

# 葱、菲、芘、蒽混合液对菲律宾蛤仔抗氧化酶活性的影响

蔡立哲<sup>1,2</sup>, 马丽<sup>3</sup>, 高阳<sup>2</sup>, 杨丽<sup>2</sup>

(1. 近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门大学, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学 环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 3. 国家海洋局 第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 以菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 为研究对象, 在实验生态条件下采用不同浓度的葱 (Fluoranthene)、菲 (Phenanthrene)、芘 (Pyrene)、蒽 (Chrysene) 混合液进行染毒实验, 研究菲律宾蛤仔体内超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 的剂量-效应关系和时间-效应关系。实验的 3 种混合液浓度为 5  $\mu\text{g/L}$  (低浓度组), 50  $\mu\text{g/L}$  (中浓度组), 500  $\mu\text{g/L}$  (高浓度组)。结果表明, 在低浓度混合液下 (5  $\mu\text{g/L}$ ), CAT 比 SOD 和 GPx 更快受到诱导; 4 种多环芳烃混合污染物对 SOD、CAT 和 GPx 活性的影响均为先诱导后抑制的变化过程。

**关键词:** 多环芳烃; 菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*); 抗氧化酶

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)08-0047-06

生物体内的抗氧化防御系统酶包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 等。由体内代谢产生的活性氧可为抗氧化防御系统控制, 消除活性氧对机体的伤害作用。然而, PAHs 等污染物在生物体内进行生物转化时, 同时产生了氧化还原循环 (Redox cycle), 这样, 不仅母体化合物产生的中间体产物本身是自由基代谢物, 可与核酸、蛋白质共价连接, 产生毒害, 而且在氧化还原循环中产生了大量的活性氧。在一定范围内, 这些活性氧能被体内抗氧化防御系统清除。但当体内抗氧化防御系统不能清除这些活性氧时, 它们可使 DNA 链断裂、脂质过氧化、酶蛋白失活等, 从而引起机体氧化胁迫 (Oxidative stress) 或氧毒性。

超氧化物歧化酶 (SOD) 是生物体内抗氧化防御系统的重要酶之一, 它可清除生物体内的  $\text{O}_2 \cdot^-$  自由基, 如果  $\text{O}_2 \cdot^-$  及时得到清除,  $\cdot\text{OH}$  产生的可能性就极小, 即机体受损伤的可能性不大<sup>[1]</sup>。SOD 清除  $\text{O}_2 \cdot^-$  的能力与其含量和活性有关, 当生物体受到污染胁迫时, 往往会伴随着体内抗氧化酶活性的上升或下降, 所以, 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包括抗氧化防御系统。谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 以过氧化氢作为底物, 催化形成水。二色裂江珧 (*Pinna bicolor*) 组织内的 SOD 存在不同程度的组织特异性<sup>[2]</sup>。过氧化氢酶广泛存在于微生物及动植物体内, 它的作用是在氢原子供体 ( $\text{RH}_2$ ) 低浓度时, 将脱氢氧化酶催化产生的多余过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 转变为  $\text{HO}_2$ 。CAT 是生物体内一种含巯基的抗氧化酶, 可与谷胱甘肽过氧化物酶一起, 清除 SOD 歧化超氧阴离子自由基 ( $\text{O}_2 \cdot^-$ ) 产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 进而阻断可产生活性极高的羟自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ) 的 Haber-weiss 反应<sup>[3]</sup>。

菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 喜栖于有淡水流入、

波浪平静、沙和泥沙质的海底, 其垂直分布从潮间带至 10 余米水深的海底。菲律宾蛤仔是养殖种类, 也是潮间带大型底栖动物群落的优势种之一。青岛胶州湾沧口潮间带长期受青岛工业废水排放的影响, 生物群落结构严重破坏, 20 世纪 80 年代初调查时, 原有的优势种只剩下菲律宾蛤仔<sup>[4]</sup>。荧蒽、菲、芘对菲律宾蛤仔 SOD 的影响是先升后降<sup>[5]</sup>。而典型 PAHs 对菲律宾蛤仔 CAT 和 GPx 活性的影响在国内未见报道。在室内实验中, 将菲律宾蛤仔分别暴污于葱、菲、芘、蒽 4 种多环芳烃等比例配制而成 3 种浓度梯度中, 测定酶活性, 分析 SOD、CAT 和 GPx 的剂量-效应关系和时间-效应关系, 探讨典型 PAHs 对菲律宾蛤仔的氧化胁迫机制, 为海洋双壳类抗氧化酶最终作为监测海洋 PAHs 污染的生物标志物组成部分提供科学的参考依据和实践依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

菲律宾蛤仔采自厦门杏林湾信良大桥下的养殖区, 先在室内于铝盆内用沙滤海水暂养 7d, 待其状态稳定后, 选取健康无病害且质量、大小相近 (壳长  $3.77\text{cm} \pm 0.21\text{cm}$ , 壳宽  $2.67\text{cm} \pm 0.18\text{cm}$ , 质量  $10.58\text{g} \pm 0.79\text{g}$ ) 的个体进行污染实验。污

收稿日期: 2005-04-06; 修回日期: 2005-06-12

基金项目: 教育部骨干教师资助项目; 福建省重点基金项目 (D002-0002)

作者简介: 蔡立哲 (1957-), 男, 福建泉州人, 博士, 教授, 主要从事海洋底栖动物污染生态学和毒理学研究, E-mail: cailizhe@jingxian.xmu.edu.cn

染物采用三-四环的多环芳烃蒽、菲、芘、䓵，用丙酮配成总浓度为 1000 mg/L (各自浓度为 250 mg/L) 的混合母液贮备。

### 1.2 主要仪器和试剂

实验仪器采用 721-100 型分光光度计, DK-S24 型电热恒温水浴锅, BS110S 型电子分析天平, Beckman J2-MC 型高速冷冻离心机。

氮蓝四唑 (NBT) 和甲硫氨酸 (Met) (均为 Sigma 产品), 5, 5'-二硫代对二硝基苯甲酸 (DTNB)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 和迭氮化钠 (NaN<sub>3</sub>) (均为上海生工公司), 以上试剂和其它所用试剂均为分析纯药品。

### 1.3 暴污实验

随机选取菲律宾蛤仔分为 4 组: 丙酮对照组 (简称对照组)、低浓度组 (5 μg/L)、中浓度组 (50 μg/L) 和高浓度组 (500 μg/L)。每组为 40 个菲律宾蛤仔, 饲养于 6 L 的铝盆中, 盆中不放底泥, 只放含污染物的 4 L 沙滤海水, 充气机 24h 充气, 每日更换相同浓度的污染液且早晚各投喂一次小金藻 100mL, 清除死蛤。实验期间水温 24~26°C, 海水盐度 29~30。分别在污染实验开

始的第 0、7、14、28 天采样。

### 1.4 酶活性测定

每个采样时间每个实验组各采 6 个菲律宾蛤仔, 仔细分离出内脏团后, 内脏团按 1:1 加入预冷的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH=7.8), 冰浴中匀浆, 4°C、12 000 r/min 离心 20min, 取其上清液用于 SOD、CAT、Se-GPx 活性的测定。

#### 1.4.1 SOD 活性测定

SOD 活性的测定采用氮蓝四唑 (NBT) 法。一个酶活性单位定义为在 25°C 时, 每克组织鲜质量样品 20min 内抑制 NBT 光化还原的 50% 的酶量。

#### 1.4.2 CAT 活性测定

CAT 活性的测定采用硫代硫酸钠滴定法。一个酶活力单位定义为在 25°C 时, 每克组织鲜质量样品 1min 内分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的毫克数。

