

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2014.0513

陈幕飞, 张耀光, 郑朝依, 等. 2014. CdSe/ZnS 量子点对稀有鮡鲫胚胎发育的影响及其氧化应激作用[J]. 环境科学学报, 34(7): 1884-1890

Chen M F, Zhang Y G, Zheng C Y, et al. 2014. Developmental toxicity and oxidative stress of CdSe/ZnS quantum dots to rare minnow (*Gobiocypris rarus*) embryos[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 34(7): 1884-1890

CdSe/ZnS 量子点对稀有鮡鲫胚胎发育的影响及其氧化应激作用

陈幕飞, 张耀光, 郑朝依, 辛苗苗, 金星星, 金丽*

西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室(西南大学), 重庆 400715

收稿日期: 2013-10-09 修回日期: 2013-11-08 录用日期: 2013-11-08

摘要:本研究以稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)为对象,研究了不同浓度 CdSe/ZnS 量子点(QDs)暴露下,稀有鮡鲫胚胎发育过程中自主运动频率、内心率和体长的变化,以及利用体内超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)作为毒性指标,反映 CdSe/ZnS QDs 暴露对稀有鮡鲫胚胎发育的氧化应激作用.结果显示: CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 72 hpf (hours post fertilization) 的半致死浓度(LC₅₀)为 319.629 nmol·L⁻¹, 96 hpf 的半致畸浓度(EC₅₀)为 203.312 nmol·L⁻¹. CdSe/ZnS QDs 暴露不仅影响稀有鮡鲫胚胎死亡率、畸形率、自主运动频率、孵化时间和孵化率,而且使其内心率减缓、体长缩短,导致胚胎卵凝结,心包囊肿,出现脊椎弯曲等多种毒性现象.同时发现, CdSe/ZnS QDs 暴露导致稀有鮡鲫体内 MDA 含量增加以及 SOD 活力的降低.这表明 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎发育具有致畸、致死作用,而氧化应激可能是引起其胚胎致畸、致死的重要机制之一.

关键词: CdSe/ZnS 量子点; 稀有鮡鲫; 胚胎; 发育毒性; 氧化应激作用

文章编号: 0253-2468(2014)07-1884-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Developmental toxicity and oxidative stress of CdSe/ZnS quantum dots to rare minnow (*Gobiocypris rarus*) embryos

CHEN Mufei, ZHANG Yaoguang, ZHENG Chaoyi, XIN Miaomiao, JIN Xingxing, JIN Li*

School of Life Science, Southwest University, Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development (Ministry of Education), Chongqing 400715

Received 9 October 2013; received in revised form 8 November 2013; accepted 8 November 2013

Abstract: The toxic effects and oxidative stress of CdSe/ZnS QDs on Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) at different developmental stages were investigated in this study. The results showed that the LC₅₀ for rare minnow embryos exposed to CdSe/ZnS QDs after 72 hpf was 319.629 nmol·L⁻¹ and the EC₅₀ after 96hpf was 203.312 nmol·L⁻¹. Embryos exposed to CdSe/ZnS QDs showed a significant increase in mortality and malformation rate, while demonstrated significant reduction in hatching rate and delay in hatching time of fry. The spontaneous movement frequency was accelerated, while the heart rate and body length decreased. Thus the exposure to CdSe/ZnS QDs resulted in many toxic effects to the embryos, such as the condensation of embryonic eggs, the formation of pericardial cysts, and curvature of the spine bending. In addition, it was found that the MDA contents in the embryos in CdSe/ZnS QDs groups significantly increased, whereas the SOD activities of the embryos in the mid-high concentration exposure groups significantly decreased. The results suggested that CdSe/ZnS QDs had teratogenic and lethal effects to rare minnow embryos. The oxidative stress was likely to be one of the key mechanisms of their embryonic toxicity.

