

DOI: 10.5846/stxb201306091553

雷忻, 关鹏周, 贾向荣, 王文强, 延志莲, 田鹏飞. 辛基酚胁迫对雄性泥鳅抗氧化酶及卵黄蛋白原的影响. 生态学报, 2015, 35(8): 2502-2508.

Lei X, Guan P Z, Jia X R, Wang W Q, Yan Z L, Tian P F. Incidence of antioxidant enzymes and vitellogenin induced in male loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) exposed to octylphenol. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(8): 2502-2508.

辛基酚胁迫对雄性泥鳅抗氧化酶及卵黄蛋白原的影响

雷 忻*, 关鹏周, 贾向荣, 王文强, 延志莲, 田鹏飞

延安大学生命科学学院, 延安 716000

摘要:为研究辛基酚(OP)对雄性泥鳅抗氧化酶活性及血清卵黄蛋白原(VTG)含量的影响,将雄性泥鳅分别暴露于4种不同质量浓度OP(0.12、0.19、0.32、0.52 mg/L)中持续7、14、21 d和28 d,采用试剂盒检测肝脏超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化氢酶(CAT)的含量,采用碱不稳定性蛋白结合磷法检测血清VTG的含量。结果表明,0.12 mg/L OP胁迫14 d,肝脏SOD和CAT含量均无显著变化,但是随着胁迫剂量增大和时间延长,SOD和CAT含量降低极其显著,在0.52 mg/L OP胁迫28 d时降到最低水平;泥鳅在0.12 mg/L OP中暴露7 d时,血清VTG含量就有极其显著升高,且随着胁迫剂量增大和时间的延长,VTG含量呈升高趋势。提示OP胁迫对SOD和CAT活性有显著的抑制作用,并随胁迫剂量增大和时间延长而抑制加剧,造成氧化损伤;OP胁迫可诱导VTG合成,并随暴露剂量增大和时间延长而诱导增强,具有明显的雌激素效应,这可能与氧化损伤有密切关系。

关键词:辛基酚; 泥鳅; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 卵黄蛋白原

Incidence of antioxidant enzymes and vitellogenin induced in male loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) exposed to octylphenol

LEI Xin*, GUAN Pengzhou, JIA Xiangrong, WANG Wenqiang, YAN Zhilian, TIAN Pengfei

College of Life Science, Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract: Octylphenol (OP), a group of alkylphenol polyethenoxy ethers (APEs), is usually present in polluted water. OP has strong estrogenic activity, is easily concentrated and is difficult for animals to degrade; therefore, it may affect the function of the liver of *Misgurnus anguillicaudatus*. The antioxidant enzyme system is an important protection mechanism in the body that prevents oxidative damage during metabolism of oxygen free radicals. Although some studies of the toxicity of many phenolic contaminations have been conducted in fish and mammals, few data are currently available regarding the oxidative damage and estrogenic activity of OP in fish. To investigate the damage and activity of *M. anguillicaudatus*, the median lethal concentration (LC_{50}) of OP for 24, 48, 72 and 96 hours and safe concentration (SC) were calculated by the single factor toxicity test. The LC_{50} for 24, 48, 72, and 96 hours were 3.26, 2.69, 2.12 and 1.82 mg/L, and the SC was 0.54 mg/L. Based on the SC values, male loaches were exposed to OP at four different concentrations (0.12, 0.19, 0.32 and 0.52 mg/L) and the activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT)) in the liver were determined at 7, 14, 21 d and 28 d. Additionally, the levels of serum vitellogenin (VTG) were examined by measuring the alkali-labile phosphorus content of the lipid-free protein fraction at 7, 14, 21 d and 28 d. The results showed that the activities of SOD did not differ significantly in response to 0.12 mg/L of OP during 14 d, but that they declined significantly with increased exposure time and concentration, with the lowest activity being observed in response to exposure

基金项目:国家自然科学基金项目(31240076);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2012JM3012);陕西省高水平大学建设专项资金资助项目(2012SXTS03);陕西省教育厅科学研究项目(2013JK0710);延安市科学技术研究发展计划项目(2012KS-15);延安大学博士科研启动项目(YD2007-112);陕西省生态学重点学科专项;国家大学生科技创新项目(201210719020)

