

单环刺螠耐硫机制研究进展

刘峰¹, 李光亚¹, 赵玉涵¹, 孙涛¹, 纪元¹, 于海瑞²

(1. 中国农业大学 烟台研究院, 山东 烟台 264670; 2. 潍坊学院, 山东 潍坊 261061)

摘要: 本文概述了硫化物的生理毒性, 包括对生物体的有氧呼吸毒性, 神经毒性, 线粒体毒性, 核酸和蛋白质毒性。总结了单环刺螠在硫化物胁迫下存在的应对机制, 包括体壁分泌粘液, 细胞凋亡过程中某些酶活性的升高和凋亡通路的放大; 体内氧化酶活性的改变; 体腔液某些成分含量及细胞器结构的变化, 线粒体内相关酶系的氧化以及 RNA、DNA 结构和含量的变化等。

关键词: 单环刺螠; 硫化物; 酶; 结构; 耐受

中图分类号: S966.9

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2018)07-0141-07

DOI: 10.11759/hyxx20180404001

近年来, 海洋生态环境保护受到广泛重视, 然而环境污染问题仍然存在。特别是近海某些区域的生态环境遭受到富营养化、其他污染, 甚至是更为严重的破坏问题。海水富营养化因素包括有毒物质如氨氮化合物、硫化物(主要包括 H_2S , HS^- , S^{2-} 等)等含量的急剧上升。

环境中的硫化物主要是还原性细菌、还原硫酸盐等的产物^[1], 对生物的毒性主要体现在通过抑制细胞色素 C 氧化酶(Cytochrome C Oxidase, CCO)的活性, 阻断线粒体中的电子传递, 导致活性氧自由基(Reactive Oxygen Species, ROS)的增加与积累, 进而引起生物体内脂质、蛋白质, 核酸的损伤^[2]。

单环刺螠(*Urechis uncinatus*)属螠虫动物门(Echiuroidea), 螠纲(Echiurida), 无管螠目(Xenopneusta), 刺螠科(Urechidae), 刺螠属(*Urechis*), 具有较强的耐受、代谢甚至利用硫化物的能力, 是硫化物代谢研究的模式生物^[2]。近年来, 单环刺螠对硫化物的耐受机制受到国内外学者的关注。本文总结了硫化物对单环刺螠的生理毒性, 单环刺螠在硫化物胁迫下的响应机制, 并对单环刺螠耐胁迫的研究提出了展望, 以期为硫化物污染生态及近海环境生物修复研究提供理论基础。

1 硫化物的生理毒性

海水中所含的各种价态的硫化物中以 HS^- 的含量最多、毒性最强^[3]。 HS^- 对单环刺螠具有有氧呼吸毒性, 神经毒性, 造成其细胞内的线粒体去极化, 进而对核酸和蛋白质结构造成破坏等。

1.1 有氧呼吸毒性

HS^- 可以通过与细胞色素 aa_3 血红素卟啉环上铁离子的可逆性结合来抑制细胞色素 C 氧化酶的活性, 进而抑制好氧生物包括单环刺螠的有氧呼吸过程。 HS^- 对细胞色素 C 氧化酶的抑制活性极强, 甚至高于氰化物, 在浓度为 $1\mu M$ 时即可对 50% 的细胞色素 C 氧化酶产生抑制。除了能够抑制细胞色素 C 氧化酶之外, 硫化氢还抑制其他一些代谢酶的活性, 如碳酸酐酶、琥珀酸脱氢酶等, 从而导致硫化物环境中生物体各种代谢功能的异常。另外, H_2S 还可与血红蛋白和肌红蛋白反应, H_2S 结合非血红素位点, 改变其吸收光谱, 三级构象发生转变, 产生不可逆的化学变化: 亚铁离子会被氧化成三价铁, 生成硫化三价铁血红蛋白和硫化三价铁肌红蛋白。由于其不稳定性, 正铁血红素的分离导致最终生成硫化血红蛋白和硫化肌红蛋白, 使其与氧的亲合力大幅下降, 从而进一步阻碍有氧呼吸过程^[4, 5]。

1.2 神经毒性

Julian 等^[6]研究了美洲刺螠(*Urechis caupo*)对硫

收稿日期: 2017-12-16; 修回日期: 2018-03-23

基金项目: 山东省科技发展计划项目(2018GHY115028); 潍坊市科技发展计划项目(2015ZJ1042); 横向课题: 海洋生态养殖新模式与智能监控系统研究

