

原油 WSF 对三种海洋鱼类肝微粒体 EROD 活性的诱导和恢复的比较

郑榕辉¹, 张玉生^{1*}, 陈清福¹

(1. 国家海洋局 第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 研究了实验室条件下原油水溶性组分(WSF)暴露对黑鲷、黄鳍鲷和褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性的剂量-效应, 时间-效应和恢复过程。实验结果表明, 在剂量诱导实验中, 褐菖鲉肝 EROD 活性在原油 WSF 浓度为 $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 时呈现生物统计学上的显著差异, 而黑鲷和黄鳍鲷肝 EROD 活性在 $75 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 时才呈现生物统计学上的显著差异; 褐菖鲉肝 EROD 活性诱导倍数最高, 但黑鲷的诱导浓度范围较广。在时间诱导实验中, 在 $40 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 暴露下黄鳍鲷肝 EROD 活性在 2 d 时首先呈现显著差异; 三种鱼肝 EROD 活性均在第 4 天达到最高, 并呈现显著性变化, 此后随着暴露时间的延长而逐渐下降并接近对照组水平。在恢复实验中三种鱼肝 EROD 活性下降并恢复到对照组水平。研究结果表明: 对于石油污染物, 黑鲷、黄鳍鲷和褐菖鲉肝 EROD 活性都可以作为污染生化效应监测指标, 然而就三种鱼类比较而言, 褐菖鲉最敏感, 更适合于作为石油类污染及其生化效应, 尤其是低剂量效应的监测生物。

关键词: 黄鳍鲷; 黑鲷; 褐菖鲉; 石油污染生化效应; 肝微粒体 EROD; 原油 WSF

中图分类号: Q959.483

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2010)05-0060-07

1 引言

石油不仅是全球也是我国海洋环境最主要的污染物之一。其主要来源于工业排放, 船舶运输、海上石油开采和溢油事故等。据报道, 全球每年进入海洋的石油污染物达数百万吨至 1 Mt, 约占全世界石油总产量的千分之五^[1]。近年来, 我国海洋污染快速蔓延的势头虽然得到了一定程度的减缓, 但海洋环境质量恶化的总趋势至今仍未得到有效的遏制, 污染范围不断扩大, 大部分河口、海湾以及大中城市邻近海域污染日趋严重, 局部海域石油污染严重仍较突出。可以预见, 随着我国工农业生产的高速发展、城市化进程加快、海上运输和捕捞业持续发展、海洋石油勘探和开发突飞猛进, 溢油事故时有发生,

石油类仍然将成为我国近海海域数量最大、危害最严重的污染物之一。

石油污染对海洋生物造成的急性危害是众所周知的, 但是其对海洋生物的低剂量效应, 尤其是以 7-乙氧基异吩恶唑-O-脱乙酰酶[7-Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD)]活性等为指标的早期生化效应监测技术的研究在国内仍然报道甚少。

石油类等化学物进入生物体内后会发发生物转化, 亲脂性底物被氧化代谢后形成各种中间代谢物, 这些中间代谢物具有很高的生物活性, 容易对生物体产生毒性。氧化作用主要是由单加氧酶系统催化, 单加氧酶系统包括细胞色素 P450 及其依赖的各种单加氧酶, EROD 是其中的代表酶。

收稿日期: 2010-04-10; 修订日期: 2010-07-25。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40476042); 福建省科技厅重点项目(2009Y0034); 福建省自然科学基金资助项目(2007J0281); 国家海洋局第三海洋研究所基本科研业务费专项资金资助项目(2008012)。

作者简介: 郑榕辉(1980—), 男, 福建省福州市人, 助理研究员, 主要从事环境毒理学研究。E-mail: xblawinner@126.com

* 通信作者: 张玉生(1956—), 男, 研究员。E-mail: ys.zhang@163.com

鱼类 EROD 生物标志物监测技术的建立是国际上近 30 a 来海洋污染生物监测技术史上的重大发展。与传统的以生理功能、个体形态、群落数量和种群结构变化为指标的生物生态监测技术相比,它具有效应快、灵敏度高、特异性强和适合于早期污染监测的优点^[2]。