#### 1.4.3 GPx 活性测定

Se-GPx 活性测定采用改良后的 DTNB 直接法<sup>[6]</sup>, 其操作过程见图 1。一个酶活力单位定义为 1mL 的组织酶提取液, 37°C,

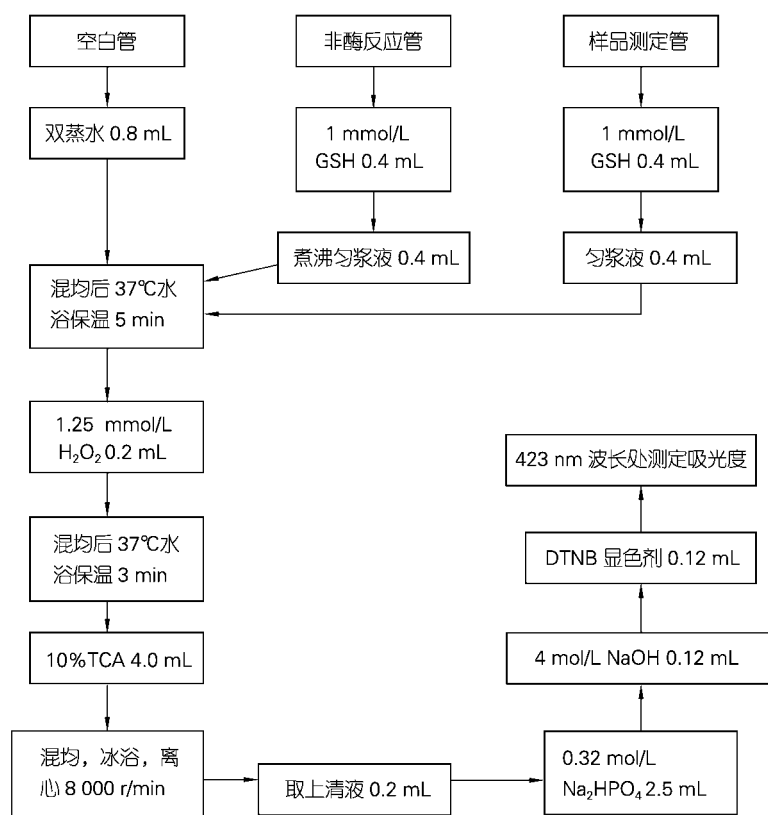


图 1 Se-GPx 活性测定步骤

Fig.1 Test process of Se-GPx activity

pH6.5 条件下反应 1min, 扣除非酶反应后, 使还原型谷胱甘肽 (GSH) 浓度下降 1 $\mu$ mol 的酶量。

### 1.5 数据处理

实验结果进行统计处理。数据结果为平均数 $\pm$ 标准误差 (Mean $\pm$ SD); 用 *t*-检验法对组间的数据进行显著性差异分析,  $P < 0.05$ , 认为是差异显著;  $P < 0.01$ , 认为是差异高度显著。

## 2 结果

### 2.1 葱、菲、芘、蒽混合液对菲律宾蛤仔 SOD 活性的剂量-时间效应

暴露于葱、菲、芘、蒽混合液第 7 天, 低、中、高浓度组的菲律宾蛤仔体内 SOD 活性均受到诱导, 并且随着 PAHs 浓度的增高而增高, 低、中、高浓度组的 SOD 活性变化率分别为 78.5%、226.8% 和 649.8% (图 3)。除了高浓度组与对照组之间差异显著性外, 低浓度组和中浓度组与对照组之间差异均不显著。高浓度组与低、中浓度组分别有显著差异 ( $P < 0.05$ )。根据菲律宾蛤仔体内 SOD 活性和 4 种 PAHs 混合液浓度进行回归分析, 得出回归系数  $R^2 = 0.9432$ , ( $P < 0.01$ ,  $n = 24$ )。这表明菲律宾蛤仔 SOD 的活性与葱、菲、芘、蒽混合液浓度有显著的正相关性。