[Foundation: Projects of Science and Technology Development Program of Shandong Province, No. 2018GHY115028; Projects of Science and Technology Development Program of Weifang, No.2015ZJ1042; Crosswise Tasks: Research on New Model of Marine Ecological Farming and Intelligent Monitoring System]

作者简介: 刘峰(1977-), 男, 博士, 副教授, E-mail: liufeng511@126.com; 纪元(1981-), 通信作者, 女, 博士, 讲师, E-mail: jiyuan0728@163.com

化物的神经敏感性,发现 1~5mmol/L 硫化物就能直接抑制其体壁肌肉的收缩,从而对其生理活动产生影响,硫化物的毒性随着浓度增加而升高。在哺乳动物中发现,硫化物可以阻碍神经递质的合成,通过提高 N-甲基-D-天冬氨酸(N-Methyl-D-Aspartic Acid, NMDA)受体的敏感性,诱导长时程增强效应(Long-term Potentiation, LTP)产生一定依赖性,抑制轴突和突触的传导,使神经信号传导中断并影响神经细胞的发育^[7]。另有研究发现,硫化物对神经元的不利影响是通过改变钙离子通道来完成的^[8]。美洲刺螈,单环刺螈同属刺螈属动物,而硫化物对于单环刺螈的神经毒性研究未见报道。

1.3 线粒体去极化

硫化物会阻断电子传递链,导致线粒体内外膜电势差降低,产生线粒体去极化现象。电子传递链上游产生的电子因电子传递链的阻断而积累,导致 ROS 富集,引起腺嘌呤核苷酸转位蛋白(Adenine Nucleotide Translocase, ANT)构象发生改变。相邻的巯基发生氧化过程生成交联复合物,使位于线粒体内膜的通透性转运孔(Permeability Transition pore, PT)开放数目增多,内膜的通透性增大,大量物质直接穿过线粒体内膜,非选择性地进入线粒体基质,产生一些未知的生理生化反应,导致线粒体结构不稳定、功能紊乱,从而对机体产生伤害^[9]。

1.4 对核酸及蛋白质结构的破坏

对生物体而言,过量硫化物作为化学突变剂会导致生物体的 DNA 和 RNA 结构遭到破坏,使染色体发生畸变,姐妹染色单体部分片段交叉互换、微核含量增加,遗传过程无法正常进行。生物在硫化物胁迫下,会在调控蛋白质的合成、折叠、加工与降解过程中发生改变;蛋白质的二硫键发生氧化还原反应而断裂;抑制某些抗氧化剂蛋白的表达^[10]和破坏蛋白质的功能结构^[11]。马晓玉等^[12]研究发现,在 150 μ mol/L 硫化物的胁迫下,单环刺螈体内抗凋亡致瘤因子 Bcl-xL(B-cell lymphoma-xL)的表达量会不断减少,显现出高浓度硫化物胁迫下单环刺螈体内 Bcl-xL 的表达抑制。

2 单环刺螈在硫化物胁迫下的生理变化及作用机理

不同水生动物在硫化物胁迫下的半致死浓度(LC₅₀)不同:克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)幼虾

24、48、72、96h 的 LC₅₀ 分别为 12.96、9.57、7.62、4.63mg/L^[13];双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)三刚节幼体 96h 的 LC₅₀ 为 0.43 mg/L^[14];文蛤(*Meretrix meretrix* L)幼贝和成贝 96h 的 LC₅₀ 分别为 36.05mg/L 和 150.65mg/L^[15];可见不同水生动物对硫化物的耐受能力差别较大。耐硫生物表现出不同的生理生化响应机制以适应硫化物胁迫。比如 DS-B 硫氧化细菌,可以通过代谢途径 $S_2O_3^{2-} \rightarrow SO_4^{2-}$,并伴随副反应途径 $S_2O_3^{2-} \rightarrow S \rightarrow SO_4^{2-}$ 进行解硫^[16]。多毛类的 *Hediste diversicolor* 和 *Marenzelleria viridis* 会将代谢方式从有氧变为无氧,以达到耐硫作用^[17]。单环刺螈则表现出一些生理生化上的特殊响应,这些响应包括与呼吸有关的酶及蛋白质的结构与含量的变化;与细胞凋亡相关响应活跃;某些细胞器结构发生改变, RNA 和 DNA 结构变化。通常情况下,生物的耐硫机制为硫化物氧化机制和呼吸代谢适应机制。单环刺螈所属的螈虫动物门的分类地位比较特殊^[18],其耐硫方式与一般海洋耐硫生物可能会有差别。Arp 等^[19]曾将单环刺螈的解硫机制归纳为阻挡机制与氧化解毒机制相配合,但具体机制尚不清楚。目前,已有一些研究从不同层面上丰富和发展了这一理论,现总结如下。