收稿日期:2013-06-09; 网络出版日期:2014-05-16

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: leizz66@126.com

to 0.52 mg/L of OP for 28 d. The CAT activities showed a similar pattern. When compared to the control group (0 mg/L), the levels of serum VTG increased significantly in response to 0.12 mg/L of OP at 7 d, and increased further with increasing concentration. As the exposure time increased, the total VTG activity in the four concentration groups also increased, with the maximum value being observed in response to exposure to 0.52 mg/L of OP for 28 d. These findings indicated that OP had high toxicity toward *M. anguillicaudatus* and that moderate and high concentrations of OP were able to induce oxidative stress and exert a significant negative impact on SOD and CAT activities of *M. anguillicaudatus*. Moreover, the inhibition intensified remarkably as the exposure concentration and time increased, resulting in the hepatic defense function of antioxidant enzymes being reduced. This, in turn, caused excess reactive oxygen species (ROS) accumulation, which can lead to oxidative damage of *M. anguillicaudatus*. The serum VTG could be induced in male loaches treated by OP and the induction intensified greatly with exposure, indicating that OP possesses estrogenic activity that intensified as the exposure concentration and time increased, leading to damage to the reproductive system of *M. anguillicaudatus*. These results indicate that the estrogenic effect of OP may be closely correlated with oxidative damage in *M. anguillicaudatus*.

Key Words: octylphenol; *Misgurnus anguillicaudatus*; superoxide dismutase (SOD); catalase (CAT); vitellogenin (VTG)

辛基酚 (octylphenol, OP) 作为一种重要的精细化工原料和中间体,被广泛用于表面活性剂、塑料制品、农药、食物制品等产品的生产中^[1-2]。它是烷基酚乙烯醚 (APEs) 类物质中雌激素活性较强的一种^[3-4],具有易富集、难降解等特点,其引发的毒性可以通过食物链传递和放大,除可对水生生物产生毒害作用外,还可危及陆生动物、鸟类和人类的健康,目前在水体中的污染浓度可达 1000 ng/L,已成为当今水环境中重要的污染物^[5-6]。随着陕北能源化工基地建设的快速发展,辛基酚等酚类化合物污染有加剧之势,对当地水生生物及人体的毒害作用不容忽视。

超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是动物体内重要的抗氧化酶(antioxidant enzyme),是机体防御过氧化损伤系统的关键酶,在清除超氧自由基、 H_2O_2 以及阻止羟基自由基形成等方面发挥重要作用。它们的活性变化在一定程度上可反映污染物对生物体的影响,是一类敏感的分子生态毒理学指标^[7]。卵黄蛋白原(VTG)是卵生动物卵黄蛋白的前体,在雌性动物体内受内源性雌激素的调节可在肝细胞中合成,而雄性个体在外源雌激素或类雌激素化合物的诱导下肝细胞也可合成,因此雄性体内 VTG 的异常变化可作为生物标志物来检测环境污染物的雌激素效应^[8]。由于活性氧的含量与雄性个体生精细胞的损伤密切相关^[9-10],因此由环境雌激素引起的氧化损伤可能会导致雄性个体的生殖异常。目前,酚类化合物对鱼类和哺乳动物的抗氧化酶活性影响已有一些研究^[11-13],但 OP 对鱼类的氧化损伤作用、环境雌激素效应以及两者相互关系的研究鲜有报道。

泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)系一种小型淡水鱼,适应于淤泥、水体 2 种栖息环境,食性广,易驯养,是一种良好的水环境污染监测动物^[14]。本研究以泥鳅为试验动物,检测 OP 胁迫对其急性毒性效应、抗氧化酶活性及卵黄蛋白原的影响,研究 OP 对鱼类的氧化损伤及环境雌激素效应,旨在为深入探讨酚类化合物对鱼类的毒性效应机制提供资料,同时为当地水环境污染的检测和治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与药品