Keywords: CdSe/ZnS quantum dots; rare minnow (*Gobiocypris rarus*); embryo; developmental toxicity; oxidative stress effect

1 引言(Introduction)

量子点(quantum dots, QDs)是一种半导体纳米晶体,通常由 II~VI 或 III~V 族元素组成,主要以

CdSe 或 CdTe 为核心、ZnS 或 ZnSe 为表面薄层,粒径一般介于 1~10 nm 之间,受激后可以发射荧光(Alivisatos, 1996),具有优良、独特的荧光性和光化学稳定性,广泛应用于生物医学(Tanke et al.,

基金项目: 重庆市自然科学基金(No.cstc2012jjA20005)

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing City (No.cstc2012jjA20005)

作者简介: 陈幕飞(1987—),男,E-mail: cmf138@swu.edu.cn; *通讯作者(责任作者),E-mail: jinll@swu.edu.cn

Biography: CHEN Mufei (1987—), male, E-mail: cmf138@swu.edu.cn; *Corresponding author, E-mail: jinll@swu.edu.cn

2005; Lacoste *et al.*, 2000)、药物筛选 (Liao *et al.*, 2007; Liang *et al.*, 2006) 和环境检测 (Chen and Rosenzweig, 2002) 等研究领域. 随着量子点的应用日益广泛, 其生物安全性问题引起人们的关注. 这种人工合成的纳米晶体可通过直接排放、废弃物排放、常规使用等多种途径进入水环境, 将不可避免地对整个生态系统造成一定的危害. 进入水环境的量子点又可通过食物链在鱼类等水生生物体内富集并最终进入人体, 对人体健康构成威胁 (Brant *et al.*, 2005), 因此, 研究量子点对水生生物的毒性效应非常必要. 然而, 以往关于量子点的研究大多集中在利用鼠类为活体研究对象来探讨量子点的毒性机制 (King-Heiden *et al.*, 2009; Ballou *et al.*, 2004). 量子点对鱼类的毒理学研究资料较少 (King-Heiden *et al.*, 2009), 黄凯等 (2011) 研究发现, 以巯基乙酸修饰的 CdTe 量子点可抑制斑马鱼胚胎的发育, 并引起斑马鱼胚胎发生多种中毒症状, 但未涉及到氧化应激方面的研究.

稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus*) 为我国特有的一种小型鱼类, 在实验室条件下能够周年繁殖, 且对很多药物极具敏感性, 是很好的指示生物. 鉴于目前关于量子点对稀有鮡鲫的毒理学研究方面还未见报道, 本文以稀有鮡鲫为实验对象, 研究了 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎发育的影响, 旨在揭示 QDs 对稀有鮡鲫早期发育阶段的毒性效应, 为鱼类的毒理学研究提供参考, 也为量子点对生物的安全性评估提供基础资料.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 实验用量子点

本实验所用量子点为水溶性聚乙二醇 (PEG) 修饰的非靶向 CdSe/ZnS 量子点, 浓度为 $8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 粒径为 8~12 nm, 单分散性一致, 颗粒之间独立性好, 荧光最大发射波长为 613 nm, 购于武汉伽源量子点技术开发有限公司.

2.2 实验亲鱼饲养及受精卵获取

实验亲鱼为本实验室长期饲养的稀有鮡鲫, 从养殖群体中挑选出体质健壮、性成熟的健康成鱼作为亲鱼 (体重: $(0.53 \pm 0.15) \text{ g}$, 体长: $(3.66 \pm 0.37) \text{ cm}$), 饲养于实验室循环养殖系统中, 水中溶氧浓度大于 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 每日定时投喂人工配合饵料 2 次, 外加丰年虫 1 次. 雌雄亲鱼以 1:1 性比配对养殖, 控制昼夜节律, 通过人工授精获取受精卵.

2.3 实验设计

根据预实验的结果, 设置 1 个空白对照组 (即浓度为 $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、1 个 Cd^{2+} 对照组 (所用镉浓度等于 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ QDs 含镉量, 即 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 5 个 CdSe/ZnS QDs 浓度组: 分别为 50、100、200、300 和 $400 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 各组均设 3 个平行. 为了减少实验误差以及避免受精过程的不确定性, 在囊胚期时用显微镜挑选出发育正常的稀有鮡鲫胚胎, 并从囊胚期 (约受精 4.5 h) 开始染毒. 用 24 孔细胞培养板作为染毒试验容器, 每孔为 1 个浓度组, 放入 20 枚胚胎. 每孔分别加受试液 1 mL, 后将 24 孔培养板置于精密恒温水浴锅中, 水温控制在 $(25.0 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$. 实验期间, 及时剔除死亡个体, 每间隔 12 h 换 1/2 同等浓度的溶液, 光照周期为 12 h:12 h (L:D).

