

三唑磷对斑节对虾肝胰腺和鳃的氧化胁迫效应

李红艳^{1,2}, 张喆¹, 陈海刚¹, 马胜伟¹, 陈炜婷³, 王涛⁴, 蔡文贵^{1*}

(1. 农业部南海渔业资源环境科学观测实验站, 广东省渔业生态环境重点实验室, 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 210306; 3. 广州大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 4. 青岛中油华东院安全环保有限公司, 山东 青岛 266071)

摘要:采用半静态毒性实验方法测定了三唑磷(Triazophos, OP)对斑节对虾(*Penaeus monodon*)的96 h LC₅₀值,同时研究了低(0.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、中(0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、高(1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)浓度OP胁迫1、3、7、14 d和清水恢复7 d后斑节对虾肝胰腺和鳃中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)的变化趋势。结果表明:在胁迫期间SOD、GPx活性都受到了显著的诱导和抑制,呈一定的变化规律;MDA含量随胁迫时间延长显著升高。肝胰腺T-AOC在低浓度OP胁迫下呈升高-下降-升高的变化趋势,高浓度则显著下降;鳃T-AOC显著升高,而随胁迫时间延长,T-AOC显著降低。经清水恢复7 d后,各浓度组肝胰腺SOD活性仍然显著低于空白组,MDA含量和T-AOC显著高于空白组。低浓度组鳃SOD、T-AOC显著高于空白组,MDA含量和中、高浓度SOD能恢复到正常水平,T-AOC则显著低于空白组。肝胰腺和鳃GPx活性变化情况相同,均为低、中浓度显著升高,高浓度显著下降。上述结果显示,OP对斑节对虾的抗氧化系统有显著的影响,且具有组织特异性,肝胰腺对OP较为敏感。斑节对虾对一定浓度OP所带来的氧化损伤具有一定的自我修复能力,但在短期内无法完全修复。

关键词:三唑磷;斑节对虾;肝胰腺;鳃;抗氧化酶

中图分类号:X592 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)12-2345-07 doi:10.11654/jaes.2013.12.006

Effects of Triazophos on Antioxidant Defense System of Hepatopancreas and Gills in *Penaeus monodon*

LI Hong-yan^{1,2}, ZHANG Zhe¹, CHEN Hai-gang¹, MA Sheng-wei¹, CHEN Wei-ting³, WANG Tao⁴, CAI Wen-gui^{1*}

(1. Key Scientific Observation Station for South China Sea Fishery Resources and Environment, Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Fishery Ecology Environment, Guangdong Province of China; South China Sea Fisheries Research Institute, CAFS, Guangzhou 510300, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. School of Environmental Science and Engineering, Guangzhou 510006, China; 4. Qingdao China Petroleum East China Design Institute Safety and Environment Protection Co., Ltd., Qingdao 266071, China)

Abstract: A semi-static toxicity test was used to determine the 96 hour median lethal concentration (96 h LC₅₀ value) of triazophos (OP) on *Penaeus monodon*. Changes in activities of antioxidant enzymes [Superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx)], malondialdehyde (MDA) content, and total antioxidant capacity (T-AOC) in hepatopancreas and gills of *Penaeus monodon* were also studied immediately and 7 days of recovering in clean seawater after exposure to triazophos at 0.3 (low), 0.5 (middle) and 1 (high) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 1, 3, 7 days and 14 days. Activities of SOD and GPx were induced up to 7 days and then inhibited. Contents of MDA increased as the exposure time increased. At low doses of triazophos, T-AOC in the hepatopancreas followed an up-down-up pattern, while significantly decreased at high doses of triazophos. The gills T-AOC increased significantly at the first day, but decreased after that. Recovery in clean seawater for 7 days still significantly inhibited SOD activity, but increased MDA and T-AOC in hepatopancreas compared with the control group. After 7 days recovery of gills, the SOD and T-AOC were still significantly elevated at low doses of triazophos, whereas T-AOC significantly decreased, but the SOD activity at middle and high doses of triazophos and MDA showed no difference, as compared with the control group. The GPx in

收稿日期:2013-03-27

基金项目:中国水产科学研究院基本科研业务费(2013A0301);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2013TS14);海南省社会发展科技专项资金项目(XH201312)

作者简介:李红艳(1987—),女,硕士研究生,研究方向为环境毒理学。E-mail:lihongyan7728@126.com

*通信作者:蔡文贵 E-mail:wenguicai@tom.com

hepatopancreas and gills significantly increased at low and middle, but decreased at high doses of triazophos. These results indicate that triazophos has tissue-specific impacts on the antioxidant system of *P.monodon* with hepatopancreas more sensitive, and that *P. monodon* has limited self-repair capacity under the triazophos stress.

