

四氯乙烯胁迫对草鱼抗氧化酶活性的影响及其机理

王桂燕¹, 李 锋², 史济月¹, 周启星^{3*} (1.沈阳药科大学制药工程学院, 辽宁 沈阳 110016; 2.沈阳大学师范学院, 辽宁 沈阳 110044; 3.南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要: 研究了四氯乙烯(PCE)对草鱼的肝胰脏、肾脏和鳃组织的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的影响.结果表明:草鱼肝胰脏 SOD 活性,在 PCE 低浓度胁迫时其 SOD 活性“先升后降”[72h SOD 是(6665.84±106.87)U/g-FW,168h SOD 是(3021.26±16.96)U/g-FW],高浓度胁迫时“先降后升再降”[24h SOD 是(2175.16±185.14)U/g-FW, 96h SOD 是(5692.19±44.17)U/g-FW,168h SOD 是(1297.70±11.52)U/g-FW];草鱼肾脏 SOD 活性在 PCE 所有浓度胁迫均是“先降后升再降”的趋势;草鱼鳃组织 SOD 酶活性只有在 PCE 较低浓度短时间内没有显著变化,其它情况始终降低.在 PCE 低浓度和中等浓度胁迫时,草鱼肝胰脏 POD 活性始终降低,较低浓度和高浓度胁迫时肝胰脏 POD 活性“先降后升再降”;草鱼肾脏 POD 活性在 PCE 低浓度胁迫时“先升后降再升又降”的趋势,而高浓度胁迫时“先降后升又降”;PCE 对草鱼鳃组织 POD 活性“先升后降”的趋势.但是草鱼鳃组织的 SOD 和 POD 活性明显低于肝胰脏和肾脏组织的 SOD 和 POD 活性.

关键词: 四氯乙烯(PCE); 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*); 超氧化物歧化酶(SOD); 过氧化物酶(POD)

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2014)06-1579-07

Effect of perchloroethylene on activities of antioxidant enzyme in grass carp and its mechanism. WANG Gui-yan¹, LI Feng², SHI Ji-yue¹, ZHOU Qi-xing^{3*} (1.School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2.Normal College, Shenyang University, Shenyang 110044, China; 3.Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria at Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China) *China Environmental Science*, 2014,34(6): 1579~1585

Abstract: Effect of perchloroethylene (PCE) on superoxide dismutase systems (SOD) and peroxidase (POD) in grass carp's hepatopancreas, kidney and gill tissue was investigated. The result shows: the activity of SOD in hepatopancreas represent 'increase and then decrease' [72h SOD was (6665.84±106.87)U/g-FW,168h SOD was (3021.26±16.96) U/g-FW] under the stress of PCE at low concentration and 'increase then decrease and increase again' [24h SOD was (2175.16±185.14)U/g-FW, 96h SOD was (5692.19±44.17)U/g-FW,168h SOD was (1297.70±11.52) U/g-FW] under the stress of PCE at high concentration; the activity of SOD in kidney represent 'decrease and then increase' at any concentration of PCE; the activity of SOD in gill tissue does not change much except at low concentration of PCE within a short time, the activity always decreases under other circumstances. The activity of POD in hepatopancreas always decreases under the stress of PCE at low and moderate concentration and 'decreases then increases and decreases' at the stress of relatively low and high concentration of PCE. The activity of POD in kidney 'increases, decreases, then increases and decreases' at low concentration of PCE and 'decreases and increases then decreases' at high concentration. The results indicate that the activity of SOD and POD in grass carp's gill tissue is much lower than SOD and POD in hepatopancreas and kidney.

