

# 胜利原油对半滑舌鲷肝脏超氧化物歧化酶 和过氧化氢酶活性的影响

夏 斌<sup>1</sup> 陈碧鹃<sup>1\*</sup> 李传慧<sup>1,2</sup> 崔 毅<sup>1</sup> 马绍赛<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业资源可持续利用重点实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室  
中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup>中国海洋大学 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100)

**摘 要** 在室内模拟条件下,研究了不同暴露浓度和不同作用时间下胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响,以探讨其用于石油污染的生物标志物的可行性。结果表明,从时间-效应关系分析,半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 和 CAT 活性随时间总体呈现升高-降低-升高的趋势,并且随着暴露浓度的增加,出现高值的时间提前。从剂量-效应关系分析,半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 和 CAT 活性总体呈现低浓度诱导,高浓度抑制的过程。污染物对生物体的毒性效应存在一定的阈值,在这个阈值内机体未发生中毒反应,污染胁迫解除后也能较快地恢复到正常水平。在本实验中,石油污染对半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性影响的阈值在 0.2~0.4 mg/L 之间,而对 SOD 活性影响的阈值在 1.6~3.2 mg/L 之间。在此阈值以上,表明石油污染导致机体产生活性氧的速度超过机体抗氧化防御系统的清除能力,损伤作用占主导地位,使机体发生毒性效应。半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性对石油污染的响应相对于 SOD 更加敏感,所以更能反映出环境中氧化污染的胁迫,有望成为石油类污染的生物标志物。

**关键词** 胜利原油 半滑舌鲷 超氧化物歧化酶 过氧化氢酶 生物标志物

**中图分类号** S965.399 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)01-0053-07

## Effect of Shengli crude oil on the activities of superoxide dismutase and catalase in the liver of Tongue sole *Cynoglossus semilaevis*

XIA Bin<sup>1</sup> CHEN Bi-juan<sup>1\*</sup> LI Chuan-hui<sup>1,2</sup> CUI Yi<sup>1</sup> MA Shao-sai<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Key Laboratory for Fishery Resources and Eco-environment, Shandong Province, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup>Key Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100)

**ABSTRACT** Under indoor simulation conditions, the effects of various concentrations and exposure time of Shengli crude oil on the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in the liver of juvenile *Cynoglossus semilaevis* were studied. The change of SOD and

山东省自然科学基金(ZR2010CQ023)、国家 863 计划项目(2007AA10Z239)、国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金(200917)和中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项基金(2010-ts-01)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: chenbj@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85836341

收稿日期:2010-05-27;接受日期:2010-08-02

作者简介:夏 斌(1981-),男,助理研究员,主要从事海洋生态环境与生态毒理学研究。E-mail: xiabin@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85836341

CAT activities *versus* time showed an increase-decrease-increase trend, and the time for SOD activities to reach the peak value was shorter when exposed to the higher concentrations. In terms of the dose-effect relationship, the activities of SOD and CAT were induced by oil treatment at the lower concentrations and were suppressed at the higher concentrations. A threshold of toxic effects of the oil on the organism was observed, below which there was no toxicity, and the activities of SOD and CAT recovered to the normal level quickly after being released from the pollution stress. In this study, the threshold for CAT was in the range of 0.2~0.4 mg/L, and 1.6~3.2 mg/L for SOD. Beyond the threshold value, the rate of active oxygen production induced by the petroleum pollutant overtook the anti-oxidation eliminating activity of the defense system of the organism, incurring damage to the poisoned organism. The response of CAT activity to the petroleum pollutant was more sensitive than SOD, indicating that CAT can better reflect pollution stress and can be a bio-indicator candidate for petroleum pollution.