Keywords: triazophos; *Penaeus monodon*; hepatopancreas; gills; antioxidant enzymes

三唑磷(Triazophos, OP)化学名称为 O,O-二乙基-O-(1-苯基-1,2,4-三唑-3-基)硫代磷酸酯,是乐果、有机氯农药的更新替代用品,用于水稻等多种作物的害虫防治,也用作水产养殖清塘剂,在我国应用广泛,是一种光谱有机磷杀虫剂^[1]。随着甲胺磷等5种农药及其复配产品的禁用,OP使用量加大,已成为一种常见的环境污染物,其对生物体的毒性也相继被报道^[2-6]。超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、丙二醛(MDA)等抗氧化防御系统指标广泛用于有机污染物的生态毒理学研究。丁爱侠等^[7]研究了OP对日本鲟体内5种组织保护酶系统的影响,发现保护酶在OP作用下发生了变化,低水平OP能对酶产生一定的刺激作用,而高浓度会抑制酶的活性。国际海洋监测委员会(ICES)于1994年颁布推荐的海洋污染早期生化监测指标中就有包括SOD在内的抗氧化防御系统。机体的总抗氧化能力(T-AOC)分为酶促和非酶促反应两部分,当机体受到某种损伤时,体内的抗氧化物质增多,T-AOC则会相应增高。

目前,OP对海洋生物,特别是甲壳类的氧化胁迫的研究还较少,且生物体在染毒后能否通过清水暂养来恢复机体功能也亟需探讨。本项研究采用半静态毒性实验方法研究了不同浓度胁迫和清水恢复两个阶段,OP对斑节对虾肝胰腺和鳃抗氧化酶(SOD、GPx)活性、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)的影响,探讨OP对斑节对虾肝胰腺、鳃的氧化胁迫效应和致毒机制。上述结果为评价OP对海洋甲壳动物免疫系统影响机制提供了基础数据,为进一步开展OP的致毒机理提供理论依据,进而为海洋环境有机磷农药污染评价和海水养殖的健康可持续发展提供参考。

1 材料方法

1.1 试验生物与条件

实验在中国水产科学研究院南海水产研究所深圳试验基地进行。实验用斑节对虾购自中国水产科学研究院南海水产研究所深圳试验基地,体长5~8 cm,平均体重4.2 g。实验容器为400 L的玻璃圆型桶,实验期间OP暴露溶液量为80 L,实验海水为经沉淀

砂滤后的天然海水,pH7.6~8.0,盐度为35,温度为26~28℃。实验动物在实验条件下暂养7 d,每2 d换水1次,定时投喂饲料,日死亡率低于1%时可用于正式实验,实验期间连续充气。

1.2 试剂与仪器

OP($C_{12}H_{16}N_3O_3PS$)购于阿拉丁试剂公司,纯度≥97%(HPLC)。酶活试剂盒购自南京建成生物工程有限公司,其他试剂购自广州化学试剂厂。OP溶于丙酮制成 $25\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液备用,实验时再按需要用海水稀释成所需浓度。采用Bio-Rad公司生产的iMark酶标仪。

1.3 实验方法

1.3.1 急性毒性实验

预实验时,以设置的最高OP浓度组($25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)中的丙酮含量($10\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$)设置丙酮对照组,在实验过程中受试生物未出现死亡,且正式实验OP浓度和丙酮含量均低于预实验。因此,根据预实验所得结果没有设置丙酮对照组,设1.00、1.60、2.50、4.00、6.30、10.00、15.80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 7个OP浓度组。每组设2个平行,每个平行各放入10只斑节对虾。实验开始前24 h停止喂食,实验持续96 h。每48 h更换全部试液以保持稳定的实验浓度,每12 h观察和记录实验生物的存活状态及死亡个数,及时捞出死亡个体。

1.3.2 慢性毒性实验

根据96 h LC_{50} 值,在其1/5~1/20之间选择3个浓度,即 $1.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高浓度组、 $0.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的中浓度组和 $0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低浓度组,并设空白对照组。每组2个平行,每个平行放入50只斑节对虾。实验过程中每48 h更换全部试液,采用自然光照,保持水温在26℃左右,每日定时投喂饲料。连续暴露14 d后,将各浓度组的斑节对虾转入清洁海水中,进行7 d的清水恢复实验,同样每48 h更换清洁海水。

1.4 样品的采集与测定

分别于胁迫第1、3、7、14以及清水恢复的第7 d采取样品,每个浓度组分别随机抽取6只斑节对虾,迅速在冰上取出肝胰腺、鳃和肌肉组织装入预先标记好的1.5 mL塑料离心管,并迅速保存于液氮中。测定时取出组织样,液氮研磨后用预冷的Tris-HCL缓冲

液 ($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris, $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, pH 值 7.5) 匀浆, 4°C 下 $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后, 取上清液进行实验。组织匀浆比例为 1:10 (组织质量 g: 缓冲液体积 mL)。各抗氧化酶活性和蛋白含量的测定均按试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 说明书进行。酶活力单位定义为催化每毫克底物转化为产物所需要的酶量。

1.5 数据分析

急性毒性实验数据用 Bliss 法计算出 OP 对斑节对虾的 96 h 半致死浓度 (96 h LC_{50}); 慢性毒性实验数据采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 结果用平均值 ($\bar{X}$) $\pm$ 标准偏差 (SD) 表示。采用单因素方差分析法 (one-way ANOVA) 分析胁迫引起的差异, 用 Duncan 法比较组间数据, $P < 0.05$ 时为显著性差异, $P < 0.01$ 时为极显著性差异, 用回归方法做相关性检验。

