

# 对硫磷对三角褐指藻核酸和蛋白质合成动态的影响

唐学玺, 李永祺

(青岛海洋大学生命学院, 青岛 266003)

**摘要** 应用同位素标记法, 研究了对硫磷对三角褐指藻核酸和蛋白质合成动态的影响。结果表明, 低浓度的对硫磷 ( $\leq 1.5\text{mg/L}$ ) 对三角褐指藻的生长有刺激作用, 而高浓度的对硫磷 ( $\geq 2.0\text{mg/L}$ ) 却严重抑制三角褐指藻的生长。低浓度对硫磷在促进生长的过程中, 藻细胞中蛋白质、DNA、RNA 3 种大分子物质的合成活跃, 其合成速度升高; 而在高浓度对硫磷的胁迫下, 蛋白质、DNA、RNA 的合成明显地受到了抑制, 合成速度降低。

**关键词** 对硫磷; 三角褐指藻; 蛋白质; 核酸; 合成作用

## The effect of parathion on the synthesis of protein and nucleic acid in *Phaeodactylum tricornutum*

TANG Xue-Xi LI Yong-Qi (Marine Life Science College, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

**Abstract** The effect of parathion on the synthesis of protein and nucleic acid in *Phaeodactylum tricornutum* was studied with isotope-tracing methods. The results showed that the low levels of parathion ( $\leq 1.5\text{mg/L}$ ) could stimulate the growth of *Phaeodactylum tricornutum*, while high concentrations of parathion ( $\geq 2.0\text{mg/L}$ ) could inhibited its growth. The synthesis of protein and nucleic acid was active during the process of stimulation (their synthesis rate increased). On the contrary, the synthesis of protein and nucleic acid was remarkably inhibited under the stress of high-level parathion, their synthesis rate was lower than those of control.

**Key words** Parathion; *Phaeodactylum tricornutum*; protein; nucleic acid; synthesis

文章编号: 1000-093X(2000)04-0177-07 中图分类号: Q198.1 文献标识码: A

有机磷农药是一类毒效大, 用途广, 种类多的高毒杀虫剂, 由于农林业的广泛使用和沿海农药厂的排污, 有机磷农药对近岸海域的污染已引起了人们的高度重视。有关有机磷农药对海洋生物的毒性效应研究已有报道<sup>[1,2]</sup>, 作者曾选用海水养殖中常用的几种饵料生物单胞藻为材料从活性氧自由基伤害角度报道了久效磷对海洋微藻的致毒效应<sup>[3,4]</sup>。本文在前期工作的基础上继续探讨对硫磷对三角褐指藻 3 种大分子物质合成动态的影响。

### 1 材料和方法

**1.1 藻种来源** 实验所用的三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 来自本院微藻培养室。

**1.2 有机磷农药的选择** 选用乐陵农药厂生产的重量比为 50% 的对硫磷瓶装乳油, 现用现配。

**1.3 培养条件及毒性实验** 按照唐学玺等<sup>[5]</sup>的方法及条件进行, 三角褐指藻于指数生长期接种, 培养温度为  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度为 2000lx, 光暗比为 14h:10h。实验中处理组和对照组各设 3 个平行样, 处理浓度为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0mg/L, 处理时间为 96h, 实验结果取 3 个样的平均值。

基金项目: PDB6-7-1 资助项目和国家自然科学基金(39870146)资助项目

收稿日期: 1998-04-31; 修订日期: 1999-02-06

作者简介: 唐学玺(19~), 男, 山东潍坊人, 研究员。主要从事生态毒理学研究。

**1.4 放射性同位素标记实验** 接种的同时,在培养液中依次加入 $^3\text{H}$ -胸苷(Thymidine)、 $^3\text{H}$ -尿苷(Uridine)和 $^3\text{H}$ -亮氨酸(Leucine)均系上海原子能研究所产品,比强为 $20\text{mCi}/\text{mL}$ ,标记浓度为 $10\text{Uci}/\text{mL}$ ,以 $^3\text{H}$ -胸苷标记 DNA, $^3\text{H}$ -尿苷标记 RNA, $^3\text{H}$ -亮氨酸标记蛋白质,培养温度为 $17 \pm 1^\circ\text{C}$ ,培养过程中每隔 48h 取材,用无标记物培养液漂洗干净。

**1.5 DNA、RNA 和蛋白质的提取及放射性同位素掺入测定** 漂洗后的材料,加入 5mL 纯乙醇研磨,离心沉淀的醇不溶物主要含 DNA、RNA 及蛋白质,4°C 下用 5mL 80% 的乙醇和 5mL 0.2M 的过氯酸各洗 2 次。醇不溶物中的 DNA、RNA 用 0.2M 过氯酸在 90°C 下水解 15min,残渣再用 0.5mL 0.2M 的过氯酸洗 2 次,合并 3 次过氯酸溶液。蛋白质沉淀物用 1mol NaOH 在 90°C 下水解 10min,并用 0.5mL 1mol NaOH 洗 2 次,合并 3 次的 NaOH 溶液。