2.4 显微观察

参照斑马鱼可观察毒理学终点和不同类型指标 (朱琳和史淑洁, 2002) 及稀有鮡鲫胚胎的发育过程 (常剑波等, 1995), 每间隔 6 h 记录各浓度组胚胎的死亡、畸形、孵化情况. 胚胎发育至 36 hpf 时, 表现出胚体的自主运动, 每个浓度组随机选 6 枚胚胎记录 30 s 胚体自主运动次数; 发育至 60 hpf 时可观察到明显的心跳, 每浓度组随机选 6 枚胚胎, 记录 10 s 胚胎内心率. LEICA Mz16FA 荧光体视显微镜和 Nikon SMZ1000 体视显微镜观察并照相. 用 Image-pro plus 6.0 图像软件分析 96 hpf 时的仔鱼体长.

2.5 抗氧化物分析

在稀有鮡鲫发育至 96 hpf 时, 用 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 的 PBS 缓冲液清洗受试后存活的稀有鮡鲫初孵仔鱼, 除去药物, 加入预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 冰浴中匀浆, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清液并按照试剂盒说明书 (南京建成生物工程研究所) 测定样品总蛋白浓度、超氧化物歧化酶 (SOD) 活力和丙二醛 (MDA) 的含量.

2.6 统计分析

用 SPSS 17.0 进行数据统计和分析, 结果以平均值 \pm 标准误 (Mean \pm SE) 表示, 实验组与空白对照组之间的差异采用 *t* 检验进行比较, $p < 0.05$ 表示有显著性差异, $p < 0.01$ 表示有极显著性差异.

3 结果 (Results)

3.1 稀有鮡鲫胚胎的半致死浓度 (LC₅₀) 和半致畸效应浓度 (EC₅₀)

各组胚胎的死亡率和畸形率见表 1. Cd^{2+} 对照组

的胚胎发育至 36 hpf 时已全部死亡.与空白对照组相比,100、200、300 和 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 QDs 染毒组 72 hpf 时的死亡率和 96 hpf 时畸形率均极显著的升高($p<0.01$).采用概率单位法,得出稀有鮡鲫

胚胎 72 hpf 的 LC_{50} 为 $319.629 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,其 95% 置信区间为: $256.954 \sim 433.842 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$; 96 hpf 的 EC_{50} 为 $203.312 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,其 95% 置信区间为: $159.947 \sim 262.327 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

表 1 不同浓度 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎死亡率和畸形率的影响

Table 1 Mortalities and malformation rates during embryonic development of rare minnow under CdSe/ZnS QDs exposure

组别	CdSe/ZnS QDs 浓度/ $(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$						Cd ²⁺ 对照组
	0	50	100	200	300	400	
死亡率	1.67%±1.67%	8.33%±1.67%	21.67%±4.41% **	38.33%±1.67% **	53.33%±4.41% **	58.33%±4.41% **	100% **
畸形率	1.67%±1.67%	7.84%±1.96%	35.42%±2.08% **	50.00%±4.81% **	76.67%±3.33% **	88.89%±6.42% **	100% **

注: ** 表示与空白对照组相比存在极显著差异($p<0.01$).

3.2 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 36 hpf 30 s 自主运动的影响

Cd²⁺对照组的胚胎发育至 36 hpf 时已全部死亡,故无法统计.50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组胚胎在 36 hpf 30s 的自主运动频率虽高于空白对照组(图 1),但无显著性差异($p > 0.05$).而其他染毒组随 CdSe/ZnS QDs 浓度的增加,胚胎自主运动频率呈现降低的趋势.200 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组自主运动频率显著性低于空白对照组($p<0.05$),300 和 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组胚胎的自主运动频率较空白对照组极显著的降低($p<0.01$).