2 结果与分析

2.1 急性毒性实验

急性毒性实验的结果显示, 斑节对虾在 1.00、1.60、2.50、4.00、6.30、10.00、15.80 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度组中 96 h 的死亡率分别为 10%、20%、20%、30%、50%、60%、90%。用 Bliss 法计算得出 OP 对斑节对虾 96 h LC_{50} 为 5.86 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 OP 对肝胰腺的氧化胁迫

OP 胁迫与清水恢复阶段斑节对虾肝胰腺中 SOD、G-Px 活性、MDA 含量和 T-AOC 的影响见图 1。从图 1 A 中可以看出, OP 胁迫第 1 d, 低、中浓度组 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$)。随着时间的延长, 高浓度组 SOD 活性也极显著被诱导, 到胁迫第 3 d, 3 个浓度组酶活诱导率分别为 135.47%、123.92%、114.29%, 活性极显著高于空白组 ($P < 0.01$)。第 7 d 时, SOD 活性出现回落, 被显著抑制, 活性显著低于空白组 ($P < 0.05$)。经 7 d 清水恢复后, 各浓度组 SOD 活性还是显著低于空白组。

OP 胁迫下肝胰腺 GPx 变化如图 1B 所示。OP 胁迫 1 d 时低浓度组活性显著高于空白组, 表现出诱导效应, 而高浓度组则显著被抑制。随时间的延长, 低浓度组在第 3 d 时 GPx 活性降至 $141.271 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$, 与空白组相比无显著性差异; 中、高浓度组活性持续降低, 高浓度组 GPx 抑制率为 27.44%。随胁迫时间的持续延长, 第 7 d 时中浓度组 GPx 活性被诱导, 极显著高于空白组 ($P < 0.01$); 14 d 时高浓度组活性也被诱导, 同时低浓度组 GPx 活性也再次被诱导, 且显著高于空

白 ($P < 0.05$)。经清水恢复后, 低、中浓度组 GPx 活性仍然显著高于空白组, 而高浓度组则显著低于空白组。

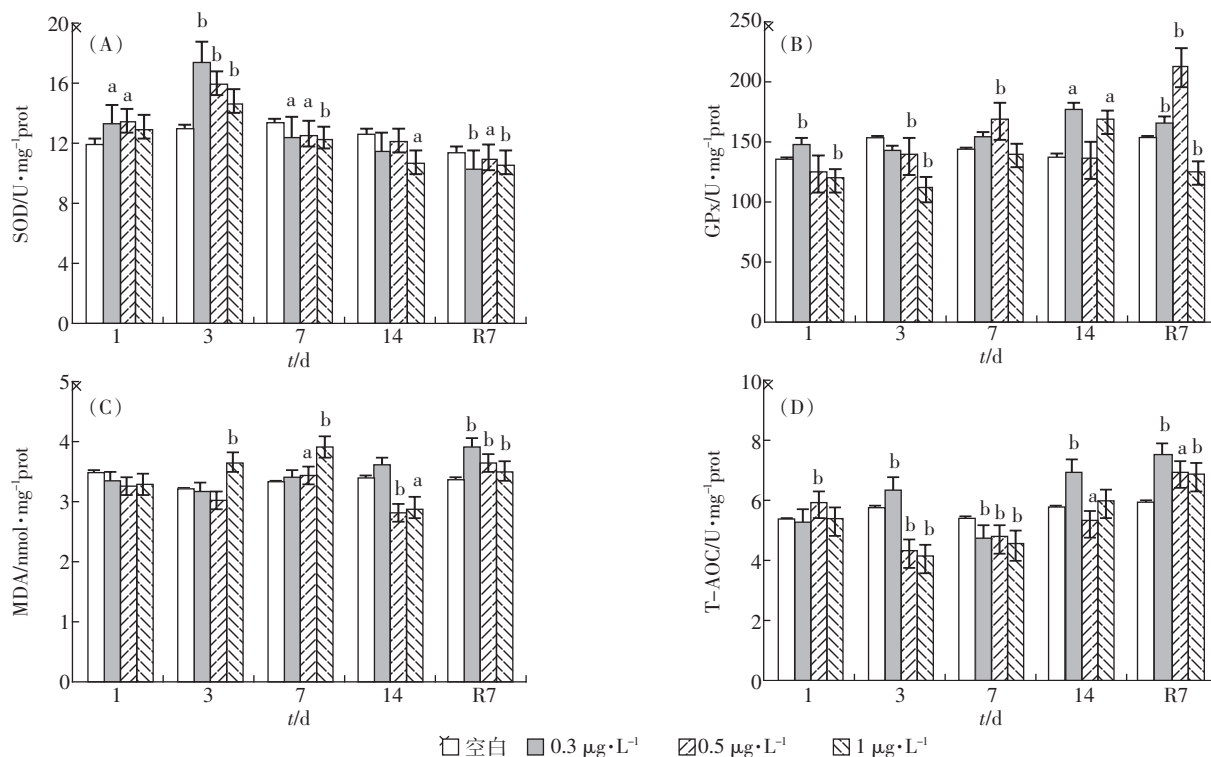
斑节对虾肝胰腺 MDA 含量在 OP 胁迫下的变化情况如图 1C 所示。低浓度组在整个胁迫过程中 MDA 含量均无显著变化, 而清水恢复后含量却极显著高于空白组 ($P < 0.01$)。随胁迫时间的延长, 高浓度组在胁迫的第 3 d, MDA 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。第 7 d, 高浓度组含量继续升高, 比空白组高 18.3%, 中浓度组含量也显著高于空白组 ($P < 0.05$)。胁迫继续进行到第 14 d, 中、高浓度组 MDA 含量, 分别下降到 2.81、2.89 $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$, 显著低于空白组。清水恢复后各组含量显著升高, 极显著高于空白组 ($P < 0.01$)。