将 DNA、RNA 和蛋白质提取液分别用 NaOH 或过氯酸中和后取 0.3ml 于闪烁瓶中,加入 4ml 乙二醇甲醚,6ml PPO-PoPoP 闪烁液(0.5% PPO 和 0.01% PoPoP,二甲苯配制),轻轻摇匀,互溶后测放射性强度。

## 2 结果

**2.1 对硫磷对三角褐指藻生长的影响** 低浓度对硫磷( $\leq 1.5\text{mg}/\text{L}$ )能够刺激三角褐指藻的生长,其相对增长率高于对照组。在所设浓度范围内对硫磷的浓度为 $0.5\text{mg}/\text{L}$ 时表现出最大刺激效应。相反,高浓度的对硫磷( $\geq 2.0\text{mg}/\text{L}$ )对三角褐指藻的生长有抑制效应,其相对增长率低于对照组,并随对硫磷浓度的提高,相对增长率逐渐降低,由 K 值变化可求得 96h 半抑制浓度(96h  $\text{EC}_{50}$ )为 $5.4\text{mg}/\text{L}$ (图 1)。

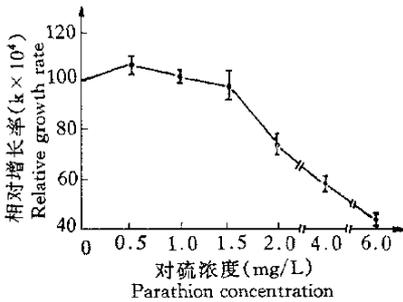


图 1 对硫磷对三角褐指藻生长的影响

Fig.1 The effect of parathion on growth of *Phaeodactylum tricornutum*

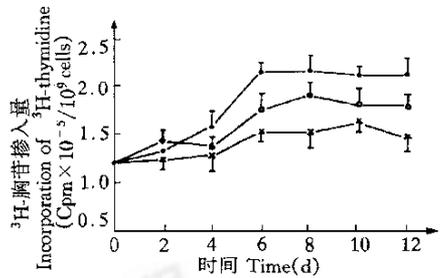


图 2 对硫磷对三角褐指藻 DNA 合成的影响

Fig.2 The effect of parathion on DNA synthesis of *Phaeodactylum tricornutum*  
 · 0.5mg/L parathion × 5.0mg/L parathion · control

### 2.2 对硫磷对三角褐指藻 DNA 合成动态的影响

图 2 反应了三角褐指藻分别在 0、0.5 和 5.0mg/L 对硫磷处理下 DNA 合成的变化。看出,在 0.5mg/L 对硫磷处理下 $^3\text{H}$ -胸苷的掺入量多于对照组,指示 DNA 合成速度高于对照组,而 5.0mg/L 对硫磷的处理明显抑制了 DNA 的合成速度,使低于对照组。

**2.3 对硫磷对三角褐指藻 RNA 合成动态的影响** 0.5mg/L 的对硫磷对 RNA 的合成有一定的刺激作用,而 5.0mg/L 的对硫磷有明显抑制作用。培养液中不含对硫磷时,在培养的前 6d, RNA 合成速度急剧上升,至第 6 天达最大值,然后平稳下降;而在培养液中加入 0.5mg/L 对硫磷时, RNA 合成速度更高,并于培养的第 4 天便达最高值;在 5.0mg/L 对硫磷处理下, RNA 合成速度始终较慢,并且随时间的波动性也不明显(图 3)。

**2.4 对硫磷对三角褐指藻蛋白质合成动态的影响** 对硫磷作用下三角褐指藻蛋白质合成动态的变化类似于 RNA 合成的动态变化(图 4)。对照组在培养的前 6d,蛋白质合成速度迅速上升,至第 6 天达最大值,然后平稳下降。0.5mg/L 对硫磷作用下,蛋白质合成速度急剧上升,第 4 天便达到最大值。5.0mg/L 对硫磷胁迫下,蛋白质合成速度减慢,随时间的波动性也较小。

## 3 讨论

**3.1 对硫磷对三角褐指藻生长的刺激作用** 生长在小于 $1.5\text{mg}/\text{L}$ 对硫磷的培养液中的三角褐指藻并未出现中毒迹象,其相对增长率反而高于对照组,这种现象与前人在研究有机锡对海洋微藻毒性效应时出现的结

果相类似<sup>[6-8]</sup>Stebbing<sup>[7]</sup>指出:毒物在低浓度下出现的这种增益现象, 是在无毒情况下的刺激反应, 他把这一作用称为“毒物的兴奋效应”。本文在研究久效磷对三角褐指藻毒性的工作及对硫磷对其它 4 种海洋微藻的毒性工作中均出现了类似情况<sup>[9,10]</sup>。这说明有机磷农药在低浓度下对海洋微藻的兴奋效应是一种普遍现象。随着对硫磷浓度的不断提高, 三角褐指藻相对增长率出现下降趋势(图 1)表现出对硫磷对藻细胞的毒性效应。

