

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20130117002

李亚宁, 高歆, 安鑫龙, 等. 磺胺甲恶唑污染对颤蚓的氧化胁迫[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 595-601

Li Y N, Gao X, An X L, et al. Oxidation Stress of Sulfamethoxazole (SMZ) on Polychaete *Tubifex* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 595-601 (in Chinese)

磺胺甲恶唑对颤蚓的氧化胁迫

李亚宁¹, 高歆¹, 安鑫龙², 刘伟¹, 李国东^{1,*}, 侯捷³, 陈军宁⁴

1. 南开大学滨海学院环境科学与工程系, 天津 300270

2. 河北农业大学环境科学与工程系, 秦皇岛 066003

3. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071

4. 南昌大学环境与化工学院, 南昌 330047

摘要: 在实验室模拟条件下分别采用动、静态生物实验方法, 研究了不同浓度的磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole, SMZ)对颤蚓(*Monopylephorus limosus*)体内抗氧化防御系统的影响以及颤蚓暴露于单一浓度的SMZ后, 其体内典型的抗氧化酶, 超氧化物歧化酶(SOD)的活性随时间的响应。结果显示: 染毒8 d后, 颤蚓体内SOD的活性先降低后逐渐升高。SMZ染毒浓度达到1.00 mg·L⁻¹时, SOD的活性被显著诱导($P < 0.01$), 为对照组的1.30倍。过氧化物酶(POD)活性的变化趋势明显分为先升高、再降低2个阶段。染毒浓度达到0.25 mg·L⁻¹时, POD的活性受到最大诱导($P < 0.01$), 约为对照组的1.40倍。各处理组过氧化氢酶(CAT)的活性均高于对照组, 并且随着SMZ暴露浓度的增加, CAT活性的变化趋势是逐渐降低的, 与SMZ染毒浓度间存在较好的剂量-效应关系。随着SMZ暴露时间的延长, SOD、POD和CAT的活性变化趋势类似, 均为先升高后降低, 并在第8天时达到最大值($P < 0.01$), 增长率分别为32%、26%和82%。综上, SMZ能诱导颤蚓体内产生氧化胁迫, 而CAT在活性氧自由基的清除中发挥主要作用。

关键词: 颤蚓(*Monopylephorus limosus*); 磺胺甲恶唑(SMZ); 超氧化物歧化酶(SOD); 过氧化物酶(POD); 过氧化氢酶(CAT)

文章编号: 1673-5897(2013)4-595-07 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Oxidation Stress of Sulfamethoxazole (SMZ) on *Tubifex*

Li Yaning¹, Gao Xin¹, An Xinlong², Liu Wei¹, Li Guodong^{1,*}, Hou Jie³, Chen Junning⁴

1. Department of Environmental Science and Engineering, Nankai University Binhai College, Tianjin 300270, China

2. Department of Environmental Science and Technology, Hebei Agricultural University, Qinhuangdao 066003, China

3. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China

4. School of Environment and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330047, China

Received 17 January 2013 **accepted** 7 April 2013

Abstract: The method of dynamic and static exposure was used to study the toxic effects of sulfamethoxazole (SMZ) on the antioxidant enzyme defense systems of *tubifex* (*Monopylephorus limosus*) in indoor laboratory environments. The changes of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activity in *tubifex* exposed to 0.05-1.00 mg·L⁻¹ SMZ were examined. The changes of the antioxi-

收稿日期: 2013-01-17 录用日期: 2013-04-07

基金项目: 南开大学滨海学院科研启动金项目; 稀土催化剂新产品研发项目

作者简介: 李亚宁(1981-), 女, 讲师, 研究方向为污染生态化学与水处理工程, E-mail: lyn1031@126.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: gd_ljww@126.com

dant enzymes with time were also examined. The results showed that SOD activity was decreased at first and then increased gradually after the 8-day exposure. The highest SOD activity ($P < 0.01$) was observed in *tubifex* after the 8-day exposure to $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SMZ (1.30 fold of that of control). POD activity increased firstly and then decreased. It reached the highest value after the 8-day exposure to $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SMZ (1.40 fold of that of control). The CAT activities in exposure groups were higher than that of the control. The CAT activity decreased with an increase in SMZ concentration, and the dose response effect of SMZ and CAT activity was observed. With exposure time, the changes of SOD, POD and CAT were similar. The activity of antioxidant enzymes increased initially and then decreased. The peak values of them were all detected after the 8-d exposure, and the increase rates were 32%, 26% and 82%, respectively. Thus, it is indicated that SMZ could induce oxidative stress in *tubifex*, and CAT played a key role in removing oxygen free radicals.

