

邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对黑腹果蝇生长发育及繁殖的影响

李 洁, 王建福, 马玲玲, 邱国斌, 刘 珽
(甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 研究了邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对模式生物黑腹果蝇生长发育及繁殖的影响。结果表明, 邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对黑腹果蝇的生长发育有明显抑制和致畸作用, 随着其质量浓度升高, 黑腹果蝇的蛹化数率和羽化数呈先增加后降低趋势, 繁殖性能随着邻苯二甲酸二甲酯(DMP)质量浓度的升高表现出先升高后降低的趋势。

关键词: 黑腹果蝇; 邻苯二甲酸二甲酯; 蛹化; 羽化; 产卵时间

中图分类号: R994.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)03-0029-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.008)

Effect of Dimethyl Phthalate on the Growth Development and Reproduction Traits of *Drosophila melanogaster*

LI Jie, WANG Jianfu, MA Lingling, QIU Guobin, LIU Ting
(College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The effects of dimethyl phthalate (DMP) on the growth, development and reproduction of *Drosophila melanogaster* as model organism were studied. The results show that DMP had significant inhibitory and teratogenic effect on growth and development of *Drosophila melanogaster*. With the increase of DMP concentration, the pupation and eclosion rate of *Drosophila melanogaster* trended to be decreased, while the time of pupation and the eclosion trended to be increased. With the increase of concentration of DMP the reproduction traits showed a tendency to increase first and then decrease.

Key words: *Drosophila melanogaster*; Dimethyl phthalate; Pupation; Eclosion; Oviposition period

邻苯二甲酸二甲酯(DMP)等邻苯二甲酸酯类(PAEs)是塑料工业使用最广泛、品类最多、产量最大的增塑剂, 在塑料、建筑材料、服装、化妆品、医药品、食品包装材料乃至儿童玩具中均有使用^[1]。DMP与多种树脂都有很强的溶解力, 可与多种纤维素树脂、橡胶、乙烯基树脂相溶, 有良好的成膜性、粘着性和防水性^[2]。同时, DMP

还可用作驱蚊油(原油)、聚氟乙烯涂料、过氧化甲乙酮等的溶剂。伴随塑料制品的生产、使用和废弃, DMP可不断地释放出来, 进入环境和生物体, 造成潜在的危害。美国国家环境保护局列出6种PAEs类化合物作为重点污染物, DMP位列之首, DMP等邻苯二甲酸酯类也被列为中国环境水中优先控制污染物黑名单^[3]。刘慧杰等^[4]、胡晓

收稿日期: 2017-11-24

基金项目: 甘肃农业大学盛彤笙基金项目(项目编号GSAU-STS-1728)。

作者简介: 李 洁(1982—), 女, 河南商丘人, 实验师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究工作。联系电话: (0931)7631225。E-mail: lijie@gsau.edu.cn。

通信作者: 王建福(1982—), 男, 河南商丘人, 讲师, 主要从事水产养殖研究工作。联系电话: (0931)7631225。E-mail: wangjf@gsau.edu.cn。

744-746.

[6] 陈俊任, 柳 丹, 吴家森, 等. 重金属胁迫对毛竹种子萌发及其富集效应的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(22): 6501-6509.

[7] 陈新红, 叶玉秀, 庞闰瑾. Cd、铅及其互作对黄瓜种子发芽及幼根生长的影响[J]. 北方园艺, 2009(5):

13-16.

[8] DU T Q, YANG J Z, HE J P, CUI F Z. The pollution monitoring index system of wheat at different growth stages under the stress of Cd, Cr and Pb[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(7): 1845-1852.