第 14 天, 中浓度组的 SOD 活性最高, 与对照组相比 SOD 活性升高了 291.8%。低浓度组的 SOD 活性虽比对照组略高, 但无统计意义上的差异。此时, 高浓度组的 SOD 活性已受到抑制, 与对照组相比 SOD 活性下降了 34.4%, 但不存在显著性差异。在第 14 天后, 高浓度组菲律宾蛤仔陆续出现死亡, 至第 18 天该组所有菲律宾蛤仔死亡。

第 21 天至第 28 天, 低浓度组和中浓度组 SOD 活性继续下降。

无论是低浓度组、中浓度组还是高浓度组的菲律宾蛤仔 SOD 活性均随暴露时间的延长呈先升高后降低的趋势 (图 3)。其中高浓度组 SOD 活性被抑制的时间出现的最早为第 7 天, 其次是中浓度组为第 14 天, 低浓度组最晚, 在暴露第 21 天时, SOD 活性才明显被抑制。

将 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 mL 1.0 mmol/L GSH 加 10% 三氯醋酸 1.6mL, 用双蒸水稀释配成浓度为 0, 10, 20, 30, 40, 50  $\mu$ mol/L 的 GSH 标准液各 2mL, 再在各管内依次加入 0.32 mol/L 磷酸氢二钠 2.5 mL, 4 mol/L 氢氧化钠 120 $\mu$ L, 1.0 mol/L 5, 5'-二硫代对二硝基苯甲酸 0.5mL, 以空白管校零点, 于 423nm 波长处比色, 读取吸光值 *A*。GSH 标准曲线以吸光度 (*A*) 和 GSH 样品浓度 (*Y*) 进行回归, 求得标准曲线的回归方程为  $Y = 240.51A + 0.4885$ ,  $R = 0.9984$  (图 2)。

### 2.2 葱、菲、芘、蒽混合液对菲律宾蛤仔 CAT 活性的剂量-时间效应

暴露第 7 天, 3 种浓度组 CAT 活性均高于对照组, 酶活性均比开始时高, 均受到诱导。低浓度组 CAT 活性受到诱导最大, 极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组和高浓度组而显著 ( $P < 0.05$ ) 高

于中浓度组; 中浓度组与对照组也存在极显著 ( $P < 0.01$ ) 的差异, 与对照组相比为 270.9%; 高浓度组 CAT 活性低于低浓度组和中浓度组, 与对照组相比活性只升高了 43.2% (图 4)。

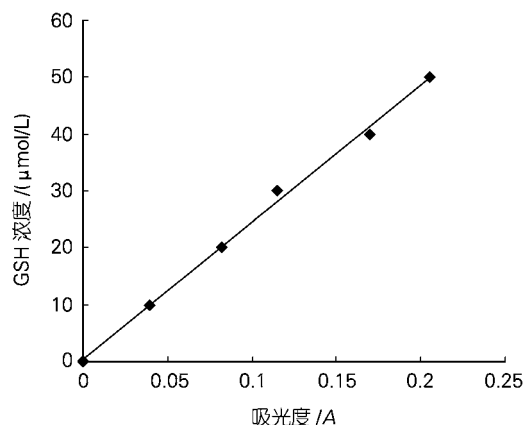


图 2 GSH 标准曲线  
Fig.2 The standard curve of GSH content

暴露第 14 天, 低浓度组 CAT 的活性仍旧是最高的, 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组和中浓度组; 中浓度组 CAT 活性虽高于对照组, 但不具有统计意义上的差异; 高浓度组 CAT 活性受到显著 ( $P < 0.05$ ) 抑制, 极显著 ( $P < 0.01$ ) 地低于低浓度组和中浓度组, 其活性仅为对照组的 71.5%。