Keywords: *tubifex* (*Monopylephorus limosus*); sulfamethoxazole (SMZ); superoxide dismutase (SOD); peroxidase (POD); catalase (CAT)

抗生素在人类的医用药物使用量中高居第三的位置,在兽药的用量中更是占到了70%以上^[1]。如此大量的使用造成了其在环境中的广泛暴露。随着抗生素在环境中暴露的报道逐渐增多,抗生素对环境受体影响也受到越来越多的关注^[2-6]。近年来,欧美一些国家已对抗生素可能引起的环境问题给予了很大的关注^[7]。颤蚓(*Tubifex*),属环节动物门、寡毛纲、近孔寡毛目、颤蚓科(Tubificidae),作为淡水水体底栖动物的重要组成部分^[8],颤蚓在水生生态系统中占有非常重要的地位,因此,关于污染物对颤蚓生态毒理学效应的研究受到越来越多的关注^[9-10]。

磺胺类药物是以氨苯磺胺为母体合成的一类化学治疗药物,目前关于磺胺类药物的毒理学方面的资料报道较少。磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole, SMZ)是最常用的一种磺胺类药物,近年来在各种环境介质中被检出的报道逐渐增多,因此,研究SMZ污染对颤蚓的生态毒理效应,从侧面反映、监测SMZ污染对整个水生生态系统的负面影响具有非常重要的现实意义。在越南虾养殖场进行的一项研究显示,养殖场和周边水渠中SMZ的含量分别为 0.04 和 $5.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11]。这说明SMZ在环境中的含量是比较低的,为此笔者对颤蚓进行了低浓度中长期的SMZ暴露。并重点研究了SMZ暴露胁迫对颤蚓体内抗氧化防御系统的重要保护酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)以及过氧化氢酶(CAT)活性的影响,从生化水平上揭示SMZ的毒性作用机制,以期为其生态风险评价和安全管理提供更为全面的生态毒理学数据作为科学依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:Hettich 32R 低温高速冷冻离心机,购自德国 Hettich 公司;TU-1901 双光束紫外可见分光光度计,购自北京普析通用仪器有限责任公司。

试剂:磺胺甲恶唑(纯度98%)购自 sigma 公司,丙酮(色谱纯)购自 Acros 公司,其他酶反应试剂均为分析纯,购自 Acros 公司。

1.2 实验材料

实验所用颤蚓采自河边淤泥,经实验室扩大培养。所采颤蚓放养于 $40 \text{ cm} \times 22 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ 的鱼缸中,鱼缸设计一个叠水装置,以便每天换水。鱼缸底部铺一层大粒石英砂,上部是用脱脂棉制成的松软基质,并加入一定量的水,所用水为曝气2天以上的自来水。

实验前挑选大小一致的颤蚓用胶头滴管吸出,清洗后放入装有曝气水的大培养皿中,然后放入恒温培养箱中培养24 h后开始实验。在100 mL的小烧杯中加入不同浓度的SMZ溶液20 mL,每一烧杯中加10条颤蚓,每2 d换1次水,每个浓度3次重复。

1.3 蛋白(SP)含量测定

根据 Bradford 的考马斯亮兰法测定 SP 含量^[12],用牛血清蛋白作标准曲线。

1.4 酶活性测定

静态实验:配制浓度为 0.05 、 0.25 、 0.50 和 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SMZ 水溶液,培养 8 d 后测定颤蚓的 SOD、POD 和 CAT 的活性,设定空白对照。

动态实验:配制浓度为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SMZ 水溶液,分别于暴露的 0、2、8 和 10 d 测定颤蚓的

SOD、POD 和 CAT 的活性,在不同 SMZ 处理的相应时间均设空白对照。

染毒完成后,从烧杯中取出颤蚓个体,用滤纸吸干,迅速将其置于冰浴中。然后用预冷的 Tris-HCl 缓冲液($0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris、 $0.25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $0.10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, pH 7.5)匀浆,将匀浆液于 4°C 、 $10\ 000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下低温离心 20 min,上清液即为酶提取液,低温保存备用。