**KEY WORDS** Shengli crude oil *Cynoglossus semilaevis* Superoxide dismutase Catalase

海洋石油污染是当前世界各国普遍关注的污染问题之一。近年来,海上溢油事故的发生和日益繁盛的海上运输业、捕捞业使得海域中石油污染的面积和程度不断扩大加深,影响了海洋生物的生长、生存和繁殖,进而破坏海洋生态系统的结构和功能。长期低浓度的石油污染可影响海洋生物生长、发育、繁殖等生理活动,造成疾病,严重的溢油事故往往对局部海域的生态系统造成毁灭性破坏。石油污染可引起鱼、虾的回避反应,使渔场破坏或引起鱼类死亡,造成渔获量的减产。海洋生物对石油的蓄积不仅降低商业水产品的品质,而且还可以通过食物链影响人类的健康。因此石油污染对海洋生物的影响正日益引起人们的重视。关于石油污染对海洋生物的毒性效应的研究,国内外科学工作者进行了许多相关性的研究(陈民山等 1991;贾晓平等 1998;田丽粉等 2008; Eriyamremu *et al.* 2008),从化学、生理、生态、生化等不同角度反映了石油污染物的致毒乃至急性致毒效应。

酶是机体生物化学反应的重要物质,酶活性的改变可被快速、精确地测定,被认为是一种能够快速而灵敏地反映环境胁迫对生物体影响的生化指标(Cortet 1999; Scott-Fordsmand *et al.* 2000)。其中,抗氧化防御系统的重要保护酶——过氧化氢酶(Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)能在一定程度上消除活性氧自由基,维系膜系统的稳定性,降低细胞的受伤害程度。它们的活性在一定程度上能够揭示出污染物对生物的毒性机制(陈荣等 2002),当活性氧生成量增加时,其活性或含量可因为对污染物的应激而发生改变。因此,抗氧化酶作为一类有前途的分子生态毒理学指标,已引起国内外学术界的重视(Stein *et al.* 1992; Thomas *et al.* 1993;徐立红等 1995)。

半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* 是一种大型名贵暖温性底层鱼类,属鲽形目 Pleuronectiformes、舌鳎科 Cynoglossidae,俗称细鳞、牛舌头、鳎目、鳎米、龙利,主要分布于渤海、黄海海域,具有生长速度快、肉质细腻、味道鲜美、经济价值高等特点,是目前渔业生产上一种新的优良养殖对象(马爱军等 2007)。目前还未见到国内外有关石油烃对半滑舌鳎幼鱼抗氧化酶系统影响的研究报道。本实验采用半静水接触染毒法,研究了在不同暴露浓度和不同作用时间下胜利原油对半滑舌鳎幼鱼肝脏 CAT 和 SOD 活性的影响,旨在从分子水平上了解低浓度石油污染对鱼体所产生的毒性损伤情况,初步研究鱼类抗氧化酶系统对石油污染的响应机制,为进一步探讨抗氧化酶作为石油类污染的生物标志物的可行性提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

仪器:德国 SIGMA 高速低温冷冻离心机;7230G 可见分光光度计;日立 F-4600 荧光光谱仪;恒温水浴;玻璃匀浆器;试剂采用分析纯试剂。

## 1.2 实验材料及培养条件

实验所用的石油烃为胜利原油,取自山东东营胜利油田炼油厂。实验用半滑舌鳎幼鱼于2009年12月取自于山东海阳市黄海水产有限公司,体色正常,健康活泼,全长 $20.02 \pm 0.46$  cm,体重 $72.16 \pm 0.64$  g。实验前于盛有80 L海水的水族箱中驯养14d,实验用水为青岛沿海自然海水,经砂滤处理,盐度为 $31.08 \pm 0.18$ ,pH为 $8.05 \pm 0.03$ ,温度为 $20.5 \pm 0.43$  °C,连续充气,日换水率为100%,投喂“海力利海”牌半滑舌鳎专用配合饲料(青岛金海力水产科技有限公司生产),日投饵两次。选择活动能力正常、无外伤、健康、个体大小均匀的半滑舌鳎幼鱼进行试验。

## 1.3 实验设计

### 1.3.1 油类母液的制备和试验液的配置

称取胜利原油5 g左右,加入过滤海水约500 ml置于超声清洗器中连续振荡2 h,然后在室温下静置2 h,用虹吸法取表层以下的溶液作为母液,倒入棕色瓶中储存。重复上述操作以制备足够的母液备用。