Key words: perchloroethylene (PCE); grass carp; superoxide dismutase (SOD); peroxidase(POD)

四氯乙烯(PCE)广泛用作干洗剂和金属脱脂剂.PCE 的大规模使用,以及对其不能充分回收,致使部分 PCE 在使用过程中释放出来,排放到空气、水或土壤中去,成为工厂车间、地表水和地下水中常见的污染物.国际肿瘤研究中心(IARC)将其列入人类可能致癌物(B₂ 级)^[1].外界污染物

胁迫情况下,生物体体内会产生大量的过剩自由基,引起对生物体的氧化胁迫,导致细胞膜脂质过

收稿日期: 2013-10-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(21037002);辽宁省教育厅资助项目(2008715);辽宁省大学生创新训练计划资助项目(201310163016)

* 责任作者, 教授, zhouqx@nankai.edu.cn

氧化,生物体生理代谢功能紊乱.超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)是生物体体内抗氧化防御系统的重要保护酶,它们能在一定基础上清除活性氧自由基,维持膜系统的稳定,降低氧化胁迫对细胞的伤害程度.抗氧化防御系统成分的改变可以作为机体受到氧化胁迫的早期预警生物标志物^[2-3],其含量水平、活性大小可作为测定生物对外界氧化胁迫反应的生理生化指标,测定在氧化胁迫下草鱼组织内 SOD 和 POD 的活性,可以从一个侧面揭示污染物对生物的毒性机制,间接反映环境中有毒有害物质的存在.为此,以草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)为试验对象,研究 PCE 对草鱼的肝胰脏、肾脏和鳃组织的 SOD 和 POD 的影响,探讨以 SOD 和 POD 活性变化作为 PCE 污染生物指标的可能性,为抗氧化防御系统的毒理学研究提供更多的基础资料,并为水环境中该化合物污染影响的早期预报和防治提供实验依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试动物 草鱼购自沈阳北市场.选择标准:头小体阔,鳞片完整舒展,行动活泼、反应灵敏、逆水性强,外观正常,个体均匀的健康鱼,体长<5cm,最大与最小体长之比<1.5,体重为(4.10±0.74)g.运回实验室放入大型水族缸中,驯养7d(期间死亡率低于5%)后进行实验.实验用水为充分曝气的自来水.

1.1.2 供试化合物 PCE,购自天津基准化学试剂有限公司,氯化硝基四氮唑蓝(NBT),L-蛋氨酸,核黄素,磷酸氢钠,磷酸二氢钠,EDTA,无水乙醇等为市售,均为分析纯.

1.1.3 主要仪器 高速低温冷冻离心机(HITACHI CP 80MX),紫外/可见分光光度计(WFZ 800-D3B),恒温光照培养箱(MGC-350BP-2),溶解氧测定仪(HI9143).

1.2 实验步骤与方法

采用静态试验法^[4-5].试验中用水为充分曝气之后的自来水,水温(17±1)℃,pH 值为 6.5~6.8,溶解氧(DO)含量为 5.0mg/以上,硬度在 210.1mg/L(以 CaCO₃ 计)左右.试验在 25cm×

18cm×25cm 的小水族缸中进行.定期监测溶液的温度、pH 值、DO.水族缸全天曝气.为防止饵料的影响,试验期间不喂食.

将一定量的四氯乙烯用无水乙醇(乙醇的体积分数不超过10%)溶解,然后用事先充分曝气的自来水稀释到所需实验浓度.

1.2.1 试验浓度设计 在单一急性毒性试验基础上,求得 PCE 污染物 96h 的 LC₅₀ 值为 34.56mg/L^[6],然后分别选取 1/2LC₅₀、1/4LC₅₀、1/8LC₅₀ 和 1/16LC₅₀ 4 个浓度组,每个浓度设 3 个平行组,同时设 1 个空白对照组,每 1 浓度组随机放鱼 10 尾.

1.2.2 酶活性测定 PCE 暴露试验每隔 24h 更换 1 次新鲜试验液.分别在暴露的第 24、48、72、96、120、144 和 168h 从每浓度组中和对照组中随机取出 3 条草鱼,迅速解剖,取肝胰脏、肾脏和鳃等组织,然后于 50mmol/L 预冷磷酸盐缓冲溶液(pH7.8,含 0.1mmol/L 的 EDTA)中匀浆,将匀浆液转移到 10mL 离心试管中于 4℃、15000r/min 条件下低温离心 30min,上清液即为酶提取液,将其低温保存.SOD 活性的测定采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法^[7],1 个酶活性单位(U)定义为引起 3.0mL 反应液达到 50%抑制所需的酶量,酶活性以 U/g·FW 表示.POD 的活性测定采用愈创木酚(邻甲氧基苯酚)法^[7],定义在波长 470nm 处吸光度值变化 0.01 代表 1 个酶活力单位(U),酶活性以 U/(g·FW·min)表示,组织质量均以鲜质量计.