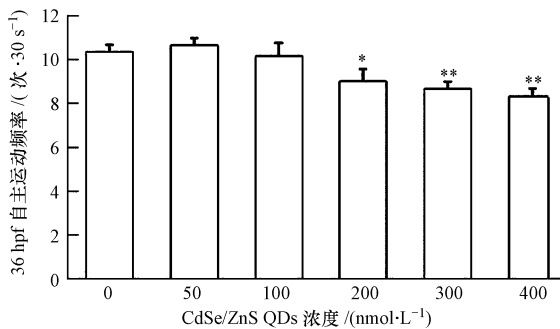


图 1 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 36 hpf 自主运动的影响 (注: * 表示与空白对照组有显著性差异($p<0.05$), ** 表示与空白对照组相比存在极显著差异($p<0.01$))

Fig.1 Effects of CdSe/ZnS QDs on spontaneous movement frequency of rare minnow embryos at 36 hpf

3.3 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 60 hpf 10 s 内心率的影响

50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组胚胎内心率与空白对照组相比无显著差异,其他各 QDs 浓度组均极显著地减缓了稀有鮡鲫胚胎的内心率($p<0.01$)(图 2).此外,随着暴露时间延长,400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组胚胎显微镜下可观察到心律不齐的症状.

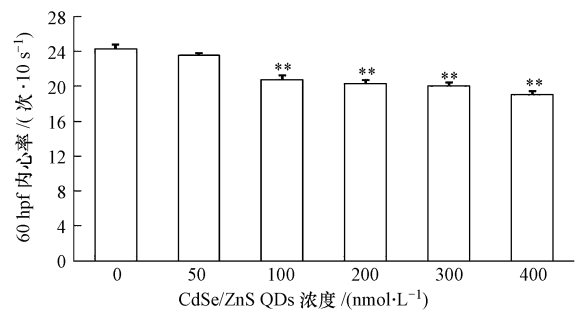


图 2 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 60 hpf 10 s 内心率的影响 (注: ** 表示与空白对照组相比存在极显著差异($p<0.01$))

Fig.2 Effects of CdSe/ZnS QDs on heart rate in 10 s of rare minnow embryos at 60 hpf

3.4 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎孵化率的影响

空白对照组的胚胎 72 hpf 开始孵化出膜,随后孵化率迅速上升,84 hpf 时孵化率基本达到最大值(图 3).50、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的稀有鮡鲫胚胎最早孵化时间却提前在 66 hpf,尤其是 50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的孵化率已达到 40%,与空白对照组相比提前

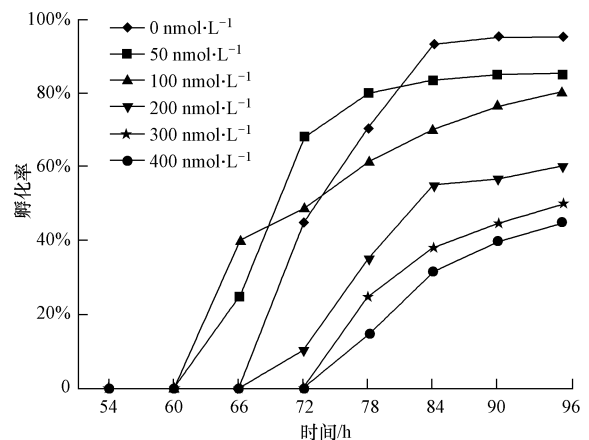


图 3 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎 96 hpf 孵化率的影响

Fig.3 Effects of CdSe/ZnS QDs on hatching success of rare minnow embryos at 96 h

了 6 h, 而 300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组胚胎的最早孵出时间在 78 hpf, 较空白对照组延迟了 6 h, 且孵化率明显降低. 说明 CdSe/ZnS QDs 的暴露在较低浓度 (50、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下促使稀有鮕鲫胚胎提前孵化, 高浓度 (300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 则延迟其出膜的时间.

3.5 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫 96 hpf 体长的影响

CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫胚胎的影响还体现在仔鱼体长 (图 4) 上. 在 QDs 暴露至 96 hpf 时, 随实验组浓度的增加, 除 50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的仔鱼体长与空白对照组无显著性差异外, 其他 QDs 浓度组的仔鱼体长较空白对照组均极显著性的降低 ($p < 0.01$).