(本文责编: 陈 珺)

宇等^[5]研究表明, PAEs 具有内分泌干扰效应, 对生物生长发育具有一定毒性。周科等^[6]研究发现, DMP 对鲤鱼肝细胞造成了一定的损伤, 肝脏合成酶也随之受到影响。但 DMP 对果蝇生殖功能和遗传突变的报道较少。果蝇是真核多细胞生物, 也是一种经典模式生物, 作为试验动物, 具有饲养容易、生存周期短、繁殖能力强和反应灵敏等特点, 其代谢系统、生理功能和生长发育同哺乳动物有许多相似之处。在 25 ℃ 左右 10 d 即可繁殖 1 代, 1 只雌性果蝇 1 次能繁殖近百只, 可在较短时间得出结论。我们从果蝇蛹化率、羽化率、产卵时间、蛹化时间、羽化时间和果蝇繁殖数量 6 个方面探讨了 DMP 对果蝇生长发育和繁殖的影响, 以期对评估塑料污染和含 PAEs 材料制品对人类健康的影响提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试动物

试验指示动物为甘肃农业大学动物科学技术学院遗传实验室提供的黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)。

1.2 试验材料及设备

1.2.1 材料 玉米粉、白砂糖、琼脂(天津市致远化学试剂有限公司)、酵母浸粉(北京奥博星生物技术有限责任公司)、丙酸(天津市凯信化工有限公司)、邻苯二甲酸二甲酯(分析纯, 天津市光复精细化工研究所)、蔗糖脂肪酸酯(乳化剂, 食品级, 柳州爱格富食品科技股份有限公司)、乙醚。

1.2.2 设备 RXZ 型智能人工气候箱(宁波市仪器厂制造)、XH-B 型漩涡混匀器(姜堰市康健医疗器械有限公司)、YXQ-LS-SH 全自动立式电热压力蒸汽灭菌器(上海博讯试业有限公司医疗设备厂)、电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)、移液器(TopPette)、万用电炉(北京永兴仪器有限公司)、体视显微镜(Motic, 厦门麦克奥迪实业集团有限公司)、培养瓶(30 mL)、烧杯(50、100、1 000 mL)、麻醉瓶、拨针、玻璃棒、记号笔。

1.3 实验方法

试验于 2016 年 6—12 月在甘肃农业大学动物科学技术学院动物遗传育种与繁殖实验室完成。

基本培养基配制: 将玉米粉 56 g、白砂糖 44 g、琼脂粉 5 g 溶解于 150 mL 蒸馏水并搅拌均匀, 然后用电炉边加热边搅拌至煮沸呈粘稠状, 冷却 5 min 后加入酵母粉 5 g、丙酸 3 mL, 边搅拌边装

瓶, 每瓶培养基厚度为 0.5 ~ 1.0 cm。1 份基本培养基分装 12 ~ 15 瓶。

染毒培养基配制: 用移液器量取 0、0.1、0.5、2.5、7.5 mL DMP 标准液, 分别添加到 100 mL 乳化剂(含 2%蔗糖脂肪酸酯)中稀释, 并用漩涡混匀器充分混匀, 配成质量分数为 0、0.1%、0.5%、2.5%、7.5%的 DMP 应用液。将不同质量分数的 DMP 应用液加入基本培养基并搅拌均匀, 装入培养瓶中, 每瓶培养基厚度为 0.5 ~ 1.0 cm, 制成 DMP 质量分数分别为 0、0.1%、0.5%、2.5%、7.5%的染毒培养基。以基本培养基作为对照组, 每组均设 5 个重复。

1.4 测定方法

1.4.1 蛹化和羽化测定 将未交配的雌雄黑腹果蝇放入基本培养基中使其交配产卵 12 h, 然后将成虫倒出。把含有卵的培养基放入智能人工气候箱中培养, 培养温度为 25 ℃, 在 12 h 内收集一龄幼虫并放到含有不同浓度组的 DMP 染毒培养基中饲喂, 每个培养瓶中放一龄幼虫 20 只。从放入一龄幼虫到培养基中出现蛹化时计时, 每 2 h 观察记录蛹化时间及蛹化数。蛹化全部完成后每 2 h 观察并记录羽化时间, 记录新产生的羽化数, 直至成蝇不再出现。

