciences, Hubei Normal University, Huangshi 435002, P. R. China)

Abstract: An exposure experiment in vivo was carried out to study the acute toxicity of Sodium pentachlorophenol (Na-PCP) on *Bellamya purificata* and its effects on level of arginine kinase (AK) in liver, gill and gastropoda of *B. purificata* at different concentrations and exposure times (24, 48, 72 and 96 h). The results showed that the LC_{50} values of Na-PCP on *B. purificata* was 0.411 mg/L, and the safe concentration was 0.0411 mg/L; the activity of AK in liver of *B. purificata* was induced at low concentrations while inhibited at high concentrations, while the activities of AK in gill and gastropoda decreased as the concentration of Na-PCP increasing, which showed a significant time-dosage inhibited effect, and the activity of AK in gastropoda decreased more drastically than that of gill at the same time. The results suggested that AK were sensitive to the exposure of Na-PCP and could be used as a biomarker to evaluate the aquatic environment Na-PCP pollution.

Key words: Sodium pentachlorophenol; *Bellamya purificata*; acute toxicity test; toxicological effect; arginine kinase