

苯并(a)芘对紫菜(*Porphyra*) 的致突变效应*

林光恒 张小庆 吴超元

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

收稿日期: 1989年6月7日

关键词 苯并(a)芘, 条斑紫菜, 诱变剂, 突变效应

苯并(a)芘(Benzo(a)pyrene)是石油组份中的一种重要的具致癌作用的多环芳香烃化合物。由于燃烧和石油污染等多种原因,在大气、水体和海洋中都能检出它的存在,特别是在海洋中,这种化合物有的沉积于沉积物中,有的被生物体吸收,有的附着在生物体上,有的存在于水体中,因而构成了海洋中一类特殊的污染物。特别引起科学家注意的是这物种质可为某些海洋生物所富集或贮存,并经食物链而最后进入人体^[1,2]。

现在已经清楚,在有效剂量的诱变剂(Mutagen)作用下,所产生的诱发突变可分为两类,一类是体细胞突变,可以导致肿瘤或畸胎,另一类是性细胞突变,可以产生遗传上的变异。据1978年的统计,在人类中已知的遗传性代谢疾病就有2,735种,其中大部分与基因突变有关^[2]。

本研究的目的是,即是探明苯并(a)芘在海洋中对低等生物海藻的遗传效应及其可能的表现形式,以便为进一步研究这类诱变剂在海洋生物中的吸收、积累和转移提供更多可靠的事实和资料,以期引起人们对这类化学诱变剂的高度重视和深入研究。

I. 材料和方法

从青岛湛山湾采回的条斑紫菜(*Porphyra*

yezoensis Ueda)用消毒海水洗净,挑选健康正常藻体培养于光照培养箱中(LRH-150-G光照培养箱),连续通气,温度控制在 $11^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,光照强度为6,000 Lux,光周期为12h/12h。培养液采用H. C. Bold 1949年修改的Bristol溶液加PIV微量元素溶液和维生素B₁₂溶液^[6]。培养液用海水配制,每100 mL中含上述各种液体20mL, 6mL和1mL,每隔6d更新培养液一次。

为了观察苯并(a)芘对紫菜的致突变效应,实验设三个浓度组(即 0.02×10^{-6} , 0.20×10^{-6} 和 1.40×10^{-6} ,用苯做溶媒)和两个对照组,一组为海水空白对照,一组为加溶剂苯的对

表1 各组培养基中苯并(a)芘和苯的浓度
Tab. 1 Concentration of mutagen benzo(a)-pyrene and solvent benzene in each culture medium group

组别	浓度($\times 10^{-6}$)	
	苯	苯并(a)芘
C ₁	0	0
C ₂	200	0
T ₁	200	0.02
T ₂	200	0.20
T ₃	200	1.40

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1654号;国家自然科学基金部分资助。

照组, 苯浓度为 200×10^{-6} (见表 1), 各组均选用 30g 健康正常条斑紫菜。

II. 结 果

II. 1. 当条斑紫菜在含有苯并 (a) 芘的培养液中培养 10d 后, 在三个处理组中部分藻体上出现了肉眼可分辨出的浅紫色、橙色和橙红色体细胞突变斑块, 与野生型藻体细胞构成镶嵌状。这些突变斑块直径约在 0.5~1cm 之间。各处理组中这种斑块出现的频率与施加的苯并 (a) 芘的浓度间存在着一定关系, 即随着浓度的增大而增加 ($T_3 > T_2 > T_1$, 见下图)。

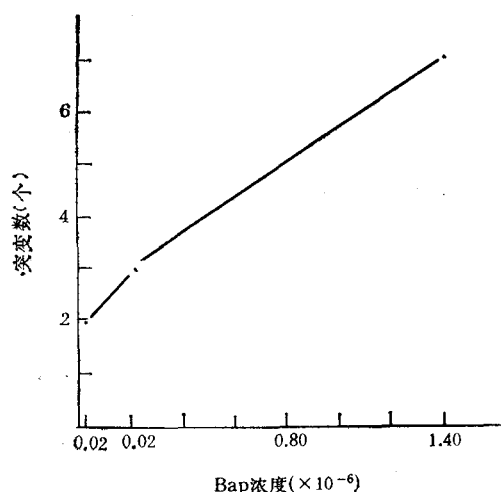


图 1 苯并 (a) 芘 (Bap) 浓度与出现的突变数之间的关系

Fig. 1 Relationship between benzo (a) pyrene concentrations and mutation numbers

II. 2. 条斑紫菜出现颜色突变斑块后, 当将突变藻体与未突变藻体转入不含苯并 (a) 芘和苯的原培养液中分别培养时 (条件与处理前相同), 2~3d 后发现, 突变藻体逐渐死亡, 而未突变藻体 (野生型) 仍能正常生长。当突变藻体与未突变藻体都留在各处理组的培养液中继续培养时, 我们发现部分突变藻体逐渐腐烂死亡, 而另一部分突变藻体则比单独培养在不含苯并 (a) 芘和苯的原培养液中存活时间要长。

