

阿苯哒唑对蚯蚓 (*Eisenia fetida*) 酸性磷酸酶、谷胱甘肽硫转移酶及腺三磷酶活性的影响

高玉红^{1 2} 孙振钧^{1,*}, 孙新胜³ 包永占² 李玉荣²

1. 中国农业大学资源环境学院, 北京 100094 2. 河北农业大学动物科技学院, 保定 071001 ;

3. 河北农业大学信息与技术学院, 保定 071001)

摘要 研究了蚯蚓在染毒 2, 7d 和 14d 时, 兽药阿苯哒唑 (100 ~ 600 mg/kg) 对蚯蚓体及其不同部位的酸性磷酸酶 (AP)、谷胱甘肽硫转移酶 (GST)、腺三磷酶 (Ca^{2+} -ATPase) 活性的影响。结果表明, 阿苯哒唑对蚯蚓 3 种酶的活性均有显著影响, 其中对 AP 和 GST 活性的影响比对 Ca^{2+} -ATPase 的大。该药对 AP 和 GST 活性的抑制作用均随染毒时间的延长而加强, 染毒浓度和时间表现出显著的互作效应。另外, AP 活性也显著受到染毒浓度与蚯蚓部位的互作影响, 影响最大的部位是蚯蚓前部; 该药对 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响相对较小, 浓度、时间和部位没有表现出明显的互作效应。

关键词 蚯蚓, 阿苯哒唑, 酸性磷酸酶, 谷胱甘肽硫转移酶, 腺三磷酶

文章编号: 1000-0933 (2007) 09-3916-07 中图分类号: Q958 X171.5 文献标识码: A

Effect of Albendazole on Acid phosphatase, glutathione S-transferase and adenosine triphosphatase activities of earthworms

GAO Yu-Hong^{1 2}, SUN Zhen-Jun^{1,*}, SUN Xin-Sheng³, BAO Yong-Zhan², LI Yu-Rong²

1 College of Resources and Environment, China Agriculture University, Beijing 100094, China

2 College of Animal and Science Techonology, Agriculture University of Hebei, Baoding 071001, China

3 College of Information Science and Technology, Agriculture University of Hebei, Baoding 071001, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (9) 3916 ~ 3922.

Abstract : Incorrect or excessive use of veterinary medicines in recent decades has caused substantial amounts of drugs and their metabolites being released to the environment through manure application onto agricultural land. One of the potential adverse effects is to harm some non-target organisms when they consume the excrement that contains drugs or their metabolites. The purpose of this study is to investigate the effect of Albendazole on the activities of three enzymes in the earthworm, as a whole and at different sections of the body. Earthworms were exposed to different concentrations, 0, 100, 200, 400 and 600 mg/kg. After 2, 7 and 14 days of exposure, acid phosphatase (AP), glutathione S-transferase (GST) and adenosine triphosphatase (Ca^{2+} -ATPase) activities were analyzed. The results showed that Albendazole had an effect on all three enzymatic activities. The impacts on AP and GST activities were more significant than that on Ca^{2+} -ATPase activity. The inhibition on AP and GST activities became stronger with the longer exposure. The concentration duration

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270195) ;北京市生态学重点学科资助项目 (XK10019440)

收稿日期: 2006-08-03 ;修订日期: 2007-03-28

作者简介: 高玉红 (1971 ~) 女, 河北唐山人, 博士, 主要从事生态毒理和畜牧生态研究. E-mail : gyhsxs0209@126.com.

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail : sun108@cau.edu.cn

Foundation item :The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30270195) ;Emphases Subject of Beijing Ecology (No. XK10019440)

Received date 2006-08-03 ;**Accepted date** 2007-03-28

Biography :GAO Yu-Hong, Ph. D., mainly engaged in ecotoxicology of veterinary medicine and ecology of domestic Animal. E-mail : gyhsxs0209 @ 126. com

interaction effects were observed for these two enzymatic activities. In addition ,for AP activity ,there was also a significant interaction effect between concentration and body section. When Albendazole concentration increased , AP activity in the anterior section of the earthworm decreased more significantly compared to the whole earthworms and the other two sections. In the anterior section ,AP activity was still reduced to 78% of the control value at 100 mg/kg after 14 days. AP activity in the mid-part ,after 14 days ,changed from 84% to 63% of the control value when the concentration increased from 200 mg/kg to 600 mg/kg. The degree of AP activity change with the concentration was even less for the whole earthworm and the posterior section. For Ca^{2+} -ATPase activity ,the most significant inhibition was observed in the mid-part after 7 days. The activity was reduced to 63%—49% of the control value when the concentration was from 200 mg/kg to 600 mg/kg. There were no significant concentration section and concentration duration interaction effects for Ca^{2+} -ATPase activity.

