

十溴联苯醚(BDE-209)胁迫对褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*)摄食与选食的影响*

陈红梅 唐学玺 房宽 王悠^①

(中国海洋大学海洋生命学院 青岛 266003)

摘要 实验生态条件下研究十溴联苯醚(BDE-209)的急性毒性胁迫对褶皱臂尾轮虫(*Branchionus plicatilis*)运动行为与摄食行为的影响,探讨可用以表征胁迫-响应的生物标志物。结果表明:(1) BDE-209 胁迫 24h 显著性增加了褶皱臂尾轮虫的运动抑制率,由此得到 24h 半数有效抑制浓度(24h-EC₅₀)为 9.084mg/L,但未达到半数致死作用;(2) 当分别以四种海洋微藻:小球藻(*Chlorella vulgaris*)、青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica*)、等鞭金藻 8701(*Isochrysis galbana*)和小新月菱形藻(*Cylindrotheca closterium*)为单一饵料来源时,褶皱臂尾轮虫对四种饵料单胞藻的滤水率(*F*)和摄食率(*G*)均随着胁迫时间和胁迫浓度的增加而不断下降,呈现出明显的浓度依赖性,说明 BDE-209 胁迫能显著抑制褶皱臂尾轮虫的摄食作用。(3) 将其中三种微藻等生物量混合投喂时,褶皱臂尾轮虫对三种微藻的滤水率和摄食率与单一饵料投喂条件相比均发生变化,且对各种微藻的选食率(*S_i*)和摄食总生物量均随着胁迫时间和浓度的增加呈下降趋势,选择性指数(*S_i*)发生变化,对小球藻的摄食选择性最高。滤水率的变化较其它指标更敏感,可用以指示浮游动物在个体水平上响应外源环境变化的标志物。结果表明,BDE-209 胁迫能有效改变褶皱臂尾轮虫的摄食与选食行为,且其最适宜的饵料是小球藻。

关键词 BDE-209; 褶皱臂尾轮虫; 饵料微藻; 急性毒性; 摄食; 选食

中图分类号

X55

doi: 10.11693/hyh20150500152

多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)作为溴化阻燃剂被广泛应用于多种消费产品中(Talsness, 2008)。它化学性质稳定,亲脂性较高,可在生物体内蓄积放大并随食物链传递而产生生物毒性效应,是一类具有高生态风险性的新型持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)(Tanabe, 2004)。近年来,PBDEs 陆续在海水、海洋沉积物和海洋生物体等各种介质中被检出且呈持续增长趋势(孟范平等, 2009),且在深海与两极的海洋环境中也发现有 PBDEs 的分布。PBDEs 对海洋生态环境的潜在威胁引起人们的高度重视。有关 PBDEs 对海洋生物的毒性效应已有较多的研究,主要集中于哺乳动物或脊椎动物如鱼类的研究中,发现其具有

明显的生殖毒性、发育毒性以及内分泌干扰毒性(Chen *et al*, 2012; McClain *et al*, 2012),对低等海洋浮游生物的研究较少。海洋浮游动物是影响海洋生态系统物质循环与能量流动的关键生物类群,而摄食作用能直接影响浮游动物的种群动态变化;且有研究表明海洋浮游动物是 PBDEs 进入海洋生态环境的起点(Chiuchiolo *et al*, 2004),因此研究 PBDEs 对海洋浮游动物摄食行为的影响对阐明 PBDEs 的海洋生态学效应具有重要意义。

海洋浮游动物褶皱臂尾轮虫(*Branchionus plicatilis*)是我国沿海浮游动物的广布种,常被用作环境监测和生态毒理学研究的受试生物(Suatoni *et al*, 2006)。本实验室前期的研究表明,褶皱臂尾轮虫

* 国家自然科学基金项目,41276140 号,41476109 号;国家自然科学基金-山东省联合基金项目,U1406403。陈红梅,博士研究生, E-mail: melissa821@foxmail.com

通讯作者: 王悠,硕士生导师,教授, E-mail: wangyou@ouc.edu.cn

收稿日期: 2015-05-28, 收修改稿日期: 2015-08-27

幼虫对饵料微藻具有明显的摄食选择性(房宽等, 2013)。但是外源污染物是否会影响其摄食行为, 改变其摄食选择性尚不清楚。因此, 本研究开展高溴代多溴联苯醚——十溴联苯醚(BDE-209)胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食与选食行为的影响, 以期阐明 BDE-209 的海洋生态学潜在影响提供一定的科学依据, 探讨建立基于浮游动物的、能灵敏指示环境胁迫变化的生物标志物。

1 材料与方法

1.1 实验动物培养

取适量褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)休眠卵(由中国海洋大学水产学院惠赠)进行孵化。孵化条件: 温度 $(20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, 海水盐度 30, pH 8.6, 光照 $60\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光暗比 12L: 12D, 3—7d 即可孵化。孵化期间投喂密度为 $1 \times 10^6 \text{ cell}/\text{mL}$ 的小球藻作为饵料。孵化后挑选一活泼健壮的非混交卵雌体于恒温光照培养箱内按上述条件培养 2 个月待用。

收集 12—14h 的幼虫(龄期 $<14\text{h}$)进行实验, 期间不投喂其它饵料。实验选取绿藻门的小球藻(*Chlorella vulgaris*)、青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica*)、金藻门的等鞭金藻 8701(*Isochrysis galbana*)和硅藻门的小新月菱形藻(*Cylindrotheca closterium*)四种单胞藻为饵料。微藻培养于 *f/2* 培养基中, 培养条件同褶皱臂尾轮虫, 每隔 12h 摇动一次。