$$\text{蛹化率} = (\text{蛹化总数} / \text{一龄幼虫总数}) \times 100\%$$

$$\text{羽化率} = (\text{羽化总数} / \text{一龄幼虫总数}) \times 100\%$$

1.4.2 产卵时间测定 取未交配的黑腹果蝇 50 只, 雌雄各半。用乙醚浅度麻醉后随机配对 25 组, 分别放入 DMP 质量分数分别为 0、0.1%、0.5%、2.5%、7.5%的培养基中饲喂, 每个质量分数梯度设置 5 组平行培养基, 每瓶有 1 雌 1 雄共 2 只果蝇, 观察其生长情况。从放入未交配的果蝇开始计时, 每 2 h 观察记录 1 次, 瓶壁上出现约 0.5 mm 的椭圆形白色小点则表明开始产卵, 从计时到开始产卵的时间段为产卵时间。每对果蝇培养 7 d 后, 转移至含相同培养基的果蝇瓶(新瓶)中培养, 依照以上步骤培养 3 次。

1.4.3 繁殖量测定 随机挑选饲喂基本培养基上的未交配果蝇, 雌雄各半, 放到不同质量分数的 DMP 染毒培养基上饲喂, 每 1 质量分数梯度设置 5 瓶重复, 每瓶有 1 雌 1 雄共 2 只作为亲本。每对亲本果蝇培养 7 d 后, 转移至含相同质量分数培养基的培养瓶(新瓶)中培养, 移除亲本后的培养瓶(原瓶)继续培养。7 d 后移除亲本的培养瓶(原瓶)

中出现的 F_1 代果蝇, 连续 7 d 统计羽化数量, 计为其 1 期繁殖数量。转移至新培养瓶(新瓶)继续培养亲本, 在新瓶中培养 7 d 后做同上处理, 计为第 2 期繁殖数量。重复以上步骤, 统计第 3 期繁殖数量(以 7 d 记录为 1 个周期, 共研究 3 个周期即 21 d)。

2 结果与分析

2.1 DMP 对黑腹果蝇生长发育的影响

从表 1 可以看出, 随着 DMP 质量分数的增加, 黑腹果蝇的蛹化数呈先增加后降低的趋势, 但 2.5% 以下的 DMP 质量分数组差异并不显著 ($P > 0.05$), DMP 质量分数为 7.5% 组的蛹化数显著低于 0.1% 质量分数组 ($P < 0.05$)。随着 DMP 质量分数的增加, 黑腹果蝇的羽化数有逐渐下降的趋势, 但 2.5% 以下的 DMP 质量分数组差异并不显著 ($P > 0.05$), 7.5% 组的羽化数显著低于对照组和 0.1% 组 ($P < 0.05$)。

表 1 不同质量分数 DMP 对黑腹果蝇一龄幼虫蛹化和羽化的影响^①

质量分数 /%	蛹化数 /只	蛹化率 /%	羽化数 /只	羽化率 /%
0	18.60 ± 1.34 ab	93.00	18.00 ± 2.00 a	90.00
0.1	19.00 ± 1.22 a	95.00	17.40 ± 1.67 a	87.00
0.5	18.00 ± 1.58 ab	90.00	16.60 ± 1.14 ab	83.00
2.5	18.20 ± 1.10 ab	91.00	16.20 ± 2.59 ab	81.00
7.5	16.60 ± 1.95 b	83.00	14.20 ± 2.77 b	71.00

①同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 以下同。

2.2 DMP 对黑腹果蝇繁殖的影响

2.2.1 DMP 对黑腹果蝇产卵时间的影响 由表 2 可以看出, 3 期黑腹果蝇的平均产卵时间均在 DMP 质量分数为 7.5% 时最迟。第 1 期平均产卵时间在 0.1% 时最早, 与除 2.5% 组以外的其他各组差异显著 ($P < 0.05$), 对照组与 0.5%、2.5%、7.5% 组的产卵时间无显著差异 ($P > 0.05$); 第 2 期平均产卵时间在 DMP 质量分数 0.1% 时最早, 与除对照组