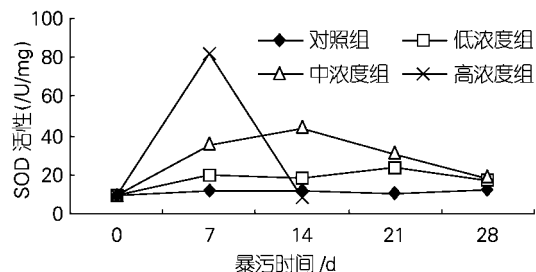


图 3 葱、菲、芘、蒽混合液与菲律宾蛤仔 SOD 活性的剂量-时间效应

Fig.3 Dose-time effect between SOD activity in *Ruditapes philippinarum* and PAH mixed fluid

暴露于葱、菲、芘、蒽混合液的第 7 天和第 14 天, 菲律宾蛤仔 CAT 活性受诱导的程度会随着混合液浓度的增加而降低。

暴露于葱、菲、芘、蒽混合 PAHs 的菲律宾蛤仔 CAT 活性, 在短期内会受到诱导, 但随着暴露时间的延长反而受到抑制, 低、中、高浓度组 CAT 活性受到抑制的时间均出现在第 7 天。

### 3 讨论

#### 3.1 典型 PAHs 对双壳类抗氧化酶的诱导作用

自由基游离存在,带有不成对的电子、分子、原子或离子,其化学性质很活泼,在生物体内可攻击各种生物大分子,引起 DNA 损伤、酶失活、脂质过氧化等一系列氧化损伤。生物体内的自由基来源于体内非酶反应和酶反应产生的内源性自由基外,还来源于环境物理因素或外源性化学物质直接或间接诱导产生的外源性自由基。这些自由基主要是超氧阴离子自由基 ( $O_2^-$ )、羟自由基 ( $\cdot OH$ ) 及其活性衍生物如过氧化氢 ( $H_2O_2$ )、单线态氧 ( $^1O_2$ ) 和脂类过氧化物等,这类自由基统称为活性氧。生理状态下,由代谢产生的活性氧可被生物体内抗氧化防御系统控制,浓度极低,它们不仅不会损伤机体,而且还具有独特的生理作用。但在某些条件下如环境理化条件变化、病害、环境污染等,生物体中自由基可大量生成,导致自由基的产生和清除失去平衡,对机体造成氧化损伤。生物体内存在的抗氧化防御系统由抗氧化酶和小分子抗氧化物组成,其中 SOD、CAT、GPx 是生物体中最主要的 3 种抗氧化酶,这些酶的重要特征之一就是在氧化压力条件下能被诱导,这种诱导反应是生物体对外来污染物所导致的氧化压力的一种重要调节机制<sup>[7]</sup>,被认为是生物清除体内活性氧自由基的一种保护反应<sup>[8]</sup>。同时一些研究也表明 PAHs 能被代谢成多环芳烃醌和氧化循环的衍生物<sup>[9]</sup>,这些 PAHs 代谢物很不稳定,可以产生氧化压力<sup>[10]</sup>。Porte 等<sup>[11]</sup>就曾报道过被 PAHs 污染海区内双壳类贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) CAT 和 SOD 活性与对照样区相比分别被诱导了 100%和 39%。Sole 等<sup>[12]</sup>报道了 *Mytilus* sp. 相似的 CAT 和 SOD 的诱导。