### 3.2 三角褐指藻 DNA、RNA 及蛋白质合成的相关性

实验结果(图 2~图 4)发现, 对照组(培养液中不含对硫磷)三角褐指藻 DNA 的合成高峰出现在培养后的第 6 天左右, 而 RNA 和蛋白质的合成高峰也出现在第 6 天左右, 并且二者随时间的变化曲线呈现出极大的类似性。所以推测藻细胞中 DNA、RNA 及蛋白质的合成之间不具相关性。

3.3 对硫磷对三角褐指藻生长的刺激作用与大分子物质合成的关系 低浓度的对硫磷不但刺激 DNA、RNA 和蛋白质合成速度的增加, 而且使三者出现合成高峰的时间提前, 如 DNA 的合成高峰由对照组的第 8 天提前到第 6 天左右, 而 RNA 和蛋白质合成高峰由第 6 天提前到第 4 天左右。这说明低浓度的对硫磷能使藻细胞 DNA、RNA 和蛋白质合成的增加。所以认为这是低浓度对硫磷刺激藻细胞生长的主要原因。

3.4 对硫磷对三角褐指藻生长的抑制作用与大分子物质合成的关系 高浓度的对硫磷对 DNA、RNA 和蛋白质的合成及藻细胞的生长均表现出抑制效应, 很可能是对硫磷(或由其引发藻细胞产生的其它成分)抑制了 3 种大分子物质合成所需的酶的活性, 使它们合成速度降低, 进而影响了藻细胞的生长和繁殖。关于这方面的原因有待于进一步研究和证实。

### 参考文献

[ 1 ] 陈碧娟, 甲基异柳磷, 水胺硫磷对海洋藻类、贝类及对虾仔虾的毒性影响. 海洋环境科学, 1993, 12(2): 12 ~ 19.  
 [ 2 ] 汝少国, 李永祺, 敬永畅. 十种有机磷农药对扁藻的毒性效应. 环境科学学报, 1996, 16(3): 337 ~ 341.  
 [ 3 ] 唐学玺, 李永祺, 李春雁, 等. 久效磷胁迫下扁藻和三角褐指藻脂质过氧化伤害的研究. 海洋学报, 1997, 19(1): 139 ~ 143.  
 [ 4 ] 唐学玺, 李永祺. 久效磷对三角褐指藻的毒性. 水产学报, 1997, 21(4): 438 ~ 442.  
 [ 5 ] 唐学玺, 李永祺, 李春雁, 等. 四种海洋微藻对久效磷的耐受力与其 SOD 活性的相关性. 海洋环境科学, 1995, 14(2): 1 ~ 5.  
 [ 6 ] Beaumont A R and Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae. Mar Pollut Bull, 1986, 17(10): 457 ~ 461.  
 [ 7 ] Stebbing A R D. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors. Sci Tot Environ. 1982, 22: 213 ~ 234.  
 [ 8 ] 高尚德, 吴以平, 赵心玉. 有机锡对海洋微藻的生理效应. 海洋与湖沼, 1994, 25(3): 259 ~ 165.  
 [ 9 ] 唐学玺, 李永祺, 林 焯. 久效磷对叉鞭金藻和三角褐指藻光合色素的影响. 海洋通报, 1997, 16(5): 31 ~ 35.  
 [ 10 ] 唐学玺, 徐家英, 李永祺. 对硫磷对四种海洋微藻的毒性效应. 海洋环境科学, 1998, 17(1): 1 ~ 5.

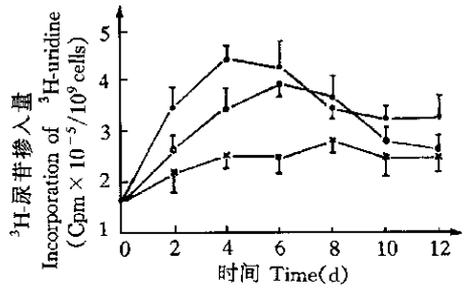


图 3 对硫磷对三角褐指藻 RNA 合成的影响

Fig.3 The effect of parathion on RNA synthesis of *Phaeodactylum tricornutum*

· 0.5mg/L parathion × 5.0mg/L parathion · control

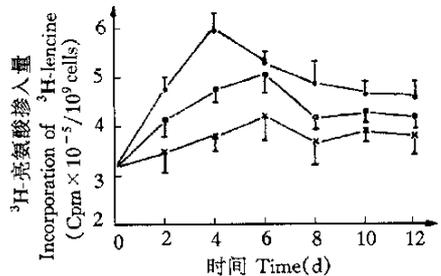


图 4 对硫磷对三角褐指藻蛋白质合成的影响

Fig.3 The effect of parathion on protein synthesis of *Phaeodactylum tricornutum*

· 0.5mg/L parathion × 5.0mg/L parathion · control