2.1 体壁的阻挡机制

单环刺螈的体壁为皮肤囊结构,由外向内依次为上皮、外环肌层、中纵肌层和内环肌层,各组织之间由结缔组织连接^[20]。单环刺螈不仅在形态、生理等方面与环节动物具备相似性,Wu 等^[18]研究发现,单环刺螈线粒体基因组全序列的系统发育分析与环节动物具有极高相似性,由此推断单环刺螈极有可能是环节动物的分支。Oeschger 等^[21]研究发现当环节动物和曳鳃动物处于富硫环境中时,体表富含铁化合物的黏液的分泌量会增加,这一机体反应可以在一定程度上阻挡 H₂S 的进入,但这一机制很可能仅是辅助性的、有限度的,一旦 H₂S 浓度超过某种动物体壁所能承受的最大值,阻挡机制随即失效。单环刺螈体壁各肌层之间的结缔组织非常发达,在动物体的生长发育和创伤修复过程中,结缔组织均发挥着重要的作用^[20]。结缔组织的修复与抵挡作用,为单环刺螈通过体壁抵抗外界硫化物提供了新的思路。

2.2 氧化酶活性的改变

张志峰等^[22]对单环刺螈硫化物耐受研究发现,单环刺螈有较强的硫化物耐受能力,其在 50, 150,

300 和 600mmol/L 浓度硫化物环境下的半致死时间 (median Lethal Time, LT_{50}) 分别为 112h, 86h, 68h, 60h。短时间处于高浓度硫化物环境中时, 细胞色素 C 氧化酶的活性会有所上升, 并伴有耗氧率升高, 呼吸代谢速率加快等生理现象, 而随着硫化物暴露时间的延长, 这一结果则相反。暴露过程中与有氧呼吸代谢有关的琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase, SDH) 的活性下降, 与无氧呼吸代谢有关的延胡索酸还原酶 (Fumarate reductase, FRD) 的活性上升。由此推测, 暴露初期, 单环刺螠通过增大有氧呼吸量, 氧化解毒能力增强。随着暴露时间的延长, 一方面虫体主动减少有氧呼吸代谢的耗氧量, 利用剩余氧气进行硫化物的氧化降解, 另一方面在虫体内存在一种将延胡索酸还原成琥珀酸的无氧代谢过程, 以提高自身的耐硫能力^[22]。

2.3 凋亡相关酶活性的变化

CCO 的活性与 ROS 的活性呈负相关。ROS 与细胞代谢异常、细胞衰老和细胞凋亡有关^[23], 主要包括超氧阴离子氧 (O_2^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、氢过氧化物 (ROOH) 三种。线粒体通过细胞色素 C 氧化酶将细胞中 O_2 等氧化为 H_2O_2 , 产生 ROS^[24-26]。若有氧呼吸受到抑制, CCO 的活性下降, 使呼吸链中的电子传递链受阻, 引起电子富集, 导致 ROS 增加, 将对机体产生氧化损伤。超氧化物歧化酶 (SOD) 可以通过歧化反应消除 ROS 对机体的损伤。李岳^[27]发现: 单环刺螠呼吸肠中 ROS 的含量随硫化物暴露时间的延长而升高, 而 SOD 的含量先升高, 24h 后降低, 此时, 与细胞凋亡直接相关的 Caspase-3 的含量逐渐升高。因此, 有氧呼吸受阻后, 单环刺螠体内的 CCO 活性下降, 导致电子传递链的 O_2^- 和 H_2O_2 在上游积累, 引起 ROS 富集。机体为了保护自身免受 ROS 的毒害, 产生大量 SOD, 通过歧化反应消除一部分 ROS 的毒性, 减少氧化损伤。但随着 ROS 浓度的持续增加, 细胞的氧化损伤已不可避免, 呼吸肠中 SOD 的解毒机制被破坏, 机体必须启动凋亡程序, 来清除掉这些异常细胞, 以免产生更大的损害, 因此与凋亡直接相关的酶 Caspase-3 的活性逐渐上升。