3.6 稀有鮕鲫胚胎的形态观察

CdSe/ZnS QDs 暴露对稀有鮕鲫胚胎发育有不同程度的影响, QDs 导致胚胎和孵出仔鱼产生多种毒性效应 (图 5e~n). 从毒物暴露开始到 12 hpf, Cd^{2+} 对照组的胚胎已出现明显的中毒症状, 呈现出卵凝集现象. QDs 浓度组中可见 QDs 已通过卵膜进入胚胎内 (图 5a, b); 空白对照组和 50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组胚胎发育无明显异常, 但其它 QDs 浓度

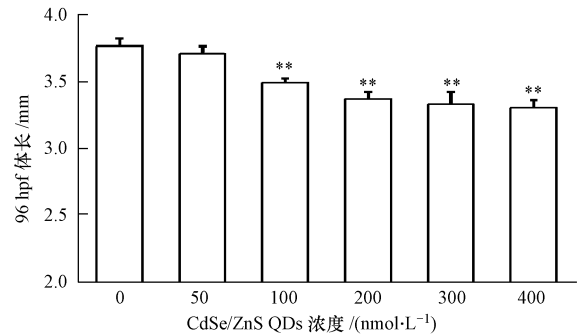


图 4 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫 96 hpf 仔鱼体长的影响 (注: ** 表示与空白对照组相比存在极显著差异 ($p < 0.01$))

Fig.4 Effect of CdSe/ZnS QDs on body length of rare minnow larva at 96hpf

组胚胎开始出现中毒症状, 其中部分胚胎出现卵黄浑浊或自溶现象. 36 hpf, QDs 浓度组部分胚胎出现胚体肿大, Cd^{2+} 对照组的胚胎此时时已全部死亡. 60 hpf, 300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组胚胎发育明显较空白对照组缓慢. 暴露至 72 hpf 时 QDs 主要集中在孵出仔鱼的头部及心脏周围 (图 5c, d). 胚胎发育至

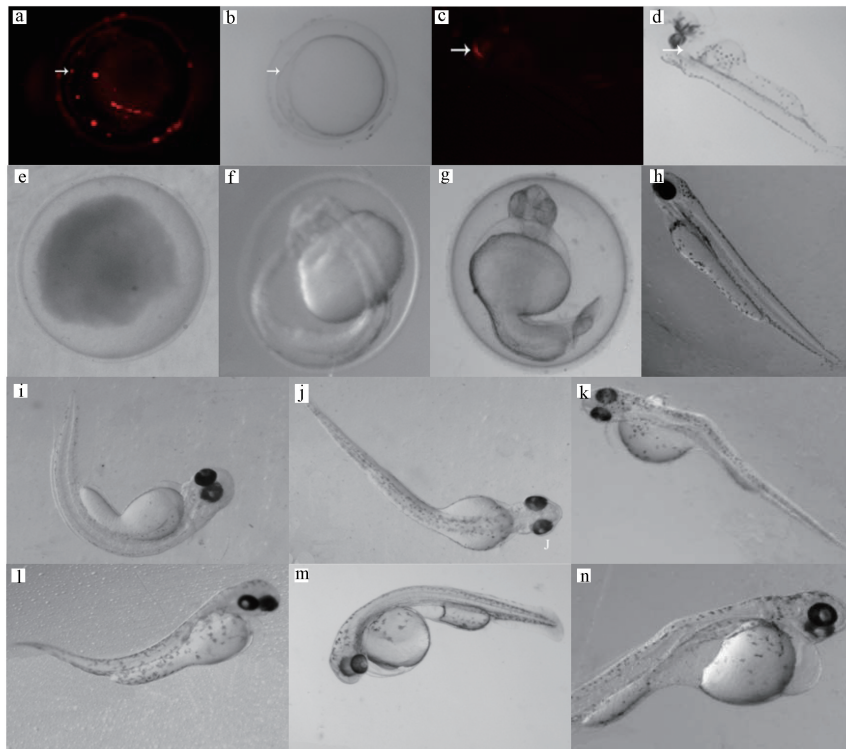


图 5 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫胚胎/仔鱼的致死及致畸效应 (a, b: 暴露至 12hpf QDs 已进入胚胎内 (箭头示同一位置); c, d: 暴露至 72 hpf 时 QDs 在孵出仔鱼体内的分布 (箭头示同一位置); e: 卵凝集; f: 36 hpf 正常胚胎; g: 胚体畸形; h: 96 hpf 正常仔鱼; i, j: 脊柱弯曲; k: 卵黄囊肿及脊柱波浪形弯曲; l: 尾部弯曲; m: 卵黄囊肿及体长缩短; n: 心包水肿及卵黄囊肿)

Fig.5 Effects of exposure to CdSe/ZnS QDs in developing rare minnow embryos/larva