SOD 活性的测定采用改进的邻苯三酚自氧化法^[13]。分光光度计设置:时间扫描,每隔 20 s 测吸光值 1 次,连续 1 min,波长为 325 nm;参比:取 10 mL 试管,加 10 mL $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 8.2) 缓冲液,在 25°C 保温 25 min;加入 $50 \mu\text{L}$ $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl,倒入 1 cm 石英比色杯中,放在参比位上;邻苯三酚的自氧化速率:取 10 mL 试管,加入 10 mL $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 8.2) 缓冲液, 25°C 保温 25 min;立即加入预热的 $50 \mu\text{L}$ $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻苯三酚,迅速摇匀,倒入 1 cm 石英比色杯中,放在 1 号样品池,测定邻苯三酚的自氧化速率。要求邻苯三酚的自氧化速率控制在 $0.07 \text{ A}\cdot\text{min}^{-1}$ 左右;酶活性的测量:加入邻苯三酚前先加入 $20 \mu\text{L}$ 的酶提取液,并用蛋白校正,酶活性以 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白表示。

POD 活性测定采用愈创木酚法^[14],以每分钟吸光度变化表示酶活性大小,在 4 mL 的反应体系中,加入体积分数为 0.3% 的 H_2O_2 2 mL、质量体积比为 0.2% 的愈创木酚 0.95 mL, pH=7 的 PBS 1 mL,最后加入 0.05 mL 酶液启动反应,记录 470 nm 处吸光度降低速度。将每分钟吸光度增加 0.01 定义为 1 个活力单位。

CAT 活性的测定采用徐镜波等的方法^[15]。分光光度计设置:时间扫描,每隔 10 s 测吸光值 1 次,连续 1 min,波长为 250 nm;参比池: $10 \mu\text{L}$ 酶样+3 mL 磷酸盐缓冲液 I(用重蒸水溶解 3.52 g KH_2PO_4 和 7.27 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 定容至 1 000 mL)到 1 cm 石英比色杯中;样品池: $10 \mu\text{L}$ 酶样+3 mL H_2O_2 -磷酸盐缓冲液 II(用磷酸盐缓冲液 I 稀释 0.16 mL 30% H_2O_2 至 100 mL)到 1 cm 石英比色杯中。

1.5 数据处理

实验结果采用 SPSS 统计软件进行分析,用平均数±标准偏差表示。采用 One-Way ANOVA 对组间的数据进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 表明差异显著, $P < 0.01$ 表明差异极显著, $P > 0.05$ 表明差异不显著。

2 结果(Results)

2.1 磺胺甲恶唑对颤蚓体内 SOD 活性的影响

2.1.1 颤蚓体内的 SOD 活性随染毒浓度的变化

染毒 8 d 后,颤蚓体内的抗氧化酶 SOD 的活性变化如图 1 所示。可以看出,随着磺胺甲恶唑染毒浓度的增加,SOD 的活性先降低后逐渐升高。在暴露浓度较低时,SOD 的活性随着染毒浓度的升高而降低,在 $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD 的活性达到最低($P < 0.01$),为对照组的 0.70 倍。随后,SOD 的活性虽然随着磺胺甲恶唑浓度的升高有所回升,但是始终被显著抑制,这可能是由于水体中磺胺甲恶唑对颤蚓的胁迫,造成颤蚓体内产生氧化应激反应,从而产生大量氧自由基,破坏了其机体的生理平衡,最终抑制了 SOD 的活性。当磺胺甲恶唑染毒浓度达到 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD 的活性被显著诱导($P < 0.01$),为对照组的 1.30 倍。