表 2 不同质量分数 DMP 处理黑腹果蝇的平均产卵时间 d

质量分数 /%	第 1 期 平均产卵时间	第 2 期 平均产卵时间	第 3 期 平均产卵时间
0	3.41 ± 0.49 ab	2.17 ± 0.21 c	3.22 ± 0.51 ab
0.1	2.78 ± 0.27 c	1.95 ± 0.41 c	3.73 ± 0.64 ab
0.5	3.69 ± 0.54 a	3.05 ± 0.52 b	3.37 ± 0.94 ab
2.5	2.89 ± 0.40 bc	3.41 ± 0.26 ab	2.99 ± 0.24 b
7.5	3.76 ± 0.44 a	3.86 ± 0.60 a	4.01 ± 0.22 a

以外的其他各组差异显著 ($P < 0.05$), 0.5% 组的产卵时间显著迟于 0.1% 组和对照组 ($P < 0.05$), 同时也显著早于 7.5% 组 ($P < 0.05$), 但与 2.5% 组差异不显著 ($P > 0.05$); 第 3 期平均产卵时间在 DMP 质量分数为 2.5% 时最早, 但其与除 7.5% 组之外的其他各组差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.2.2 DMP 对黑腹果蝇繁殖数的影响 从表 3 可以看出, 3 期黑腹果蝇的平均繁殖数均表现出随着 DMP 质量分数的增加而先增加后降低的趋势。第 1 期平均繁殖数在 DMP 质量分数为 0.5% 时最高, 显著高于除 0.1% 组以外的其他各组 ($P < 0.05$); 7.5% 组的平均繁殖数最低, 显著低于其他各组 ($P < 0.05$)。第 2 期平均繁殖数在 DMP 质量分数为 0.5% 时最高, 显著高于除 0.1% 组以外的其他各组 ($P < 0.05$); 7.5% 组的平均繁殖数最低, 显著低于其他各组 ($P < 0.05$)。第 3 期平均繁殖数在 DMP 质量分数为 0.5% 时最高, 显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。从图 1 可以看出, 第 2 期繁殖的个体与正常果蝇对比形态发生了变化, 有白体、残翅和瘦小等症状 (b、c 左为正常), 部分伴有畸形, 如腹部弯曲、细尖, 背部肿胀突起。据此推测 DMP 可能对果蝇的生长发育有致畸性的影响。

表 3 不同质量分数 DMP 处理的黑腹果蝇繁殖数 只

质量分数 /%	第 1 期 平均繁殖数	第 2 期 平均繁殖数	第 3 期 平均繁殖数
0	73.20 ± 6.38 b	106.80 ± 6.38 b	58.20 ± 4.92 c
0.1	79.00 ± 4.74 a	112.40 ± 3.91 ab	68.00 ± 2.24 b
0.5	84.20 ± 2.59 a	117.20 ± 5.26 a	75.80 ± 1.30 a
2.5	39.40 ± 1.95 c	73.60 ± 1.95 c	34.60 ± 1.82 d
7.5	29.40 ± 2.97 d	55.20 ± 2.39 d	24.80 ± 1.92 e

3 结论与讨论

邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 对黑腹果蝇的生长发育具有一定的抑制作用, 高质量分数的抑制作用更为明显。随着邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 质量分数的增加, 黑腹果蝇的繁殖性能表现出先升高后降低的趋势。高质量分数的 DMP 可能对黑腹果蝇具有一定的致畸作用, 但仍需进一步证实。

刘慧杰等^[4]、胡晓宇等^[5]的研究表明, 邻苯二甲酸酯类 (PAEs) 具有内分泌干扰效应, 对生物的生长发育具有一定的毒性。另外, 有研究表明, 邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 对细菌、藻类和马铃薯的生长均有明显的抑制作用, 随着质量分数的升



图 1 第 2 期黑腹果蝇繁殖个体比较

高其抑制作用随之增强^[7-10]。随着 DMP 质量分数的升高,马铃薯可溶性蛋白含量呈下降趋势,使马铃薯的生长受阻。邻苯二甲酸二甲酯(DMP)也可使细菌的形态发生变化,对菌体变长的影响与本文对果蝇形态的研究结论相似。