1.2 实验试剂

实验用多溴联苯醚——十溴联苯醚(BDE-209, 纯度 99.05%), 购自美国 AccuStandard 公司, 为难溶于水的白色粉末。在预实验中选择了三种助溶剂: 丙酮、异辛烷和二甲亚砜(DMSO), 分别测定三种助溶剂对褶皱臂尾轮虫幼虫 24h 的急性毒性致死实验的最小无明显效应浓度(no observable effect concentration, NOEC), 其 NOEC 值的大小为异辛烷 $<$ 丙酮 $<$ DMSO(表 1); 同时发现 DMSO 的助溶效果最佳, 因此选为本实验的助溶剂。

表 1 三种助溶剂对褶皱臂尾轮虫 24h 的 NOEC 值实验结果

Tab.1 Determination of NOEC of three cosolvents on *B. plicatilis* at 24h

助溶剂	回归方程	95%置信区间(%)	R^2	NOEC (%)
丙酮	$y=9.05x-6.43$	1.32—4.50	0.98	3.71
异辛烷	$y=3.54x-0.01$	0.30—0.55	0.99	0.44
DMSO	$y=18.82x-22.57$	12.64—14.10	0.97	13.52

NOEC: 最小无明显效应浓度

用 DMSO(A.R.)配制成浓度为 $2 \times 10^3 \text{ mg}/\text{L}$ 的 BDE-209-DMSO 母液, 4°C 下避光保存备用。实验时用 DMSO 稀释母液至中间浓度后加入至实验体系中。

1.3 实验设计

1.3.1 BDE-209 对褶皱臂尾轮虫的急性毒性效应 如 1.1 所述的筛选方法选取轮虫并随机分组。实验共分 5 个 BDE-209 浓度组: 2、6、10、14 和 $18 \text{ mg}/\text{L}$, 同时设空白对照组(海水对照组)和助溶剂对照组(0.9% DMSO, V/V), 每组设 3 个平行。实验选取 10mL 的烧杯, 总体积为 5mL, 其中含有 20 只褶皱臂尾轮虫。胁迫 12h 及 24h 后在解剖镜下观察, 同时记录褶皱臂尾轮虫的致死率和运动抑制率。通过概率单位-对数浓度法计算 BDE-209 的 24h-LC₅₀ 或 EC₅₀。轮虫死亡判定标准: ①轮虫停止运动, ②内部组织出现皱缩, ③咀嚼囊和足均不运动, ④轮盘收回则认为其死亡; 轮虫运动抑制判定标准: 若轻摇烧杯 15s 之内轮虫不运动则认为其运动能力受到抑制(房宽等, 2013)。

1.3.2 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食的影响

(1) 对滤水率(F)和摄食率(G)的影响 将轮虫分别置于小球藻(密度为 $10 \times 10^5 \text{ cell}/\text{mL}$)、青岛大扁藻(密度为 $2 \times 10^5 \text{ cell}/\text{mL}$)、等鞭金藻 8701(密度为 $15 \times 10^5 \text{ cell}/\text{mL}$)、小新月菱形藻(密度为 $4.5 \times 10^5 \text{ cell}/\text{mL}$)中驯养 48h, 其中 4 株海洋微藻的投喂密度均选取各饵料微藻的饱和密度(周文礼, 2005)。实验用轮虫收集活泼健壮且龄期 $<2\text{h}$ 的带卵雌体, 饥饿 12h 后进行实验。在急性毒性实验 24h-EC₅₀ 的基础上设定摄食实验的浓度: 实验共设低、中、高 3 个浓度组, 分别为: 0.0375、0.15 和 $0.6 \text{ mg}/\text{L}$, 并设空白对照组(海水对照组)和 DMSO 助溶剂(0.3%, V/V)的阴性对照组, 每组设 3 个平行。实验在 10mL 烧杯中进行, 总体积为 5mL, 每实验体系中放入 50 只轮虫幼虫, 然后在黑暗条件下置于转速为 100r/min 的恒温振荡器上孵育, 确保饵料藻处于均匀状态的同时防止藻类迅速增殖。胁迫 12h 及 24h 后用鲁哥氏碘液固定, 显微镜下血球计数板计数, 根据 Frost 公式(Frost, 1972)采用饵料密度差减法计算其 F 和 G :

$$F = \frac{V}{N} \cdot \frac{\ln C_t - \ln C_{cf}}{t}$$

$$G = F \cdot \frac{C_{cf} - C_0}{\ln C_{cf} - \ln C_0}$$

其中, F 表示滤水率 [$\text{mL}/(\text{ind} \cdot \text{h})$]; G 表示摄食率 [$\text{cell}/(\text{ind} \cdot \text{h})$]; V 表示实验溶液体积; N 表示轮虫个体数(ind.); C_0 表示起始饵料密度($\times 10^4/\text{mL}$); C_t 表示无轮

虫组中的最终饵料密度($\times 10^4$ cell/mL); C_{tf} 表示实验组中的最终饵料密度($\times 10^4$ cell/mL); t 表示摄食时间。

(2) 对选食作用的影响 在前期实验的基础上, 选择小球藻、青岛大扁藻和小新月菱形藻 3 种微藻, 这三种微藻形态差异明显且易在显微镜下甄别, 将其按等生物量混合作为饵料用以培养褶皱臂尾轮虫。由于三种微藻的个体大小不同, 因此根据本实验室前期研究结果(房宽等, 2013), 混合饵料中微藻起始密度分别设定为: 小球藻 33.33×10^4 cell/mL、青岛大扁藻 4.80×10^4 cell/mL、等鞭金藻 8701 为 14.14×10^4 cell/mL。轮虫的选择、培养条件及实验方法同上。