泥鳅购于陕西延安市农贸市场。在室温下,用经过 3 d 自然脱氯自来水驯养 2 周后,挑选健康、强壮的雄性泥鳅进行实验。受试泥鳅平均体质量(12.3 ± 2.5) g,平均长度为(11.0 ± 2.0) cm。辛基酚,分析纯,成都格雷西亚化学技术有限公司生产。SOD 试剂盒、CAT 试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。

1.2 毒性试验

1.2.1 急性毒性试验

在正式试验前先进行 2 次预试验,确定 OP 最大耐受质量浓度 (1.06 mg/L) 和最小全致死质量浓度 (3.32 mg/L)。按等对数间距,将 OP 设置 5 个质量浓度处理组 (1.28、1.55、1.87、2.27、2.75 mg/L),同时设空白对照组 (加蒸馏水),每个处理设 3 个平行,每组 20 尾雄性泥鳅。试验开始后,连续 8 h 观察泥鳅的活动、中毒情况及体色变化;每 24 h 统计 1 次死亡数,更换 1 次受试药液,以保证药液溶氧量、pH 值、水温及其他理化指标的稳定^[15];计算死亡率。试验共进行 96 h。试验期间的管理与驯养期间完全相同,水温 18—20 °C, pH 值 6.5—7.0,溶解氧 7.5—8.0 mg/L,试验容器为 40 L 塑料缸,每缸盛 20 L OP 处理液。

1.2.2 亚急性毒性试验

根据急性毒性试验所得结果,在安全浓度 (SC) 以下按照等对数法将 OP 设置 4 个质量浓度处理组 (0.12、0.19、0.32、0.52 mg/L),同时设置空白对照组 (加蒸馏水),每个处理设 3 个平行组,每组放入 20 尾雄性泥鳅。每 48 h 更换 1 次受试药液,隔天喂食少许小米和玉米碎粒,取样前 1 d 停止喂食^[15]。试验期间的管理与急性毒性试验相同。

1.3 抗氧化酶液制备与测定

分别于 OP 暴露 7、14、21、28 d 时采样,每组随机取 5 尾泥鳅,解剖后分别取出肝脏,加 4 °C 预冷的生理盐水,冰浴条件下进行匀浆,以 10000 r/min、4 °C 离心 10 min,取上清液,即为组织酶提取液。

SOD 活性采用 SOD 试剂盒测定。以 37 °C 条件下,每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率为 50% 时对应的 SOD 量为 1 个酶活性单位 (U/mg)。

CAT 活性采用 CAT 试剂盒测定。以 37 °C 条件下,每毫克组织蛋白每秒钟分解 1 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 定义为 1 个酶活性单位 (U/mg)。

1.4 VTG 样品的制备与测定

1.4.1 样品制备

分别在 OP 中暴露 7、14、21、28 d 时处死泥鳅,断尾取血,所得血样在 4 °C 下静置 4—6 h,10000 r/min 离心 15 min,取上清,冷冻保存,待测^[16-17]。采血结束后,将泥鳅解剖,根据性腺 (雄性:白色精巢,雌性:黄色卵巢) 进一步鉴定其性别。

1.4.2 VTG 含量测定

采用碱不稳定性蛋白结合磷法测定血清中 VTG 的含量。将样品分加入到含有 10% 的三氯乙酸溶液的离心管中,0 °C 过夜,离心去上清;加入 5% 三氯乙酸溶液,90 °C 下孵育 30 min;离心去上清;分别用无水乙醇、氯仿:乙醚:无水乙醇 (体积分数 1:1:2)、丙酮和乙醚按顺序清洗沉淀,弃去上清;加入 NaOH,100 °C 水解 3 h,待测^[17]。将样品转入比色管中,盐酸中和,加显色液 (配方:3 mol/L H_2SO_4 :蒸馏水:25 g/L 钼酸铵:100 g/L 抗坏血酸=1:2:1:1),37 °C 孵育 1.5—2 h;用分光光度计测定 780 nm 波长处的吸光值,根据吸光值算出磷含量,即可反映 VTG 的含量。标准液为无水磷酸二氢钾。