### 1.3.2 试验液的配置

进行实验前,根据不同的实验要求按一定浓度等比法配置试验液系列,试验液的浓度分别为0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/L(参照国家渔业水质标准GB11607-89中所规定的石油类浓度为0.05 mg/L,6个浓度组分别为标准浓度的2、4、8、16、32、64倍),用日立F-4600荧光光谱仪测定母液和试验液的油浓度,具体操作均按照《海洋监测规范》(GB17378.4-2007)中所规定的方法进行。仪器条件为: $\lambda_{\text{Ex}} = 310$  nm,  $\lambda_{\text{Em}} = 365$  nm。

### 1.3.3 试验采用半静水接触染毒法

将驯养过的半滑舌鳎幼鱼分成7组,每组10尾,其中1组为对照组,另外6组为试验组,同时设定3个平行组。饲养箱为长方体的整理箱,水体体积为25 L。在整个实验过程中持续充气,水温为 $20.3 \pm 0.47$  °C,每隔1d换相同浓度的新鲜试验液,分别于第1、2、4、8、15天取样,随后将半滑舌鳎幼鱼全部转移到不含油污染的清洁海水中饲养,再于第16、18天取样,以研究幼鱼曝油后转移到清洁海水中抗氧化酶活性的恢复情况。全部半滑舌鳎幼鱼都于取样后投喂人工饲料,整个实验时间为18d,其余条件与驯养条件一致。

## 1.4 样品的预处理

将半滑舌鳎幼鱼活体解剖,取出肝脏,经灭菌生理盐水润洗,用滤纸吸干表面水分,迅速称取适量,加入为组织块重9倍体积的生理盐水(0.9%)中,冰浴匀浆后于4 °C条件下离心(5 000 r/min, 10 min),取上清液用生理盐水配成10%组织匀浆,然后分别稀释成2%组织匀浆用于CAT活性的测定;1%组织匀浆用于蛋白含量、SOD活性的测定。

## 1.5 组织蛋白含量及酶活性的测定

肝脏中蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法。肝脏CAT、SOD活性的测定,均采用南京建成生物公司提供的检测试剂盒,相应操作参照说明书进行。其中,CAT活性采用可见光法测定,单位为U/mg蛋白;SOD活性采用黄嘌呤氧化酶法测定,活力单位定义为每mg组织蛋白在1ml反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为1个SOD活力单位(U/mg蛋白)。

## 1.6 数据处理

实验结果进行统计处理。酶活性数据均为平均值±标准差(Means±SD)( $n=3$ )。数据用SPSS 13.0 (Statistical Package for Social Sciences)统计软件进行方差分析(ANOVA),并用均值多重比较分析法(LSD法)检验组内及组间的差异显著性。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性的影响

如表 1 所示,0.1 mg/L 浓度组,染毒后第 1、2、4、8 天半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性与对照组无显著差异 ( $P>0.05$ ),第 15 天显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。0.2 mg/L 浓度组,染毒后第 4 天达到一个高峰后,极显著高于对照组 ( $P<0.01$ ),第 8 天略有下降 ( $P<0.05$ ),第 15 天达到最高值 ( $P<0.05$ )。0.4 mg/L 浓度组,第 1、2、4 天半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性与对照组无显著差异 ( $P>0.05$ ),第 8 天 CAT 活性极显著高于对照组 ( $P<0.01$ )。0.8 mg/L 浓度组,CAT 活性在第 2 天达到一个高峰后迅速下降,在第 4 天降到最低值,然后第 8 天达到最高值,极显著高于对照组 ( $P<0.01$ )。1.6、3.2mg/L 浓度组的 CAT 活性变化基本一致,在第 1 天即达到最高值,极显著高于对照组 ( $P<0.01$ ),随后降低,在第 4 天降到最低值,显著低于对照组 ( $P<0.05$ )。从时间-效应关系分析,在这个染毒过程中,半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性随时间总体呈现升高-降低-升高的趋势,并且随着暴露浓度的增加,出现高值的时间提前。从剂量-效应关系分析,在整个染毒过程中,半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性总体呈现低浓度诱导、高浓度抑制的过程。