78 hpf 时,200、300 和 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组孵出仔鱼体长普遍较空白对照组短,且出现不同程度上的畸形,主要表现为心包、卵黄囊水肿、脊柱弯曲、尾部弯曲等现象。96 hpf,实验组未出膜的胚胎大多数在膜内死亡,已孵出的仔鱼行动能力较弱,体长明显缩短,畸形加重,有些胚胎还出现多种畸形并存现象。随 QDs 暴露时间的增加,胚胎畸形率和死亡率也升高。

3.7 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫氧化应激的影响

对 96 hpf 稀有鮕鲫初孵仔鱼的抗氧化酶测定显示,50 和 100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组 SOD 活力较空白对照组有一定程度的升高(图 6),但无显著性差异($p > 0.05$)。从 200 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组开始,SOD 活力明显下降,300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ QDs 浓度组仔鱼的 SOD 活力较空白对照组极显著降低($p < 0.01$)。稀有鮕鲫仔鱼的 MDA 含量随 QDs 浓度升高而升高,50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组与空白对照组无明显差异($p > 0.05$),100、200 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组 MDA 含量均显著高于空白对照组($p < 0.05$),300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 较空白对照组极显著的升高($p < 0.01$)。

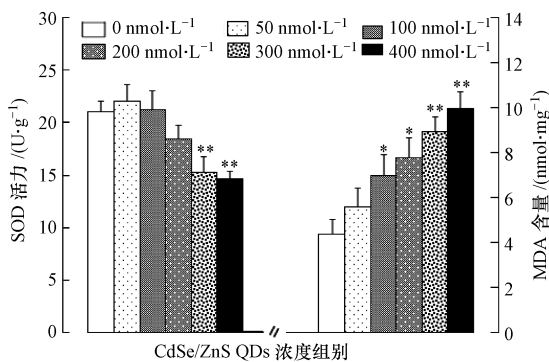


图 6 CdSe/ZnS QDs 对 96 hpf 稀有鮕鲫仔鱼 SOD 活性和 MDA 含量的影响(注: * 表示与空白对照组有显著性差异($p < 0.05$), ** 表示与空白对照组相比存在极显著差异($p < 0.01$))

Fig.6 Effects of CdSe/ZnS QDs on SOD activities and MDA contents of rare minnow larva

4 讨论(Discussion)

4.1 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮕鲫胚胎发育的影响

有研究表明,毒物会导致胚胎发育阻滞和神经管缺损,使其体长缩短和尾部畸变,从而影响早期器官的形成(Oberemm, 2000).化学物质诱导胚胎自主运动频率、心率、孵化时间和孵化率的变化也可作为胚胎发育缺陷的表现(Milan *et al.*, 2003; 朱琳和史淑洁, 2002). Yamagami (1981) 指出,胚胎畸

形和死亡主要是影响胚胎孵化酶、渗透功能和生物物理学等因素所致.胚胎的孵化是由于孵化酶(包括低绒毛膜酶和高绒毛膜酶)作用,加上胚体的扭动,使卵膜破裂而完成,并且孵化酶的水平会影响到鱼类胚胎的孵化率(De *et al.*, 2009; 谢广云等, 2013). 本研究显示,50 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的自主运动频率较空白对照组有一定程度上的升高,然而其他染毒组胚胎随 QDs 浓度增加,自主运动频率明显低于空白对照组;空白对照组胚胎最早出膜时间是 72 hpf, 50、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组比空白对照组提前了 6 h, 而 300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组却比空白对照组延迟了 6 h.说明较低浓度 QDs 促使稀有鮕鲫胚胎提前孵化,高浓度(300、400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 却延迟其出膜时间.这说明低剂量的 QDs 暴露对稀有鮕鲫胚胎产生了兴奋效应,使胚胎自主运动频率升高,提前出膜.各 QDs 浓度组胚胎的 96 hpf 的孵化率(存活率)均低于空白对照组,这说明低剂量的 QDs 已经对孵化酶产生了影响,降低了胚胎的孵化酶水平,且浓度越大影响越大.此外,各 QDs 浓度组中胚胎的心率较空白对照组显著降低,400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组还出现心律不齐的症状,表明 CdSe/ZnS QDs 暴露可能影响了稀有鮕鲫心脏的正常发育。