在 OP 胁迫下肝胰腺 T-AOC 的变化情况如图 1D 所示。在胁迫第 1 d, 中浓度组 T-AOC 极显著升高 ($P < 0.01$), 低、高浓度组无显著变化。胁迫延长到第 3 d, 低浓度组 T-AOC 升高, 极显著高于空白组 ($P < 0.01$), 中、高浓度组极显著下降 ($P < 0.01$), 降至 4.275、4.096 $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$, 分别为空白组的 73.96%、70.87%。时间延长至第 7 d, 低浓度组 T-AOC 极显著下降, 3 个浓度组均极显著低于空白组 ($P < 0.01$)。到胁迫的第 14 d, 3 个浓度组 T-AOC 均升高, 低浓度组极显著高于空白组 ($P < 0.01$), 但中浓度组还是显著受到抑制 ($P < 0.05$), 高浓度组与空白无显著性差异。清水恢复后, 各浓度组 T-AOC 均显著高于空白组。

2.3 OP 对鳃的氧化胁迫

OP 胁迫与清水恢复阶段斑节对虾鳃中 SOD、GPx 活性、MDA 含量和 T-AOC 水平变化见图 2。由图 2A 可以看出, 在 OP 胁迫初期 (1 d), 各浓度组 SOD 活性就极显著的被诱导, 显著高于空白组 ($P < 0.01$)。随时间的延长, 胁迫第 7 d 时, 低浓度组诱导幅最大, 诱导率为 151.07%; 中、高浓度 SOD 活性也极显著高于空白组 ($P < 0.01$); 第 14 d 时低浓度组活性有所降低, 但还是极显著高于空白组 ($P < 0.01$), 中、高浓度组活性继续升高, 活性分别为 26.807、28.272 $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$; 清水恢复 7 d 后, 除低浓度组极显著高于空白组外, 中、高浓度组与空白组无显著性差异。

OP 胁迫下斑节对虾鳃 GPx 活性变化如图 2B 所示。在 OP 胁迫的第 1 d, 各浓度组 GPx 活性都被诱导, 极显著高于空白组 ($P < 0.01$), 其中中浓度组诱导幅度最大, 诱导率为 144.67%。胁迫第 3 d 时, 各浓度组 GPx 活性极显著降低 ($P < 0.01$), 第 7 d 降至最低, 分别为 118.917、116.799、124.051 $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$ 。胁迫持续到第 14 d 时, GPx 活性又极显著升高 ($P < 0.01$)。经 7



R7 表示清水恢复阶段, a 表示与对照组在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$), b 表示与对照组在 0.01 水平上差异显著 ($P < 0.01$), 下同

R7—7 day recovery, a and b above bars indicate significant difference from the corresponding controls at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively. The same below

图1 不同浓度组 OP 胁迫下斑节对虾肝胰腺中 SOD、GPx 活性、MDA 含量和 T-AOC 的影响

Figure 1 Effects of triazophos on SOD and GPx activities, MDA content, and T-AOC in hepatopancreas of *P. monodon*

d 的清水恢复后,低、中浓度组 GPx 活性极显著高于空白组,高浓度组活性极显著下降。

斑节对虾鳃 MDA 含量变化如图 2C 所示,3 个浓度组在胁迫开始 1d 时 MDA 含量就显著升高,高于空白组。随胁迫时间的延长,低浓度组 MDA 含量继续升高,中、高浓度组含量均下降,但与空白组无显著性差异。到第 7d 时,3 个浓度组 MDA 含量均下降,与空白组相比无显著性差异。胁迫第 14d,低浓度组和高浓度组 MDA 含量再次升高,分别显著高出空白组 33.68% 和 19.7%。清水恢复后,各浓度组与空白组相比均无显著性差异。