1.3 数据处理

采用 SPSS13.0 统计软件对试验数据进行分析,数据用平均数±标准偏差(Mean±SD)表示.并用 *t* 检验法对组间数据进行差异显著性分析,*P*<0.05 表示差异显著,*P*<0.01 表示差异极显著.

2 结果与分析

2.1 PCE 对草鱼 SOD 活性的影响

2.1.1 PCE 对草鱼肝胰脏 SOD 活性的影响 从表 1 可以看出,在 PCE 污染条件下,随着暴露浓度增加,24 和 48h 内草鱼肝胰脏 SOD 活性变化显著(*P*<0.05).与 0mg/L 相比,草鱼肝胰脏 SOD 活性在最低浓度组(2.17mg/L)时,受到显著诱导(*P*<0.05),

在其他浓度组时其活性又被显著抑制($P<0.05$);暴露 72h,最高浓度组(17.28mg/L)的草鱼肝胰脏 SOD 活性仍然被显著抑制($P<0.05$),其他较低浓度组的草鱼肝胰脏 SOD 活性均被显著诱导($P<0.05$);暴露 96h,所有浓度组的草鱼肝胰脏 SOD 活性均被显著诱导($P<0.05$);当暴露时间继

续增加到 120h 以上时,所有浓度组草鱼肝胰脏 SOD 活性被抑制,其活性显著低于对照($P<0.05$).方差分析表明,暴露浓度对草鱼肝胰脏 SOD 活性影响极显著($P<0.01$),暴露时间对草鱼肝胰脏 SOD 活性影响显著($P<0.05$),并且 PCE 浓度与暴露时间存在显著的交互作用($P<0.01$).

表 1 PCE 对草鱼肝胰脏 SOD 活性的影响(U/g·FW)
Table 1 Effects of PCE on the SOD activity (U/g·FW) in the grass carp liver tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	5125.58±218.64b	5851.98±293.28a	3415.19±158.11d	4321.18±292.70c	2175.16±185.14e
48	5100.11±26.17b	6537.10±183.87a	3467.93±149.35d	4779.56±85.48c	2501.28±55.02e
72	4962.27±28.56d	6665.84±106.87a	5610.54±49.24c	5734.60±28.11b	3655.80±39.21e
96	4691.13±215.06e	4978.66±50.72d	5238.74±26.19c	8193.68±8.10a	5692.19±44.17b
120	4941.92±55.78a	3743.72±30.77d	2637.80±21.05e	4644.88±33.30b	4574.84±14.28c
144	4928.88±62.24a	2083.20±29.29d	2278.45±14.35c	3859.77±34.27b	1570.78±13.76e
168	4896.71±103.17a	3021.26±16.96b	2843.67±29.73c	2358.48±13.98d	1297.70±11.52e

注:每行后不同英文字母表示差异达到显著水平 ($P<0.05$),下同

2.1.2 PCE 对草鱼肾脏 SOD 活性的影响 从表 2 可以看出,在 PCE 污染条件下,随着暴露浓度的增加,24h 内草鱼肾脏 SOD 活性变化显著降低($P<0.05$);48h 时草鱼肾脏在 2.17 和 4.34mg/L 时,受到显著抑制($P<0.05$),而在 8.69 和 17.28mg/L 时其活性又被诱导,均显著高于对照($P<0.05$);在暴露 72h 时,低浓度组(2.17mg/L)草鱼肾脏被显

著诱导($P<0.05$),而在 4.34mg/L 以上浓度组肾脏的 SOD 活性被极显著抑制($P<0.01$);在暴露 96h 以上时,各个浓度组的草鱼肾脏 SOD 活性均被显著抑制($P<0.05$).方差分析表明,暴露浓度和暴露时间对草鱼肾脏 SOD 活性影响显著($P<0.05$),并且 PCE 浓度与暴露时间存在显著的交互作用($P<0.01$).