1.5 数据处理

运用 SPSS 18.0 软件对 OP 的质量浓度对数值与泥鳅死亡几率的关系进行回归分析,得到回归方程 $y = ax + b$ 。由 Bliss 统计方法计算出 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度 (LC_{50}) 和 95% 置信区间 (95% credibility range),由 LC_{50} 可以计算出安全浓度 (SC)^[18], $\text{SC} = 48 \text{ h } \text{LC}_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } \text{LC}_{50} / 48 \text{ h } \text{LC}_{50})^2$ 。

所有数据均采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA),用最小显著差数法 (LSD) 进行多重比较,结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。显著性差异以 $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 辛基酚对泥鳅的急性毒性效应

从症状来看,在试验的最初 6 h 内,OP 较低质量浓度 (1.28、1.55 mg/L) 处理,泥鳅没有明显的中毒症

状。而较高质量浓度 (2.27、2.75 mg/L) 处理 2 h 后泥鳅就开始出现中毒症状,游动急速,四处乱窜;6 h 游泳失衡,出现抽搐,不时跃出水面,碰撞桶壁,逐渐侧翻在水中;8 h 开始出现死亡,体表黏液显著增多。

泥鳅暴露在 5 个质量浓度 OP 中的死亡率变化见图 1。由图 1 可见,随着 OP 质量浓度的增大,泥鳅死亡率逐渐升高,基本呈正相关趋势。将死亡率转化为死亡几率单位,将 OP 质量浓度转化为浓度常用对数,进行回归分析,得到的回归方程见表 1。由表 1 可知泥鳅在 24、48、72、96 h 的 LC_{50} 和 SC 值,并且随着 OP 染毒时间的延长, LC_{50} 逐渐减小。

2.2 OP 对泥鳅肝脏中 SOD 活性的影响

由表 2 可见,与对照组相比,泥鳅在 0.12 mg/L OP 中暴露 7、14 d,肝脏 SOD 活性均无显著变化,暴露 21 d 时活性才显著降低;而在 0.32 mg/L 和 0.52 mg/L OP 中暴露 7 d 时, SOD 活性即有极其显著下降;在 0.19 mg/L OP 中暴露 14 d 时, SOD 活性有极其显著下降。同一暴露时间,在 4 个质量浓度 OP 处理组中,最低质量浓度 OP (0.12 mg/L) 处理组泥鳅肝脏 SOD 活性最高,随着 OP 质量浓度的增大,活性逐渐降低,当 OP 质量浓度为 0.52 mg/L 时, SOD 活性最低。

由表 2 还可知,泥鳅在同一质量浓度 OP 中暴露不同的时间, SOD 活性差异显著,并随着暴露时间的延长, SOD 活性均显著降低。4 个质量浓度 OP 处理组泥鳅肝脏 SOD 活性均在 28 d 时最低。

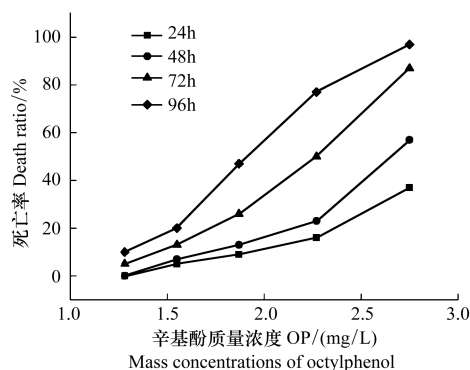


图 1 泥鳅死亡率与辛基酚质量浓度的关系

Fig. 1 Correlation between the death ratio of *Misgurnus anguillicaudatus* and octylphenol (OP) concentration

表 1 泥鳅暴露于 OP 中的死亡几率与质量浓度对数的回归方程 ($n=20$)

Table 1 Regress equation between the death probability of *Misgurnus anguillicaudatus* and OP mass concentration logarithm

暴露时间/h Time	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	半致死浓度/(mg/L) Median lethal concentration (LC_{50})	95%置信区间/(mg/L) 95% credibility range	安全浓度/(mg/L) Safe concentration (SC)
24	$y = 5.43x + 2.20$	0.95 **	3.26 a	1.90 — 12.07	0.54
48	$y = 6.98x + 1.98$	0.97 **	2.69 b	1.84 — 5.50	
72	$y = 7.75x + 2.46$	0.95 **	2.12 c	1.41 — 5.71	
96	$y = 9.51x + 2.48$	0.98 **	1.82 d	1.37 — 3.15	