Key Words :earthworm ; Albendazole ; acid phosphatase ; glutathione S-transferase ; adenosine triphosphatase

20a 来 ,为了保障动物的健康 ,抗菌类及抗寄生虫兽药的使用量和使用种类越来越多。兽药大量或不合理的使用不仅引发了动物性食品药物残留问题 ,而且当药物进入机体后 ,其原形或代谢物将随动物的排泄物进入周围环境 ,对环境微生物和动物等非靶生物也产生直接或间接的影响。目前 ,国外对兽药的生态风险评价非常重视 ,对兽药在环境中的吸收、分布、转归及其对生态系统影响的研究也越来越多^[1,2]。国内对兽药的生态风险评价刚起步 ,相关研究较少^[3]。

阿苯哒唑是一类近年来发展非常迅速、应用广泛的有效抗线虫、绦虫、吸虫和囊尾蚴等寄生虫的药物。它主要抑制虫体内氧化代谢途径 ,减少 ATP 生成 ,干扰虫体的生长和繁殖^[4]。研究表明 ,阿苯哒唑进入体内后 ,一部分原药或其代谢物随着粪尿排出体外 ,猪囊尾蚴病患者口服阿苯哒唑后 ,大约有 11% 以原药的形式随粪便排出 ,并且在尿液和粪便中均已检测到其代谢物 (阿苯哒唑亚砷和阿苯哒唑砷)^[5] ,这两种代谢物是抗寄生虫的有效成分 ,排到体外的这些药物对土壤动物可能会产生潜在的毒害作用 ,但目前还未发现这方面的报道。

蚯蚓是评价土壤环境安全性的指示生物 ,因此 ,研究兽药对蚯蚓的毒性 ,对评价兽药的生态风险评价有重要意义。目前 ,兽药对蚯蚓毒理的研究主要集中在普通的急慢性毒性实验^[6,7] ,这些实验在某种程度上有一定的应用价值 ,但它指示的只是环境污染的终点 ,而且急慢性毒性实验比较耗时。而药物代谢酶能够对早期的化学污染做出及时快速的反应 ,目前药物代谢酶的活性已经被用作检测水生生态环境污染的分子标志物^[8,9]。

本实验以蚯蚓作为对象 ,研究阿苯哒唑对酸性磷酸酶 (AP) ,谷胱甘肽硫转移酶 (GST)和腺三磷酸酶 (Ca^{2+} -ATPase)活性的影响。由于化学污染物对蚯蚓的影响与蚯蚓的不同部位有关 ,因此 ,本实验选择整个蚯蚓体以及其前部、中部和后部作为检测对象 ,探索该药对蚯蚓的毒性效应。

1 材料和方法

1.1 实验材料

选用 300 ~ 400 mg 健康成年蚯蚓 (*Eisenia fetida*) ,蚯蚓来自中国农大蚯蚓养殖基地。实验药品选用阿苯哒唑原粉 ,纯度 95% 以上 ,购自 Sigma 公司。

1.2 染毒方法

实验设 1 个对照 ,4 个处理 (100 ,200 ,400 ,600 mg/kg) ,每个处理为 12 个重复 ,每个重复 12 条蚯蚓。无药物污染的牛粪作为蚯蚓饵料和生活基质。蚯蚓染毒前在实验室预养 1 周 ,空肠 8h 后称重 ,放入含不同浓度阿苯哒唑的基质中 ,于人工气候箱中培养 14d ,箱中为标准实验条件 :温度为 (23 ± 1)℃ ,湿度为 75% ± 2% ,光暗比 12h/12h ,定期喷射少量的水以保持基质的湿度。分别在染毒 2 ,7d 和 14d 时 ,每个处理中 4 个重复的蚯蚓被捞出 ,洗净 ,空肠 48h 后 ,冰上取蚯蚓的前部 (口器—25 节) ,中部 (25—33 节)和后部 (34 节—肛门) ,—80℃ 保存备用。