表 2 PCE 对草鱼肾脏 SOD 活性的影响(U/g·FW)
Table 2 Effects of PCE on the SOD activity (U/g·FW) in the grass carp kidney tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	4606.59±816.68a	2138.32±65.07c	2447.72±306.20b	2046.56±57.15c	541.13±43.52d
48	4309.10±72.04c	2566.10±26.73d	1959.13±82.77e	5119.20±60.86b	5425.16±57.51a
72	4164.42±25.36b	8962.60±7.04a	3631.13±31.51d	3776.71±64.22c	1898.60±88.29e
96	4012.10±78.76a	2572.97±59.34b	2360.54±88.05c	1308.08±81.50d	930.51±73.34e
120	4208.37±28.12a	1532.97±28.10b	1152.07±74.87d	638.34±33.66e	1303.93±58.17c
144	4157.70±23.94a	947.28±53.87c	1664.24±30.92b	825.56±25.22d	852.56±23.99d
168	4099.03±7.91a	863.14±21.03b	458.19±18.05c	403.54±18.98c	319.62±7.91c

2.1.3 PCE 对草鱼鳃组织 SOD 活性的影响 从表 3 可以看出,在 PCE 污染条件下,随着暴露浓度的增加,24h 内当浓度为 2.17mg/L 时,草鱼鳃组织 SOD 活性变化显著降低($P<0.05$),而当浓度增加到 4.29mg/L 鳃组织的 SOD 活性又恢复到与对照组没有显著差异($P>0.05$),当浓度继续增加时,鳃组织的 SOD 活性又呈现显著被抑制($P<0.05$);暴露 48h 以上时草鱼鳃组织在污染暴露的浓度组中均呈现显

著被抑制($P<0.05$).方差分析表明,暴露浓度和暴露 时间对草鱼鳃组织 SOD 活性影响不显著($P>0.05$).

表 3 PCE 对草鱼鳃组织 SOD 活性的影响(U/g·FW)
Table 3 Effects of PCE on the SOD activity (U/g·FW) in the grass carp gill tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	410.01±24.48a	166.08±10.79c	406.08±51.87a	122.49±13.53d	210.85±32.70b
48	378.90±18.84a	331.31±18.84b	283.98±35.27c	100.57±11.83e	211.84±15.58d
72	484.04±58.20a	336.19±30.81c	455.71±55.35b	101.70±14.38e	235.86±30.78d
96	434.43±30.75a	181.28±11.58c	196.76±22.54b	98.62±11.88d	63.68±11.88e
120	444.64±20.48a	108.40±12.27c	145.99±9.75b	76.67±6.79d	48.46±10.90e
144	528.09±42.01a	150.59±14.62b	62.59±6.41c	54.17±3.67c	29.72±6.41d
168	407.27±28.12a	97.52±8.96b	71.52±6.22c	33.84±3.22d	9.60±1.73e

2.2 PCE 对草鱼 POD 活性的影响

2.2.1 PCE 对草鱼肝胰脏 POD 活性的影响 从表 4 可以看出,在 PCE 污染条件下,随着暴露浓度的增加,24h 内草鱼肝胰脏 POD 活性变化显著($P<0.05$).与 0mg/L 相比,草鱼肝胰脏 POD 活性在暴露的浓度范围内均受到显著抑制($P<0.05$);在暴露 48h 时,在 2.17、4.34 和 8.69mg/L 浓度组活性显著低于对照 ($P<0.05$),而在最高浓度组 (17.28mg/L),其 POD 值又被诱导,显著高于对照 ($P<0.05$);暴露 72h 时,在 4.34mg/L 浓度组肝胰脏 POD 活性被诱导,其值显著高于对照 ($P<0.05$);在暴露 96h 以上,草鱼肝胰脏的 POD 活性显著被抑制 ($P<0.05$).方差分析表明,暴露时间对草鱼肝胰脏 POD 活性影响极显著($P<0.01$),并且 PCE 浓度与暴露时间存在显著的交互作用($P<0.01$).