鳃 T-AOC 变化情况如图 2D。胁迫初期各浓度组 T-AOC 均极显著高于空白组 ($P < 0.01$),高浓度组 T-AOC 最高,为 $1.315 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{prot}$ 。随时间的延长,各浓度组 T-AOC 逐渐下降,第 3d 时高浓度组降至最低 ($P < 0.01$),为空白组的 35.36%。胁迫第 7d,低、中浓度组 T-AOC 显著下降,显著低于空白组 ($P < 0.05$);高浓度组 T-AOC 升高,但还是极显著低于空白 ($P < 0.01$)。在第 14d 时,高浓度组升高至与空白组相比差异不显著。经 7d 清水恢复后,低、中浓度组 T-AOC

升高,低浓度显著高于空白组 ($P < 0.05$),但中浓度组还是极显著低于空白组 ($P < 0.01$);高浓度组下降,极显著低于空白组 ($P < 0.01$)。

3 讨论

SOD 可清除生物体内的 $\text{O}_2 \cdot$ 自由基,保护细胞免受损伤。GPx 可特异地催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 对过氧化物的还原反应,催化 H_2O_2 及其他过氧化物转变为无毒性产物^[8]。丙二醛 (MDA) 是脂质氧化的主要产物之一,其含量的高低可指示生物膜受氧化损伤的程度。T-AOC 是近年研究发现的用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,代表和反映机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态。因此, SOD、GPx、MDA 和 T-AOC 常被用于指示生物体受氧化损伤的程度。

3.1 OP 对斑节对虾肝胰腺的氧化胁迫效应

大量研究表明,在特定的时间内,生物体受到有毒物质胁迫时,其体内 SOD 活性可受到明显的诱导作用,之后随着暴露时间的延长, SOD 活性又呈现下

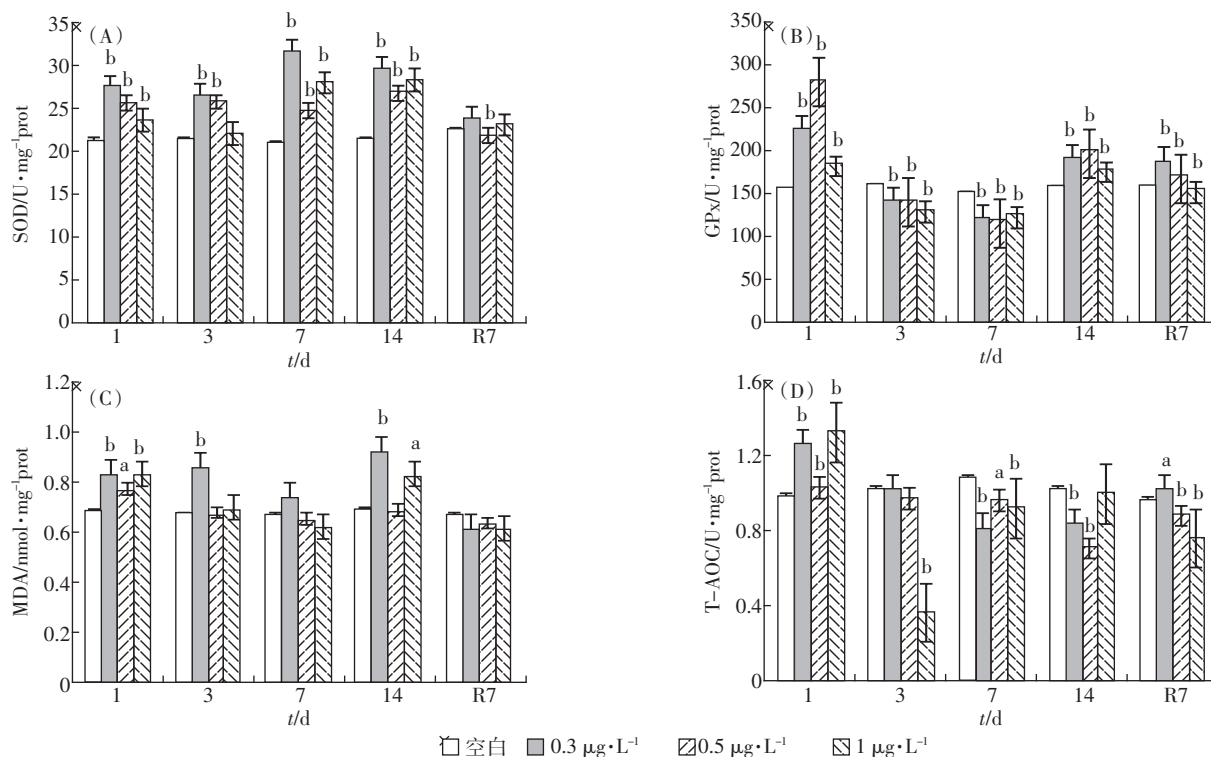


图2 不同浓度组 OP 胁迫下斑节对虾鳃 SOD、GPx 活性、MDA 含量和 T-AOC 的影响

Figure 2 Effects of triazophos on SOD and GPx activities, MDA content, T-AOC in gills of *P. monodon*