回归方程中, x 为 OP 质量浓度的常用对数值, y 为泥鳅死亡几率; * 表示差异极显著, $P < 0.01$; 同列数据后不同字母表示不同处理半致死浓度之间差异显著, $P < 0.05$

表 2 不同质量浓度 OP 对泥鳅肝脏 SOD 活性的影响 (Mean $\pm$ SD) ($n=15$)

Table 2 Effects of hepatic SOD of *M. anguillicaudatus* exposed in different mass concentration OP

暴露时间/d Time	对照 Control 0.00 mg/L	超氧化物歧化酶活性/(U/mg) Superoxide dismutase (SOD) activities			
		0.12 mg/L	0.19 mg/L	0.32 mg/L	0.52 mg/L
7	35.95 $\pm$ 0.08	35.38 $\pm$ 0.52 a	34.55 $\pm$ 0.39 a	31.98 $\pm$ 0.88a **	22.13 $\pm$ 0.94a **
14	36.34 $\pm$ 0.21	34.97 $\pm$ 0.42 a	33.36 $\pm$ 0.21a **	29.07 $\pm$ 0.74b **	8.29 $\pm$ 0.87b **
21	36.78 $\pm$ 0.24	34.47 $\pm$ 0.14a **	32.15 $\pm$ 0.19b **	25.08 $\pm$ 0.82c **	14.42 $\pm$ 0.91c **
28	36.90 $\pm$ 0.19	33.05 $\pm$ 0.41b **	28.54 $\pm$ 0.85c **	21.37 $\pm$ 0.73d **	11.15 $\pm$ 0.91d **

* 表示 OP 处理组与对照组之间差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示处理组与对照组之间差异极显著 ($P < 0.01$); 同列数据后标相同字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$); 标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.3 OP 对泥鳅肝脏过氧化氢酶活性的影响

由表 3 可见,与对照组相比,泥鳅在 0.12 mg/L OP 中暴露 7、14 d,肝脏 CAT 活性均无显著变化,暴露 21 d 时活性有极显著下降;而在 0.19、0.32、0.52 mg/L OP 中暴露 7 d CAT 活性即有极其显著下降。同一暴露时间,在 4 个质量浓度 OP 处理组中,最低质量浓度 OP (0.12 mg/L) 处理组泥鳅肝脏 CAT 活性最高,随着 OP 质

量浓度的增大,活性逐渐降低,当 OP 质量浓度为 0.52 mg/L 时,CAT 活性最低。

由表 3 还可知,泥鳅在同一质量浓度 OP 中暴露不同的时间,CAT 活性差异显著,并随着暴露时间的延长,活性均呈显著降低趋势。4 个质量浓度 OP 处理组泥鳅肝脏 CAT 活性均在 28 d 时最低。

表 3 不同质量浓度 OP 对泥鳅肝脏 CAT 活性的影响 (Mean $\pm$ SD) ($n=15$)

Table 3 Effects of hepatic CAT of *M. anguillicaudatus* exposed in different mass concentration OP

暴露时间/d Time	对照 Control 0.00 mg/L	过氧化氢酶活性 Catalase (CAT) activities/(U/mg)			
		0.12 mg/L	0.19 mg/L	0.32 mg/L	0.52 mg/L
7	26.01 $\pm$ 0.17	25.35 $\pm$ 0.46a	24.52 $\pm$ 0.35a *	21.86 $\pm$ 0.68a **	12.43 $\pm$ 0.42a **
14	25.74 $\pm$ 0.54	24.93 $\pm$ 0.48 ab	23.24 $\pm$ 0.18ab **	18.89 $\pm$ 0.43b **	11.29 $\pm$ 0.25ab **
21	26.75 $\pm$ 0.20	23.68 $\pm$ 0.50bc **	22.06 $\pm$ 0.34b **	15.17 $\pm$ 0.88c **	10.51 $\pm$ 0.11bc **
28	25.87 $\pm$ 0.92	22.35 $\pm$ 0.16c **	18.48 $\pm$ 0.84c **	12.04 $\pm$ 0.63d **	9.15 $\pm$ 0.09c **