2.2.2 PCE 对草鱼肾脏 POD 活性的影响 从表 5 可以看出,在 PCE 污染条件下,随着暴露浓度的增加,24h 内草鱼肾脏 POD 活性变化显著 ($P<0.05$),低浓度组(2.17mg/L)草鱼肾脏 POD 显著高于对照组($P<0.05$),而高浓度组的 POD 值都显著低于对照组($P<0.05$);48h 时草鱼肾脏在较低浓度(2.17 和 4.34mg/L)组,受到显著抑制($P<0.05$),而在较高浓度(8.69 和 17.28mg/L)时其活性又被诱导,均显著高于对照 ($P<0.05$);在暴露 72h 时,低浓度组(2.17mg/L)草鱼肾脏 POD 活性被显著诱导 ($P<0.05$);在暴露 120h 以上时,各个浓度组的草鱼肾脏 POD 活性均被显著抑制($P<0.05$).方差分析表明,PCE 暴露时间对草鱼肾脏 POD 活性影响极显著($P<0.01$),并且 PCE 浓度与暴露时间存在显著的交互作用($P<0.01$).

表 4 PCE 对草鱼肝胰脏 POD 活性的影响[U/(g·FW·min)]
Table 4 Effects of PCE on the POD activity [U/(g·FW·min)] in the grass carp liver tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	294.22±5.19a	98.48±2.16e	131.10±2.38d	176.91±2.16c	249.57±4.90b
48	288.55±6.04b	233.38±3.37d	227.11±3.67e	235.38±4.49c	512.35±3.31a
72	344.38±5.12b	105.75±3.67e	396.73±6.49a	121.24±2.66d	248.96±3.52c
96	335.47±5.18a	246.33±5.18b	180.36±2.65d	104.94±1.53e	201.05±3.07c
120	379.98±5.70a	122.87±2.96c	192.38±3.31b	52.76±1.06e	61.45±1.48d
144	334.73±5.61a	100.54±2.88b	71.64±2.70c	65.68±1.78d	46.37±1.89e
168	273.59±4.11a	88.92±4.11b	56.13±3.72d	75.35±1.62c	49.47±1.29e

2.2.3 PCE 对草鱼鳃组织 POD 活性的影响 从 表 6 可看出,随着 PCE 暴露浓度的增加,24h 内各暴

露的浓度内草鱼鳃组织 POD 活性变化显著增加 ($P<0.05$);随着染毒时间的延长,较低浓度组鳃组织的 POD 活性被诱导,显著高于对照($P<0.05$),而当浓度增加到 17.28mg/L 时,鳃组织的 POD 活性又恢复到与对照无显著差异($P>0.05$);当染毒时间延长到 144h 以上时,各暴露的浓度组内鳃组织的 POD 活性又呈现显著被抑制($P<0.05$).方差分析表明,暴露时间对草鱼鳃组织 POD 活性影响显著($P<0.05$).

表 5 PCE 对草鱼肾脏 POD 活性的影响[U/(g·FW·min)]
Table 5 Effects of PCE on the POD activity [U/(g·FW·min)] in the grass carp kidney tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	206.21±3.53b	263.88±5.83a	163.90±3.67c	124.38±2.90e	149.64±3.20d
48	209.65±5.56c	147.79±2.82e	154.74±3.84d	333.86±6.16a	239.56±6.22b
72	204.82±2.79c	358.51±2.79a	204.80±3.62c	255.48±3.34b	207.46±4.22c
96	207.53±3.34c	285.95±3.09a	274.14±3.34b	167.46±4.90e	188.76±2.96d
120	200.50±5.87a	161.39±5.12c	193.34±2.66b	98.43±1.59e	116.70±2.90d
144	202.35±5.61a	105.56±3.31b	99.46±2.88c	50.94±29.28d	100.67±1.31c
168	210.66±2.96a	105.43±2.97c	114.53±2.79b	90.65±5.70d	88.16±5.77d

表 6 PCE 对草鱼鳃组织 POD 活性的影响[U/(g·FW·min)]
Table 6 Effects of PCE on the POD activity [U/(g·FW·min)] in the grass carp gill tissues