研究发现,不同的海洋鱼类 EROD 对污染物的敏感性不同^[3],因此筛选合适的敏感鱼类是建立海洋石油类污染鱼类 EROD 生物标志物监测技术的关键问题。为此,本研究通过原油水溶性组分(water soluble fraction, WSF)的暴露,研究和比较黑鲷(*Sparus macrocephalus*)、黄鳍鲷(*Sparus latus*)和褐菖鲈(*Sebastes marmoratus*)肝微粒体 EROD 活性对石油污染物的敏感性,筛选敏感鱼类,为建立海洋石油类污染及其生化效应的鱼类 EROD 生物标志物监测技术提供科学依据。

2 材料和方法

2.1 仪器与试剂

实验仪器采用恒联 B20-G 型三功能搅拌机, Beckman Avanti J-25 高速冷冻离心机、Unico UV-2600 紫外可见分光光度计、Varian Cary Eclipse 荧光分光光度计。NADPH, 7-乙氧基异吩恶唑(7-Ethoxyresorufin)和 7-羟基异吩恶唑(Resorufin)购于 Sigma 公司,其余化学药品和试剂均为国产市售分析纯药品。

2.2 原油 WSF 制备

原油由福建炼油化工有限公司赠送,2005 年购自阿根廷。

原油与清洁沙滤海水按体积比 1:10 混合,用搅拌机连续搅拌 8 h,静置 16 h 后通过虹吸法分离出表层下水溶相作为母液,避光保存,使用前测定其油浓度。水溶相中油浓度的测定采用荧光分光光度法^[4],以国家海洋环境监测中心 20-3 油标准作为标准,荧光测定波长 $E_x = 310 \text{ nm}$, $E_m = 365 \text{ nm}$ 。实验过程中根据需要用清洁沙滤海水把原油 WSF 母液稀释到相应浓度及相应体积。

2.3 实验动物和暴露条件

黑鲷购自福建厦门刘五店鱼排,平均体长为 $(15.2 \pm 1.8) \text{ cm}$,平均体重为 $(57.51 \pm 13.18) \text{ g}$,每次购买时都尽量选取大小较一致、生存状态良好的个体作为实验动物。实验前,鱼类先在含有清洁沙滤海水室内养殖池中暂养 7 d,用充气机连续充气,

然后选取活力好的个体随机分组进行室内原油 WSF 暴露诱导实验。

在剂量-效应实验中设 10, 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 五个原油 WSF 浓度的诱导组和一个对照组。每组随机选取 6 条黑鲷,置于 55 L 含有上述不同浓度的原油 WSF 的清洁沙滤海水的有机玻璃箱(80 cm×40 cm×35 cm)中,对照组 55 L 清洁沙滤海水不含原油 WSF。用充气机连续充气,喂以人工饵料,每 2 d 更换相应浓度的含油海水。诱导期间水温 22~24 $^{\circ}\text{C}$,盐度为 27, pH 为 7.83。

在剂量-效应实验的基础上,参照国家海水水质标准^[5],选择 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 为固定浓度进行时间-效应和恢复实验。每组随机抽取 6 条黑鲷置于 55 L 含有 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 的清洁沙滤海水的水族箱中,对照组 55 L 清洁沙滤海水不含原油 WSF。用充气机连续充气,喂以人工饵料,每 2 d 更换相应浓度的含油海水。诱导期间水温为 22~24 $^{\circ}\text{C}$,盐度为 26, pH 为 7.88。

黄鳍鲷同样购自福建厦门刘五店鱼排,平均体长为 $(13.8 \pm 1.0) \text{ cm}$,平均体重为 $(46.45 \pm 12.36) \text{ g}$,诱导期间水温为 22~24 $^{\circ}\text{C}$,盐度为 27, pH 为 7.81,其余条件同黑鲷剂量-效应实验、时间-效应和恢复实验。