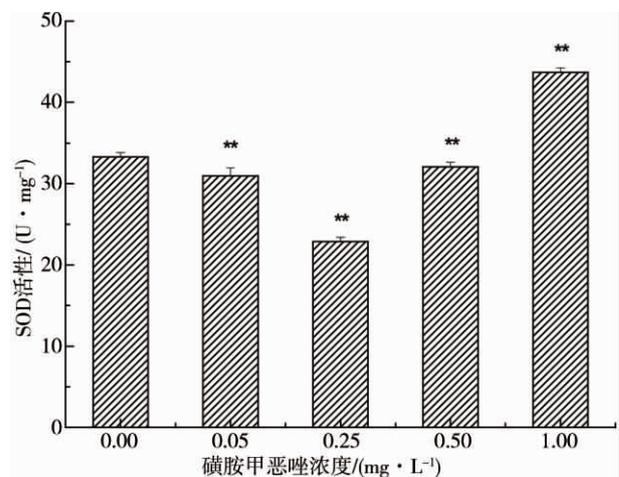


图 1 不同浓度的磺胺甲恶唑(SMZ)对颤蚓体内 SOD 活性的影响

注: **表示 SMZ 各浓度处理组与对照组相比较存在极显著差异($P < 0.01$),误差线表示 SD ($n = 3$)。

Fig. 1 Effects of sulfamethoxazole (SMZ) on the activity of SOD in *tubifex*

2.1.2 颤蚓体内的 SOD 活性随染毒时间的变化

随着磺胺甲恶唑暴露时间的延长,SOD 的活性先升高,第 8 天时达到最大值($P < 0.01$),增长率为 32%,之后活性迅速降低,形成了一个倒“V”形曲线。随着染毒时间的延长,磺胺甲恶唑的氧化胁迫使颤蚓体内产生活性氧自由基的量越来越大,抗氧化酶 SOD 的活性随之被诱导并逐渐升高。但是随着磺胺甲恶唑在颤蚓体内的代谢以及其他酶类的启

动,活性氧自由基的量快速降低,致使 SOD 的活性降低。

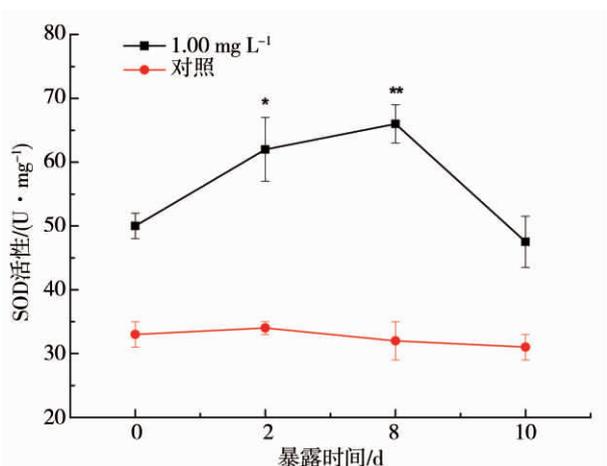


图2 在 1.00 mg · L⁻¹ 的 SMZ 暴露下
颤蚓体内的 SOD 活性随时间的变化

注: *、** 分别表示 SMZ 处理组与对照组相比较存在显著差异 ($P < 0.05$) 和极显著差异 ($P < 0.01$), 误差线表示 SD ($n = 3$), 下同。

Fig. 2 Changes in the activity of SOD

with time in *tubifex* after 1.00 mg · L⁻¹ SMZ exposure

2.2 磺胺甲恶唑对颤蚓体内 POD 活性的影响

2.2.1 颤蚓体内的 POD 活性随染毒浓度的变化

由图 3 可知,染毒 8 d 后,随着处理组浓度的升高,POD 活性的变化趋势明显分为升高、再降低 2 个阶段。与对照组相比,低浓度组 (0.05 mg · L⁻¹) 颤蚓体内 POD 的活性被抑制,但是随着染毒浓度的增大,POD 的活性迅速增强,当染毒浓度达到 0.25 mg · L⁻¹ 时,POD 的活性达到最大诱导 ($P < 0.01$),将近对照

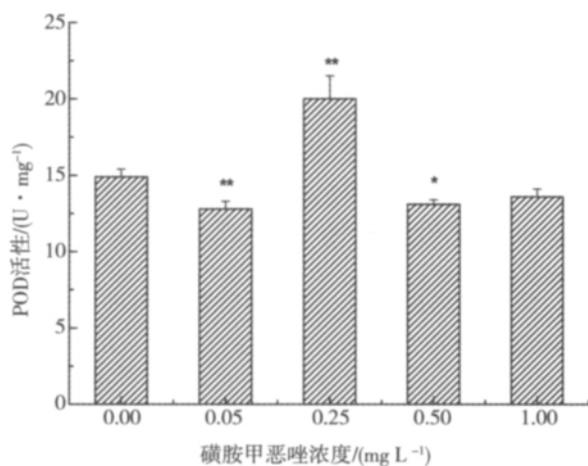


图3 不同浓度的 SMZ 对颤蚓体内 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of SMZ on the activity of POD in *tubifex*

组的 1.40 倍。而高浓度组 (0.50 mg · L⁻¹) 与对照组相比,POD 的活性被显著 ($P < 0.05$) 抑制,并且随着染毒浓度的升高 POD 活性又恢复到对照组水平。这可能是由于此时污染物的浓度已经超过了颤蚓的耐性阈值,细胞受到严重伤害,导致其应激能力下降。