2.4 细胞凋亡相关通路的激活

生物体内的促分裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 能对外界刺激作出应答。较高浓度硫化物胁迫下, 生物体内的 MAPKs 通路会被激活, 如魁蚶 (*Scapharca broughtonii*) 幼贝

通过 MAPKs 信号通路的放大来应对硫化物胁迫^[28]。MAPKs 信号通路包括 JNK (c-Jun N-terminal Kinase) 亚通路和 ERK (Extracellular Regulated protein Kinases) 亚通路, 前者与细胞凋亡有关, 后者与抑制细胞凋亡有关^[29]。刘树人^[30]研究发现, 硫化物胁迫下, 单环刺螠呼吸肠内, P-JNK 表达量显著增加, P-ERK 表达量呈现瞬时增加后持续减小的趋势, 说明硫化物胁迫前期 JNK 和 ERK 相互配合, 共同调控细胞凋亡, 但随着时间的延长, ERK 活性下降, 仅由 JNK 主要调控细胞凋亡。

2.5 体腔液成分的含量及细胞器的变化

马卓君^[31]发现在硫化物的胁迫初期, 单环刺螠体腔液中的正铁血红素含量降低, 结合血红蛋白与硫化物作用的机理, 认为血红素及相关组分通过结合并储存硫化物来进行解硫。王思锋^[32]研究发现, 单环刺螠的髓样小体、脂滴的含量会因硫化物的胁迫增多, 内质网会膨大并靠近细胞膜内层排布, 线粒体膨大, 内嵴变短。根据以上细胞内各个结构的形态变化, 推测单环刺螠受到硫化物胁迫后, 体内发生以下过程: 游离的正铁血红素结合和储存体腔液细胞中的硫化物后, 被多泡状结构吞噬, 形成髓样小体并释放铁离子, 外层磷脂膜层溶解形成脂滴, 产物被内质网富集后排出体外, 进行硫化物的解毒。

2.6 线粒体硫化物氧化的酶系学说

Powell 等^[33]研究发现, 某些生活在富硫环境中的无脊椎动物体内存在以硫化物为底物进行氧化产能的线粒体。马卓君^[31]通过单环刺螠线粒体产能试验发现, 单环刺螠体内多种组织中的线粒体都能以硫化物为底物产生 ATP, 说明单环刺螠体内存在氧化硫化物进行产能的线粒体。以硫化物为底物时的电子传递链不同于一般有氧呼吸的电子传递链, 认为是复合物 III 直接被交替氧化酶 (Alternative Oxidase, AOX) 催化产热, 从而可以氧化硫化物。任志强^[34]研究发现, 硫化物胁迫一定时间后, 单环刺螠后肠中 AOX 的活性显著提高; Huang 等^[35]的研究也提出 AOX 的 mRNA 含量同样升高, 并且与有氧呼吸有关的 CCO 的活性显著降低, 研究说明, 硫化物胁迫下, 线粒体中的有氧呼吸过程逐渐被硫化物氧化呼吸过程取代。但随着 Hildebrandt 和 Grieshaber^[36-37]改进了沙蚕线粒体硫化物氧化途径, 发现线粒体中的硫化物氧化并非与一个酶有关, 而是与 3 个酶组成的酶系有关。通过分离小鼠肝和沙蚕体壁线粒体膜和

基质匀浆,发现这 3 个酶是硫脞氧化还原酶(Sulfur Oxygenase Reductase, SQR), 硫双加氧酶(Sulfur Dioxide Oxygenase, SDO)和硫转移酶(Sulfur Transferase, ST), 并通过酶活性检测, 提出了线粒体氧化硫化物产生硫代硫酸盐的酶催化体系(图 1)。在这个酶催化体系中, 与膜结合的 SQR 是这一氧化过程中的第一个关键酶, 它将硫化物转变成过硫化物, 同时产生电子进入呼吸链; 随后, 一部分过硫化物被硫双加氧酶氧化为亚硫酸盐; 硫转移酶再将过硫化物分子转移到亚硫酸盐, 形成终产物硫代硫酸盐。