降的趋势^[5,9-10]。Stebbing 等将低浓度污染物胁迫下酶活性被显著诱导归结为“毒物兴奋效应”^[11]。在本研究中,肝胰腺 SOD 活性首先被显著诱导,随后又被显著抑制,符合“毒物兴奋效应”。一些研究显示,GPx 的活性变化与 SOD 活性的变化规律较为一致,即先诱导后抑制^[9,12]。本研究中,肝胰腺 GPx 活性呈低浓度诱导-抑制-诱导、高浓度抑制-诱导的变化规律,与 SOD 的变化趋势并不相同,这一研究结果与之前得到的 GPx 与 SOD 活性变化一致的结论不完全相符。暴露于较低浓度镉的克氏原螯虾肝胰腺 GPx 和 SOD 活性变化趋势也并不相同^[13]。同种生物的不同抗氧化酶对污染物胁迫的反应机制不同,这就决定了它们在一定情况下对污染物胁迫的响应不同,其活性变化也会有所差异。因此,本研究中 GPx 的活性变化与 SOD 活性变化不完全一致的结果属于正常现象。

唐学玺等^[14]在研究久效磷对海洋微藻的活性氧伤害中认为,膜脂质过氧化物 MDA 质量浓度不断上升,膜的通透性也逐渐增加,二者的这种变化有显著的正相关性,最终导致细胞膜结构的破坏和功能的丧失。有研究发现克氏原螯虾在铬暴露下肝胰腺 MDA 含量低于对照组^[13]。本研究中,斑节对虾肝胰腺 MDA

的含量在低浓度 OP 的胁迫下无显著变化,中、高浓度在胁迫第 3 d 后随胁迫时间的延长呈先升高后下降的趋势。这说明低浓度 OP 对斑节对虾肝胰腺 MDA 含量无影响,而对较高浓度的 OP 较为敏感。MDA 含量升高主要是由于 SOD 等抗氧化酶活性受抑制不能及时清除体内产生的多余 MDA,而到后期 MDA 含量下降则是由于 SOD 等抗氧化酶活性受到诱导才降低了 MDA 的含量,SOD 活性受到显著诱导说明了这点。

谭树华等^[15]研究发现克氏原螯虾在铬暴露下肝胰腺 T-AOC 在暴露的 7 d 内与暴露时间呈正相关,在暴露 14 d 后显著下降。本研究中肝胰腺 T-AOC 低浓度组表现为升高-下降-升高,中、高浓度组显著降低。T-AOC 的这种变化说明斑节对虾对低浓度 OP 有一定耐受性,可以通过增强抗氧化能力来抵御低浓度 OP 带来的不良胁迫,而对于高浓度的胁迫则不能抵御。

3.2 OP 对斑节对虾鳃的氧化胁迫效应

我国学者较早开展了污染物对海洋生物鳃抗氧化酶活性的影响研究。陈海刚等^[16]研究发现氯化三丁基锡胁迫下黑鲷鳃 SOD 活性受抑制。谭树华^[15]的研究

中,克氏原螯虾鳃在高浓度铬作用下 SOD 活性呈先抑制再诱导的趋势。本研究低、中浓度组鳃 SOD 活性一直处于诱导状态,高浓度先诱导后抑制再诱导,这一结果与上述所得结果不同。鳃 SOD 的变化与肝胰腺有差异,造成这种差异的原因可能与肝胰腺和鳃生理功能的差异性相关。肝胰腺是体内主要的解毒器官,其巨噬细胞有极强的吞噬能力,毒物在肝胰腺内氧化、还原或水解,这些过程中会产生大量的氧自由基,其他组织器官受毒害后代代谢紊乱产生的自由基、 H_2O_2 等其他有害物质也汇集到肝胰腺,增加了肝胰腺的负担,而鳃没有这种功能,因此肝胰腺 SOD 活性比鳃敏感。

本研究斑节对虾鳃 GPx 活性先被显著诱导,后抑制,再诱导。这与肝胰腺中、高浓度组变化情况相反。鳃 GPx 活性变化与高浓度组鳃 SOD 活性变化相同,都先诱导后抑制再诱导,符合前人 GPx 和 SOD 变化一致的结果。

鳃 MDA 含量在胁迫初期含量显著升高,随胁迫时间的延长,中、高浓度 MDA 含量降低,但到胁迫 14 d 又升高。MDA 含量显著下降,可能是生物体通过自身的调节如抗氧化酶 SOD、GPx 等之间的协同作用来缓解 OP 的毒害,从而减缓了脂质过氧化作用。而高浓度组 14 d 时 MDA 又显著升高,则可能是机体的自我调节能力已不能调和 OP 所带来的氧化胁迫,所以 MDA 含量升高,表现出对组织的损伤。

OP 胁迫下鳃 T-AOC 呈先升高后下降的趋势,这与谭树华等的研究结果不同。T-AOC 先升高与 Stebbing 的“毒物兴奋效应”相符;T-AOC 下降可能是由于胁迫时间的延长,OP 对组织的损伤加剧,生物体通过自身抗氧化物的抗氧化能力不能抵御损伤所致。