QDs 的毒性主要与其粒径的大小和核心 Cd^{2+} 的释放有关,对鱼类的胚胎发育有着明显的毒理学剂量效应,并可导致胚胎产生各种畸形现象(Lovric *et al.*, 2005; Kirchner *et al.*, 2005; Derfus *et al.*, 2004; King-Heiden *et al.*, 2009). 本研究发现, CdSe/ZnS QDs 暴露至 12 hpf 时,可观察到 QDs 已进入稀有鮕鲫胚胎内,从而导致胚胎自主运动频率改变、内心率减缓,体长缩短,以及心包、卵黄囊水肿、脊椎弯曲等多种毒性效应,尤其是畸形率和死亡率显著升高.本课题组亦研究了 Cd^{2+} 暴露对稀有鮕鲫胚胎的发育毒性,发现 Cd^{2+} 对稀有鮕鲫胚胎有着明显的毒性效应,可导致初孵仔鱼体长缩短,心率减缓,其 72 hpf LC_{50} 为 $0.387 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,远低于本实验 Cd^{2+} 对照组的浓度($2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).姜礼燾和曹萃禾(1984)指出染毒后的鱼体畸形是由于表皮细胞受到压迫而导致肌纤维排列不整齐所致;也有学者发现镉在一定程度上抑制了钙进入鱼体,导致鱼体发育阻滞.本研究中稀有鮕鲫的畸形主要表现为体长缩短和心包、卵黄囊水肿以及脊柱弯曲等现象,可能是由于部分 CdSe/ZnS QDs 降解,释放的 Cd^{2+} 抑制了钙进入鱼体,从而导致胚体畸形。

QDs 的毒性可能源于两方面的原因: 由于 CdSe/ZnS QDs 粒径小(8~12 nm), 较易通过卵膜渗透进入胚胎, 影响了孵化酶、渗透功能和生物物理学等一方面或多方面的正常功能, 从而导致胚胎畸形或死亡; 并可能部分降解释放出 Cd^{2+} , 释放出的 Cd^{2+} 对胚体造成了一定程度的伤害。

4.2 CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫的氧化应激作用

无论是机体细胞还是胚胎细胞, 在生命代谢过程都会产生活性氧(ROS)。生物体在长期进化过程中, 自身已形成了防御过氧化损害的系统, 在胚胎早期发育过程中, 以 SOD 为代表的酶性抗氧化系统就开始逐步建立, 以维持胚胎组织细胞中的正常活性氧浓度, 确保胚胎正常发育 (Mohamed *et al.*, 2004; 黄勇和廖彪, 2008)。毒物在体内导致氧化还原反应时, 机体会产生大量 ROS, 而 SOD 在 ROS 的转化中扮演着重要的角色。MDA 是目前最能反映机体氧化损伤程度的指标之一, MDA 含量的变化可反映出机体内脂质过氧化程度, 间接反映出细胞损伤程度。田文静等(2010)研究发现纳米 ZnO 引起斑马鱼胚胎 SOD 活性降低和 MDA 含量增加。本研究显示, 稀有鮡鲫体内 MDA 含量与 QDs 浓度呈正相关, 随 QDs 浓度的增加, MDA 含量也显著增加; 300 和 400 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ QDs 暴露显著降低了稀有鮡鲫胚胎 SOD 活性。这说明 CdSe/ZnS QDs 暴露导致了稀有鮡鲫机体 O_2^- 增多, 体内脂质过氧化反应加强, 致使 SOD 大量消耗, 机体受到损伤, 引起了生理机能的改变。

5 结论(Conclusions)

1) CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎发育有显著的影响, 72 hpf LC_{50} 为 319.629 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 96 hpf EC_{50} 为 203.312 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。CdSe/ZnS QDs 引起了稀有鮡鲫胚胎的自主运动频率改变、内心率减缓、体长缩短以及心包、卵黄囊水肿、脊柱弯曲和尾部弯曲等毒性效应, 改变胚胎孵化出膜的时间, 并导致胚胎孵化率降低。

2) CdSe/ZnS QDs 可使稀有鮡鲫胚胎脂质过氧化产物 MDA 含量增加, 最终导致机体抗氧化系统失衡进而遭受严重的氧化损伤。

3) CdSe/ZnS QDs 对稀有鮡鲫胚胎发育具有致畸、致死作用, 而氧化应激可能是其引起胚胎致畸、致死的重要机制之一。

责任作者简介: 金丽(1977—), 女, 博士, 西南大学生命科学学院副教授, 硕士生导师, 主要从事动物形态与发育研究。E-mail: jinll@swu.edu.cn.