表 1 胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性的影响(平均值±标准差)

Table 1 Effect of Shengli crude oil on the activity of CAT in the liver of juvenile *Cynoglossus semilaevis* (Means ± SD)

石油浓度 Petroleum concentration (mg/L)	CAT 活力 CAT activity(U/mg 蛋白)				
	1d	2d	4d	8d	15d
0	3.48±0.38	3.27±0.40	3.37±0.25	3.71±0.66	3.78±0.70
0.1	3.22±0.93	3.77±0.36	2.03±0.22	3.13±0.68	5.01±0.76 <sup>a</sup>
0.2	3.16±0.94	3.08±0.75	4.59±0.29 <sup>b</sup>	4.21±0.97 <sup>a</sup>	5.23±0.93 <sup>a</sup>
0.4	3.21±0.18	3.41±0.43	3.27±0.87	5.51±0.90 <sup>b</sup>	4.67±0.42
0.8	3.29±0.95	5.21±0.32 <sup>b</sup>	1.71±0.18	9.61±0.52 <sup>b</sup>	4.42±0.50
1.6	5.45±0.58 <sup>b</sup>	2.30±0.32 <sup>a</sup>	1.52±0.45 <sup>a</sup>	1.88±0.74	4.98±0.91
3.2	4.32±0.20 <sup>b</sup>	3.74±0.36	1.28±0.31 <sup>b</sup>	1.55±0.70	4.26±0.50

注:a 表示不同浓度试验组与对照组之间存在显著差异 ( $P<0.05$ ); b 表示极显著差异 ( $P<0.01$ )。下同

Note: a. significant difference between the treatment and the control group ( $P<0.05$ ); b. highly significant difference between the treatment and the control group ( $P<0.01$ ). Same in the following tables and figures

如图 1 所示,污染胁迫解除后对 CAT 活性的影响:0.1、0.2 mg/L 浓度组在第 16 天(停止曝油后 1d)和第 18 天(停止曝油后 3d)CAT 活性恢复到正常水平,与对照组不存在显著差异,表明低浓度时机体可以自我修复自由基造成的氧化损伤。0.4、0.8、1.6 mg/L 浓度组在第 18 天(停止曝油后 3d)CAT 活性与对照组存在显著差异 ( $P<0.05$ ),3.2 mg/L 浓度组在第 18 天(停止曝油后 3d)CAT 活性与对照组存在极显著差异 ( $P<0.01$ )。污染物对生物的致毒效应存在一定的阈值。在这个阈值内机体未发生中毒反应,污染胁迫解除后也能较快地恢复到正常水平。污染胁迫解除后,不同浓度组 CAT 活性的恢复情况存在差异,这表明污染物对生物体的毒性效应存在一定的阈值,当污染对生物体的作用超过机体的

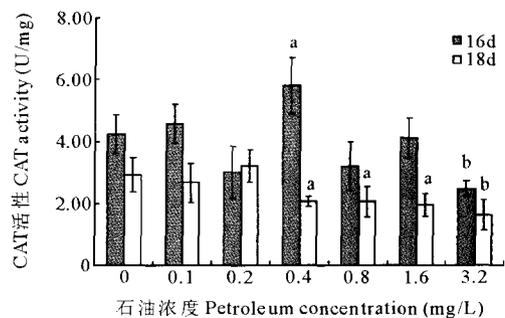


图 1 污染胁迫解除后半滑舌鲷幼鱼肝脏 CAT 活性  
Fig. 1 Activity of CAT in the liver of juvenile *C. semilaevis* after releasing from the pollution stress