在抗氧化酶中,SOD 是生物体内唯一一种以自由基为底物的酶,其作用底物为  $O_2$ ,可将其歧化为  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,是首先清除活性氧的酶<sup>[7]</sup>。生物体合成 SOD 常受到  $O_2^-$  浓度的影响,例如经常处在  $O_2$  分压较高的环境中的生物体其体内  $O_2^-$  浓度高于正常水平,在  $O_2^-$  的诱导下,SOD 的生物合成能力增高,但 SOD 清除  $O_2^-$  的能力总是有限的,如果  $O_2^-$  的产生超过 SOD 清除  $O_2^-$  的能力,就会发生  $O_2^-$  对机体的危害,从而 SOD 的生物合成就会受到影响<sup>[11]</sup>。在作者的实验中,菲律宾蛤仔暴露于不同浓度 PAHs 的初期至第 7 天时,SOD 的活性均受到诱导,并且这种诱导能力随着 PAHs 浓度的增加而增加,说明不同浓度的 PAHs 对菲律宾蛤仔均已产生了氧化压力,并且高浓度组的 PAHs 对菲律宾蛤仔的氧化压力最大,其次是中浓度组,低浓度组氧化压力相对较小。但在暴露第 14 天时,高浓度组 SOD 的活性受到抑制,说明在第 14 天时,高浓度组 (500 $\mu$ g/L) PAHs 对菲律宾蛤仔已产生了毒害作用。

#### 3.2 典型 PAHs 对双壳类抗氧化酶先诱导后抑制现象

一些研究表明暴露于高浓度 PAHs 的双壳类,其体内抗氧化酶的活性是降低的<sup>[13]</sup>。冯涛等<sup>[3]</sup>发现暴露于高浓度苯并花 (BaP) 的大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 肝脏内的

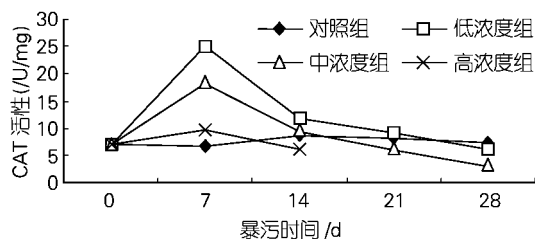


图 4 葱、菲、芘、蒽混合液与菲律宾蛤仔 CAT 活性的剂量-时间效应

Fig.4 Dose-time effect between CAT activity in *Ruditapes philippinarum* and PAH mixed fluid

#### 2.3 葱、菲、芘、蒽混合液对菲律宾蛤仔 GPx 活性的剂量-时间效应

暴露第 7 天,高浓度组 GPx 活性最高,极显著 ( $P < 0.01$ ) 地高于对照组和低浓度组的 GPx 活性,但与中浓度组之间没有显著性差异。中浓度组 GPx 活性也极显著的高于低浓度组的活性。低浓度组 GPx 活性虽高于对照组,但没有统计意义上的差异 (图 5)。

暴露第 14 天,中浓度组 GPx 活性最高,相对活性为 300.6%,极显著地 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组、低浓度组和高浓度组。低浓度组和高浓度组 GPx 相对活性分别为 90.0%和 72.5%,均低于对照组,但没有显著差异。

暴露第 21 天,低浓度组的 GPx 活性最高,而中浓度组的 GPx 活性反而低于对照组。

暴露第 28 天,对照组、低浓度组和中浓度组 GPx 活性均在 8U/mg 以下。

暴露于葱、菲、芘、蒽混合 PAHs 的菲律宾蛤仔 GPx 活性,在短期内会受到诱导,但随着暴露时间的延长反而受到抑制,中、高浓度组 GPx 活性受到抑制的时间均出现在第 7 天,低浓度组 GPx 活性受到抑制的时间则出现在第 21 天 (图 5)。

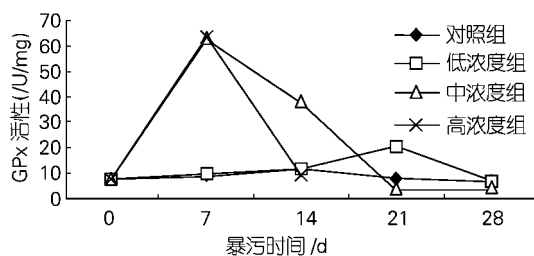


图 5 葱、菲、芘、蒽混合液与菲律宾蛤仔 GPx 活性的剂量-时间效应

Fig.5 Dose-time effect between GPx activity in *Ruditapes philippinarum* and PAH mixed fluid