2.2.2 颤蚓体内的 POD 活性随染毒时间变化

如图 4 所示在磺胺甲恶唑染毒的 10 d 内,随着染毒时间的延长,POD 的活性先是逐渐升高,到第 8 天时达到最大值 ($P < 0.01$),增长率达 26%,之后迅速下降,形成了一个广口的倒“V”形曲线。值得注意的是,POD 的活性随时间的变化趋势与 SOD 的类似。

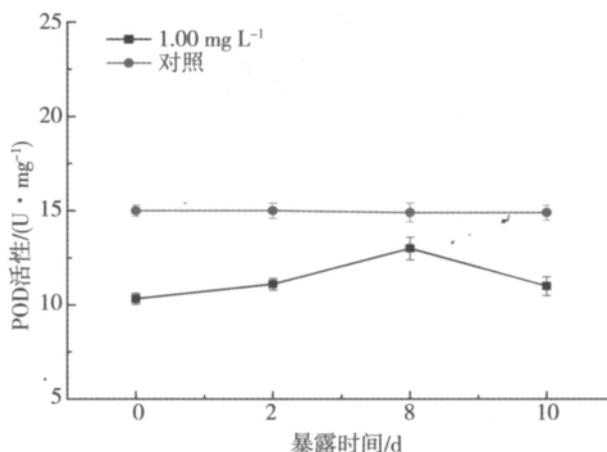


图4 在 1.00 mg · L⁻¹ 的 SMZ 暴露下
颤蚓体内的 POD 活性随时间的变化

Fig. 4 Changes in the activity of POD with time in *tubifex* after 1.00 mg · L⁻¹ SMZ exposure

2.3 磺胺甲恶唑对颤蚓体内 CAT 活性的影响

2.3.1 颤蚓体内的 CAT 活性随染毒浓度的变化

染毒 8 d 后,颤蚓体内的 CAT 活性变化如图 5 所示。可以看出,随着磺胺甲恶唑暴露浓度的增加,CAT 活性的变化趋势是逐渐降低的,并且除 1.00 mg · L⁻¹ 浓度组外,其余各浓度组均显著高于对照组。当磺胺甲恶唑的染毒浓度为 0.05 mg · L⁻¹ 时,CAT 的活性达到最大诱导,由前述已知,磺胺甲恶唑对颤蚓的胁迫,造成颤蚓体内产生大量活性氧自由基,虽然此时 SOD 的活性是被抑制的,但可能是由于抗氧化防御系统其他酶类的参与使活性氧自由基反应生成了大量 H₂O₂,CAT 为清除这些 H₂O₂ 而被诱导。之后,CAT 的活性逐渐降低,这可能是其他成分如:POD 参与清除 H₂O₂ 引起的^[16]。此外,CAT 活性与磺胺甲恶唑染毒浓度间存在较好的剂量-效应关系。

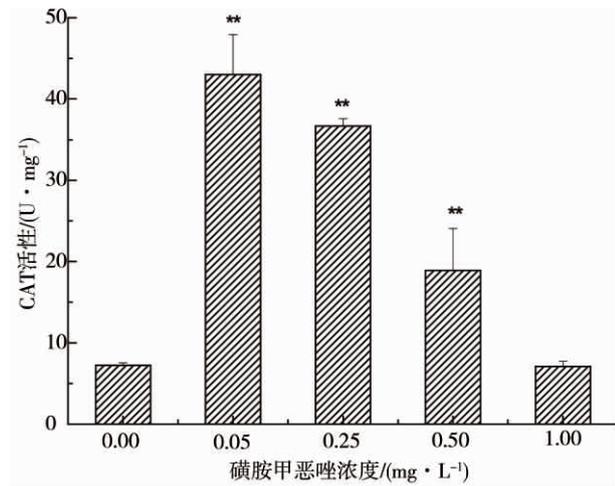


图 5 不同浓度的 SMZ 对颤蚓体内 CAT 活性的影响

注: ** 表示 SMZ 各浓度处理组与对照组相比较存在极显著差异($P < 0.01$), 误差线表示 SD ($n = 3$)。

Fig. 5 Effects of SMZ on the activity of CAT in *tubifex*

2.3.2 颤蚓体内的 CAT 活性随染毒时间的变化

如图 6 所示在 10 d 的暴露时间段内, 随着暴露时间的延长, CAT 的活性先是缓慢升高, 接着迅速升高, 到第 8 天时达到最大值, 增长率达 82%, 之后又缓慢下降, 形成了一个变形的倒“V”形曲线。并且, CAT 的活性随时间的变化趋势与 SOD 大体上也是一致的。