II. 3. 考虑到这些颜色突变体可能存在光

敏感和光损伤效应, 因而将部分突变体置于低光强度 (800 Lux) 下培养, 未发现有明显效应。

III. 讨 论

III. 1 苯并 (a) 芘对哺乳动物的致癌效应及其生物活化机理已有许多报道^[5,7,8,9,10], 可以归纳如下, 即前致癌物苯并 (a) 芘在细胞色素 P-450 加单氧酶 (Monooxygenase) 系统的作用下转化为近致癌物, 最后再转化为终致癌物, 即非对映的 B(a)P 7, 8~二醇-9, 10~环氧化物。然而, 对于苯并 (a) 芘的致突变效应及其规律的研究几乎还是空白, 特别是在海洋中还无人触及。引起我们注意的是在人工养殖的条斑紫菜中时有发现色彩斑驳的颜色嵌合体, 通过采集果孢子, 可以培育出红色的和绿色的突变体品系, 并用作光合作用的研究材料^[3,11]。显然, 这种自发突变是受到某种理化因素的作用而产生的。考虑到紫菜生长的潮间带环境中, 多环芳香烃类是非常重要的一类污染物, 因而苯并 (a) 芘的作用是不容排除的一种重要因素。在我们设计的三种处理浓度下 ($0.02, 0.20$ 和 1.40×10^{-6}) 分别找到 2 个、3 个和 7 个颜色突变嵌合体, 这说明即使很低的浓度, 如 0.02×10^{-6} , 也能诱发颜色突变体的出现, 而这样的浓度, 在受到污染的海洋环境中是完全存在的, 这也就解释了自然界中人工养殖条斑紫菜中出现这类颜色突变体的可能原因。随着水体中苯并 (a) 芘浓度的提高, 如在 1.40×10^{-6} 时, 突变体出现的频率增加, 表明这种突变频率与作用剂量间存在着一定的相关性。

苯并 (a) 芘诱发条斑紫菜颜色突变体的出现和它对哺乳动物的致癌作用, 使我们有理由设想其致癌作用很可能是通过作用于遗传物质来实现的。

III. 2. 值得我们特别注意的是条斑紫菜颜色突变体单独培养在常规培养液中时, 2~3d 后藻体便腐烂死亡; 而与野生型未突变藻体共同培养时, 部分突变藻体存活时间可以延长。同时, 实验表明突变藻体不存在光损伤敏感性

现象,即使在低光强 800 Lux 下,对其存活率并无影响,这与右田等人^[4]和 Kato 等人^[11]在 6,000 Lux 光强下培养条斑紫菜颜色突变体是一致的。上述这些事实,使我们有理由认为这类颜色突变体只是对生长或营养条件有某种特殊要求,也就是说当满足这种要求时,突变体可以生存下去,否则,将会死亡。在我们实验中一部分突变藻体腐烂而另一部分突变藻体寿命延长的事实,也说明这种突变藻体要求的生长物质(或营养物质)在藻体内是存在的,通过藻体腐烂分解释放进入培养液中可以短期改善存活的突变体需要;一旦这种物质短缺,突变藻体即告死亡。因此,这些颜色突变型藻体的具体代谢缺陷及其对营养的特殊要求还有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] 傅海靖编, 1979. 海洋污染与保护. 科学出版社。
- [2] 曾溢滔主编, 1981. 蛋白质和核酸遗传病. 上海科学技术出版社。
- [3] 藤田雄二, 右田清治, 1984. 养殖ノリ色彩変異型の光合成色素. 长崎大学水产学部研究报告, 第 56 号, 7~13。
- [4] 右田清治, 藤田雄二, 1983. スサビノリ色彩変異型とその养殖试验. 长崎大学水产学部研究报告, 第 54 号, 55~60。
- [5] Nelson-Smith, A., 1972. Carcinogenesis, In the Oil Pollution and Marine Ecology. Elek Science (London) pp. 95—98.
- [6] Starr, R. C., 1978. The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. *Supplement to Journal of Phycology* 14: 92—96.
- [7] Sims, P., P. L. Grover, A. Swaisland, L. Pal and A. Hewer, 1974. Metabolic activation of benzo(a)pyrene proceeds by a diol epoxide. *Nature* 252: 326—328.
- [8] Huberman, E., L. Sachs, S. K. Yang and H. V. Gelboin, 1976. Identification of mutagenic metabolites of benzo (a) pyrene in mammalian cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 33: 607—611.
- [9] Thakker, D. R., H. Yagi, A. Y. H. Lu, W. Lewin, A. H. Conney and D. M. Jerina, 1976. Metabolism of benzo (a) pyrene: Conversion of (+)-trans-7, 8-dihydroxy-7, 8-dihydrobenzo (a) pyrene to highly mutagenic 7, 8-diol-9, 10-epoxides, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 73: 3381—3385.
- [10] Thakker, D. R., H. Yagi, H. Akagi, M. Kpreeda, A. Y. H. Lu, W. Levin, A. W. Wood, A. H. Conney and D. M. Jerina, 1977. Metabolism of benzo (a) pyrene: VI. Stereoselective metabolism of benzo (a) pyrene and benzo (a) pyrene 7, 8-dihydrodiol to diol epoxides. *Chem. -Biol. Interact.* 16: 281—300.
- [11] Kato, M. and Y. Aruga, 1984. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentations of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture. *Jap. J. Phycol.* 32: 333—347.

THE MUTAGENESIS OF BENZO (a) PYRENE IN *PORPHYRA YEZOENSIS* UEDA*

Lin Guangheng. Zhang Xiaoqing and Wu Chaoyuan

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

Received: Jun. 7, 1989

Key Words: Benzo(a) pyrene, Mutagenesis, *Porphyra yezoensis*

Abstract

Present paper reports benzo (a) pyrene, a polycyclic aromatic compound, at the concentrations of 0.02×10^{-6} , 0.20×10^{-6} and 1.40×10^{-6} , induced somatic mutation in *Porphyra yezoensis* Ueda, resulting in the occurrence of various color spots, such as pale purple, orange or reddish orange on the algal fronds. Those mutant cells co-existed with the wild unmutant cells in the same frond giving variegated color mosaic mutants. The increasing frequency of color mutant with the rise of concentrations of benzo (a) pyrene was revealed in our experiment.

* Contribution No. 1654 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.
Supported in part by the National Natural Science Foundation of China.