恢复情况存在差异,这表明污染物对生物体的毒性效应存在一定的阈值,当污染对生物体的作用超过机体的

适应能力时,生物体出现中毒反应,即使解除污染胁迫后,生物体的 CAT 活性也不能恢复到正常水平。在本实验中阈值应在 0.2~0.4 mg/L 之间。

在整个污染暴露过程中,6 个浓度组的酶活性大多被诱导,低浓度组最为突出,而恢复 3d 后 6 个浓度组酶活性大多被抑制,高浓度组尤为显著,这说明 CAT 发挥作用具有条件性或阶段性,这也是以后对抗氧化酶活性探讨的重点。

## 2.2 胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性的影响

如表 2 所示,0.1、0.2 mg/L 浓度组,染毒后第 1、2、8、15 天半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性与对照组无显著差异( $P>0.05$ ),第 4 天极显著高于对照组( $P<0.01$ )。0.4、0.8 mg/L 浓度组,染毒后半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性先升高,第 4 天达到一个高峰值,与对照组呈极显著差异( $P<0.01$ ),然后下降,到 15d 时略有升高。1.6、3.2 mg/L 浓度组 SOD 活性变化与中浓度趋势基本相同,但是达到高峰值的时间提前,例如,3.2mg/L 浓度组在第 2 天时 SOD 活性达到最高值,与对照组呈极显著差异( $P<0.01$ )。此外,随着暴露时间的延长,6 个浓度组的酶活性变化并非持续增加,说明可能是由于机体内抗氧化防御系统其他成分的介入,也可能是由于肝脏中该酶代谢外源化合物的能力饱和,使鱼出现中毒反应,致使其酶活性降低。从时间-效应关系分析,在整个染毒过程中,半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性随时间总体呈现升高-降低-升高的趋势,并且随着暴露浓度的增加,出现高值的时间提前。从剂量-效应关系分析,半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性呈现出稳定性,但总体来看还是呈现出低浓度诱导、高浓度抑制的过程。

表 2 胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性的影响(平均值±标准差)

Table 2 Effect of Shengli crude oil on the activity of SOD in the liver of juvenile *C. semilaevis* (Means ± SD)

石油浓度 Petroleum concentration (mg/L)	SOD 活力 SOD activity(U/mg 蛋白)				
	1d	2d	4d	8d	15d
0	41.27±1.71	68.92±0.39	68.73±2.85	68.32±4.56	87.90±8.87
0.1	43.95±1.70	70.51±5.30	81.80±1.10 <sup>b</sup>	76.66±11.71	87.71±2.29
0.2	36.88±8.04	74.76±8.22	83.40±6.79 <sup>b</sup>	69.25±8.76	86.00±2.40
0.4	41.88±1.48	77.42±2.25	81.46±8.41 <sup>b</sup>	49.90±5.65 <sup>b</sup>	88.42±8.82
0.8	43.90±0.73	75.95±5.01	97.31±2.02 <sup>b</sup>	61.67±1.14	89.61±2.29
1.6	42.82±5.30	77.02±2.20	100.58±3.48 <sup>b</sup>	74.93±0.59	85.62±2.47
3.2	38.44±4.21	137.42±10.45 <sup>b</sup>	65.28±0.67	53.42±7.70 <sup>a</sup>	84.28±0.50

如图 2 所示,污染胁迫解除后对 SOD 活性的影响:0.1、0.2、0.4 mg/L 浓度组在第 16 天(停止曝油后 1d)和第 18 天(停止曝油后 3d)SOD 活性恢复到正常水平,与对照组不存在显著差异,表明低浓度时机体可以自我修复自由基造成的氧化损伤。0.8、1.6 mg/L 浓度组在第 16 天(停止曝油后 1d)SOD 活性极显著高于对照组( $P<0.01$ ),但在第 18 天(停止曝油后 3d)SOD 活性恢复到正常水平。3.2 mg/L 浓度组在第 16 天(停止曝油后 1d)和第 18 天(停止曝油后 3d)SOD 活性与对照组均极显著高于对照组( $P<0.01$ )。污染胁迫解除后,不同浓度组 SOD 活性的恢复情况存在差异,这表明污染物对生物体的