2.4 OP 对泥鳅血清卵黄蛋白原的影响

由表 4 可见,与对照组比较,泥鳅在低质量浓度 OP (0.12 mg/L) 中暴露 7 d 时,血清 VTG 水平即有极其显著升高,并且随着暴露质量浓度的增加,VTG 水平逐渐升高;在高质量浓度 (0.52 mg/L) 中暴露 7 d 时,血清 VTG 水平就达到较高值。在 4 个质量浓度 OP 处理组中,泥鳅血清 VTG 水平随着暴露时间的延长 (7、14、21、28 d) 均呈逐渐上升趋势,在 0.52 mg/L OP 中暴露 28 d 时,VTG 水平最高。

表 4 不同质量浓度 OP 对泥鳅血清 VTG 的诱导 (Mean $\pm$ SD) ($n=15$)

Table 4 Effects of serum VTG of *M. anguillicaudatus* exposed in different mass concentration OP

暴露时间/d Time	对照 Control 0.00 mg/L	卵黄蛋白原水平 Vitellogenin (VTG) levels/(mg/L)			
		0.12 mg/L	0.19 mg/L	0.32 mg/L	0.52 mg/L
7	0.19 $\pm$ 0.01	11.20 $\pm$ 0.08a **	12.06 $\pm$ 0.04a **	16.34 $\pm$ 0.02a **	18.06 $\pm$ 0.05a **
14	0.22 $\pm$ 0.01	13.77 $\pm$ 0.07b **	14.63 $\pm$ 0.03b **	20.62 $\pm$ 0.01b **	22.33 $\pm$ 0.03b **
21	0.23 $\pm$ 0.02	21.48 $\pm$ 0.03c **	20.62 $\pm$ 0.02c **	25.76 $\pm$ 0.07c **	27.47 $\pm$ 0.06c **
28	0.27 $\pm$ 0.02	23.19 $\pm$ 0.01d **	24.91 $\pm$ 0.03d **	29.18 $\pm$ 0.02d **	28.94 $\pm$ 0.09d **

3 讨论

3.1 OP 对泥鳅的氧化损伤效应

一般以污染物胁迫鱼类 96 h 的 LC_{50} 值作为环境污染物毒性评价的依据,可将其急性毒性分为 5 个等级: <1 mg/L 为剧毒,1 mg/L $\leq$ LC_{50} <100 mg/L 为高毒,100 mg/L $\leq$ LC_{50} <1000 mg/L 为中等毒性,1000 mg/L $\leq$ LC_{50} <10000 mg/L 为低毒, $\geq$ 10000 mg/L 为微毒^[19]。根据本试验结果,OP 96 h LC_{50} 为 1.82 mg/L,属于高毒等级的酚类污染物,其对水生生物的毒害作用非常严重,应引起高度重视。本研究的急性毒性试验结果表明,在相同时间内,泥鳅的死亡率随 OP 质量浓度的增大呈上升趋势,说明在一定剂量范围内,OP 对泥鳅存在明显的急性毒性效应。

抗氧化酶系统是机体维持氧自由基代谢平衡、免受氧化损伤的重要保护系统,其中 SOD 和 CAT 在参与活性氧 (ROS) 的清除和机体保护性防御中起着主要作用^[20]。当机体受到环境因子胁迫时,抗氧化酶活性会发生异常,导致机体的氧化损伤。毛阿敏等^[21]检测了氯氰菊酯胁迫对克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 肝胰腺 SOD 和 CAT 活性的影响,发现氯氰菊酯对 2 种酶活性都具有显著的抑制作用。石洪玥等^[11]研究了苯酚对红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 幼鱼肝脏抗氧化酶的影响,认为胁迫 16 d 时,SOD 活性被显著抑制。李晖^[13]的研究表明由于 OP 胁迫对大鼠肝脏 SOD 活性有显著抑制作用,导致其肝脏的氧化损伤。本研究结果显示,在 OP 亚急性染毒过程中,低剂量 (0.12 mg/L) 胁迫 14 d,泥鳅肝脏 SOD 和 CAT 的活性均无显著变化,但随着 OP 胁迫剂量增大和胁迫时间延长,2 种酶的活性均呈现显著降低的趋势,表明在一定时间内,泥鳅受到 OP