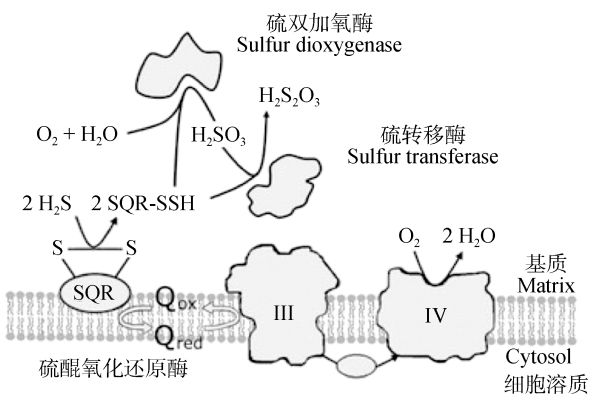


图 1 线粒体硫化物氧化模型(引自 Hildebrandt & Grieshaber, 2008)

Fig. 1 Mitochondrial sulfide oxidation model (From Hildebrandt & Grieshaber, 2008)

马玉彬^[38]利用分子生物学的方法, 在基因和蛋白质水平方面对 SQR 做了详细的研究, 发现不同组织中 SQR 的 mRNA 表达量及酶的含量不同, 体壁、呼吸肠和肛门囊在线粒体硫化物代谢应激中的作用要比中肠和体腔液更为明显。谭志等^[39]在此基础上, 采用 His-pulldown 技术和毛细管液相色谱——离子阱质谱技术分析, 研究了与 SQR 相互作用的两个蛋白质分子——细胞色素 P450 和腺苷三磷酸结合盒转运蛋白及它们之间的相互作用机制, 推测 SQR 在硫化物解毒的过程中可能具有将酶反应过程中产生的代谢物转运到线粒体外的作用。董英萍^[40]重点探索了线粒体硫化物氧化酶系最后一个环节起硫化物转移作用的酶, 提出硫脞酸酶就是硫转移酶, 利用生物信息学的方法, 在基因表达和蛋白质转录水平上进一步研究了硫脞酸酶。以上研究从不同的酶出发, 在基因的转录和表达水平上丰富和发展了线粒体硫化物氧化的酶系学说。

2.7 RNA 和 DNA 的变化

单环刺螈在硫化物胁迫下, 体内多种酶及蛋白

质的含量和结构均发生了变化, 究其原因, 是机体在胁迫下所做出的系列生理响应, 其中部分响应极可能是通过 RNA 翻译而最终产生的。马卓君^[31]提取硫化物胁迫 24 h 后的单环刺螈的 RNA, 发现有一系列新的、片段较大的 RNA 条带产生, 据推测, 这些新的 RNA 可能是一些与血红素转化相关的基因, 或者是与硫化物氧化有关的细胞器如线粒体、硫化物氧化体等有关的基因。史晓丽^[41]利用抑制性消减杂交 (Suppression Subtractive Hybridization, SSH) 和 cDNA 芯片技术, 进一步证明了单环刺螈在硫化物胁迫下确有新基因表达, 从基因层面上研究了硫化物胁迫下的生理反应, 筛选鉴定出硫化物胁迫下单环刺螈体内的 82 个差异表达的基因, 它们极有可能参与硫化物代谢、细胞代谢、DNA 修复等过程。除此之外, 还发现了可能与单环刺螈硫代谢有极大关联的未知序列。利用各种分子生物学手段, 从源头探究了单环刺螈在硫化物胁迫下发生各种生理变化的原因, 从而有助于耐硫机制的进一步探索。

3 问题与展望

综上, 概述了硫化物的生物毒性, 以及在硫化物胁迫下单环刺螈的生理响应, 包括以下几个方面的变化: 氧化、抗氧化酶的含量; 细胞凋亡通路的活性; 体腔液中的成分; 线粒体内相关酶系; 以及 RNA 和 DNA 的改变。这些变化既存在独立的运作机制, 又相互配合, 共同参与单环刺螈体内解毒、防御硫化物的过程。但单环刺螈体内系统全面的解硫机制尚处于探索阶段, 有关问题还未真正解决, 譬如: 单环刺螈细胞内的脂滴和髓样小体在功能上密切相关, 验证其是否为相同细胞器在不同阶段的表现形式, 即脂滴是否是髓样小体被细胞膜包裹加工后的产物, 可以通过生物标记法进一步追踪, 明确脂滴在细胞中变化的整个过程, 使我们更好地认识单环刺螈的解硫机制, 丰富生物解毒机制方面的知识; 已检测出的与硫化物代谢相关的各个基因, 其表达产物与表达特性可以利用分子生物学的方法进行探究, 对于单环刺螈基因的研究已见报道, 如林娜等^[42]利用整体原位杂交和半定量 RT-PCR 等技术, 发现单环刺螈的 Vasa 基因在未受精卵、受精卵、2~8 细胞的早期胚胎中均有明显的表达, Vasa 基因在单环刺螈早期发育过程中起到重要作用。对单环刺螈进行基因水平上的相关探索, 可以帮我们更深入