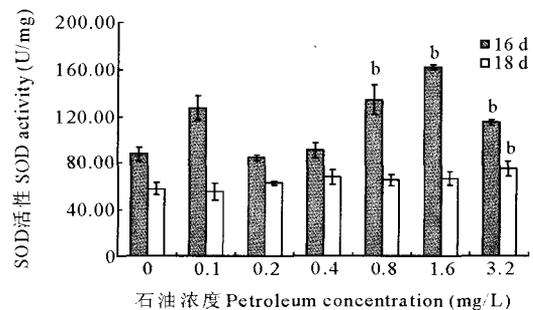


图 2 污染胁迫解除后半滑舌鲷幼鱼肝脏 SOD 活性  
Fig.2 Activity of SOD in the liver of juvenile *C. semilaevis* after releasing from the pollution stress

毒性效应存在一定的阈值,当污染对生物体的作用超过机体的适应能力时,生物体出现中毒反应,即使解除污染胁迫后,生物体的 SOD 活性也不能恢复到正常水平。在本实验中阈值应在 1.6~3.2 mg/L 之间。

### 3 讨论

#### 3.1 胜利原油对半滑舌鳎幼鱼肝脏 CAT 活性的影响

过氧化氢酶(CAT)是存在于生物体内的非常重要的抗氧化防御性功能酶,可与谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等一起清除超氧化物歧化酶歧化超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )产生的过氧化氢( $H_2O_2$ ),因而其在生物体的抗氧化防御系统中占有重要地位。当生物体处于污染胁迫状态时,机体内同时存在着两种反应,即:自由基诱导的抗氧化酶活性增强及自由基对细胞和抗氧化酶的直接毒性损伤而引起的抗氧化酶活性下降。陈家长等(2008)研究了低浓度阿特拉津对鲫鱼 CAT 活性的影响,结果表明,低浓度阿特拉津(0.1~1.0mg/L)对鲫鱼肝脏、肾脏、肌肉 CAT 活性均产生诱导作用;而高浓度阿特拉津(5.0~10.0 mg/L)对这些组织器官 CAT 活性均产生抑制作用。

本实验在整个石油污染暴露过程中,6个浓度组胜利原油对半滑舌鳎幼鱼肝脏 CAT 活性影响的剂量-效应关系总体上也呈现低浓度诱导,高浓度抑制的过程,它表明随着污染浓度的升高,生物的解毒系统先是表现为正诱导反应,然后是负诱导反应,最后则是抑制反应。说明解毒系统对污染有一定的适应能力,正诱导反应说明其解毒能力随着浓度的升高而升高,负诱导反应说明其解毒能力随着污染浓度的升高而降低,尽管二者总的都表现为对污染的适应性反应;抑制性反应说明污染对生物的毒性效应占优势,超过解毒系统的功能水平,并使之产生中毒反应。以第8天 CAT 活性的变化为例,0.2、0.4、0.8mg/L 的石油浓度对 CAT 产生正诱导作用,CAT 活性增加;当石油浓度为 1.6、3.2mg/L 时,超过了它的耐受性阈值,细胞受到严重伤害,导致其应激能力下降,CAT 活性降低,表现为抑制反应。负诱导反应应该出现在 0.8~1.6mg/L 石油浓度之间。