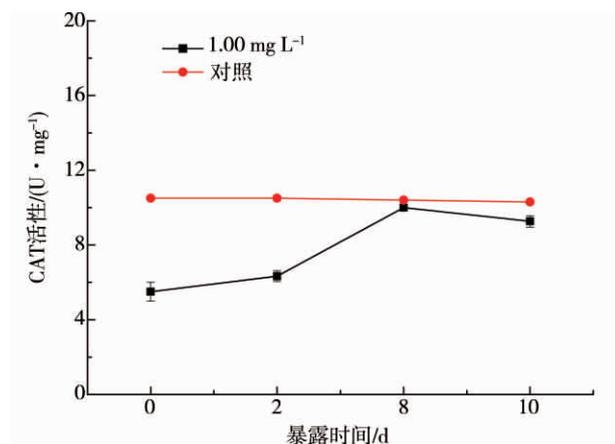


图 6 在 1.00 mg·L⁻¹ 的 SMZ 暴露下颤蚓体内的 CAT 活性随时间的变化

Fig. 6 Changes in the activity of CAT with time in *tubifex* after 1.00 mg·L⁻¹ SMZ exposure

3 讨论 (Discussion)

目前, 已有一些实验室研究了磺胺甲恶唑对水生生物的毒性效应, 在张培旗等^[17]的研究中, 发现

磺胺甲恶唑对中国明对虾无节幼体、蚤状幼体的 24 h-LC₅₀ 分别为 300 和 355 mg·L⁻¹, 48 h-LC₅₀ 分别为 232 和 172 mg·L⁻¹。但是, 磺胺甲恶唑对颤蚓的毒性效应还未见报道。

生物在受到外界胁迫时, 体内会发生氧化应激反应而生成大量的活性氧, 如: O₂⁻·、H₂O₂、·OH, 这些活性氧会引起蛋白、脂类、DNA 等大分子的损伤, 从而对生物体的生理机能造成危害。抗氧化防御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着巨大作用, 主要包括酶系统 (SOD、POD 和 CAT 等)^[18]。其中 SOD 是生物体内抗氧化防御系统的重要成员之一, 在清除氧自由基方面发挥着重要的作用^[19]。SOD 最先与活性氧自由基作用, 可将超氧阴离子 O₂⁻· 分解为 H₂O₂ 和 O₂, POD 和 CAT 又可继续分解 H₂O₂, 从而降低体内 H₂O₂ 的浓度。

染毒 8 d 后, 颤蚓体内 SOD 的活性先被显著 ($P < 0.01$) 抑制。这与罗义等^[20]的研究结果一致, 他们在研究四溴双酚-A (TBBPA) 对鲫鱼的生态毒性时, 也发现了 SOD 活性的抑制。而后随着 SMZ 暴露浓度的升高, SOD 的活性逐渐升高, 在暴露浓度为 1.00 mg·L⁻¹ 时 SOD 的活性被显著地诱导 ($P < 0.01$)。这表明, 此时颤蚓体内产生了大量的活性氧自由基, 并且 SOD 已经参与到这些活性氧自由基的清除中。在以前关于溴化阻燃剂对小麦生态毒理效应的研究中, 笔者也发现了 SOD 活性的诱导^[21]。

虽然 POD 和 CAT 均可对 H₂O₂ 进行清除, 然而二者的反应机制是完全不同的。典型的不同点是: CAT 去除 H₂O₂ 不需要联合基质, 然而, POD 需要联合基质才能够清除 H₂O₂。在细胞质水平上, POD 是最重要的 H₂O₂ 清除酶, 能够参加木质素的生物合成, 并将 H₂O₂ 转化成水。POD 能够利用很多电子供体, 包括愈疮木酚。因此, POD 也被称作愈疮木酚过氧化物酶。低浓度的磺胺甲恶唑 (0.25 mg·L⁻¹) 可显著诱导颤蚓体内 POD 的活性 ($P < 0.01$), 这与以前的研究结论相符^[22]。POD 活性显著升高说明 SMZ 的胁迫或代谢产生了大量的 H₂O₂, 从而导致 POD 活性被诱导, 这是生物应激的一种体现。Song 等^[23]在研究小麦对农药绿麦隆胁迫的生物反应时, 也观测到了 POD 活性的诱导, 这与本研究的结论是相似的。而高浓度处理组抑制了 POD 的活性, 这可能是由于抗氧化防御系统其他成分的介入, 对部分活性氧进行了清除, 从而导致 POD 活性降低, 这与 Guo 等^[24]的研究结果一致。

