

文章编号: 1000-0615(2000)03-0217-04

蒽对黑鲷超氧化物歧化酶活性的影响

唐学玺¹, 张培玉²

(1. 青岛海洋大学生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 曲阜师范大学生物系, 山东 曲阜 273165)

摘要: 采用毒性实验的方法, 研究了蒽对黑鲷几种组织的超氧化物歧化酶活性的影响。结果表明: 1. 不同的组织其 SOD 活性高低不同, 按 SOD 活性由高到低的顺序依次排列为: 肝 > 血清 > 肾 > 鳃 > 肌肉; 2. 不同的组织, 其 SOD 活性对蒽的敏感性有所差异, 按敏感性由大到小的顺序依次排列为: 血清 > 肝 > 鳃 > 肌肉 > 肾。3. 不同组织的 SOD 活性在蒽胁迫下的变化规律不同。低浓度的蒽引起鳃、肾、肌肉组织的 SOD 活性升高, 随着蒽浓度的提高, SOD 活性又表现出抑制效应; 而蒽对血清及肝组织的 SOD 活性从低到高浓度下始终呈现出抑制作用。

关键词: 黑鲷; 蒽; 超氧化物歧化酶

中图分类号: S949; X52 文献标识码: A

Effects of anthracene on activity of superoxide dismutase in *Sebastes fuscescens*

TANG Xue-xi¹, ZHANG Pei-yu²

(1. Life Science College, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China;

2. Biology Department, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

Abstract: Effects of anthracene on activity of superoxide dismutase (SOD) in serum, liver, kidney, gill and muscle tissues of *Sebastes fuscescens* were studied by toxic experimental methods. The results showed as follows: 1. SOD activities exhibited differences among tested tissues, the order of SOD activity from high to low was liver > serum > kidney > gill > muscle. 2. The sensitivity of SOD to anthracene also exhibited obvious differences among tested tissues, the most sensitive one to anthracene was serum SOD; the following were SOD of liver, gill and muscle tissues respectively; the tolerance of kidney SOD to anthracene was the most strongest among them. 3. The changes of SOD activity under anthracene stress were different among tested tissue, low levels of anthracene could stimulate SOD activity of gill, kidney and muscle tissues, while the SOD activity of serum and liver always showed inhibition from low to high anthracene concentration.

Key words: *Sebastes fuscescens*; anthracene; superoxide dismutase

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) 是一类广泛存在于自然环境中的化学污染物, 对生物体有较强的致癌和致突变作用, 严重影响了人类的健康和生态环境质量, 已引起环境科学家的极大重视^[1]。海上石油开发及石油运输中的溢漏是海洋生态系统中 PAH 的主要来源, 另外大气沉降以及

收稿日期: 1999-05-24

基金项目: 国家攀登 B 资助项目(BDB6-7-1); 国家自然科学基金资助项目(39870146)

作者简介: 唐学玺(1965-), 男, 教授。Tel: 0532-2032592, E-mail: gljiangmail@ouqd.edu.cn

陆源因素是导致海洋环境 PAH 污染的其它途径。海洋 PAH 污染对海洋鱼类, 贝类的遗传致毒效应在国内外已有报道^[2, 3]。本文在前人工作的基础上, 研究 PAH 对鱼类超氧化物歧化酶活性的影响, 这对于阐明 PAH 对鱼类的致毒机理, 选择灵敏的指示海洋 PAH 污染的生物学指标有重要意义。

1 材料和方法

1.1 实验鱼及驯养

实验黑鲷 (*Sebastes fuscescens*) 购自山东省青岛市沙子口育苗厂, 体重 90~ 110g 体长 10~ 14cm。实验前在室温和自然光周期下饲养于室内水族箱中。

1.2 毒性实验与取样

蒽 (anthracene) 溶于 80℃ 热苯中, 配成 $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 染毒时稀释为所需浓度。

在预备实验的基础上, 设 0, 40, 80, 120, 160, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蒽浓度分别加入到 6 个水族箱中, 每个水族箱中加水 60L, 放入 8 条鱼, 气泵充气, 水温 (23 ± 2) °C。

在实验开始后的第 15 天取样, 首先穿刺尾部血管采血, 然后迅速解剖后取鳃、肝、肾和肌肉组织, 生理盐水冲洗三次后, 液氮冷冻保存备用。血样凝固后离心收集血清。