1.3 酶活检测

酶活检测前 4℃ 解冻。

AP 活性根据 Hønsi 的方法^[10]并进一步改进测得。样品与醋酸钠缓冲液混合 (体积比 3:7) ,37℃ 孵育 10 min ,加入 1/2 混液 (样品与醋酸钠缓冲液)体积的反应液 I (0.2 mol/L 锎酸钠 ,12 mmol/L 对-硝基苯酚钠 ,0.6 mg/ml 牛血清白蛋白 ,0.1% 吐温-100) ,37℃ 孵育 25 min 后 ,加入 4 倍反应液 I 体积的终止液 (1 mol/L Tris ,0.3 mol/L 磷酸钾 ,pH 8.5) 检测在 405nm 的光密度值。根据释放的对-硝基苯酚量计算 AP 活性。

GST 活性检测采用 1-氯-2,4-二硝基苯法 ,参照 Lukkari^[11]的方法。还原型谷胱甘肽 (GSH)与 1-氯-2,4-二硝基苯 (CDNA)反应生成 2,4-二硝基-谷胱甘肽复合物 (GS-DNB) 。通过检测该复合物生成量的高低反映 GST 活性的大小 ,以每分钟催化生成 1 nmol 产物为 1 个酶活性单位。

ATPase 活性采用南京建成试剂盒测定。ATP 酶可分解 ATP 生成 ADP 及无机磷 ,测定无机磷的量可得出 ATP 酶的活性。

样品蛋白质的检测采用考马斯亮兰 G-250 蛋白定量法。

1.4 数据分析

用 SPSS (Standard Version 13.0 ,SPSS Inc.)统计软件进行方差和相关分析。

2 结果

2.1 AP 活性的变化

阿苯哒唑对蚯蚓 AP 活性的影响如表 1 和表 2 所示。染毒浓度、时间、部位以及浓度 × 时间、浓度 × 部位的互作对 AP 活性均有显著影响 ($p < 0.01$) (表 1) 。从表 2 可以看出 ,对于蚯蚓前部 ,染毒 2d 时 ,各个组之间没有显著差异 ($p > 0.05$) ;染毒 7d 时 ,随着染毒浓度的增加 ,阿苯哒唑对 AP 活性的抑制作用加强 ($p < 0.01$) ,与对照组比较 ,200 ~ 600 mg/kg 的药物显著抑制了 AP 活性 ($p < 0.01$) ,是对照的 67% ~ 54% ;染毒 14d 时 ,100 ~ 600 mg/kg 的药物均显著抑制了 AP 活性 ,是对照组的 78% ~ 43% 。对于蚯蚓中部 ,染毒 2d 时 ,与对照组比较 ,2 个较高浓度 (400 ,600 mg/kg) 的药物均显著增加了 AP 活性 ($p < 0.05$) ,是对照组的 115% 和 117% ;随着染毒时间延长 (7d) ,各处理组的 AP 活性与对照组无差异 ($p > 0.05$) ;染毒 14d 时 ,200 ~ 600 mg/kg 的染毒浓度均显著降低了 AP 活性 ,降到对照组的 84% ~ 63% 。对于蚯蚓体和蚯蚓后部 ,蚯蚓体只有在染毒 14d 时 ,2 个较高浓度组的 AP 活性受到了显著抑制。而蚯蚓后部在整个实验期间 ,各处理组的 AP 活性均无显著差异 ($p > 0.05$) 。可见 ,阿苯哒唑对前部和中部 AP 活性的影响较大。