参考文献(References):

- Alivisatos A P. 1996. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots[J]. *Science*, 271(5251): 933-937
- Ballou B, Lagerholm B C, Ernst L A, *et al.* 2004. Noninvasive imaging of quantum dots in mice[J]. *Bioconjugate Chem*, 15(1): 79-86
- Bedaiwy M A, Falcone T, Mohamed M S, *et al.* 2004. Differential growth of human embryos in vitro: Role of reactive oxygen species [J]. *Fertility and Sterility*, 82(3): 593-600
- Brant J, Lecoanet H, Wiesner M R. 2005. Aggregation and deposition characteristics of fullerene nanoparticles in aqueous systems [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 7(4/5): 545-553
- 常剑波, 王剑伟, 曹文宣. 1995. 稀有鮡鲫胚胎发育研究 [J]. *水生生物学报*, 19(2): 97-103
- Chen Y F, Rosenzweig Z. 2002. Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes[J]. *Analytical Chemistry*, 74(19): 5132-5138
- De Gaspar I, Blanquez M J, Fraile B, *et al.* 1999. The hatching gland cells of trout embryos: characterisation of N- and O-linked oligosaccharides[J]. *Journal of Anatomy*, 194(1): 109-118
- Derfus A M, Chan W C W, Bhatia S N. 2004. Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots[J]. *Nano Letters*, 4(1): 11-18
- 黄凯, 林匡飞, 张卫, 等. 2011. 水溶性 CdTe 量子点对斑马鱼胚胎发育的影响[J]. *环境科学学报*, 31(4): 854-859
- 黄勇, 廖彪. 2008. 超氧化物歧化酶在斑马鱼早期胚胎中的表达特点 [J]. *陕西理工学院学报(自然科学版)*, 24(3): 91-94
- 姜礼燾, 曹萃禾. 1984. 热污染对草鱼、鮡鱼胚胎发育的影响[J]. *中国环境科学*, 4(6): 40-45
- King-Heiden T C, Wicinski P N, Mangham A N, *et al.* 2009. Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo [J]. *Environmental Science & Technology*, 43(5): 1605-1611
- Kirchner C, Liedl T, Kudera S, *et al.* 2005. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles [J]. *Nano Letters*, 5(2): 331-338
- Lacoste T D, Michalet X, Pinaud F, *et al.* 2000. Ultrahigh-resolution multicolor colocalization of single fluorescent probes[J]. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*, 97(17): 9461-9466
- Liang J G, Huang S, Zeng D Y, *et al.* 2006. CdSe quantum dots as luminescent probes for spironolactone determination[J]. *Talanta*, 69(1): 126-130
- Liao Q G, Li Y F, Huang C Z. 2007. A light scattering and fluorescence emission coupled ratiometry using the interaction of functional CdS quantum dots with aminoglycoside antibiotics as a model system[J].

- Talanta, 71(2): 567-572
- Lovric J, Bazzi H S, Cuie Y, *et al.* 2005. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 83(5): 377-385
- Milan D J, Peterson T A, Ruskin J N, *et al.* 2003. Drugs that induce repolarization abnormalities cause bradycardia in zebrafish [J]. *Circulation*, 107(10): 1355-1358
- Oberemm A. 2000. The use of a refined zebrafish embryo bioassay for the assessment of aquatic toxicity [J]. *Laboratory Animals*, 29(7): 32-40
- Tanke H J, Dirks R W, Raap T. 2005. Fish and immunocytochemistry: towards visualising single target molecules in living cells[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(1): 49-54
- 田文静, 白伟, 赵春禄, 等. 2010. 纳米 ZnO 对斑马鱼胚胎抗氧化酶系统的影响[J]. *中国环境科学*, 30(5): 705-709
- 谢广云, 杜庆成, 郑敏, 等. 2013. 碲化镉量子点对小鼠肝脏的氧化损伤作用研究[J]. *卫生研究*, 42(1): 39-43
- Yamagami K. 1981. Mechanisms of hatching in fish: secretion of hatching enzyme and enzymatic choriolysis[J]. *American Zoologist*, 21(2): 459-471
- 朱琳, 史淑洁. 2002. 斑马鱼胚胎发育技术在毒性评价中的应用[J]. *应用生态学报*, 13(2): 252-254