轻度胁迫时,肝脏 2 种抗氧化酶仍能维持正常生理功能,而当受到 OP 中、重度胁迫时,2 种抗氧化酶活性被明显的抑制,并随着胁迫剂量增大和时间延长,抑制作用加剧。提示 OP 胁迫时会使泥鳅肝脏抗氧化酶系统的防御功能降低,机体内积累过量的 ROS,从而导致氧化损伤的发生。

3.2 OP 对泥鳅的雌激素效应

VTG 含量与性类固醇激素之间存在着密切关系^[22]。由于雄性泥鳅自身内源性雌激素水平极低,血清 VTG 水平极其微量,甚至难以检测,因此雄性泥鳅血清 VTG 水平的变化能够直接反映外源性雌激素物质的干扰作用。詹翠琼等^[23]对暴露在多氯联苯(Polychlorinated biphenyls, PCBs)中的雄性孔雀鱼(*Poecilia reticulata*) VTG 进行检测,发现 PCBs 可诱导产生 VTG。王宏元等^[24]通过对雄性中国林蛙(*Rana Chensinensis*)肝细胞雌激素受体和 VTG 的检测,认为壬基酚对 VTG 有明显的诱导作用。本研究中,暴露在 OP 中的雄性泥鳅血清 VTG 水平升高极其显著,说明 OP 在肝脏合成 VTG 过程中具有诱导作用,提示其对雄性泥鳅具有一定的雌激素效应。

赵岩等^[25]研究双酚 A 对雄性泥鳅血清 VTG 的诱导作用时,发现 VTG 含量随双酚 A 胁迫时间和胁迫剂量的增加而显著升高。本研究对 OP 胁迫雄性泥鳅的血清 VTG 水平检测结果显示,随着 OP 胁迫剂量的增加,VTG 水平呈上升趋势;在同一剂量下,VTG 水平随胁迫时间的延长逐渐升高。说明 OP 对雄性泥鳅的血清 VTG 的诱导作用与胁迫剂量和时间有密切关系,诱导作用随着剂量增大和时间延长而逐渐增强,提示 OP 的雌激素效应也会随剂量和时间的增加而增强,这可能会对雄性泥鳅生殖系统产生影响。

马爱团等^[26]研究了己烯雌酚对雄性金色中仓鼠(*Mesocricetus auratus*)的生殖毒性与氧化损伤的关系,提出氧化损伤可能是环境雌激素生殖毒性的作用机理之一。本研究中,OP 对抗氧化酶活性的抑制作用会造成泥鳅体内 ROS 的积累,而生精细胞对 ROS 的敏感性比体细胞更强,少量 ROS 就能干扰生精细胞的功能^[9],因此氧化损伤会导致雄性泥鳅生殖功能受损,这与上述 OP 对雄性泥鳅血清 VTG 的诱导规律是相符合的,说明 OP 对雄性泥鳅的雌激素效应可能与其氧化损伤有着密切关系。

参考文献(References):