2.2 GST 活性的变化

阿苯哒唑对蚯蚓 GST 活性的影响如表 1 和表 3 所示。染毒浓度和蚯蚓部位对 AP 活性均有显著影响 ($p < 0.01$) ,且染毒浓度与时间之间存在显著的互作效应 ($p < 0.01$) (表 1) 。随着染毒时间的延长 ,该药对 GST 活性的抑制作用加强。染毒 2d 时 ,蚯蚓体及其不同部位的 GST 活性在各个组之间均没有显著差异 ($p > 0.05$) ;染毒 7d 时 ,2 个较高浓度组与对照组比较 ,蚯蚓体和中部 GST 的活性均受到了显著抑制 ($p < 0.05$) ,而蚯蚓前部 GST 活性只有在最高浓度组 (600 mg/kg) 才受到显著抑制 ($p < 0.05$) 。染毒 14d 时 ,200 ~ 600 mg/kg 的阿苯哒唑显著抑制了蚯蚓中部 GST 活性 ,其活性降到对照组的 85% ~ 73% ,而蚯蚓体、前部和后部的 GST 活性在 400 和 600 mg/kg 处理组才受到显著抑制。可见 ,与蚯蚓体、前部和后部比较 ,中部是阿苯哒唑对 GST 活性影响比较大的部位。

2.3 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化

阿苯哒唑对蚯蚓 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响如表 1 和表 4 所示。染毒浓度和蚯蚓部位对 Ca^{2+} -ATPase 活性均有显著影响 ($p < 0.01$) ,但浓度、部位和时间之间没有显著的互作效应 (表 1) 。从表 4 可以看出 ,蚯蚓体和后部在 14d 染毒期间各组 Ca^{2+} -ATPase 活性差异不显著 ($p > 0.05$) 。对于蚯蚓前部和中部 ,染毒 2d 时 ,各组之间差异不显著 ($p > 0.05$) ;染毒 7d 时 ,随着染毒浓度增加 , Ca^{2+} -ATPase 活性明显受到抑制 ($p < 0.05$) ,前部的 Ca^{2+} -ATPase 活性在 2 个较高浓度组明显受到了抑制 ,分别是对照组的 77% 和 63% ,而蚯蚓中部的酶活性

在 200 ~ 600 mg/kg 的浓度范围内受到了显著抑制 ($p < 0.01$) ,是对照的 63% ~ 49% ,染毒 14d 时 ,各染毒组的酶活性没有显著差异 ($p > 0.05$)。

表 1阿苯达唑对蚯蚓 3 种酶活性影响的方差分析

Table 1ANOVA of AP ,GST and Ca²⁺ -ATPase activities of earthworms exposed to Albendazole

酶 Enzyme	F 值 F value					
	C	R	D	C × R	C × D	C × R × D
AP	6.57 **	93.1 **	59.97 **	5.57 **	7.08 **	1.25
GST	10.54 **	470.02 **	0.66	1.15	11.10 **	0.77
Ca ²⁺ -ATPase	9.51 **	6.47 **	1.41	0.69	0.67	0.98

C : 浓度 Concentration ;R 部位 Section ;D 时间 Duration ;* $p < 0.05$,* * $p < 0.01$

表 2蚯蚓在染毒 2d 7d 和 14d 时阿苯达唑对蚯蚓体及其不同部位 AP 活性的影响 (nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein)

Table 2Effect of Albendazole on AP activity in whole earthworm and its different sections after 2 ,7 ,and 14 days exposure

部位 Section	暴露时间 Duration of exposure (d)	阿苯达唑浓度 Albendazole concentration (mg/kg)				
		0	100	200	400	600
蚯蚓体	2	88.33 ± 3.86	95.98 ± 13.08	101.99 ± 10.07	101.58 ± 8.26	105.48 ± 8.76
Whole worm	7	93.12 ± 6.66	87.24 ± 9.88	80.76 ± 2.33	78.11 ± 7.65 *	82.37 ± 13.64 *
	14	91.58 ± 9.88	93.44 ± 15.51	91.01 ± 8.86	75.21 ± 10.71	72.43 ± 6.81
前部	2	95.22 ± 5.88	96.67 ± 8.51	91.92 ± 6.00	87.55 ± 7.50	80.47 ± 10.50
Anterior section	7	89.74 ± 7.82	76.17 ± 12.39	60.16 ± 7.43 **	54.57 ± 12.78 **	48.76 ± 5.83 **
	14	89.03 ± 15.93	69.35 ± 7.95 *	61.13 ± 5.08 **	53.15 ± 2.41 **	37.96 ± 5.73 **
中部	2	109.32 ± 6.51	107.16 ± 6.65	108.00 ± 15.14	125.09 ± 4.20 *	128.33 ± 4.73 *
Mid-part	7	109.54 ± 11.54	110.85 ± 10.26	110.54 ± 15.90 *	104.45 ± 7.79 **	102.95 ± 9.53 **
	14	105.27 ± 12.56	109.27 ± 14.50	88.15 ± 10.35	79.26 ± 10.28	69.32 ± 6.83
后部	2	77.75 ± 2.54	84.25 ± 4.52	88.33 ± 13.50	90.20 ± 10.51	88.61 ± 3.50
Posterior section	7	78.00 ± 9.71	78.90 ± 9.28	81.75 ± 14.47	86.06 ± 8.24	95.54 ± 3.26
	14	72.53 ± 14.80	73.97 ± 2.91	73.33 ± 10.00	75.32 ± 24.22	74.47 ± 6.41