根据混合饵料中各种微藻密度的变化计算褶皱臂尾轮虫的选食率(S_r)和选择性指数(S_i) (Frost, 1972):

$$S_r = \frac{C_t - C_{tf}}{C_t} \cdot 100\%$$

$$S_i = \frac{r_i - p_i}{r_i + p_i}$$

其中, S_r : 轮虫对某种单胞藻选食率; S_i : 轮虫对某种单胞藻摄食的选择性指数(S_i , $0 < S_i < 1$ 表示喜食, $S_i = 0$ 表示对食物无选择性; $-1 < S_i < 0$ 表示不喜食; C_t : 无轮虫组中最终饵料密度($\times 10^4$ cell/mL); C_{tf} : 实验组中最终饵料密度($\times 10^4$ cell/mL); r_i : 轮虫所摄食的全部藻中某种单胞藻所占的比例; p_i : 实验最初某种单胞藻在全部单胞藻中的比例。

1.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件通过单因素方差分析(one-way ANOVA)各作用组和对照组间差异, $P < 0.05$ 表示差异显著。采用 Sigmaplot 10.0 软件作图。

2 结果

2.1 BDE-209 的急性毒性胁迫对褶皱臂尾轮虫致死率与运动抑制率的影响

随着 BDE-209 浓度的增加褶皱臂尾轮虫的死亡率增加, 但 24h 时高浓度组(18mg/L)的死亡率为 33.33%, 未达到半数致死作用(表 2)。与死亡率不同, BDE-209 胁迫能有效抑制褶皱臂尾轮虫的运动, 并且随着胁迫浓度的增高运动抑制作用不断增强。根据胁迫组中个体运动抑制率的变化, 通过概率单位法得到 BDE-209 对褶皱臂尾轮虫的 24h- EC_{50} 为 9.084mg/L ($y = 3.22x - 3.08$, $R^2 = 0.98$)(表 2)。

根据国家环保总局《中华人民共和国环境保护行业标准—新化学物质危害评估导则》(国家环保总局, 2004)中的毒性分级标准规定: LC_{50}/EC_{50} 在

表 2 BDE-209 的急性毒性胁迫对褶皱臂尾轮虫致死率与运动抑制率的影响

Tab.2 Acute toxic effect of BDE-209 on lethality and motile inhibition of *B. plicatilis*

浓度(mg/L)	致死率(%)	运动抑制率(%)
0	0	0
0.9% DMSO	0	0
2	0	3.33
6	3.33	23.33
10	16.67	53.33
14	23.33	76.67
18	33.33	83.33

1.0—10mg/L 之间的为高毒性物质, 据此标准 BDE-209 属高毒性物质。

2.2 单一饵料投喂条件下 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫滤水率(F)和摄食率(G)的影响

当投喂四种单一饵料, BDE-209 胁迫 12h、24h 时对褶皱臂尾轮虫滤水率(F)均随胁迫浓度的升高呈现出不断下降的趋势, 与对照组相比差异显著($P < 0.05$), 且 24h 时 F 的下降程度明显高于 12h 时的影响(图 1)。通过概率单位法计算 BDE-209 胁迫 24h 时褶皱臂尾轮虫对四种饵料微藻滤水率的 EC_{50} 分别为 0.54、0.51、0.33、0.46mg/L, 说明 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食上述四种微藻的影响程度为: 小球藻 < 青岛大扁藻 < 小新月菱形藻 < 等鞭金藻 8701。但胁迫前后褶皱臂尾轮虫对各种饵料藻 F 的大小顺序未发生变化, 均为等鞭金藻 8701 < 青岛大扁藻 < 小球藻 < 小新月菱形藻。实验结果说明 BDE-209 胁迫影响褶皱臂尾轮虫对不同种类饵料微藻的摄食行为。

BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食率(G)的作用表现出与 F 类似的影响。在胁迫组中褶皱臂尾轮虫 G 随胁迫浓度的升高而不断下降, 与对照组相比差异显著($P < 0.01$)。与 F 变化类似, 24h 胁迫组中的下降幅度要明显高于 12h 时的下降幅度, 说明随着胁迫时间的延长 BDE-209 对褶皱臂尾轮虫摄食的抑制作用增强(图 2)。以 0.6mg/L 的高浓度组为例, BDE-209 胁迫 24h 褶皱臂尾轮虫对小球藻、青岛大扁藻、等鞭金藻 8701、小新月菱形藻的 G 分别下降至海水对照组的 73.62%、67.40%、57.26%、78.33%, 与对照组相比, BDE-209 胁迫未改变投喂单一饵料条件下褶皱臂尾轮虫对各种饵料藻 G 的变化顺序, 均表现为青岛大扁藻 < 小新月菱形藻 < 等鞭金藻 8701 < 小球藻的变化。

