

联合磺胺类抗生素对蚯蚓的毒性效应

汪妍, 杨正鑫, 曾鑫淼, 周碧辉, 李雅妮, 王晨, 李国东*

南开大学滨海学院环境科学与工程系, 天津

Email: *gd_liww@126.com

收稿日期: 2021年3月20日; 录用日期: 2021年4月21日; 发布日期: 2021年4月28日

摘要

由于磺胺类抗生素的难降解性, 有50%~90%运用于畜禽饲料中的磺胺类抗生素无法被降解, 会随畜禽的粪便排出, 导致土壤环境的污染。因此本实验选用蚯蚓作为指示生物, 探究磺胺甲基嘧啶(SM1)、磺胺甲恶唑(SMZ)及磺胺噻唑(ST)在联合作用下对蚯蚓的抗氧化酶系统(超氧化物歧化酶SOD、过氧化物酶POD)的活性的影响。结果表明, 不同浓度联合磺胺类抗生素对蚯蚓体内的SOD及POD活性皆有诱导的效果, 由此可见, 可以用蚯蚓体内的酶活性指标来表征土壤磺胺类抗生素的污染状况。

关键词

磺胺类抗生素, 蚯蚓, 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD)

The Effects of Combined Sulfonamides on Earthworms

Yan Wang, Zhengxin Yang, Xinmiao Zeng, Bihui Zhou, Yani Li, Chen Wang, Guodong Li*

Department of Environmental Science and Engineering, Nankai University Binhai College, Tianjin

Email: *gd_liww@126.com

Received: Mar. 20th, 2021; accepted: Apr. 21st, 2021; published: Apr. 28th, 2021

Abstract

Due to the difficult degradation of sulfonamides antibiotics, 50%~90% of sulfonamides used in animal feed cannot be degraded, and will be discharged with animal manure. In this study, earthworm was selected as the indicator organism to explore the effects of sulfadiazine (SMI), sulfamethoxazole (SMZ) and sulfathiazole (ST) on the activities of antioxidant enzyme system (superoxide dismutase SOD and peroxidase POD) of earthworm under the combined modes. The results

*通讯作者。

文章引用: 汪妍, 杨正鑫, 曾鑫淼, 周碧辉, 李雅妮, 王晨, 李国东. 联合磺胺类抗生素对蚯蚓的毒性效应[J]. 环境保护前沿, 2021, 11(2): 338-342. DOI: 10.12677/aep.2021.112037

showed that different concentrations of joint sulfonamide treatments could induce the activities of SOD and POD in earthworm. In conclusion, both SOD and POD activities could be recognized as good biomarkers for evaluating the effects of soil sulfonamide exposure.

Keywords

Sulfonamides, Earthworm, Superoxide Dismutases (SOD), Peroxidase (POD)

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

近年来,随着含有磺胺类抗生素的畜禽粪便的不断施用,土壤中的生物在很大程度上受到影响。许珊珊等[1]对 14 种蔬菜中的 3 种磺胺类抗生素的残留进行了监测,发现磺胺嘧啶的最高浓度为 29.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,磺胺二甲基嘧啶浓度为 582.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,磺胺甲恶唑的最高浓度为 29.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。包艳萍[2]在研究中得出结论,珠三角地区养猪场菜地中的葱和芹菜的磺胺类抗生素含量超标,其他蔬菜虽未超标但其潜在危害不可忽略。

蚯蚓是土壤生态系统中非常重要的环境生物,国内外因蚯蚓结构简单、分布广泛且易于研究的特点,也常将其作为土壤生态风险评价的生物指标,用来对土壤生态环境的污染进行监测,以达到评价和分析风险的作用。为此本研究通过人工培养的方法,研究了三种基础磺胺类抗生素——磺胺甲噻唑(Sulfamerazine, SM1)、磺胺甲恶唑(Sulfamethoxazole, SMZ)及磺胺噻唑(Sulfathiazole, ST)在联合作用下对蚯蚓的抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 POD)活性的影响,以期为有效地评价磺胺类抗生素对土壤生态系统及人类健康的风险提供依据。

2. 材料和方法

2.1. 仪器与试剂

本实验主要使用的仪器设备有:低温高速冷冻离心机,双光束紫外可见分光光度计,分析天平、光照培养箱。试剂药品主要有:L-甲硫氨酸、氯化硝基四氮唑蓝、核黄素、愈创木酚均购自 Sigma 公司,纯度在 97%~99%之间,其他试剂均为分析纯。

2.2. 实验材料

本实验选用的蚯蚓购置于芦台蚯蚓养殖场,存活于有机质丰富的土壤中,且具有生命周期短、繁殖快、易于培养的特点。将蚯蚓带回实验室后要将其至于 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养一段时间,pH 保持在 7 左右。实验前选取体重在 300~600 mg 之间的成熟健康个体。