表中数据为平均值 ± 标准差 ($n = 4$) ,Datas are mean values ± SD ($n = 4$) ;与对照组比较 Statistical significance vs. control group : * $p < 0.05$;* * $p < 0.01$;表 3 和表 4 同 The same as in Table 3 and Table 4

表 3蚯蚓在染毒 2d 7d 和 14d 时阿苯达唑对蚯蚓体及其不同部位 GST 活性的影响 (nmol/ (min⁻¹ mg⁻¹ protein))

Table 3Effect of Albendazole on GST activity in whole earthworm and its different sections after 2 ,7 ,and 14 days exposure

部位 Section	暴露时间 Duration of exposure (d)	阿苯达唑浓度 Albendazole concentration (mg/kg)				
		0	100	200	400	600
蚯蚓体	2	111.34 ± 19.71	115.24 ± 14.20	119.56 ± 19.15	116.66 ± 18.63	126.48 ± 20.78
Whole worm	7	127.78 ± 17.12	126.15 ± 12.25	123.06 ± 21.82	102.24 ± 16.37 *	96.13 ± 10.42 *
	14	132.70 ± 25.07	135.83 ± 15.85	119.24 ± 18.03	99.56 ± 12.68 *	83.11 ± 23.36 **
前部	2	56.19 ± 4.57	59.25 ± 8.87	60.40 ± 5.65	70.53 ± 11.13	77.76 ± 16.45
Anterior section	7	71.19 ± 8.64	67.31 ± 6.65	77.36 ± 7.66	72.93 ± 6.46	59.58 ± 7.09 *
	14	76.25 ± 7.57	82.92 ± 9.20	85.75 ± 12.29	62.43 ± 5.79 *	55.68 ± 6.46 **
中部	2	164.41 ± 12.76	167.53 ± 12.33	171.76 ± 19.20	184.24 ± 19.17	191.35 ± 18.47
Mid-part	7	176.13 ± 12.76	181.41 ± 12.33	169.08 ± 19.20	150.53 ± 19.17 *	146.85 ± 18.47 *
	14	191.06 ± 19.60	183.45 ± 19.23	162.89 ± 18.15 *	152.37 ± 18.74 **	140.07 ± 12.24 **
后部	2	116.89 ± 13.39	99.66 ± 13.32	109.00 ± 17.49	106.36 ± 11.05	113.33 ± 15.93
Posterior section	7	133.50 ± 13.39	135.52 ± 13.32	130.50 ± 17.49	125.94 ± 11.05	116.66 ± 15.93
	14	130.82 ± 11.35	131.29 ± 18.26	123.25 ± 22.22	100.99 ± 9.41 *	106.60 ± 11.78 *

表 4 蚯蚓在染毒 2d、7d 和 14d 时阿苯哒唑对蚯蚓体及其不同部位 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响 ($\mu\text{mol}/(\text{h mg protein})$)

Table 4 Effect of Albendazole on Ca^{2+} -ATPase activity in whole earthworm and its different sections after 2, 7, and 14 days exposure