CAT 存在于红细胞及某些组织内的过氧化物体中,它的主要作用就是催化如下反应: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$,从而使 H_2O_2 不能与 O_2 在铁螯合物作用下反应生成非常有害的 $\cdot\text{OH}$ 。随着 SMZ 染毒浓度的升高,颤蚓体内 CAT 的活性逐渐降低,但是处理组颤蚓体内 CAT 的活性均显著 ($P < 0.01$) 高于对照组,再次证明 SMZ 暴露会使颤蚓体内产生氧化胁迫,CAT 的活性随之被诱导。本研究结果与张喆等^[25]的研究结论是一致的,他们在研究十溴联苯醚对鲫鱼的生态毒性时发现,在十溴联苯醚暴露的第 3 天和第 7 天,各浓度组 CAT 活性被显著诱导,其后除低浓度组与对照组差异不显著外,其余各浓度组 CAT 活性仍显著高于对照组。并且 CAT 的活性在 SMZ 暴露浓度为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时即被显著 ($P < 0.01$) 诱导,由此可见,CAT 的活性对 SMZ 暴露的反应还是较为灵敏的。但是有很多实验室得到的结果与本实验不同,甚至相反,如 Hegedüs 等^[26]在研究重金属污染物 Cd 对大麦的生态毒性时,就发现大麦叶片中的 CAT 活性几乎没有变化。这可能要归因于实验生物物种的不同,暴露污染物的不同或是暴露浓度的差异。并且,由实验结果可以看出 CAT 的活性与 SMZ 染毒浓度间存在较好的剂量-效应关系。

在所观察的 10 d 这一时间段内,SOD、POD 以及 CAT 的活性均在第 8 天时达到最大值。这说明在 SMZ 的胁迫下颤蚓的抵抗能力随着时间逐渐增强,表现出对 SMZ 污染胁迫的适应和分化。在以前关于重金属铜污染的研究中也发现了相似的现象,禾本科匍茎小糠草的抗铜能力是随着暴露时间的延长而增强的^[27]。在第 8 天到 10 天这一时间段内,这 3 种抗氧化酶的活性又降低了,这可能是由于抗氧化防御系统其他酶类的启动,导致活性氧自由基浓度降低,从而使 SOD 的活性降低了,继而导致了 POD 和 CAT 活性的降低。或者是由于细胞内活性氧产生与清除的平衡受到 SMZ 的胁迫,从而引起自由基的积累并导致膜脂过氧化,最终破坏了膜系统的结构和功能,造成了颤蚓的细胞伤害。值得注意的是,POD 与 CAT 的活性随时间的变化趋势与 SOD 的类似,这说明 POD 与 CAT 清除的 H_2O_2 主要来源于 SOD。

$1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 磺胺甲恶唑显著 ($P < 0.01$) 诱导了 SOD 的活性,并且随着染毒时间的延长,SOD 的活性先升高后降低; $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 磺胺甲恶唑显著 ($P < 0.01$) 诱导了 POD 的活性; $0.00\sim 1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

暴露剂量下 CAT 的活性均被诱导,并且随暴露浓度增加而降低,与磺胺甲恶唑染毒浓度间存在较好的剂量-效应关系。随着暴露时间的延长,SOD、POD 以及 CAT 的活性均为先升高后降低,并且在第 8 天时达到最大值。由此可见,磺胺甲恶唑可诱导颤蚓体内产生氧化胁迫反应,并且 CAT 在颤蚓的抗氧化防御中起到关键作用。

通讯作者简介:李国东(1970—),男,博士,副教授,主要研究方向为膜科学与技术,发表学术论文 20 余篇。

参考文献:

- [1] Halling-Sørensen B, Nielsen S N, Lanzky P F, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—A review [J]. *Chemosphere*, 1998, 36(2): 357—393
- [2] Lindberg R H, Wennberg P, Johansson M I, et al. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(10): 3421—3429
- [3] Göbel A, Thomsen A, McArdeall C S, et al. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(11): 3981—3989
- [4] Batt A L, Kim S, Aga D S. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations [J]. *Chemosphere*, 2007, 68(3): 428—435
- [5] Jørgensen S E, Halling-Sørensen B. Drugs in the environment [J]. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 691—699
- [6] Kümmerer K, Al-Ahmad A, Mersch-Sundermann V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test [J]. *Chemosphere*, 2000, 40(7): 701—710
- [7] Boxall A B A, Kolpin D W, Halling-Sørensen B, et al. Are veterinary medicines causing environmental risks? [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(15): 286—294
- [8] Bougenec V. Oligochaetes (Tubificidae and Enchytraeidae) as food in fish rearing: A review and preliminary tests [J]. *Aquaculture*, 1992, 102(3): 201—217
- [9] Redeker E S, Blust R. Accumulation and toxicity of cadmium in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*: A kinetic modeling approach [J]. *Environmental Sci-*