2.3. 实验方法

根据实验浓度的设置,对实验土壤进行混匀染毒,放入对应的盆中,盆中放置培养袋。在每个培养袋中放入十条未受损的蚯蚓,用尼龙网封口。放置在光照培养箱中,温度设置在 20 $^{\circ}\text{C}$ 左右(误差小于 1 $^{\circ}\text{C}$),以 12 小时光照和 12 小时黑暗交替培养模拟自然光照条件。培养到期后对蚯蚓样品进行采集,并对样品进行处理。

对蚯蚓样品的处理：将蚯蚓从土壤中移出，将其用去蒸馏水冲洗 3 次，将洗净的蚯蚓放在蒸馏水湿润的滤纸上放如 20℃左右(误差小于 1℃)的培养箱中，使蚯蚓体内的泥土粪便排尽，然后将蚯蚓样品于 -20℃下保存备用。

2.4. 酶液提取

培养结束后，切取蚯蚓组织 0.1 g 左右放入手动玻璃匀浆器中，以 1:10 的比例加入冰冷的 pH 7.8 的磷酸缓冲溶液，在冰浴条件下研磨匀浆，充分研磨均匀后转移至离心管中，在 4℃下的低温离心机内下以 15,000 r/min 的转速离心 15 min，上清液则为粗酶液，提取上清液用于酶活性的测定。

2.5. SOD 和 POD 活性测定

SOD 的测定采用氮蓝四唑光还原法[3]，POD 的测定采用愈创木酚法[4]。

3. 结果与讨论

3.1. 联合磺胺类抗生素对蚯蚓 SOD 的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是需氧生物的抗氧化系统中的抗氧化物酶之一，能够以需氧生物氧化过程中产生的超氧阴离子自由基为底物。它是抗氧化系统的第一道防线，普遍存在于需氧生物体中[5]。而超氧阴离子自由基也是机体在正常情况下维持生命活动所必需的，有机体内的超氧化物歧化酶(SOD)与超氧阴离子自由基也处于动态平衡，而在染毒试验中，超氧化物歧化酶活性越高则说明受试体受到的外界氧胁迫越大，受污染越严重[6] [7]。

在不同浓度作用(15, 45 mg/kg)下，磺胺类抗生素两两等量联合作用对蚯蚓体内 SOD 酶的影响如图 1 所示。不同浓度联合磺胺类抗生素对蚯蚓作用时，ST + SMZ、SMZ + SM1、ST + SM1 对蚯蚓体内的 SOD 活性影响对比空白组均为显著激活，且第一个月时蚯蚓体内的超氧化物歧化酶(SOD)的活性明显大于第二个月蚯蚓体内的 SOD 的活性。分别对比不同浓度不同种类磺胺类抗生素联合作用下蚯蚓体内 SOD 的活性可知，蚯蚓在 ST + SMZ 的作用下，第二个月时 SOD 活性相比于一个月显著下降。对比相同种类磺胺类抗生素，ST + SMZ、SMZ + SM1 对蚯蚓体内 SOD 的活性影响随染毒浓度的增加，作用增强，而 ST + SM1 则为染毒浓度增加，作用效果减弱，且两个月后 SOD 的活性依然处于高激活状态，只比第一个月降低少量。

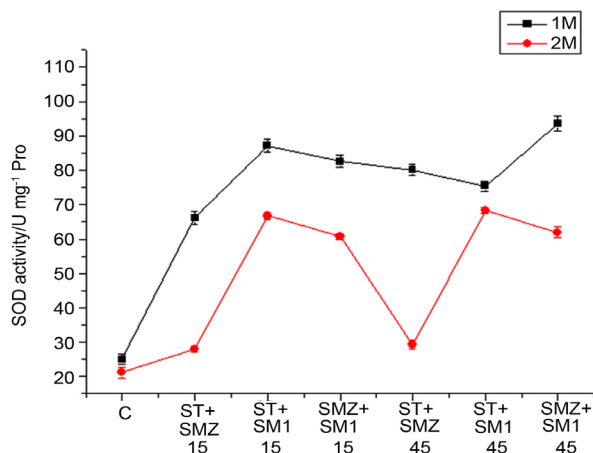


Figure 1. Effects of combined sulfonamides on SOD activity of earthworms

图 1. 联合磺胺类抗生素对蚯蚓 SOD 的影响

3.2. 联合磺胺类抗生素对蚯蚓 POD 的影响

过氧化物酶(POD)广泛存在于有机体的过氧化物酶体中,无论是动物、植物还是微生物中都有它的存在。它以铁卟啉为辅基,通过催化过氧化氢或其他过氧化物来氧化酚类和胺类化合物,且能消除过氧化氢和酚类胺类的毒性[8]。在植物体中,过氧化物酶(POD)是一种活性较高的酶,与呼吸作用、光合作用及机体中氧化还原反应都有一定的关系。