用不同质量分数邻苯二甲酸二甲酯(DMP)处理后的培养基饲喂的黑腹果蝇,其蛹化数和羽化数表现出降低的趋势,尤其在 7.5% 的高质量分数组下降明显,可见邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对黑腹果蝇的生长发育具有抑制效应,且高质量分数组的抑制效应更明显。高质量分数的邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对黑腹果蝇产卵时间有明显的延迟作用,而低质量分数组则影响较小。随着邻苯二甲酸二甲酯(DMP)质量分数的升高,本试验中黑腹果蝇繁殖数量先升高后降低,这与蔺琰东等^[10]马铃薯组培苗 SOD 活性呈升后降的变化趋势的结论一致。随着饲喂培养基邻苯二甲酸二甲酯(DMP)质量分数的升高,0.1%组和 0.5%组与对照组相比,黑腹果蝇的繁殖数量逐渐增多;2.5%组和 7.5%组与对照组相比黑腹果蝇的繁殖数逐渐减少,此结果与徐曼妮等^[11]利用邻苯二甲酸二丁酯处理果蝇的结果一致。可能是低质量分数的邻苯二甲酸二甲酯(DMP)有促进黑腹果蝇繁殖的效应,而高质量分数的邻苯二甲酸二甲酯(DMP)又会抑制这种效应,其具体的影响机制还有待进一步从生理生化指标变化以及分子水平上做深入研究。从 3 期培养黑腹果蝇的繁殖数量上来看,第 2 期繁殖数量最多,第 3 期繁殖数量则明显降低,可能与亲本果蝇的老年化有关。在试验观察过程中还发现,第 2 期和 3 期培养的黑腹果蝇还出现了白体、残翅和瘦小等异常症状的个体,部分个体还出现了腹部弯曲、细尖,背部肿胀突起等畸形,并且随着 DMP 质量分数的增加,异常个体和畸形个体出现了增多的趋势,推测高质量分数的

邻苯二甲酸二甲酯(DMP)可能对黑腹果蝇有一定的致畸作用,但仍需要做进一步的验证性研究。

参考文献:

- [1] 吴德生,秦逍云,谭琴,等.邻苯二甲酸酯类化合物的生殖毒性及其环境内分泌干扰效应[J].癌变·畸变·突变,2015,27(4):316-318.
- [2] 李曙光,黄昕,张欣文,等.邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯对果蝇及脂质过氧化反应的影响寿命[J].中华预防医学杂志,2005,39(2):111-114.
- [3] 莫测辉,蔡全英,吴启堂,等.我国城市污泥中邻苯二甲酸酯的研究[J].中国环境科学,2001,21(4):362-366.
- [4] 刘慧杰,舒为群.邻苯二甲酸酯类化合物的毒理学效应及对人群健康的危害[J].第三军医大学学报,2004,24(19):1778-1781.
- [5] 胡晓宇,张克荣,孙俊红,等.中国环境中邻苯二甲酸酯类化合物污染的研究[J].中国卫生检验杂志,2003,13(1):9-14.
- [6] 周科,宋树宿,童希琼,等.邻苯二甲酸二甲酯对鲤鱼代谢酶类及抗氧化活性影响[J].安徽师范大学学报(自然科学版),2017,40(1):64-68.
- [7] 李东波,周天林,焦飞.短柄五加叶片总皂对果蝇生殖力的影响的研究[J].甘肃科技,2015,31(5):142-144.
- [8] 王志刚,胡影,崔竞文.邻苯二甲酸二甲酯对典型细菌生长和氧化应激酶系的影响[J].生态毒理学报,2015,10(3):297-303.
- [9] 吴志辉,聂湘平,杨宇峰.邻苯二甲酸二甲酯(DMP)对海洋微藻的生态毒理研究[J].生态科学,2006,25(2):168-170.
- [10] 蔺琰东,秦舒浩,王丽,等.外源邻苯二甲酸二甲酯和苯甲酸对马铃薯组培苗生长的化感效应[J].广东农业科学,2011,38(9):17-20.
- [11] 徐曼妮,张欣文,徐思红.邻苯二甲酸二丁酯对雌性果蝇生育力的影响[J].同济大学学报(医学版),2008,29(1):53-55.

(本文责编:陈伟)