暴露时间(h)	浓度(mg/L)				
	0	2.17	4.34	8.69	17.28
24	12.44±0.71e	14.89±0.35d	21.04±0.77c	25.46±2.77a	22.56±0.46b
48	11.76±0.93c	17.15±1.18b	18.56±1.10a	17.11±0.68b	12.16±0.74c
72	11.24±0.35e	25.55±1.29a	15.58±0.88c	19.43±0.60b	11.96±0.38d
96	12.18±1.48d	13.95±0.66c	24.19±0.90a	17.12±1.34b	9.53±0.34e
120	9.81±0.63c	9.90±0.51c	16.34±1.29a	9.95±0.88c	11.32±0.56b
144	11.37±0.33a	10.66±0.58b	8.49±0.29c	8.26±0.46c	9.99±0.34b
168	9.15±1.18a	8.84±1.23a	7.72±1.48b	7.51±0.85b	6.06±0.22c

3 讨论

当有机体受到污染胁迫时,其体内抗氧化系统酶活性改变,发生氧化应激作用,这种氧化应激作用因有机体及污染物种类、胁迫浓度和暴露时间不同而不同^[8-11].氧化应激反应是生物体的活性氧簇(ROS)和抗氧化防御系统之间不平衡的结果^[12],ROS 是过渡金属离子、农药、石油污染物等物质诱导产生的^[13].ROS 的逐步产生可以导致蛋白质和脂质的氧化,基因表达的改变以及细胞氧化还原状态的变化^[14].抗氧化防御系统作为活性氧的去除系统,在参与活性氧的清除以及机体的保护性防御反应中发挥巨大作用,主要包括酶系统(SOD、POD 等)与一些小分子抗氧化物.生物

体的抗氧化防御系统对污染物胁迫相当敏感,特别是 SOD 对多种污染物的反应均很敏感.SOD 被认为是抵抗过氧化反应的保护酶之一^[15],是生物体内唯一以超氧阴离子作为专一性底物的抗氧化酶.在 PCE 胁迫下,低浓度(2.17mg/L)的 PCE 胁迫较短时间(96h)内导致草鱼肝胰脏组织的 SOD 活性首先升高,说明此时草鱼肝胰脏和肾脏体内积累了大量的活性氧自由基,SOD 为清除这些干扰物质而被诱导.已有研究表明,生物受到轻度逆境胁迫时,SOD 活性往往升高^[16].如水丝蚓在 Hg²⁺的应激条件下,当 Hg²⁺浓度在 8.000~9.241μL/L 范围时,SOD 活性显著上升^[17];暴露于 0.5mg/L BaP 中 7d 时,大弹涂鱼肝脏中 SOD 活性被显著诱导^[18];草鱼在低浓度(0.01mg/L 和 0.20mg/L)十二

烷基硫酸钠暴露时,肌肉、血浆及肝脏 SOD 均受到不同程度的诱导^[19],这些与本试验中得到的结果基本一致.另外,在 PCE 胁迫下,低浓度(2.17mg/L)的 PCE 胁迫较短时间(96h)内也导致草鱼肾脏组织和鳃组织的 POD 活性也升高. POD 是生物体内重要的抗氧化防御系统,可催化过氧化氢与氢供给体之间的氧化反应,从而分解有毒物质 H_2O_2 .当生物体受到轻度逆境胁迫时,POD 活性往往升高,以清除体内的活性氧自由基.然而抗氧化酶清除自由基的能力毕竟有限,在长期的氧化胁迫下,氧化损伤难以避免,进而造成机体细胞病变导致疾病发生.一些研究也表明,抗氧化酶活性的变化与污染物的浓度具有相关性^[20],在其耐性限度内,随着污染物浓度的增加,POD 和 SOD 活性也增加;但超过了其耐性阈值,细胞受到严重伤害,导致其应激的能力下降,因此 POD 和 SOD 活性也就不可避免地降低,因此一般情况下,严重胁迫能够导致 POD、SOD 酶活下降^[21-23].本研究中,发现过度胁迫时也能够导致鱼体内的 SOD 和 POD 酶活性受到显著的抑制.这一方面可能是由于草鱼出现中毒症状,致使 SOD 代谢外源性化合物的能力受到破坏或饱和^[24],另一方面可能是由于草鱼体内抗氧化防御系统的其他成分的介入,清除了部分活性氧^[25].另外可能是当重度或长时间逆境胁迫超出生物体抗氧化防御系统的防御能力时,致使 POD 活性降低,使生物体内积累过量的活性氧,从而伤害生物体. PCE 通过与酶发生相互作用而改变其蛋白结构,从而改变其功能活性^[26].在试验 48h 和 76h 时草鱼肾脏 POD 活性变化出现波动,其原因有待于进一步试验研究.草鱼鳃组织只有在中等浓度组(4.34mg/L)在 24h 内 SOD 酶活性与对照组没有显著变化($P>0.05$),其它浓度组在整个暴露时间内 SOD 酶均受到显著抑制($P<0.05$).鳃组织的 POD 酶活性在 24h 内均显著升高,随后就降低.草鱼肝胰脏、肾脏和鳃组织中 SOD 活性和敏感性的不同,可能与它们的不同生理功能有关.肝脏是体内主要的解毒器官,肝巨噬细胞有活跃的吞噬能力,毒物在肝脏内氧化、还原或水解过程中会产生大量的 O_2^- ,从而使肝组织 SOD 活性较高.另外,草鱼在 PCE 暴露时,PCE 由鳃进入血液作