在不同浓度作用(15, 45 mg/kg)下,磺胺类抗生素两两等量联合作用对蚯蚓体内 POD 酶的影响如图 2 所示。不同浓度联合磺胺类抗生素对蚯蚓作用时,ST + SMZ、SMZ + SM1、ST + SM1 对蚯蚓体内的 POD 活性影响对比空白组均为显著激活,且第一个月时蚯蚓体内的过氧化物酶(POD)的活性明显大于第二个月蚯蚓体内的 POD 的活性。其中联合磺胺类抗生素 ST + SM1 对蚯蚓体内 POD 的激活比 ST + SMZ、SMZ + SM1 对蚯蚓体内 POD 酶活性的激活要显著。但经过分别对比不同浓度不同种类磺胺类抗生素联合作用下蚯蚓体内 POD 的活性不难看出,它们两个月后的酶活性较第一个月酶活性激活后的活性减弱效果无显著差异。

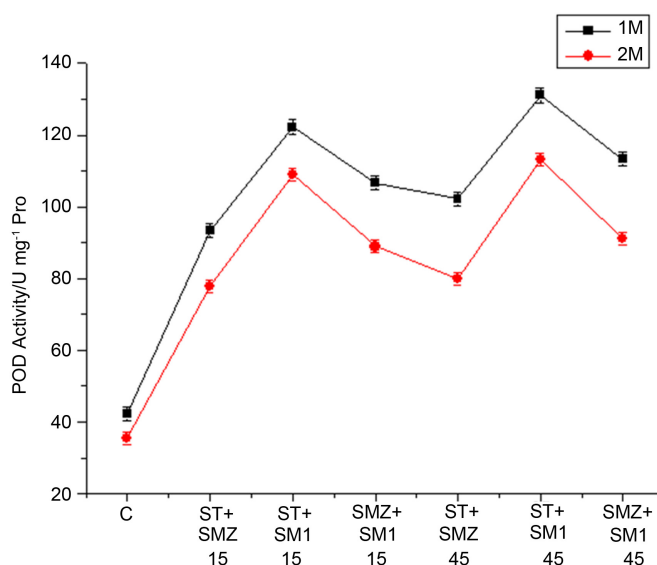


Figure 2. Effects of combined sulfonamides on POD activity of earthworms

图 2. 联合磺胺类抗生素对蚯蚓 POD 的影响

4. 结论

1) 不同浓度联合磺胺类抗生素对蚯蚓体内的 SOD 及 POD 活性的影响对比空白组均为显著激活,且第一个月时蚯蚓体内的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性明显大于第二个月蚯蚓体内的 SOD 和 POD 的活性。

2) ST + SMZ、SMZ + SM1 对蚯蚓体内 SOD 及 POD 的活性影响随染毒浓度的增加,作用效果增强;而 ST + SM1 则为对蚯蚓体内 SOD 活性影响随染毒浓度增加而减弱,对蚯蚓体内 POD 活性随染毒浓度增加而增加。

基金项目

大学生创新项目国家级项目,项目编号:202013663001。

参考文献

- [1] 许珊珊, 李学德, 花日茂, 余锦徽, 王玉, 林森森, 徐锡. 蔬菜中3种磺胺类药物残留污染调查[J]. 中国农学通报, 2011, 27(19): 156-160.
- [2] 包艳萍. 珠三角蔬菜中磺胺类抗生素污染特征研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [3] Hegedüs, A., Erdei, S. and Horvath, G. (2001) Comparative Studies of H₂O₂ Detoxifying Enzymes in Green and Greening Barley Seedling under Cadmium Stress. *Plant Science*, **160**, 1085-1093. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00330-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00330-2)
- [4] Wu, X.Y. and von Tiedemann, A. (2002) Impact of Fungicides on Active Oxygen Species and Antioxidant Enzymes in Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.) Exposed to Ozone. *Environmental Pollution*, **116**, 37-47. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00174-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00174-9)
- [5] 袁牧, 王昌留, 王一斐, 徐贵华, 韩潇. 超氧化物歧化酶的研究进展[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(6): 550-558.
- [6] Oruc, E.O., Sevgiler, Y. and Uner, N. (2004) Tissue-Specific Oxidative Stress Responses in Fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **137**, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2003.11.006>
- [7] Cheng, C., Huang, L.D., Ma, R., *et al.* (2015) Enantioselective Toxicity of Lactofen and Its Metabolites in *Scenedesmus obliquus*. *Algal Research*, **10**, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.013>
- [8] Ji, Y., Zhang, J., Li, X.L., *et al.* (2017) Biomarker Responses of Rice Plants Growing in a Potentially Toxic Element Polluted Region: A Case Study in the Le'an Region. *Chemosphere*, **187**, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.092>