地了解其具有各种机能的根源。单环刺螠是一种耐硫性较强的生物, 对于其耐硫机制更为深入地探索, 将为人们修复沿海生态环境奠定一定的基础。

参考文献:

- [1] 吴金浩, 刘桂英, 王年斌, 等. 辽东湾北部海域表层沉积物氧化还原电位及其主要影响因素[J]. 沉积学报, 2012, 30(2): 333-339.
Wu Jinhao, Liu Guiying, Wang Nianbin, et al. Oxidation-reduction potentials of surface sediments in the northern part of Liaodong Bay Sea Area and its main influencing factors[J]. Journal of Sedimentology, 2012, 30(2): 333-339.
- [2] 刘峰, 孙涛, 纪元, 等. 单环刺螠生物学及生态学研究进展[J]. 海洋科学, 2017, 41(10): 125-131.
Liu Feng, Sun Tao, Ji Yuan, et al. Advances in studies on the biology and ecology of *Urechis unicinctus*[J]. Marine Science, 2017, 41(10): 125-131.
- [3] Kabil O, Banerjee R. Redox biochemistry of hydrogen sulfide[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(29): 21903-21907.
- [4] Céline H T, Kevin M F, Daniel K, et al. Concentration-dependent effect of anions on the anaerobic oxidation of hemoglobin and myoglobin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(50): 39048-39054.
- [5] Kraus D W, Doeller J E, Powell C S. Sulfide may directly modify cytoplasmic hemoglobin deoxygenation in *Solemya reidi* gills[J]. Journal of Experimental Biology, 1996, 199: 1343-1352.
- [6] Julian D, Dalia W E, Arp A J. Neuromuscular sensitivity to hydrogen sulfide in the marine invertebrate *Urechis caupo*[J]. Journal of Experimental Biology, 1998, 201: 1393-1403.
- [7] Kimura H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 267(1): 129-133.
- [8] Garcia-Bereguian M A, Samhan-Arias A K, Martin-Romero F J, et al. Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca^{2+} channels[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2008, 10: 31-42.
- [9] 冯阳, 刘建军, 黄钢. 线粒体膜通透性转换孔结构与功能研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2012, 32(3): 356-360.
Feng Yang, Liu Jianjun, Huang Gang. Research progress of structure and function of mitochondria permeability transition pore[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science), 2012, 32(3): 356-360.
- [10] 郭鸿亮. *Pseudomonas* sp. C27 反硝化脱硫的蛋白质组学分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014.
Guo Hongliang. Proteomic analysis of denitrifying sulfide removal of *Pseudomonas* sp. C27[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2014.
- [11] Joyner Matos J, Predmore B L, Stein J R, et al. Hydrogen sulfide induces oxidative damage to RNA and DNA in a sulfide-tolerant marine invertebrate[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2010, 83(2): 356-365.
- [12] 马晓玉, 刘晓龙, 魏茂凯, 等. 单环刺螠 Bcl-xL 基因的鉴定及对硫化物的应激反应[J]. 海洋通报, 2017, 36(2): 182-188.
Ma Xiaoyu, Liu Xiaolong, Wei Maokai, et al. Identification of Bcl-xL gene and its response to sulfide stress in *Urechis unicinctus*[J]. Marine Science Bulletin, 2017, 36(2): 182-188.
- [13] 於叶兵, 陆伟, 黄金田, 等. 亚硝酸盐和硫化物对克氏原螯虾幼虾的毒性效应研究[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(1): 111-114.
Yu Yebing, Lu Wei, Huang Jintian, et al. Study on the acute toxicity of NO_2^- -N and S^{2-} acting on *Procambarus clarkii* juvenile[J]. Journal of Hydroecology, 2011, 32(1): 111-114.
- [14] 李达. 不同环境条件对双齿围沙蚕(*Perinereis aihuhitensis*)幼体发育的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
Li Da. The effects of different environmental conditions on the larval development of *Perinereis aihuhitensis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [15] 陈坚, 胡一箫, 许丰瑞, 等. 氨氮和硫化物对文蛤幼体及成体的急性毒性试验[J]. 现代农业科技, 2010, 3: 324-325, 331.
Chen Jian, Hu Yixiao, Liu Fengrui, et al. Acute toxicity experiments of ammonia-N and sulfide to the juveniles and adults of *Meretrix meretrix*[J]. Modern Agriculture Sciences and Technology, 2010, 3: 324-325, 331.
- [16] 杨娟, 谢翼飞, 李旭东, 等. 一株耐盐硫氧化细菌的分离鉴定及脱硫机理[J]. 应用与环境生物学报, 2015, 21(5): 819-823.
Yang Juan, Xie Yifei, Li Xudong, et al. Isolation, identification and desulphurization mechanism of a salt-tolerant sulfur-oxidizing bacterium[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2015, 21(5): 819-823.
- [17] Hahlbeck E, Arndt C, Schiedeck S. Sulphide detoxification in *Hediste diversicolor* and *Marenzelleria viridis*, two dominant polychaete worms within the shallow coastal waters of the southern Baltic sea[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B Biochemistry, 2000, 125: 457-471.
- [18] Wu Z, Shen X, Sun X, et al. Phylogenetic analyses of complete mitochondrial genome of *Urechis unicinctus* (*Echiura*) support that echiurans are derived annelids[J].