用到很多靶组织细胞,这些被伤害的组织细胞产生的代谢紊乱产物又汇集到肝脏,从而引起肝组织 SOD 活性的变化.肾脏是机体排泄污染物及其代谢产物的重要脏器,由于在肾内毒物代谢产物得到浓缩,因而对肾组织引起损害产生肾毒性.而鳃只是呼吸器官,既不具备解毒功能又没有排泄功能,因此鳃组织的 SOD 活性要比肝和肾的低得多.笔者认为,由于鱼首先通过鳃呼吸,污染物最先接触鳃组织,所以鳃组织的酶活性降低.

在试验中笔者观察到,当草鱼受 PCE 胁迫短时间内肝胰脏和肾脏组织中 SOD 和 POD 酶活性首先受到抑制,随着暴露时间的延长,草鱼肝胰脏和肾脏组织的 SOD 和 POD 活性又显著升高(如草鱼暴露在 4.34mg/L 和 8.69mg/L 浓度组中,其肝胰脏组织 SOD 酶活性在 48h 内首先被显著抑制,污染暴露 72h 其酶活性又被显著诱导).这种现象与 Beaumont 等^[27]的研究结果类似. Stebbing^[28]认为毒物在低浓度下出现的这种现象,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”.迄今为止,研究证明,“毒物兴奋效应”具有普遍性^[29]. SOD、POD 酶活性升高一方面说明草鱼受到了一定的刺激;另一方面也说明草鱼对外界刺激的反应能力很强,通过提高酶活性来保护机体免受更深的损伤.随着 PCE 胁迫暴露的时间继续延长,草鱼肝胰脏和肾脏 SOD 和 POD 酶活性再次显著降低,最后出现草鱼个体死亡.可见 SOD 和 POD 酶活性的降低所造成的活性氧伤害是引起草鱼死亡的重要原因之一.

4 结论

4.1 草鱼肝胰脏和肾脏组织的 SOD、POD 酶活比鳃组织的高.

4.2 PCE 胁迫导致草鱼肝胰脏和肾脏组织的 SOD 和 POD 活性均有显著变化. SOD、POD 酶活能够反映出污染物对草鱼的毒性作用.

4.3 较低浓度的胁迫能够诱导草鱼肝胰脏和肾脏组织的 SOD、POD 酶活,但是过度胁迫将导致草鱼肝胰脏和肾脏组织的 SOD、POD 酶活的下降,进而产生毒性效应. SOD 和 POD 酶活性的降低所造成的活性氧伤害是引起草鱼死亡的重要

原因之一。

参考文献:

- [1] International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human [J]. Tetrachloroethylene, 1995,63:176-186.
- [2] Hasspieler B M, Behar J V, Carlson D B, et al. Susceptibility of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameriurus nebulosus*) to oxidative stress: a comparative study [J]. Ecotoxicol. Environ. Saf., 1994,28(1):82-90.
- [3] Stephensen E, Svavarsson J, Sturve J, et al. Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland [J]. Aquat. Toxicol., 2000,48(4):431-442.
- [4] Polat H. Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *poecilia reticulata* [J]. Chemosphere, 2002,49(1):39-44.
- [5] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法 [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002:725-729.
- [6] 王桂燕,周启星,胡筱敏,等.四氯乙烯和对二氯苯对草鱼的联合毒性 [J]. 中国环境科学, 2007,27(3):387-390.
- [7] Wu X Y, Von Tiedemann A. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone [J]. Environmental Pollution, 2002,116:37-47.
- [8] Sun F H, Zhou Q X. Oxidative stress biomarkers of the polychaete *Nereis diversicolor* exposed to cadmium and petroleum hydrocarbons [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008,70(1):106-114.
- [9] Chater S, Douki T, Garrel C, et al. Cadmium-induced oxidative stress and DNA damage in kidney of pregnant female rats [J]. Comptes Rendus Biologies, 2008,331(6):426-432.
- [10] 陈芳,周启星.模拟城市径流中加乐麝香和镉对大型水蚤的毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2009,29(1):58-62.
- [11] 杨良,葛飞,喻方琴,等.十六烷基三甲基氯化铵与蒽萘对小球藻的联合毒性及其作用机制 [J]. 中国环境科学, 2011,31(1):150-155.
- [12] Nishida Y. The chemical process of oxidative stress by copper (II) and iron (III) ions in several neurodegenerative disorders [J]. Monatshefte für Chemie, 2011,142:375-384.
- [13] Lushchak V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals [J]. Aquatic Toxicology, 2011,101(1):13-30.
- [14] Livingstone D R. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and agriculture [J]. Revue de Medecine Veterinaire, 2003,154:427-430.
- [15] Monk L S, Fagerstedt K V, Crawford R M M. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress [J]. Physiologia Lantarum, 1989,76(3):456-459.
- [16] 李伟民,尹大强,刘新会,等.二氯苯胺的毒性及对鲫鱼血清抗氧化酶的影响 [J]. 中国环境科学, 2002,22(2):97-100.
- [17] 孙娜,王宇佳,柳郁滨,等. Hg^{2+} 对水丝蚓的急性毒性及超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. 中国农学通报, 2012,28(17):143-146.
- [18] 余群,郑微云,翁妍,等.石油污染对真鲷幼体中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的毒理效应 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1999,38(3):429-434.
- [19] 丁诗华,孙翰昌,陈大庆,等.阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠对草鱼抗氧化功能的影响 [J]. 海洋与湖泊, 2006,37(2):111-117.
- [20] Wang M E, Zhou Q X. Ecotoxicological effects of cadmium on three ornamental plants [J]. Chemosphere, 2005,60:16-21.
- [21] Zhou Q X, Wang M E, Liang J D. Ecological detoxification of methamidophos by earthworms in phaeozem contaminated with acetochlor and copper [J]. Applied Soil Ecology, 2008,40(1):138-145.
- [22] Hegedüs. A, Erdei. S, Horváth. G. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress [J]. Plant Sci., 2001,160:1085-1093.
- [23] Ranieri A, Castagna A, Scebbia F, et al. Oxidative stress and phytochelatin characterization in bread wheat exposed to cadmium excess [J]. Plant Physiol. and Biochem., 2005,43:45-54.
- [24] 李康,周忠良,王明山,等.苯并(a)芘对鲫鱼(*Carassius asratus*)肝脏抗氧化酶的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2003,10(1):88-91.
- [25] Hai D Q, Varga S I, Matkovic B. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1997,117C:83-88.
- [26] Nagaraj M, Sunitha S, Varalakshmi P. Effect of lupeol, apentacyclic triterpene, on the lipid peroxidation and antioxidant status in rat kidney after chronic cadmium exposure [J]. Journal of Applied Toxicology, 2000,20(5):413-417.
- [27] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduces growth of marine microalgae [J]. Mar. Pollut. Bull., 1986,17(10):457-461.
- [28] Stebbing A R D. Hormones is the stultation of growth by low levels of inhibitions [J]. Sci. Tol. Envir., 1982,22(1):213-234.
- [29] 王桂燕,胡筱敏,周启星,等.镉对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的急性毒性及 SOD 的影响 [J]. 东北大学学报:自然科学版, 2007,28(12):1758-1761.

作者简介: 王桂燕(1975-),女,河北卢龙人,副教授,博士,主要从事复合污染控制的研究.发表论文 10 余篇.