- [1] Routledge E J, Sumpter J P. Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogen activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(6): 3280-3288.
- [2] Rey Vázquez G, Meijide F J, Da Cuña R H, Lo Nostro F L, Piazza Y G, Babay P A, Trudeau V L, Maggese M C, Guerrero G A. Exposure to waterborne 4-tert-octylphenol induces vitellogenin synthesis and disrupts testis morphology in the South American freshwater fish *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2009, 150(2): 298-306.
- [3] White R, Jobling S, Hoare S A, Sumpter J P, Parker M G. Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, 1994, 135(1): 175-182.
- [4] Jobling S, Sumpter J P, Sheahan D, Osborne J A, Matthiessen P. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1996, 15(2): 194-202.
- [5] Rudel R. Predicting health effects of exposures to compounds with estrogenic activity: methodological issues. *Environmental Health Perspectives*, 1997, 105(S3): 655-663.
- [6] 杜克久, 徐晓白. 环境雌激素研究进展. *科学通报*, 2000, 45(21): 2241-2251.
- [7] 陈琳琳, 张高生, 陈静, 任宗明. 汞、硒暴露对紫贻贝(*Mytilus edulis*)抗氧化酶系统的影响. *生态毒理学报*, 2011, 6(4): 383-388.
- [8] Chikae M, Ikeda R, Hasan Q, Morita Y, Tamiya E. Effect of alkylphenols on adult male medaka; plasma vitellogenin goes up to the level of estrous female. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2003, 15(1): 33-36.
- [9] Aitken R J, Baker M A. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa: a continuing enigma. *International Journal of Andrology*, 2002, 25(4): 191-194.
- [10] Mishra D P, Shaha C. Estrogen-induced spermatogenic cell apoptosis occurs via the mitochondrial pathway: role of superoxide and nitric oxide. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(7): 6181-6196.
- [11] 石洪玥, 姜志强, 高小强, 宫雪, 吴洪, 李艳秋. 苯酚对红鳍东方鲀幼鱼的急性毒性及对肝脏抗氧化酶的影响. *吉林农业大学学报*, 2012, 34(6): 682-687, 704-704.

- [12] 李健, 司丽芳, 位志国, 薛帮群, 李翔, 位兰, 李梦云, 陈树林. 辛基酚对成年雄性小鼠血浆和脾脏抗氧化功能的影响. 动物医学进展, 2012, 33(3): 29-32.
- [13] 李晖. 辛基酚、壬基酚对雌性大鼠的毒性作用及葛根黄酮干预作用的研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.
- [14] 成庆泰, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索. 北京: 科学出版社, 1987.
- [15] 沈洪艳, 宋存义, 甄芳芳, 任洪强. 对氯硝基苯对锦鲤鱼的急性毒性效应. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2007, 31(4): 514-516.
- [16] Shi G Q, Shao J, Jiang G B, Wang Q X, Lu Y Q, Liu J F, Liu J M. Membrane chromatography method for the rapid purification of vitellogenin from fish plasma. Journal of Chromatography B, 2003, 785(2): 361-368.
- [17] 张艳珍, 陈细华, 危起伟, 邱实, 刘志刚. 中华鲟血清卵黄蛋白原水平的初步观察. 淡水渔业, 2008, 38(5): 10-14.
- [18] 张克杰, 张维平. 环境污染生物监测与评价. 北京: 中国环境科学出版社, 1991.
- [19] 孔志明. 环境毒理学 (第三版). 南京: 南京大学出版社, 2006.
- [20] Palacea V P, Brown S B, Baron C L, Fitzsimons J, Woodin B, Stegeman J J, Klavervkamp J F. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario. Aquatic Toxicology, 1998, 43(2/3): 195-208.
- [21] 毛阿敏, 魏克强, 赵辉, 刘婉莎, 刘娥娥, 吕虹瑞. 高效氯氰菊酯对克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 抗氧化酶活性的影响. 农业环境科学学报, 2013, 32(4): 689-696.
- [22] Reis-Henriques M A, Cruz M M, Pereira J O. The modulating effect of vitellogenin on the synthesis of 17 β -estradiol by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovary. Fish Physiology and Biochemistry, 1997, 16(3): 181-186.
- [23] 詹翠琼, 黄絮洁, 方展强, 马广智, 姚静. 多氯联苯对孔雀鱼卵黄蛋白原的诱导及检测. 生态毒理学报, 2007, 2(3): 333-338.
- [24] 王宏元, 巨荣菊, 白瑶, 张育辉. 壬基酚对雄性中国林蛙肝细胞中雌激素受体和卵黄蛋白原的影响. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 39(6): 54-59.
- [25] 赵岩, 时国庆, 孙春宝, 佟明阳. 双酚 A 对泥鳅卵黄蛋白原的诱导. 科学技术与工程, 2007, 7(9): 2156-2159.
- [26] 马爱团, 陈耀星, 王子旭. 己烯雌酚对成年雄性金色中仓鼠的生殖毒性与氧化损伤的关系. 动物学报, 2007, 53(6): 1076-1082.