1.3 SOD 活性测定

采用 Beauchamp 和 Fridovich^[4] 建立, Bewley^[5] 改进的氮蓝四唑光化学反应法, 一个 SOD 活力单位定义为能引起反应初速度 (指不加酶时) 半抑制时的酶用量, 其算式为

$$\text{SOD 单位} = \frac{\text{对照组 OD 值} - \text{样品 OD 值}}{50\% \text{ 对照组 OD 值}} \times \text{样品释倍数}$$

2 结果

2.1 蒽对血清和肝组织 SOD 活性的影响

在蒽的胁迫处理下, 黑鲷血清和肝组织 SOD 活性的变化表现出相似的规律性 (图 1)。随着蒽浓度的提高, 二者的 SOD 活性均呈现出逐渐下降的趋势。可求得蒽对血清和肝组织 SOD 活性的半抑制浓度分别为 $132.4\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $162.7\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 蒽对鳃组织和肾组织 SOD 活性的影响

鳃组织和肾组织 SOD 活性在蒽胁迫处理下也表现出相似的变化规律性 (图 2)。

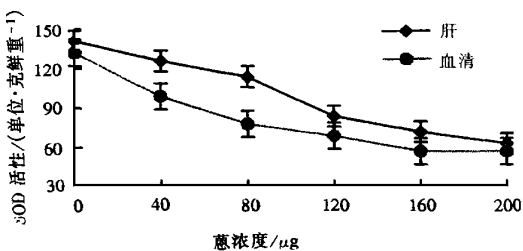


图 1 蒽对血清和肝组织 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effects of anthracene on SOD activity of serum and liver tissues

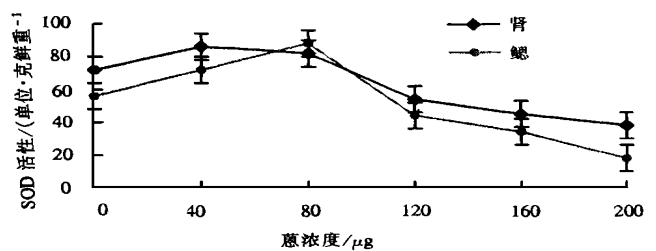


图 2 蒽对鳃和肾组织 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of anthracene on SOD activity of gill and kidney tissues

但它们同血清和肝组织中 SOD 活性的变化有所差异。首先, 低浓度的蒽($0 \sim 80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理引起 SOD 活性的升高, 这时的 SOD 活性均高于对照组; 其次, 高浓度的蒽($> 80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理对 SOD 活性有抑制作用, 且随着蒽浓度的提高, 这种抑制作用越显著。蒽对鳃组织 SOD 活性的半抑制浓度为 $170.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由于在实验所用蒽浓度范围内, 没有测出其对肾组织 SOD 活性的半抑制浓度, 所以, 蒽对肾组织的 SOD 活性半抑制浓度大于 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 蒽对肌肉组织 SOD 活性的影响

蒽对肌肉组织 SOD 活性的影响不同于血清和肝组织, 与鳃和肾组织有一定的类似性, 但又有所差异(图 3)。首先, 低浓度($0 \sim 120 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的蒽对 SOD 活性有刺激作用, 使 SOD 活性有所升高; 其次, 随着蒽浓度($> 120 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的进一步提高, 表现为对 SOD 活性的抑制作用, 此时的 SOD 活性均低于对照组。由 SOD 的活性变化求得蒽对肌肉组织 SOD 活性的半抑制浓度为 $182.9 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

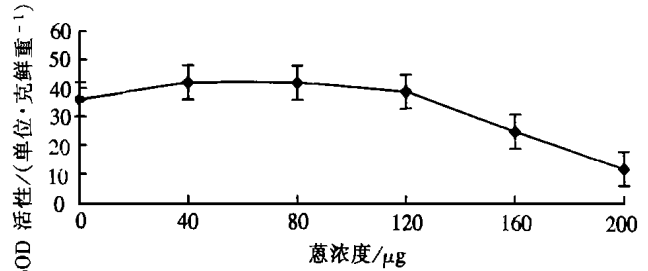


图 3 蒽对肌肉组织 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effects of anthracene on SOD activity of muscle tissue

3 讨论

3.1 不同组织的 SOD 活性对蒽敏感性的差异

实验过程中选用了血清和鳃、肝、肾、肌肉组织, 它们的 SOD 活性对蒽胁迫的敏感性表现出一定的差异。蒽对血清、肝、鳃和肌肉组织的 SOD 活性的半抑制浓度分别为 $132.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $162.7 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $170.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $182.9 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。血清 SOD 活性表现得最为敏感, 肾组织 SOD 活性对蒽胁迫表现得最不敏感, 其 SOD 活性半抑制浓度大于 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2 灵敏指示蒽胁迫程度的黑鳢组织选择