3.3 恢复后斑节对虾肝胰腺和鳃的氧化胁迫效应

有机污染物胁迫产生的应激效应一般会在解除胁迫后慢慢得到恢复。有研究表明,受苯并[a]芘长期胁迫的褐菖鲉抗氧化酶受到显著影响,且 DNA 损伤严重,转入清水中 20 d 后,抗氧化酶和 DNA 损伤都能得到恢复^[17]。黄周英等^[18]研究发现三丁基锡(TBT)胁迫下文蛤消化腺 SOD 活性和 MDA 含量明显升高,清水恢复 20 d 后以上指标均能恢复到正常状态。本研究中清水恢复 7 d 后,斑节对虾肝胰腺和鳃 SOD 和 GPx 活性仍然存在诱导或抑制效应,说明 OP 对斑节对虾的毒性有一定的持久性。而周常义等^[9]在研究 OP 对泥鳅 SOD 活性时则表明,在胁迫解除后,不同程度得到恢复,这与本研究结果有所差异。出现这种差异的原因可能是因为不同物种对 OP 的耐受以及自身

的解毒机制的差异,从而造成了这样的结果。研究中酶活性在清水恢复后仍被显著诱导,可能是由于解除胁迫后生物体出现了“过度应激”反应。秦洁芳等^[19]在研究邻苯二甲酸二丁酯对翡翠贻贝 SOD 影响时也出现了类似现象。

清水恢复后,肝胰腺和鳃低浓度组 T-AOC 都显著高于空白组,而鳃中、高浓度组则显著低于空白。解除胁迫后 T-AOC 依然高于空白,可能是由于胁迫解除后,生物体充分调动各抗氧化物来消除胁迫过程中产生的有害物质,因而使得 T-AOC 升高。肝胰腺 MDA 含量在恢复后仍高于正常状态,可能是由于肝胰腺是 OP 作用的靶器官之一,在 OP 胁迫下肝胰腺氧化损伤严重,产生了较多的 MDA,经过 7 d 恢复仍不能消除多余 MDA;而鳃不是 OP 的主要作用器官,受到的胁迫较弱,机体能够消除氧化胁迫产生的多余 MDA,使之恢复正常水平。

4 结论

(1)本研究得到了 OP 对斑节对虾的 96 h LC_{50} 为 $5.864\ 1\ \mu g \cdot L^{-1}$, 回归方程 $y=3.549+1.888\ 8\lg x$, 95% 可信限为 $3.903\ 7\sim 10.172\ \mu g \cdot L^{-1}$ 。

(2)OP 对各个抗氧化指标有显著影响,并且存在组织特异性。肝胰腺和鳃对 OP 的敏感度不同,肝胰腺>鳃。同种组织中抗氧化指标的敏感度也不同,敏感性总体表现为 $SOD>GPx>T-AOC>MDA$ 。

(3)在 OP 胁迫下,各抗氧化指标表现出不同的变化规律。抗氧化酶 SOD 和 GPx 均受到了显著的诱导和抑制作用;MDA 含量随胁迫的加剧而升高,呈一定的剂量效应;T-AOC 与 OP 浓度呈正相关。因此,在使用抗氧化指标作为综合分析和评价环境污染物对生物体的毒性指标时,不仅要考虑到各种相关指标的变化情况,也要结合其本身的性质和特性、生物体之间的物种特异性和各组织器官之间生理功能的差异性等。

参考文献:

- [1] 李文静, 黎中宝, 郑伟刚, 等. 三唑磷对 5 种鳃鲈幼鳃的急性毒性实验[J]. 南方水产, 2009, 5(6): 13-18.
LI Wen-jing, LI Zhong-bao, ZHENG Wei-gang, et al. Acute toxicity of phentriazophos on five species of genus *Anguilla* elver[J]. *South China Fisheries Science*, 2009, 5(6): 13-18.
- [2] 李少南. 甲基异柳磷和三唑磷对几种淡水鱼的毒性比较[J]. 环境污染与防治, 1998, 20(3): 13-14.
LI Shao-nan. Acute toxicity of isofenphos-methyl and triazophos to 3