SOD 活性被显著诱导, 而 CAT 和 Se-GPx 活性则被显著抑制。而更多的研究表明, 海洋污染物与双壳类体内抗氧化酶之间存在剂量-效应关系。如典型 PAHs 对菲律宾蛤仔 SOD 活性的影响基本上可分为两个阶段: 诱导反应和抑制反应阶段<sup>[5]</sup>。0#柴油、二甲苯和 Cd 在低浓度下对毛蚶 (*Scapharca subcrenata*) 肌肉组织中 CAT 活性均起诱导作用, 高浓度则表现为不同程度的抑制作用<sup>[14]</sup>。本研究菲律宾蛤仔暴露于 4 种浓度 PAHs 混合液, 其体内 SOD、CAT 和 GPx 3 种酶活性在不同时间段上均出现了酶的诱导和活性降低的现象, 这说明由葱、菲、芘、蒽 4 种 PAHs 在菲律宾蛤仔体内可能产生了大量的活性氧, 并且这种氧化压力随着 PAHs 污染浓度的增加和污染时间的延长而被增强, 但超过一定的浓度值和时间极限时, 菲律宾蛤仔对产生的氧化压力的调节能力就可能受到伤害。

### 3.3 3 种抗氧化酶对 PAHs 污染的比较

在 4 种 PAHs 混合液对菲律宾蛤仔的剂量-时间效应实验中, 低浓度组的 CAT 在暴露 7d 内被显著诱导, 这表明菲律宾蛤仔抗氧化防御系统清除由葱、菲、芘、蒽混合污染物产生的氧自由基过程中 CAT 起着非常重要的作用。Nasci 等<sup>[15]</sup>将双壳类 (*Mercenaria*) 移植到 PAHs 污染水域 15d 后, SOD 活性未被诱导, 而 CAT 活性却显著增加, Niyogi 等<sup>[16]</sup>曾发现在 PAHs 污染样区中僧帽牡蛎 (*Saccostrea cucullata*) 消化腺中 CAT 和 SOD 的活性与非污染区相比被显著诱导而 Gpx 则没有显著变化。CAT 的显著诱导也曾在暴露于含有 PAHs 和 PCB 污染的贻贝中观察到<sup>[11]</sup>。但苯并 (a) 芘暴露浓度的变化以及暴露时间的延长对大弹涂鱼体内 CAT 活性无显著影响<sup>[3]</sup>。

许多研究认为双壳类贻贝对污染物诱导所产生的氧自由基做出的应激反应-体内抗氧化酶的诱导反应可以作为水体环境有机污染的一种生物标志物<sup>[11-16]</sup>, 但从本研究的结果和前人所做的研究<sup>[10-13]</sup>来看, 在 PAHs 污染情况下, 双壳类组织内抗氧化酶活性可能被诱导升高, 也可能随着时间延长逐渐受到抑制, 这也说明 PAHs 对双壳类抗氧化酶活性的影响模式比较复杂。但无论抗氧化酶活性增加还是下降, 均表示机体内活性氧的大量增加, 并已扰乱机体抗氧化防御系统的正常功能, 而抗氧化酶活性的下降则提示生物已受到较严重和较长时间的 PAHs 污染。因此在进行海洋环境中 PAHs 污染的生物监测时, 可以考虑将菲律宾蛤仔体内 SOD、CAT 和 GPx 三种酶的活性变化与其它的生物标志物结合起来进行分析, 以期对 PAHs 的环境影响作出更为准确的生态毒理学预测和早期警报。

#### 参考文献:

[1] 方允中, 李文杰. 自由基与酶: 基础理论及其在生物学和医学中的应用[M].北京: 科学出版社,1989.156-157.  
[2] 王梅芳, 余祥勇, 杨荣权, 等.二色裂江珧 EST 和 SOD 同工酶组织特异性研究[J].湛江海洋大学学报,2000, 20(1): 5-8.