- ence & Technology, 2004, 38(2): 537-543
- [10] 李仁熙. 正颤蚓的生长发育及繁殖生物学的研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(1): 14-20
Li R X. Studies on the growth and reproduction of *tubifex tubifex* m ller [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2001, 25(1): 14-20 (in Chinese)
- [11] Le T X, Munekage Y. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam [J]. Marine Pollution Bulletin, 2004, 49(11-12): 922-929
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2): 248-254
- [13] 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 等. 一种 SOD 的测定方法——邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, 4: 71-73
- [14] 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(1): 37-47
- [15] 徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度法测定[J]. 环境化学, 1997, 16(1): 73-76
Xu J B, Yuan X F, Lang P Z. The determination of enzymic activity and its inhibition on catalase by ultraviolet spectrophotometry [J]. Environmental Chemistry, 1997, 16(1): 73-76 (in Chinese)
- [16] 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 Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 1997, 117(1): 83-88
- [17] 张培旗, 李健, 刘淇, 等. 复方新诺明对中国对虾毒性的初步研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(1): 28-34
Zhang P Q, Li J, Liu Q, et al. Studies on the toxicity of sulfamethoxazole and trimethoprium to *Fenneropenaeus chinensis* [J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(1): 28-34 (in Chinese)
- [18] 王桂燕, 周启星, 孙学奇, 等. 镉对草鱼的急性毒性效应及 SOD 的影响[J]. 东北大学学报: 自然科学版, 2007, 28(12): 56-58
Wang G Y, Zhou Q X, Sun X Q, et al. SOD effect of cadmium chloride on acute toxicity of grass carp [J]. Journal of Northeastern University: Natural Science, 2007, 28(12): 56-58 (in Chinese)
- [19] Wang M E, Zhou Q X. Joint stress of chlorimuron-ethyl and cadmium on wheat *Triticum aestivum* at biochemical levels [J]. Environmental Pollution, 2006, 144(2): 572-580
- [20] 罗义, 王晓蓉. 氯酚类和四溴双酚-A 诱导鲫鱼活性氧产生及分子致毒机制的研究[D]. 南京: 南京大学, 2006. 144-154
Luo Y, Wang X R. The study of reactive oxygen species generation and toxic mechanisms in freshwater fish *Carassius auratus* induced by chlorophenols and tetrabromobisphenol on the molecular level [D]. Nanjing: Nanjing University, 2006: 144-154 (in Chinese)
- [21] Li Y N, Zhou Q X, Li F X, et al. Effects of tetrabromobisphenol A as an emerging pollutant on wheat (*Triticum aestivum*) at biochemical levels [J]. Chemosphere, 2008, 74(1): 119-124
- [22] Huang L L, Yang C, Zhao Y, et al. Antioxidant defenses of mycorrhizal fungus infection against SO₂-induced oxidative stress in *Avena nuda* seedlings [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2008, 81(5): 440-444
- [23] Song N H, Yin X L, Chen G F, et al. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils [J]. Chemosphere, 2007, 68(9): 1779-1787
- [24] Guo B, Liang Y C, Zhu Y G, et al. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress [J]. Environmental Pollution, 2007, 147(3): 74-749
- [25] 张喆, 王学峰, 马胜伟, 等. 十溴联苯醚(BDE-209)对紫红笛鲷鳃抗氧化酶活性的影响[J]. 生态毒理学学报, 2013, 8(1): 42-48
Zhang Z, Wang X F, Ma S W, et al. Effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on antioxidant enzyme activities in gills of *Lutjanus argentimaculatus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(1): 32-48 (in Chinese)
- [26] Hegedüs A, Erdei S, Horváth G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress [J]. Plant Science, 2001, 160: 1085-1093
- [27] Lin W, Bradshaw A D, Thurman D A. The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. III. The rapid evolution of copper tolerance in *Agrostis stolonifera* [J]. Heredity, 1975, 34(2): 165-187