#### 3.2 胜利原油对半滑舌鳎幼鱼肝脏 SOD 活性的影响

SOD 主要分布于胞浆和线粒体的基质中,是催化超氧阴离子发生歧化反应的一类金属酶,是机体防御过氧化损害系统的关键酶之一。其基本功能是清除生物体内过高浓度的超氧离子自由基,保持体内自由基的代谢平衡,从而减轻自由基对多不饱和脂肪酸的过氧化作用,保持细胞正常的代谢不受破坏。在生理状态下,当某些污染物在体内进行生物转化时,会产生氧化还原循环生成大量的活性氧如  $O_2^-$ 、OH、 $H_2O_2$  等,这些活性氧又可使 DNA 断裂、脂质过氧化、酶蛋白失活等,从而引起机体氧化应激反应,在这些活性氧产生及转化中 SOD 等起着非常重要的作用(徐立红等 1995)。近年研究表明,SOD 酶活性与生物的免疫水平密切相关,可用它们的活性变化作为机体非特异性免疫指标,甚至定量指标(赵红霞等 2003),其活力的变化反映了机体抵制自由基损伤的能力(孙虎山等 2000)。已有的研究表明,大弹涂鱼暴露于苯并(a)芘,SOD 活性都能够显著诱导(冯涛等 2001);Morris(1987)研究发现,污染河流中野生鱼肝脏的 SOD 活性比未污染河流野生鱼肝脏的 SOD 活性高。

SOD 清除  $O_2^-$  的能力与其含量和活性有关,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时,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(王淑红等 2000)。这与本实验中 6 个浓度组的剂量-效应关系总体上呈现低浓度诱导、高浓度抑制的过程相一致。

SOD 活性对照组在第 15 天相对第 1 天有较大的升高,这可能是由于日投饵量偏少,饥饿性营养胁迫对半滑舌鳎幼鱼肝脏 SOD 活性产生影响,并且与 CAT 活性相比,SOD 活性对饥饿胁迫更加敏感。所以随着实验时间的延长,SOD 活性出现不稳定性。

#### 3.3 SOD 和 CAT 作为石油类污染生物标志物的可行性分析

受污染的水域环境,使用化学分析方法能够检测出污染物的种类和含量,但难以评估这些污染物的潜在毒性。以往在评价污染物对水生生物的毒性效应时,常用半致死浓度( $LC_{50}$ )作为评价指标(王国祥 1998),而存

在于环境中的污染物经常是以低浓度、长时间作用于生物体,因此需要寻求更灵敏的毒理学评价指标。鱼类在水生生态系统中处于较高的营养级,并与人类生活密切相关,而且鱼类对水质的变化很敏感。由于目前水体污染的复杂性和严重性,常规的水生生态毒理方法已经不能满足需要,而生物体内抗氧化防御系统检测技术已被广泛应用于生态毒理学领域,可以比较灵敏地反应鱼体生理生化的状况,进而评价环境污染对鱼类的影响程度。污染物对生物的致毒效应存在一定的阈值。在这个阈值内机体未发生中毒反应,污染胁迫解除后也能较快的恢复到正常水平。在本实验中,石油污染对半滑舌鳎幼鱼肝脏 CAT 活性影响的阈值在 0.2~0.4 mg/L 之间,而对 SOD 活性影响的阈值在 1.6~3.2 mg/L 之间。所以在此阈值以上,表明石油污染导致机体产生活性氧的速度超过机体抗氧化防御系统的清除能力,损伤作用占主导地位,使机体发生毒性效应。半滑舌鳎幼鱼肝脏 CAT 活性对石油污染的响应相对于 SOD 更加敏感,所以更能反映出环境中氧化污染的胁迫。

污染胁迫下,抗氧化酶活性随暴露时间延长而变化的过程是一个值得探讨的问题。Wenning 等(1988)研究了贻贝暴露于 129~514mg/L 百草枯 36 h 内抗氧化酶活性的变化,发现其消化腺 CAT 和 SOD 活性在 6~12 h 升至最高,至 24h 则恢复到对照组水平。冯 涛等(2001)研究了大弹涂鱼暴露于 30 g/L 的苯并(a)芘抗氧化酶活性的变化,发现其 SOD 活性在第 3 天达到最大值,随后逐步降低。在本实验中,暴露于 3.2 mg/L 胜利原油浓度中的半滑舌鳎幼鱼,其肝脏 CAT 活性在第 1 天达到最高值,随后逐渐降低,在 15d 时又达到一个高峰值;而 SOD 活性则在第 2 天达到最高值。从以上研究可以看出,抗氧化酶活性变化是一个动态的过程,受多种因素的影响,如污染物种类及浓度、实验动物等均会影响到这一过程,因而研究污染胁迫下抗氧化酶活性作为污染物的生物标志物,应同时考虑到其他可能的影响因素,并结合其他的指标(蛋白失活、DNA 损伤、脂质过氧化)以及其他抗氧化功能酶才能做出较为准确的判断。