部位 Section	暴露时间 Duration of exposure (d)	阿苯哒唑浓度 Albendazole concentration (mg/kg)				
		0	100	200	400	600
蚯蚓体 Whole worm	2	2.61 ± 0.63	2.56 ± 0.64	2.15 ± 0.79	1.98 ± 0.70	1.94 ± 0.59
	7	2.50 ± 0.55	2.38 ± 0.23	2.23 ± 0.72	2.15 ± 0.78	1.96 ± 0.25
	14	2.57 ± 0.60	2.54 ± 0.38	2.27 ± 0.32	1.93 ± 0.44	1.78 ± 0.41
前部 Anterior section	2	2.22 ± 0.22	1.79 ± 0.35	1.78 ± 0.57	1.77 ± 0.57	1.77 ± 0.37
	7	2.23 ± 0.36	1.98 ± 1.34	1.96 ± 0.28	1.72 ± 0.47 *	1.40 ± 0.06 **
	14	2.21 ± 0.34	2.24 ± 0.38	2.49 ± 0.58	2.61 ± 0.22	2.82 ± 0.71
中部 Mid-part	2	2.08 ± 0.28	1.90 ± 0.50	1.85 ± 0.35	1.69 ± 0.38	1.56 ± 0.42
	7	2.10 ± 0.63	1.57 ± 0.27	1.32 ± 0.33 **	1.16 ± 0.11 **	1.03 ± 0.22 **
	14	2.07 ± 0.43	1.81 ± 0.10	1.67 ± 0.10	1.59 ± 0.32	1.60 ± 0.28
后部 Posterior section	2	2.44 ± 0.29	2.45 ± 0.35	2.28 ± 0.32	2.24 ± 0.43	1.69 ± 0.52
	7	2.45 ± 0.28	2.43 ± 0.15	2.27 ± 0.19	2.26 ± 0.36	2.15 ± 0.37
	14	2.47 ± 0.06	2.24 ± 0.23	2.14 ± 0.34	2.12 ± 0.16	2.64 ± 0.26

3 讨论

3.1 阿苯哒唑对蚯蚓 AP 活性的影响

溶酶体内含约 60 种酸性水解酶,这些水解酶对外源性物质、衰老的细胞和包涵物等有消化、分解作用,保护细胞免受各种不同有机化合物和重金属的损伤,目前溶酶体在哺乳动物和水生动物已经被作为外界环境污染的一种指示标志物。AP 普遍存在于溶酶体中,而且在进化过程中相对保守,所以 AP 被认为是溶酶体稳定性的标志酶,是检测外界污染可靠的生物标志物^[13,15]。

本实验结果表明,阿苯哒唑对蚯蚓 AP 活性的影响与染毒浓度、染毒时间和蚯蚓部位密切相关,该药对蚯蚓前部和中部的 AP 活性影响较大,尤其是前部,即使在最低的染毒浓度(100 mg/kg),AP 活性仍受到了明显的抑制,这可能是由于蚯蚓前部结构和功能的复杂性(主要包括繁殖器官、食道、砂囊、胃等)引起的,其机理需要进一步研究。而对于蚯蚓中部,在染毒 2d 时,两个较高浓度组的 AP 活性明显增加,可能是由于细胞防御体系对异源物质的早期适应性反应,以减少异源物质对机体的损伤,这种早期短暂的适应性反应一般是可逆的,当染毒 7d 时,各个组的 AP 活性没有明显的差异,这与 Rajalakshmi 报道^[12]的被重金属铜诱导的蚌类的反应基本一致。随着染毒时间的延长(14d),阿苯哒唑对蚯蚓的毒性反应已经超过了自身的防御体系所能适应的范围,推测溶酶体的结构和防御功能受到了严重损坏,本实验中阿苯哒唑在 200~600 mg/kg 浓度范围内,蚯蚓中部的 AP 活性均受到了显著抑制,一般而言,这时的毒性反应是不可逆的。