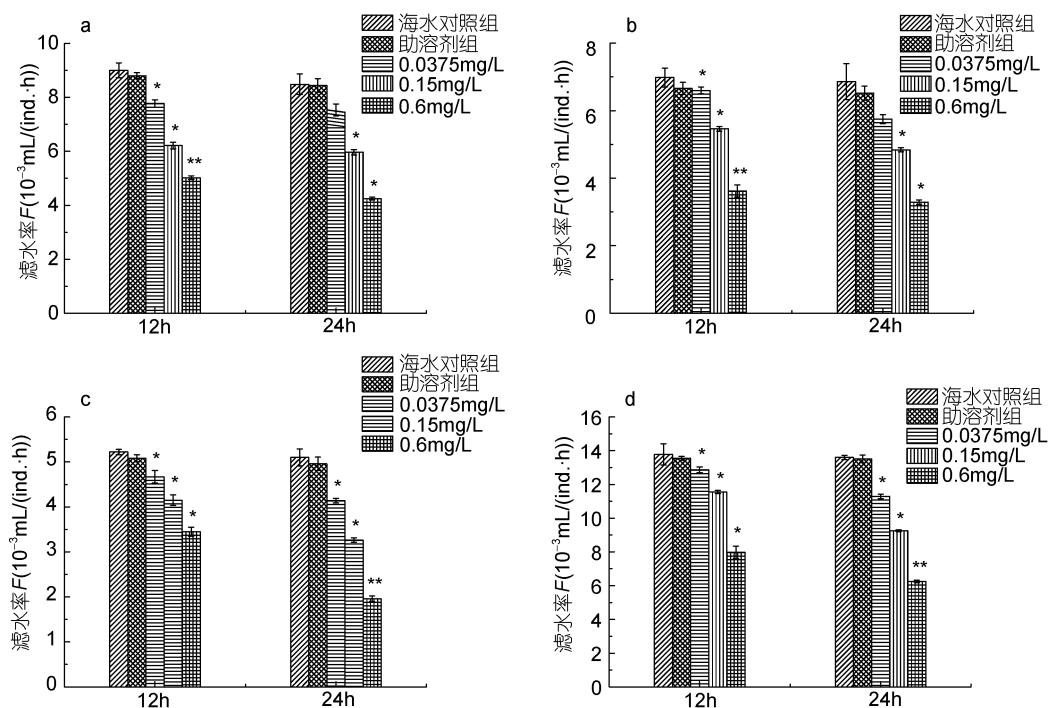


图 1 单一饵料微藻投喂条件下 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫滤水率的影响

Fig.1 Effect of BDE-209 on the filtering rate (F) of *B. plicatilis* with mono-food feeding of microalga

a: 小球藻; b: 青岛大扁藻; c: 等鞭金藻 8701; d: 小新月菱形藻

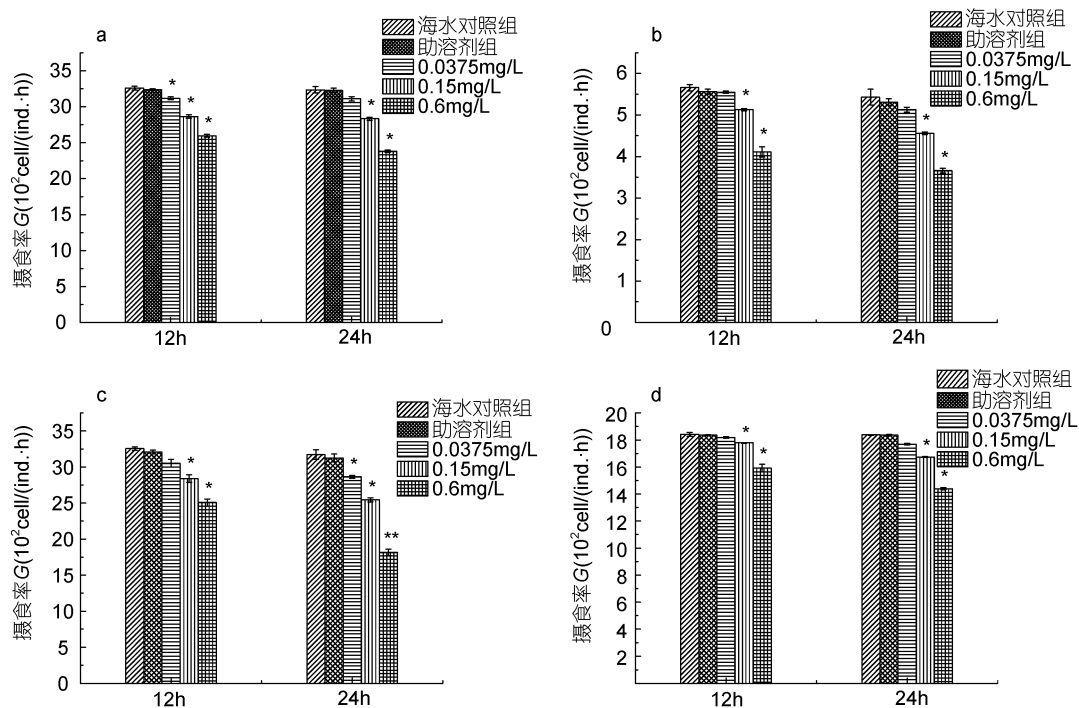
*表示差异显著 $P<0.05$, **表示差异极显著 $P<0.01$, 下同

图 2 单一饵料微藻投喂条件下 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食率的影响

Fig.2 Effect of BDE-209 on the feeding rate (G) of *B. plicatilis* with mono-food feeding of microalga

a: 小球藻; b: 青岛大扁藻; c: 等鞭金藻 8701; d: 小新月菱形藻

2.3 3种饵料混合投喂条件下 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫滤水率(F)、摄食率(G)及选食率的影响

投喂等生物量混合的饵料微藻时,无 BDE-209 胁迫的对照组中褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各微藻滤水率 F 的大小顺序为:小新月菱形藻<青岛大扁藻<小球藻;BDE-209 胁迫条件下对混合饵料中各组分的滤水率影响与单一饵料结果一致,均随胁迫浓度的升高呈现出逐渐下降的趋势($P<0.05$) (图 3),但 F 变化呈现出青岛大扁藻<小新月菱形藻<小球藻的变化趋势,与单一饵料投喂条件下的青岛大扁藻<小球藻<小新月菱形藻的变化顺序有所变化。

与相同条件下滤水率 F 的变化趋势类似,BDE-209 胁迫条件下褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻摄食率 G 仍随胁迫浓度的升高呈现出不断下降的趋势,与对照组相比差异显著($P<0.05$) (图 4)。受到 BDE-209 胁迫后,褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻 G 大小顺序的影响与单一饵料微藻投喂结果一致,均未发生变化,为青岛大扁藻<小新月菱形藻<小球藻。