- kinds of fresh water fish[J]. *Environmental Pollution & Control*, 1998, 20(3):13-14.
- [3] 丁跃平, 金彩杏, 郭远明, 等. 三唑磷对海水虾类、蟹类的急性毒试验[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2002, 21(2):116-118.
- DING Yue-ping, JIN Cai-xing, GUO Yuan-ming, et al. The acute effect of triazophos on prawn and crab[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University(Natural Science)*, 2002, 21(2):116-118.
- [4] 金彩杏, 丁跃平, 刘士忠, 等. 三唑磷农药对鲈鱼等鱼类的急性毒性试验[J]. 水产科技情报, 2002, 29(4):156-158.
- JIN Cai-xing, DING Yue-ping, LIU Shi-zhong, et al. The acute effect of triazophos on *Lateolabrax japonicus* and other fish[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2002, 29(4):156-158.
- [5] 周常义, 严重玲, 黄成, 等. 三唑磷对泥蚶急性毒性及血清 SOD、CAT 酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2004, 28(12):43-48.
- ZHOU Chang-yi, YAN Chong-ling, HUANG Cheng, et al. Acute toxicity of *Tegillarcagranosa* by triazophos and SOD, CAT activities shown in the blood serum[J]. *Marine Science*, 2004, 28(12):43-48.
- [6] 施建军, 庄海兵, 王志铮, 等. 3 种常见有机磷农药对麦瑞加拉鲈鱼幼鱼的急性毒性[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2006, 25(2):129-132.
- SHI Jian-jun, ZHUANG Hai-bing, WANG Zhi-zheng, et al. Acute toxicity of three common organophosphorus pesticides on *Cirrhinus mrigala* juvenile[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University(Natural Science)*, 2006, 25(2):129-132.
- [7] 丁爱侠, 王春琳. 三唑磷蓄积对日本鳾体内保护酶系统的影响[J]. 南方水产, 2006, 2(2):56-60.
- DING Ai-xia, WANG Chun-lin. Effects of accumulated triazophos on protective system of *Charybdis japonica*[J]. *South China Fisheries Science*, 2006, 2(2):56-60.
- [8] Dong Z Y. Investigations of substrate binding and catalytic mechanism of glutathione peroxidase mimics[D]. Jilin, China: Jilin University, 2006.
- [9] 李康, 周忠良, 陈立侨, 等. 苯并[a]芘对鲫鱼生物标志物的影响研究[J]. 环境科学研究, 2006, 19(1):91-96.
- LI Kang, ZHOU Zhong-liang, CHEN Li-qiao, et al. Effects of BaP on biomarker of *Carassius auratus*[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2006, 19(1):91-96.
- [10] 任加云, 潘鲁青, 苗晶晶. 苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响[J]. 环境科学学报, 2006, 26(7):1180-1186.
- REN Jia-yun, PAN Lu-qing, MIAO Jing-jing. Effects of benzo(a)pyrene and benzo(k)fluoranthene mixture on the toxicology parameters of scallop *Chlamys farreri*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(7):1180-1186.
- [11] Stebbing A R D. Hormesis the stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. *Science of the Total Environment*, 1982, 22(3):213-234.
- [12] 蔡立哲, 马丽, 高阳, 等. 蒽、菲、芘、蒾混合液对菲律宾蛤仔抗氧化酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2005, 8:47-53.
- CAI Li-zhe, MA Li, GAO Yang, et al. The effects of anthracene, phenanthrene, pyrene and chrysene on activity of antioxidant enzyme of *Ruditapes Philippinarum*[J]. *Marine Sciences*, 2005, 8:47-53.
- [13] 谭树华, 袁志栋, 刘雨芳, 等. 镉对克氏原螯虾肝胰腺抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(9):2595-2601.
- TAN Shu-hua, YUAN Zhi-dong, LIU Yu-fang, et al. Effects of Cd²⁺ on antioxidant system in hepatopancreas of *Procambarus clarkia*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(9):2595-2601.
- [14] 唐学玺, 于娟, 李永祺. 久效磷对海洋微藻细胞的活性氧伤害[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(3):155-158.
- TANG Xue-xi, YU Juan, LI Yong-qi. Damage of active oxygen to marine microalga cells by monocrotophos[J]. *Oceanologiae Limnologia Sinica*, 2001, 32(3):155-158.
- [15] 谭树华, 邓先余, 蒋文明, 等. 高浓度铬对克氏原螯虾抗氧化酶系统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4):1356-1360.
- TAN Shu-hua, DENG Xian-yu, JIANG Wen-ming, et al. Effects of high level chromium on antioxidant enzyme system in gill and hepatopancreas of *Procambarus clarkia*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4):1356-1360.
- [16] 陈海刚, 马胜伟, 林钦, 等. 氯化三丁基锡对黑鲷鳃和肝组织 SOD、MDA 和 GPx 的影响[J]. 南方水产, 2009, 5(2):23-27.
- CHEN Hai-gang, MA Sheng-wei, LIN Qin, et al. Effects of tributyltin chloride(TBTCl) on SOD activities, MDA contents and GPx activities in gill and liver of the black porgy (*Sparus macrocephalus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2009, 5(2):23-27.
- [17] 王云, 王顺昌, 陆剑锋. 苯并(a)芘对褐菖鲢肝脏 DNA 损伤与抗氧化活性的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2009, 21(4):276-279.
- WANG Yun, WANG Shun-chang, LU Jian-feng. Impact of benzo(a)pyrene on DNA damage and antioxidative activities in liver of *Sebastiscus marmoratus*[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2009, 21(4):276-279.
- [18] 黄周英, 陈奕欣, 左正宏, 等. 三丁基锡对文蛤消化腺脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(1):102-105.
- HUANG Zhou-ying, CHEN Yi-xin, ZUO Zheng-hong, et al. Effects of tributyltin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity of digestive gland in Hard Clam *Meretrix meretrix*[J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2006, 45(1):102-105.
- [19] 秦洁芳, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对翡翠贻贝抗氧化酶及脂质过氧化水平的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(7):1878-1884.
- QIN Jie-fang, CHEN Hai-gang, CAI Wen-gui, et al. Effects of di-n-butyl phthalate on the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation level of *Perna viridis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(7):1878-1884.