3.2 阿苯哒唑对蚯蚓 GST 活性的影响

GST 具有解毒作用,在脊椎动物、无脊椎动物和植物对异源物质(重金属、杀虫剂以及除草剂等)的解毒代谢中有重要的作用,而且容易被杀虫剂和重金属诱导。在以蚯蚓作为指示动物的毒理研究中,GST 活性的诱导作用也常常被作为指示重金属^[11]和杀虫剂污染^[13]潜在分子标志物,但也有相反的报道^[14,15]。在本实验中,蚯蚓在染毒 7d 后,该药对蚯蚓体及其前、中和后部的 GST 活性均有不同程度的抑制作用。并且随着染毒时间延长,药物浓度越高,GST 活性的抑制作用越强,尤其是蚯蚓中部,在染毒 14d 200~600 mg/kg 的 GST 活性降到对照组的 85%~73%。另外,从表 1 和表 4 可以看出,GST 活性在蚯蚓不同部位的分布不同,中部活性最高,这与该药对中部 GST 活性的影响较大是一致的。有研究表明,GST 在体内表达水平的高低是决定细胞对一些有毒化学物质的敏感性的关键因素^[16]。对于哺乳类动物,肝脏中 GST 含量最高,是解毒的重要场所,而昆虫中的脂肪体和中肠 GST 含量最高,通常也被认为脂肪体和中肠是昆虫的消化或解毒器官。本实验中蚯蚓中部可能是阿苯哒唑对蚯蚓 GST 活性影响较大的部位,但该机理还需进一步研究。

3.3 阿苯哒唑对蚯蚓 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

ATPase 存在于组织细胞及细胞器的膜上,在物质运送、能量转换以及信息传递方面具有重要作用。由于多种类型污染物对其有显著的诱导或抑制作用,因而目前 ATPase 活性已被看作水生动物对重金属和杀虫剂较敏感的分子生态毒理标志物。 Ca^{2+} -ATPase 对于维持细胞 Ca^{2+} 平衡是非常重要的,因为钙离子通常与信号转导有关,钙离子浓度的变化会引起细胞内信号途径的反应,导致一系列的生理变化。国内外关于无脊椎动物 ATPase 的研究却很少。本实验阿苯哒唑对蚯蚓 Ca^{2+} -ATPase 活性的研究表明,在染毒 2d 和 14d,蚯蚓体及其各部分的酶活性都没有明显变化,只有在染毒 7d 时,蚯蚓前部和中部的 ATPase 活性表现出不同程度的下降,该结果与阿苯哒唑对体内寄生虫影响的研究结果一致^[17,18]。McCracken 研究指出苯并咪唑类抗蠕虫药物的本质作用机制是抑制蠕虫线粒体的电子传递体系和与电子传递体系偶联的磷酸化反应。阿苯哒唑对 Ca^{2+} -ATPase 活性的抑制作用可能是由于破坏氧化磷酸化偶联,影响 ATP 的形成与释放,进而影响了与 ATP 相关的代谢功能。

从 3 种酶活性的变化趋势来看,虽然阿苯哒唑对蚯蚓 3 种酶活性均有显著性影响,但对它们的影响程度不同。该药对 AP 和 GST 活性的抑制作用均随染毒时间的延长而加强(染毒 2d 时中部的 AP 活性除外),染毒浓度和染毒时间有显著的互作效应,在染毒 14d 时,两种酶活的变化最明显。而 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化趋势与 AP 和 GST 活性不同,浓度、时间和部位对该酶活性没有明显的互作效应,在染毒 14d 时,各组酶活之间没有显著的变化。可见,该药对 AP 和 GST 活性的影响比 Ca^{2+} -ATPase 的大。另外,3 种酶中只有 AP 活性明显受到染毒浓度×蚯蚓部位的互作影响,影响最大的部位是蚯蚓前部。可见,在检测该药对土壤环境造成的影响时,不仅要重视检测指标的选择,蚯蚓部位的选择也很关键,该实验结果将为阿苯哒唑在土壤环境中的早期检测提供一定的理论基础。

References :

[1] Jensen J, Krogh P H, Sverdrup L E. Effects of the antibacterial agents tiamulin, olanquinox and metronidazole and the anthelmintic ivermectin on the soil invertebrate species *Folsomia fimetaria* (Collembola) and *Enchytraeus crypticus* (Enchytraeidae). Chemosphere, 2003, 50 :437—443.

[2] Liguoro M D, Cibin V, Capolongo F, et al. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming :evaluation of transfer to manure and soil. Chemosphere, 2003, 52 :203—212.