为了进一步阐明褶皱臂尾轮虫具有摄食选择性,我们对混合饵料投喂条件下褶皱臂尾轮虫的选食率

(S_r) 和选择性指数(S_i) 的变化进行研究。结果表明,如图 5 所示,褶皱臂尾轮虫对混合饵料中微藻的选食率 S_r 随 BDE-209 胁迫浓度的升高呈现出逐渐下降的趋势,与对照组相比差异显著($P<0.05$),且 24h 时 S_r 的下降程度明显高于 12h 时的影响。0.0375mg/L 组与对照组相比,BDE-209 胁迫 12h 与 24h 时,褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各微藻组分的 S_r 均有所下降,但未达到显著水平($P>0.05$)。BDE-209 胁迫条件下褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种饵料藻 S_r 的变化顺序与滤水率 F 的变化一致,均为青岛大扁藻<小新月菱形藻<小球藻,但与对照组中“小新月菱形藻<青岛大扁藻<小球藻”的变化顺序不同。研究结果进一步说明 BDE-209 胁迫能改变褶皱臂尾轮虫对饵料单胞藻的摄食选择性。

褶皱臂尾轮虫对混合饵料的选择性指数与选食率的变化完全一致:随着 BDE-209 胁迫浓度的升高,褶皱臂尾轮虫对小球藻的 S_i 呈现不断增加的趋势,且总体呈现出青岛大扁藻<小新月菱形藻<小球藻的变化顺序,但不同于对照组中“小新月菱形藻<青岛大扁藻<小球藻”的变化(图 6)。研究结果说明 BDE-209 胁迫能改变褶皱臂尾轮虫正常的选食规律。

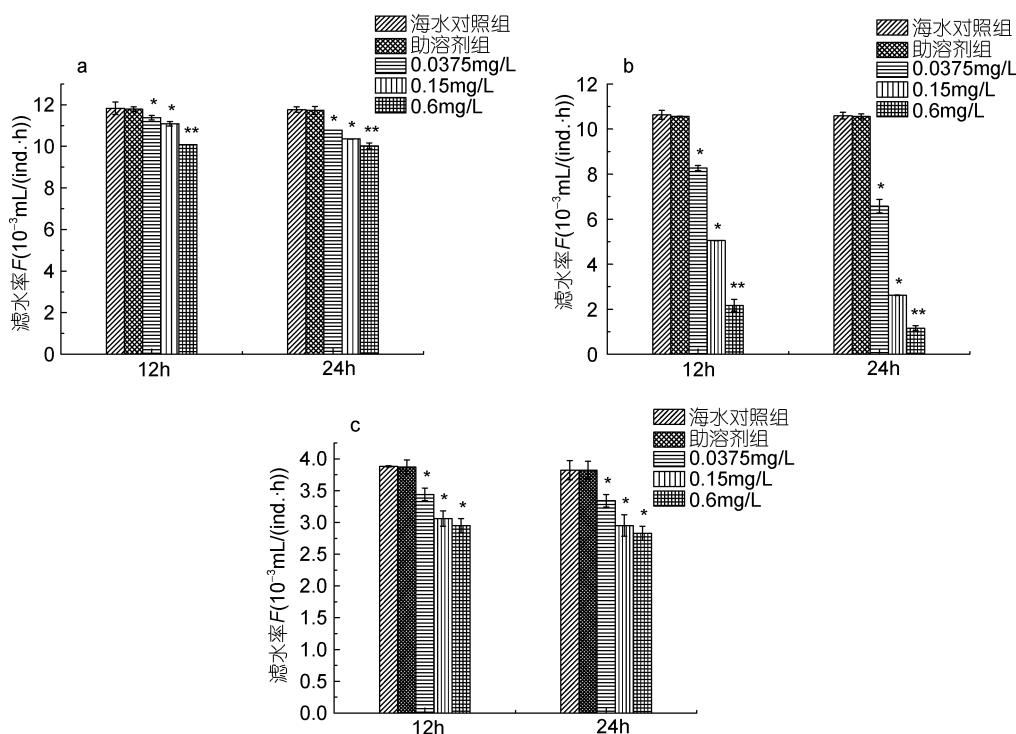


图 3 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻滤水率的变化

Fig.3 Effect of BDE-209 on the filtering rate (F) of *B. plicatilis* with mixed food feeding of microalgae

a: 小球藻; b: 青岛大扁藻; c: 小新月菱形藻

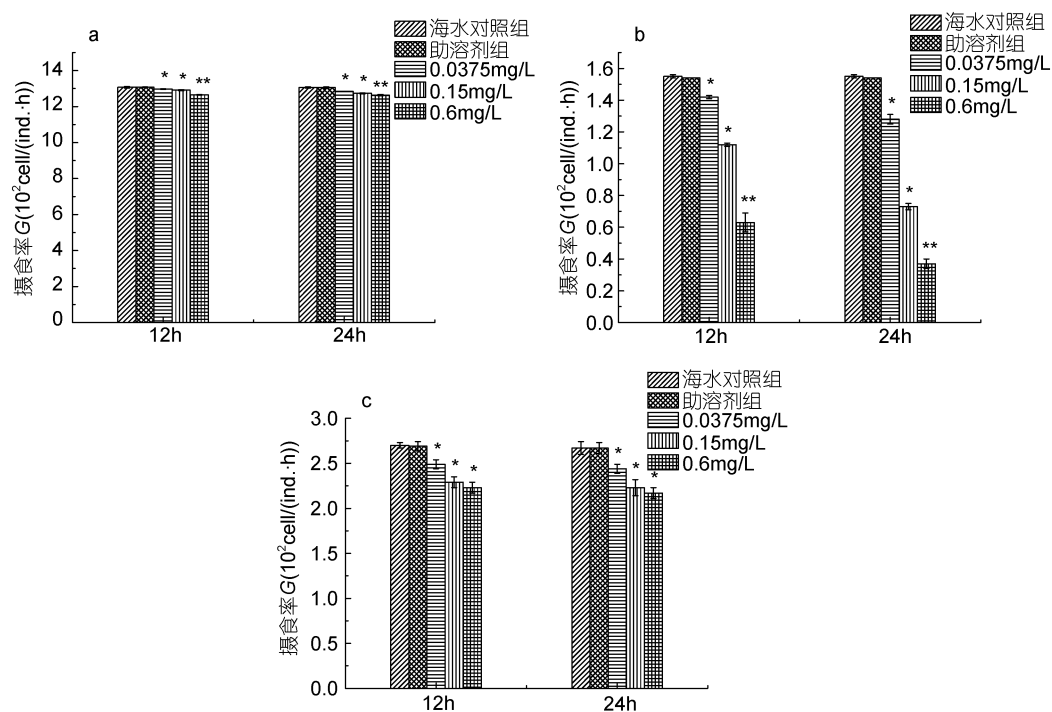


图 4 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻摄食率的变化

Fig.4 Effect of BDE-209 on the feeding rate (G) of *B. plicatilis* with mixed food feeding of microalga