- Molecular Phylogenetics and Evolution, 2009, 52: 558-562.
- [19] Arp A J, Menon J G, Julian D. Multiple mechanisms provide tolerance to environmental sulfide in *Urechis caupo*[J]. American Zoologist, 1995, 35: 132-144.
- [20] 周頔, 谢跃洋, 魏茂凯, 等. 单环刺螠 engrailed 和 hedgehog 基因在体壁中的表达特征[J]. 海洋通报, 2018, 37(1): 99-103.
Zhou Di, Xie Yueyang, Wei Maokai, et al. Expression features of engrailed and hedgehog in the body wall of *Urechis unicinctus*[J]. Marine Sci Bull, 2018, 37(1): 99-103.
- [21] Oeschger R, Vetter R D. Sulfide detoxification and tolerance in *Halicryptus spinulosus*: a multiple strategy[J]. Marine Ecology Progress, 1992, 87(2): 167-179.
- [22] 张志峰, 王思锋, 霍继革, 等. 单环刺螠对硫化物暴露的呼吸代谢适应[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(4): 639-644.
Zhang Zhifeng, Wang Sifeng, Huo Jige, et al. Adaptation of respiratory metabolism to sulfide exposure in *Urechis unicinctus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2006, 36(4): 639-644.
- [23] Miao L, Clair D K S. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 47(4): 344-356.
- [24] 刘树森. 线粒体呼吸链与活性氧[J]. 生命科学, 2008, (4): 519-527.
Liu Shusen. Mitochondrial respiratory chain and reactive oxygen species[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2008, (4): 519-527.
- [25] Navarro A, Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process[J]. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2007, 292: C670-C686.
- [26] Cooper C E, Brown G C. The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2008, 40(5): 533-539.
- [27] 李岳. 硫化物胁迫对单环刺螠(*Urechis unicinctus*) ROS 介导的呼吸肠细胞凋亡初探[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Li Yue. Preliminary study on ROS mediated apoptosis in hindgut of *Urechis unicinctus* exposed to sulfide[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [28] 周珊珊. 魁蚶幼贝生境选择及标志技术研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Zhou Shanshan. Habitat preference and marking techniques of ark shell *Anadara broughtonii* in stock enhancement[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [29] Adhikari S, Bhatia M. H₂S-induced pancreatic acinar cell apoptosis is mediated via JNK and p38 MAP kinase[J]. Journal of cellular and molecular medicine, 2008, 12(4): 1374-1383.
- [30] 刘树人. 硫化物应激下单环刺螠 MAPK 信号通路的功能初探[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Liu Shuren. Preliminary study on role of MAPK pathways in *Urechis unicinctus* exposed to sulfide[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [31] 马卓君. 单环刺螠 *Urechis unicinctus* 硫化物耐受机理初探[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2003.
Ma Zhuojun. A study on the tolerating mechanism for sulfide in *Urechis unicinctus* (Echiura: *Urechidae*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2003.
- [32] 王思锋. 单环刺螠(*Urechis unicinctus*)对硫化物的氧化解毒及代谢适应[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
Wang Sifeng. The oxidative detoxification and metabolic adaptation of *Urechis unicinctus* to sulfide[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006.
- [33] Powell M A, Somero G N. Hydrogen sulfide oxidation is coupled to oxidative phosphorylation in mitochondria of *solemya reidi*[J]. Science, 1986, 233: 563-566.
- [34] 任志强, 张立涛, 刘晓龙, 等. 单环刺螠中肠和后肠交替氧化酶对硫化物的应激反应[J]. 中国海洋大学学报, 2015, 45(2): 66-71.
Ren Zhiqiang, Zhang Litao, Liu Xiaolong, et al. Response of alternative oxidase in the midgut and hindgut of *Urechis unicinctus* after sulfide stress[J]. Periodical of Ocean University of China, 2015, 45(2): 66-71.
- [35] Huang J, Zhang L T, Li J L, et al. Proposed function of alternative oxidase in mitochondrial sulfide oxidation detoxification in the Echiuran worm, *Urechis unicinctus*[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2013, 93(8): 2145-2154.
- [36] Hildebrandt T M, Grieshaber M K. Three enzymatic activities catalyze the oxidation of sulfide to thiosulfate in mammalian and invertebrate mitochondria[J]. Febs Journal, 2008, 275: 3352-3361.
- [37] Theissen U, Martin W. Sulfide: quinone oxidoreductase (SQR) from the lugworm *Arenicola marina* shows cyanide- and thioredoxin-dependent activity[J]. Febs Journal, 2008, 275: 1131-1139.
- [38] 马玉彬. 单环刺螠(*Urechis unicinctus*)硫醌氧化还原酶的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
Ma Yubin. Sulfide: quinone oxidoreductase from *Urechis unicinctus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010.
- [39] 谭志, 马玉彬, 邵明瑜, 等. 单环刺螠硫醌氧化还原酶相互作用蛋白质的筛选[J]. 海洋科学, 2010, 34(8): 60-64.
Tan Zhi, Ma Yubin, Shao Mingyu, et al. Screening proteins interacting with sulfide: quinone oxidoreductase (SQR) of *Urechis unicinctus*[J]. Marine Sciences, 2010,