## 参 考 文 献

- 马爱军,王新安,庄志猛,翟介明,李 波. 2007. 半滑舌鳎与摄食行为相关的特定感觉器官研究. 海洋与湖沼, 38(3): 240~245
- 王同祥. 1998. 浅谈我国水生生物监测技术规范的修订. 环境监测管理与技术, 10(3): 21~25
- 王淑红,王新红,陈 荣,郑微云,洪华生. 2000. 荧蒽、菲、芘对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)超氧化物歧化酶的影响. 厦门大学学报(自然科学版), 39(4): 504~508
- 冯 涛,郑微云,洪万树,彭 耿. 2001. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化酶活性影响的初步研究. 应用生态学报, 12(3): 422~424
- 田丽粉,任 仲,崔 毅,陈碧鹃,矫国本,王学端,张旭光. 2008. 胜利原油对褐牙鲆仔稚鱼的急性毒性和幼鱼碱性磷酸酶的影响. 海洋水产研究, 29(6): 95~100
- 孙虎山,李光友. 2000. 栉孔扇贝血淋巴中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其性质的研究. 海洋与湖沼, 31(3): 259~265
- 陈民山,范贵旗. 1991. 胜利原油对海洋鱼类胚胎及仔鱼的毒性效应. 海洋环境科学, 10(2): 1~5
- 陈 荣,郑微云,余 群,张 勇. 2002. 石油污染对僧帽牡蛎(*Ostrea cucullata*)抗氧化酶的影响. 环境科学学报, 22(3): 385~388
- 陈家长,孟顺龙,胡庚东,瞿建宏,吴 伟. 2008. 低浓度阿特拉津对鲫鱼过氧化氢酶(CAT)活性的影响. 农业环境科学学报, 27(3): 1 151~1 156
- 赵红霞,张艳秋,黄 磊,褚玲娜,詹 勇. 2003. 虾类的免疫系统与免疫防治. 中国兽医杂志, 39(1): 42~44
- 贾晓平,林 钦. 1998. 南海原油和燃料油对仔虾和仔鱼的急性毒性试验. 热带海洋, 17(1): 93~97
- 徐立红,张雨元,陈宜瑜. 1995. 分子毒理学的研究进展及其在水环境保护中的意义. 水生生物学报, 19(2): 171~185
- Cortet, J. 1999. The use of soil fauna in monitoring pollutants effects. Eur. J. Soil Biol. 35: 115~134
- Eriyamremu, G. E., Osagie V. E., Omoregie, S. E., and Omofoma, C. O. 2008. Alterations in glutathione reductase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation of tadpoles (*Xenopus laevis*) exposed to Bonny Light crude oil and its fractions. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71: 284~290
- Morris, H. 1987. Temporal changes in AHH and SOD activities in feral spot from the Elizabeth river, a polluted subestuary. Mar. Environ. Res. 23: 89~101
- Scott-Fordsmand, J. J., and Weeks, J. M. 2000. Biomarkers in earthworms. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 165: 117~159
- Stein, J. E., Collier, T. K., Reichert, W. L., Casillas, E., Hom, T., and Varanasi, U. 1992. Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects: Studies with benthic fish in puget sound, Washington. Environmental Toxicology and Chemistry, 11: 701~714
- Thomas, P., and Wofford, H. W. 1993. Effects of cadmium and Aroclor 1254 on lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity, and selected antioxidants in Atlantic croaker tissues. Aquatic Toxicology, 27: 159~178
- Wenning, R. J., Di Giulio, R. T., and Gallagher, E. P. 1988. Oxidant-mediated biochemical effects of paraquat in the ribbed mussel, *Geukensia demissa*. Aqual. Toxicol. 12: 157~170