a: 小球藻; b: 青岛大扁藻; c: 小新月菱形藻

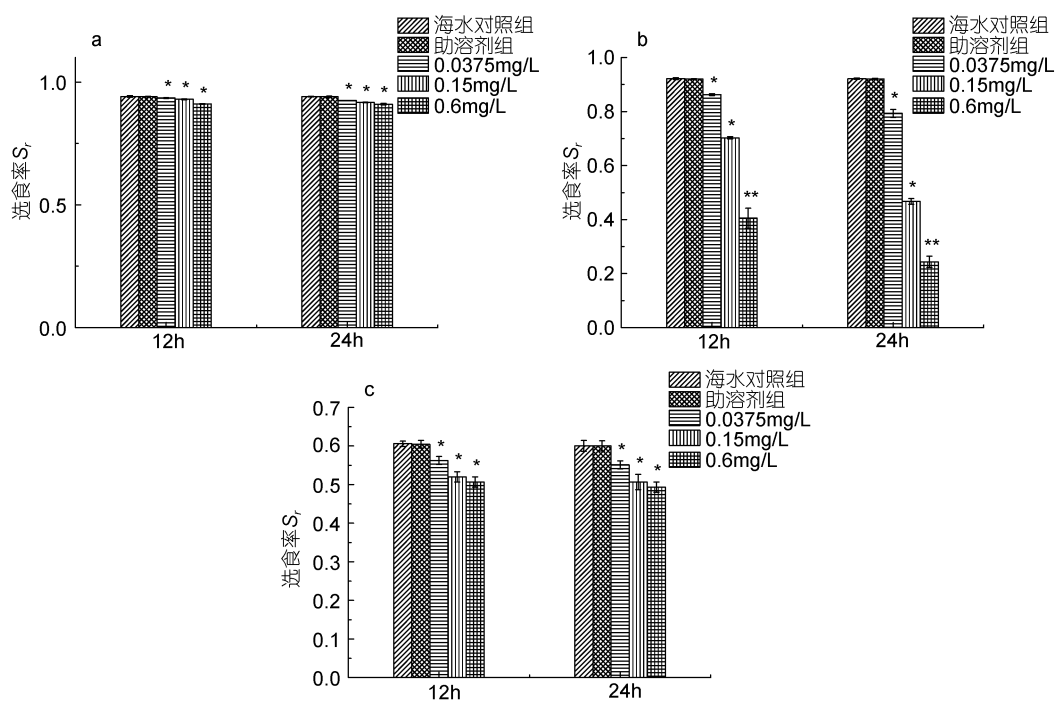


图 5 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻选食率的变化

Fig.5 Effect of BDE-209 on the food selectivity rate (S_r) of *B. plicatilis* with mixed food feeding of microalga

a: 小球藻; b: 青岛大扁藻; c: 小新月菱形藻

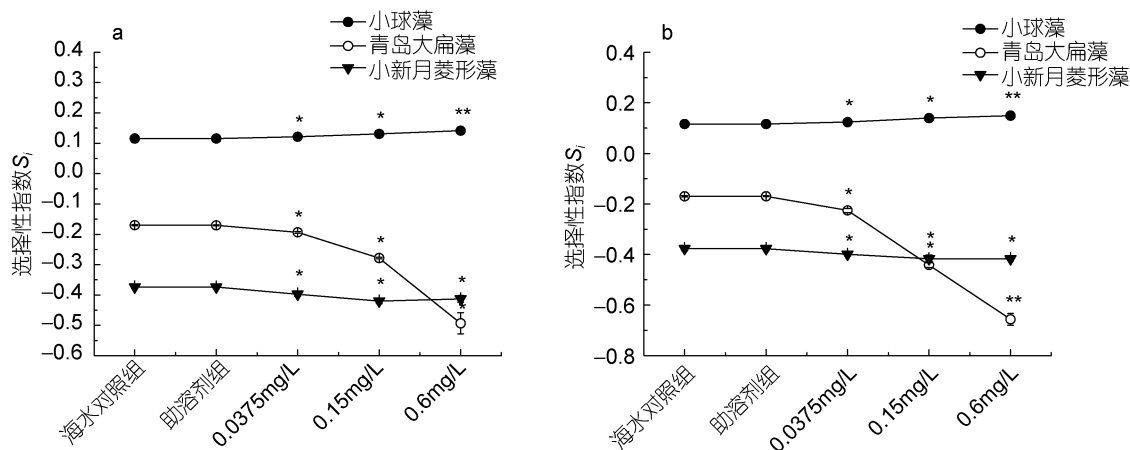


图6 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种微藻选择性指数的变化

Fig.6 Effect of BDE-209 on the selectivity index (S_j) of *B. plicatilis* with mixed food feeding of microalgae
a: 12h; b: 24h

2.4 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食饵料微藻总生物量的影响

BDE-209 胁迫 12h 和 24h 条件下褶皱臂尾轮虫摄食混合微藻总生物量的变化随着胁迫浓度增加均呈现出不断下降的趋势($P<0.05$)。以 0.6mg/L 的高浓度组为例, BDE-209 胁迫 12h 和 24h 时褶皱臂尾轮虫摄食饵料藻总生物量分别下降至对照组的 78.98%和 73.54%, 差异极显著($P<0.01$), 说明 BDE-209 既能改变褶皱臂尾轮虫的摄食选择性, 又能抑制褶皱臂尾轮虫摄食饵料藻总生物量(图 7)。