- 34(8): 60-64.
- [40] 董英萍. 单环刺螠(*Urechis unicinctus*)受精过程的细胞学观察和硫氰酸酶基因的克隆与表达[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Dong Yingping. The cytological observation on fertilization and the cloning and expression of rhodanese in *Urechis unicinctus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.
- [41] 史晓丽. 单环刺螠硫代谢相关基因的筛选及硫醌氧化还原酶的转录调控初探[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
Shi Xiaoli. Screening of genes related to sulfide metabolism in *Urechis unicinctus* and primary study on transcription regulation of sulfide: quinine oxidoreductase[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [42] 林娜, 霍继革, 王航宁, 等. 单环刺螠 Vasa 基因的早期发育表达图式[J]. 水产学报, 2012, 36(1): 32-40.
Lin Na, Cai Jige, Wang Hangning, et al. Developmental expression pattern of *Urechis unicinctus* Vasa gene[J]. J Fish Chin, 2012, 36(1): 32-40.

The research progress on the tolerating mechanism for sulfide in *Urechis unicinctus*

LIU Feng¹, LI Guang-ya¹, ZHAO Yu-han¹, SUN Tao¹, JI Yuan², YU Hai-rui²

(1. Yantai Research Institute, China Agricultural University, Yantai 264670, China; 2. Weifang University, Weifang 261061, China)

Received: Dec.16, 2017

Key words: *Urechis unicinctus*; sulfide; enzyme; texture; tolerance

Abstract: The paper summarizes an overview of sulphide physiotoxicity, including the toxicity of aerobic respiratory, neurotoxicity, mitochondrial, nucleic acid and protein in organisms, and the coping mechanisms of *Urechis unicinctus* under sulphide stress including mucous secreted from the body wall; enzymes activity and apoptotic pathways are amplified during cell apoptosis; oxidase activity, components, and the structure of organelles in the body are changed; some enzymes in mitochondria are oxidized; and the structure of RNA and DNA are changed.

(本文编辑: 梁德海)