目前, 能够灵敏指示环境污染程度生物种、生物组织和生物指示物的选择是环境生物监测急需解决的关键问题之一。由结果看出, 在实验所用的血清和其它四种组织中, 按对蒽的敏感性由大到小的顺序排列为: 血清 > 肝 > 鳃 > 肌肉 > 肾; 而根据图 1~ 3 SOD 活性由高到低的排列顺序依次为: 肝 > 血清 > 肾 > 鳃 > 肌肉。由此可以得知: 1. 鱼组织内 SOD 活性的高低与其对蒽胁迫的敏感性大小不具相关性。2. 与鳃、肾、肌肉组织相比, 血清和肝组织为灵敏指示蒽胁迫程度的优选组织。

3.3 SOD 与生物抗逆性的相关性分析

自 1969 年 McCord 和 Fridovich 报道 SOD (EC1. 15. 1. 1) 的酶学特性以来^[6], 以 SOD 为中心的生物活性氧代谢研究进展很快, 迄今已形成了生物活性氧伤害学说^[7]。逆境胁迫能够打破生物体内活性氧代谢系统的平衡, 造成生物体的活性氧伤害。SOD 是生物体内清除活性氧, 免受细胞氧化伤害的关键酶之一。许多研究表明, 当生物体受到轻度逆境胁迫时, SOD 活性往往升高; 而当受到重度逆境胁迫下, SOD 活性通常降低, 使生物体内积累过量的活性氧, 从而导致生物体的伤害^[8]。目前证明 SOD 与生物耐寒性、抗病性、抗衰老和抗污染胁迫等密切相关。本实验结果同样发现, 高浓度蒽胁迫下, 黑鳢几种组织内的 SOD 活性显著下降。因此蒽胁迫下 SOD 活性的降低, 造成黑鳢的活性氧伤害很可能是蒽对黑鳢形成毒害的重要原因之一。

3.4 低浓度蒽对 SOD 活性的刺激效应

小于 $80\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的蒽对鳃和肾组织 SOD 活性并未表现出抑制作用。在此浓度胁迫下, 2 种组织的 SOD 活性反而高于对照组; 对于肌肉组织, 当蒽浓度小于 $120\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 其 SOD 活性也同样出现了这种刺激作用。这种现象与 Beaumont 和 Newman 等^[9] 以及唐学玺等^[10] 研究结果相类似, Stebbing^[11] 认为毒物在低浓度下出现的这种增益现象, 是其在无毒情况下的刺激反应, 他把这一现象称为“毒物兴奋效应”。至今, 许多研究证明, “毒物兴奋效应” 具有普遍性。

参考文献:

- [1] 赵云英, 马永安. 天然环境中多环芳烃的转化及其对生态环境的影响[J]. 海洋环境科学, 1998, 17(2): 68- 72.
- [2] Weinstein J E. An ultrastructural examination of mode of UV⁻ induced toxic action of fluoranthene in the fathead minnow[J]. Aquat Toxicol, 1997, 39(1): 17~ 22.
- [3] Kirchin M A, Moore M N, Dean R T. The role of oxyradicals in intracellular proteolysis and toxicity in muscels[J]. Mar Environ Res, 1992, 34(3): 315~ 320.
- [4] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gel[J]. Anal Biochem, 1971, 44(6): 276~ 278.
- [5] Bewley T D. Physiological aspects of desiccation tolerance[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1979, 30: 195~ 238.
- [6] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzyme function for erythrocuprein[J]. J Biol Chem, 1969, 244: 6049~ 6055.
- [7] 王建华, 刘鸿先, 徐 同. 超氧化物歧化酶(SOD) 在植物逆境和衰老中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1989, 11(1): 1~ 7.
- [8] 吕 庆, 郑荣梁. 干旱及活性氧引起小麦膜脂过氧化及脱酯化[J]. 中国科学(C 辑), 1996, 26(1): 26~ 30.
- [9] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae[J]. Mar Pollut Bull, 1986, 17(10): 457~ 461.
- [10] 唐学玺, 李永祺, 林 岩. 久效磷对叉鞭金藻和三角褐指藻光合色素的影响[J]. 海洋通报, 1997, 16(5): 31~ 35.
- [11] Stebbing A R D. Homesis: the stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. Sci Totl Envir, 1982, 22(1): 213~ 234.