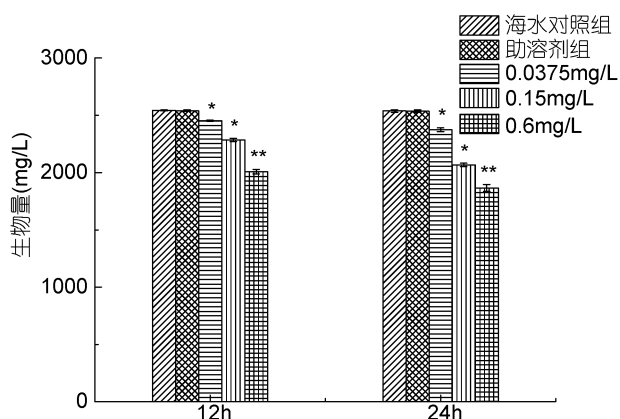


图7 BDE-209 胁迫对褶皱臂尾轮虫摄食混合饵料中各组微藻总生物量的影响

Fig.7 Feeding changes of *B. plicatilis* on microalgal biomass when fed with mixed bait microalgae

3 讨论

已有研究证明, 低溴代多溴联苯醚对海洋浮游生物有一定的危害, 不但产生急性毒性作用, 而且还会影响浮游动物的行为(Breitholtz *et al*, 2008; 李卓

娜等, 2009)。那么高溴代多溴联苯醚是否也存在这种危害呢? 本研究结果显示, BDE-209 的急性毒性胁迫能有效抑制褶皱臂尾轮虫的运动, 并具有一定的致死作用, 但在实验的浓度范围内并未出现半数致死现象。该结果与 Nakari 等(2008)研究 PBDEs 的急性毒性结果相似, 即在实验所能允许的最高浓度仍未达到对大型蚤的半数致死效应。可能原因在于 BDE-209 的分子量大, 空间位阻大, 难以全部通过生物膜进入浮游动物褶皱臂尾轮虫的体内, 却会附着在轮虫表面而影响其生命活动。轮虫通过头冠纤毛运动, 其运动能力受到激动神经肌肉的非限制性收缩和纤毛摆动的影响, 因此我们分析 PBDEs 对轮虫运动能力的干扰可能因为以下两个方面: (1) PBDEs 是一种神经毒性物质。少量进入轮虫体内的 BDE-209 可能通过干扰轮虫神经系统的正常功能降低纤毛运动的协调性而产生运动抑制; (2) 大分子的 BDE-209 能够与海水中的微藻或碎屑结合成较大的颗粒粘附在轮虫头冠部的纤毛上, 干扰纤毛的摆动从而产生运动抑制作用。

浮游动物的摄食行为通常被认为是生物体受到环境干扰时的第一响应者, 可以作为评价毒物对水生生物个体毒性的一个重要指标(Fernandezcasalderrey *et al*, 1994)。在本研究中, BDE-209 胁迫能显著抑制褶皱臂尾轮虫对四种海洋微藻的摄食作用, 具有明显的浓度、时间依赖性, 且滤水率下降程度要高于摄食率的变化。类似的研究结果在重金属以及有机磷农药对浮游动物的研究中均有报道(Ferrando *et al*, 1993), 说明浮游动物的摄食活动极易受到外源胁迫的影响, 其中滤水率较摄食率的变化更敏感。这种敏

感性的差异可能与轮虫的被动滤食方式有关(Kersting *et al*, 1981)。由于轮虫只能从滤入的海水中获取食物, 滤水的变化必然对摄食造成影响, 因此与摄食率相比轮虫的滤水率更敏感。已经有研究表明鱼的行为变化可以作为检测毒物急性毒性较为快速而敏感的指标(de Paiva Magalhães *et al*, 2007), 但是在浮游动物中的应用较少。本研究结果说明浮游动物的滤水率可以作为灵敏指示外源胁迫的指标之一, 但尚需开展进一步的研究以证明其有效性。

BDE-209 胁迫不仅改变了褶皱臂尾轮虫的运动能力与摄食行为, 而且改变其摄食选择性。从研究结果来看, 在单一和混合饵料供给条件下, BDE-209 胁迫均能改变褶皱臂尾轮虫对四种微藻滤水率的大小顺序, 说明 BDE-209 胁迫影响褶皱臂尾轮虫摄食不同种类饵料微藻的选择性。同时, 随着 BDE-209 胁迫时间的延长和暴露浓度的增加, 褶皱臂尾轮虫对混合饵料中各种饵料单胞藻的选食率和摄食总生物量均呈现不同程度的下降, 选择性指数呈现出不同的变化趋势, 说明 BDE-209 可能影响褶皱臂尾轮虫的选食行为, 其中无论有无 BDE-209 胁迫轮虫对混合饵料中小球藻的滤水率、摄食率、选食率和选择性指数均最大, 这与小球藻的细胞结构有密切关系。小球藻个体最小, 细胞壁纤维化程度较低, 有利于褶皱臂尾轮虫幼虫的摄食与消化。小新月菱形藻的个体较小球藻大, 且具有难消化的硅质外壳, 而青岛大扁藻则由于个体较大而不宜为褶皱臂尾轮虫幼虫摄食。这种微藻结构与细胞组成上的差异与褶皱臂尾轮虫幼虫的摄食选择性密切相关。

4 结论

(1) BDE-209 的急性毒性作用能对褶皱臂尾轮虫产生致死作用, 并有效抑制其运动能力;

(2) 在单一饵料培养时, BDE-209 胁迫降低褶皱臂尾轮虫对各种饵料单胞藻的滤水率和摄食率;