[3] 冯涛, 郑微云, 洪万树,等.苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化酶活性影响的初步研究[J].应用生态学报, 2001, 12(3): 422-424.  
[4] 庄启谦, 崔可铎.胶州湾沧口潮间带生态学研究[A].中国科学院海洋研究所.海洋科学集刊[C].北京:科学出版社, 1984.79-95.  
[5] 王淑红, 王新红, 陈荣, 等.荧葱、菲、芘对菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 超氧化物歧化酶的影响[J].厦门大学学报(自然科学版), 2000, 39(4): 504-507.  
[6] 夏弈明, 朱莲珍.血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法 I.DTNB 直接法[J].应用生态学报,1987, 16(4): 29-33.  
[7] Kappus H. Lipid peroxidation: mechanism, analysis, enzymology and biological relevance[A].Sies H.Oxidative Stress[C]. London,UK :Academic Press, 1985.273-310.  
[8] Karakoc F T, Tuli A, Hewer A ,et al. Adduct distributions in piscine DNA: South-Eastern Black Sea[J]. Marine Pollution Bulletin, 1998, 36(9): 696-704.  
[9] Livingstone D R, Martinez P G, Michel X, et al. Oxyradical production as a pollutant-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L., and other molluscs[J]. Functional Ecology,1990, 4: 415-424.  
[10] Cheung C C C, Zheng G J, Li A M Y. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*[J]. Aquatic Toxicology, 2001, 52(3-4): 189-203.  
[11] Porte C, Sole M, Albaiges J, et al. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzyme-system of *Mytilus* sp to organic pollution[J]. Compare Biochemical Physiology,1991, 100(1-2): 183-186.  
[12] Sole M, Porte C, Albaiges J. Mixed-function oxygenase system components and antioxidant enzymes in different marine bivalves-its relation with contaminant body burdens[J]. Aquatic Toxicology,1994, 30(3): 271-283.  
[13] Doyotte, Aurélie, Cossu, et al. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*[J]. Aquatic Toxicology,1997, 39(2): 93-110.  
[14] 赵元凤, 吕景才, 宋晓阳, 等.海洋污染对毛蚶过氧化氢酶影响研究[J].环境科学学报, 2002, 22(4): 534-536.  
[15] Nasci C Da, Ros L, Campesan G, et al. Clam Transplantation

- and Stress-Related Biomarkers as Useful Tools for Assessing Water Quality in Coastal Environments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1999, 39 (1-12): 255-260.
- [16] Niyogi S, Biswas S, Sarker S, et al. Seasonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barnacle, *Balanus balanoides*, and their relation with polyaromatic hydrocarbons[J]. *Marine Environmental Research*, 2001, 52 (1): 13-26.

## The effects of anthracene, Phenathrene, Pyrene and Chrysene on activity of antioxidant enzyme of *Ruditapes philippinarum*

CAI Li-zhe<sup>1,2</sup>, MA Li<sup>3</sup>, GAO Yang<sup>2</sup>, YANG Li<sup>2</sup>

(1 .State Key Laboratory of Marine Environmental Science ,Xiamen University , Xiamen 361005, China; 2.Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China;3.Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005, China)

**Received:** Apr.,6,2005

**Keywords:** Polycyclic aromatic hydrocarbon; *Ruditapes philippinarum*; antioxidant enzyme

**Abstract:** The effects of mixed pollution by fluoranthene, phenathrene, pyrene and chrysene on superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) of *Ruditapes philippinarum* were studied. The bivalves were exposed to three different concentrations, 5 (low level), 50 (middle level), and 500 µg/L (high level) for different period. The results showed that CAT was induced quicker than SOD and GPx at 5 µg/L mixed level. The effects of mixture pollution on SOD, CAT and GPx activities changed with the exposed time and concentrations. All of them showed a dynamic process of the enzymes from inducement in early stage and inhibition in later stage.

(本文编辑:张培新)