[3] Wu Y B, Wang Z S, Liao X D, et al. Effects of enrofloxacin on microorganisms in wetlands. Acta Ecologica Sinica, 26 (8) :2640—2645.

[4] Grønvold J, Svendsen T S, Kraglund Hans-Ole. Effect of the antiparasitic drugs fenbendazole and ivermectin on the soil nematode *Pristionchus maupasi*. Veterinary Parasitology, 2004, 124 :91—99.

[5] Zhao G H, Xu Z B. Preliminary studies on the absorption and excretion of albendazole in patients with cysticercosis cellulosae. Med J CASC, 2002, 4 (3) :4—5.

[6] Qu M M, Xu Y, Chen H G, et al. Toxicological study of three veterinary drugs on *Eisenia foetida*. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16 (6) :1108—1111.

[7] Xiao N W, Jing B B, Ge F, et al. The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions. Chemosphere, 2006, 62 :1366—1373.

[8] Vidal M L, Basseres A, Narbonne J F. Influence of temperature, pH, oxygenation, ater-type and substrate on biomarker responses in the freshwater clam *Corbicula fluminea* (Muller). Comp. Biochem. Physiol. C, 2002, 132 :93—104.

[9] Vidal M L, Basseres A, Narbonne J F. Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of *Corbicula fluminea* (Müller). Comp. Biochem. Physiol. C, 2002, 131 :133—151.

[10] Hønsi T G, Stenersen J. Activity and localisation of the lysosomal marker enzymes acid phosphatase, N-acetyl-β-D-glucosaminidase, and β-galactosidase in the earthworms *Eisenia fetida* and *E. feneta*. Comp. Biochem. Physiol. B, 2000, 125 :429—437.

[11] Lukkari T, Taavitsainen M, Soimasuo M, et al. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure : differences between populations with and without earlier metal exposure. Environmental Pollution, 2004, 129 :377—386.

[12] Rajalakshmi S, Mohandas A. Copper-induced changes in tissue enzyme activity in a freshwater mussel. Ecotoxicol. Environ. Saf., 2005, 62 :140—143.

[13] Booth L H, Heppelthwaite V J, Webster R, et al. Lysosomal neutral red retention time as a biomarker of organophosphate exposure in the

earthworm *Aporrectodea caliginosa*: Laboratory and semifield experiments. *Biomarkers*, 2001, 6 (1): 77—82.

[14] Wiegand C, Krause E, Steinberg C, *et al.* Toxicokinetics of atrazine in embryos of the zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2001, 49: 199—205.

[15] Robillard S, Beauchamp G, Laulier M. The role of abiotic factors and pesticide levels on enzymatic activity in the freshwater mussel *Anodonta cygnea* at three different exposure sites. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 2003, 135: 49—59.

[16] Hayes J D, Melellan L I, Stockman P K, *et al.* The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chmoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1995, 30 (6): 445—600.

[17] Li Y F, Yan Y X, Wang F Y, *et al.* Study on the effects of albendazole against encysted larvae of *Trichinella spiralis* in mice. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 2002, 9 (2): 81—85.

[18] Gao X J, Li Q Z. Studies on principles of variation of energy metabolism in *Cysticercus cellulosae* during in vivo development. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2004, 35 (3): 334—337.

参考文献：

[3] 吴银宝,汪植三,廖新娣,等. 恩诺沙星对小型模型水生态系统中微生物的影响. *生态学报*, 2006, 26 (8): 2640~2645.

[5] 赵冠宏,许炽标. 阿苯哒唑在猪囊尾蚴病患者体内吸收和排泄的初步研究. *中国航天医药杂志*, 2002, 4 (3): 4~5.

[6] 曲莞莞,徐韵,陈海刚,等. 三种兽药添加剂对土壤赤子爱胜蚓的毒理学研究. *应用生态学报*, 2005, 16 (6): 1108~1111.

[17] 李浴峰,闫玉仙,王凤云,等. 阿苯哒唑对旋毛虫囊包幼虫作用的组织学与组织化学观察. *寄生虫与医学昆虫学报*, 2002, 9 (2): 81~83.

[18] 高学军,李庆章. 猪囊尾蚴体内发育过程中能量代谢变化规律. *东北农业大学学报*, 2004, 35 (3): 334~337.