(3) BDE-209 胁迫改变褶皱臂尾轮虫对混合饵料的选食作用, 其中滤水率的变化能在个体水平上灵敏指示褶皱臂尾轮虫对外源胁迫的响应;

(4) BDE-209 胁迫与否, 褶皱臂尾轮虫最适宜的饵料都是小球藻。

参 考 文 献

李卓娜, 孟范平, 赵顺顺等, 2009. 2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚(BDE-47)对 4 种海洋微藻的急性毒性. 生态毒理学报,

4(3): 435—439

房 宽, 唐学玺, 张 璟等, 2013. 饵料微藻的种类和密度差异对褶皱臂尾轮虫幼虫摄食和选食行为的影响. 海洋环境科学, 32(4): 497—501

周文礼, 2005. 几种饵料单胞藻对褶皱臂尾轮虫摄食、繁殖和实验种群动态的影响. 青岛: 中国海洋大学硕士论文, 26—27

孟范平, 李卓娜, 2009. 多溴联苯醚(PBDEs)在海洋环境中的行为研究进展. 中国海洋大学学报, 39(2): 285—289

国家环保总局, 2004. HJ/T 154-2004 新化学物质危害评估导则. 北京: 国家环保总局

Breitholtz M, Nyholm J R, Karlsson J *et al*, 2008. Are individual NOEC levels safe for mixtures? A study on mixture toxicity of brominated flame-retardants in the copepod *Nitocra spinipes*. Chemosphere, 72(9): 1242—1249

Chen Q, Yu L Q, Yang L H *et al*, 2012. Bioconcentration and metabolism of decabromodiphenyl ether (BDE-209) result in thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae. Aquatic Toxicology, 110—111: 141—148

Chiuchiolo A L, Dickhut R M, Cochran M A *et al*, 2004. Persistent organic pollutants at the base of the Antarctic marine food web. Environmental Science & Technology, 38(13): 3551—3557

de Paiva Magalhães D, da Cunha R A, dos Santos J A A *et al*, 2007. Behavioral response of zebrafish *Danio rerio* Hamilton 1822 to sublethal stress by sodium hypochlorite: ecotoxicological assay using an image analysis biomonitoring system. Ecotoxicology, 16(5): 417—422

Fernandezcasalderrey A, Ferrando M D, Andreumoliner E, 1994. Effect of sublethal concentrations of pesticides on the feeding behavior of *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 27(1): 82—89

Ferrando M D, Janssen C R, Andreu E *et al*, 1993. Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* III. The effects of chemicals on the feeding-behavior. Ecotoxicology and Environmental Safety, 26(1): 1—9

Frost B W, 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. Limnology and Oceanography, 17(6): 805—815

Kersting K, van der Honing H, 1981. Effect of the herbicide dichlobenil on the feeding and filtering rate of *Daphnia magna*. Proceedings-International Association of Theoretical and Applied Limnology, 21(Pt 2): 1135—1140

McClain V, Stapleton H M, Tilton F *et al*, 2012. BDE 49 and developmental toxicity in zebrafish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 155(2): 253—258

Nakari T, Huhtala S, 2008. Comparison of toxicity of congener-153 of PCB, PBB, and PBDE to *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71(2): 514—518

Suatoni E, Vicario S, Rice S *et al*, 2006. An analysis of species boundaries and biogeographic patterns in a cryptic species

- complex: the rotifer—*Brachionus plicatilis*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 41(1): 86—98
- Talsness C E, 2008. Overview of toxicological aspects of polybrominated diphenyl ethers: a flame-retardant additive in several consumer products. Environmental Research, 108(2): 158—167
- Tanabe S, 2004. PBDEs, an emerging group of persistent pollutants. Marine Pollution Bulletin, 49(5—6): 369—370

ACUTE TOXIC EFFECT OF BDE-209 ON FEEDING BEHAVIOR OF ROTIFER *BRACHIONUS PLICATILIS*

CHEN Hong-Mei, TANG Xue-Xi, FANG Kuan, WANG You

(College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract Under controlled laboratory conditions, the acute toxic effect of high brominated Deca-BDE (BDE-209) on *Brachionus plicatilis* and the response of feeding behavior to the stress were studied. Experiment was designed at five concentrations of BDE-209 (2, 6, 10, 14, and 18mg/L) against a blank and a control groups in triplication. The results indicated that: (1) BDE-209 significantly inhibited the motile behavior of *B. plicatilis* and the 24 h-EC₅₀ was 9.084mg/L, but the half lethal effects were not observed; (2) When four species of marine microalgae bait: *Chlorella vulgaris*, *Platymonas helgolandica*, *Isochrysis galbana*, and *Cylindrotheca closterium* were fed as the single food source, the filtering rate (*F*) and the feeding rate (*G*) of *B. plicatilis* decreased obviously as the increase of BDE-209 concentrations and exposure time, exhibiting a dose-dependent manner, which indicated the feeding behavior of *B. plicatilis* was significantly inhibited by BDE-209; (3) when *C. vulgaris*, *P. helgolandica*, and *I. Galbana* were fed to *B. plicatilis* together as mixed food, the values of *F*, *G*, feeding selectivity ratio (*S_r*) and total biomass of *B. plicatilis* decreased obviously in the same manner, and the food selectivity index (*S_i*) changed simultaneously. *C. vulgaris* was the optimal food source for *B. plicatilis* with and without BDE-209 exposure. Moreover, the filtering rate was the most sensitive parameter to the stress and could be used as an indicator of zooplankton to the changes of ambient environment. We concluded that the stress of BDE-209 significantly changed the feeding and selecting behavior of *B. plicatilis*, and the optimal food source for it was *C. vulgaris*.

Key words BDE-209; *Brachionus plicatilis*; bait marine microalgae; acute toxicity; feeding activity; feeding selectivity