褐菖鲈购于厦门市大学路市场,由渔民捕自金门附近海域,平均体长为 $(12.5 \pm 1.1) \text{ cm}$,平均体重为 $(28.87 \pm 8.52) \text{ g}$,诱导期间水温为 22~24 $^{\circ}\text{C}$,盐度为 27, pH 为 7.81,其余条件同黑鲷剂量-效应实验、时间-效应和恢复实验。

2.4 取样和样品预处理

剂量-效应实验于原油 WSF 暴露 5 d 后取样,取样前 1 d 停止喂食,活体解剖,量体长,称体重与肝重,将肝脏置于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

时间-效应实验于原油 WSF 暴露后的第 2, 4, 6, 8, 10 天取样,对照组于第 10 天取样。恢复实验于原油 WSF 暴露后的第 4 天将含油海水全部更换为清洁沙滤海水进行恢复实验,并于恢复实验的第 4, 8, 12 天取样,取样前 1 d 停止喂食,活体解剖,量体长,称体重与肝重,将肝脏置于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

鱼肝微粒体酶样品的制备根据余铭恩^[6]在 Stegeman 等^[7]和 Forlin^[8]的基础上建立的方法进行。将解冻后的鱼肝剪碎后置于玻璃匀浆器中,加 5 倍体积预冷的匀浆缓冲液(0.1 mol/ dm^3 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaH}_2\text{PO}_4$, 0.15 mol/ dm^3 KCl, pH 7.4),冰浴下匀浆。4 $^{\circ}\text{C}$

下 9 178 r/min 离心 15 min, 取上清液, 质量体积比 4 ℃ 下 21 524 r/min 离心 90 min。鱼肝微粒体沉淀按 1:1 溶解于缓冲液 (0.1 mol/dm³ Na₂HPO₄ - NaH₂PO₄, 0.15 mol/dm³ KCl, 20% Glycerol, pH 7.4) 中, 置于 -70 ℃ 冰箱保存, 用于鱼肝微粒体 EROD 酶活性的测定。

2.5 生化分析测定

鱼肝微粒体 EROD 酶活力测定根据余铭恩^[6] 参照 Burke 和 Mayer 的方法^[9] 建立的测定技术进行。鱼肝微粒体蛋白含量的测定以小牛血清白蛋白为标准, 采用改进的考马斯亮蓝比色法^[10] 进行测定。

2.6 数据分析

实验数据采用 SPSS 统计软件进行数据处理, 采用单因素方差分析的方法进行统计学分析。结果用平均值加或减标准误差表示, 组间数据用 Student-Newman-Keuls 法进行显著性水平的分析 ($\alpha=0.05$)。

3 结果

3.1 原油 WSF 暴露对黑鲷肝微粒体 EROD 活性的剂量-效应

图 1 显示, 原油 WSF 暴露 5 d 后黑鲷肝微粒体 EROD 活性与对照组相比被显著诱导, EROD 活性随着暴露浓度的增加而不断升高, 表现出良好的剂量-效应关系, 其线性回归方程为 $y = 0.12x + 0.3624$ ($r^2 = 0.944$) (x 表示原油 WSF 浓度, y 表示黑鲷肝 EROD 活性), 在 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组时 EROD 活性达到最高, 为对照组的 2.36 倍。

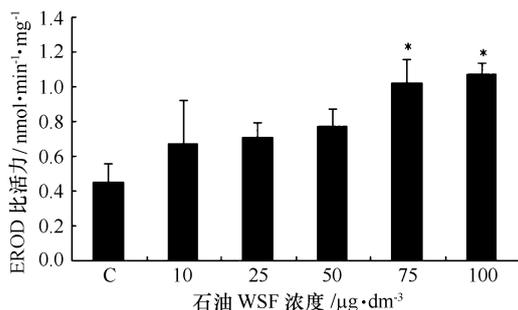


图 1 不同浓度原油 WSF 对黑鲷肝微粒体 EROD 活性的影响

$n=4$, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

3.2 原油 WSF 暴露对黄鳍鲷肝微粒体 EROD 活性的剂量-效应

图 2 显示, 原油 WSF 暴露 5 d 后黄鳍鲷肝微粒

体 EROD 活性与对照组相比被显著诱导, EROD 活性基本上随着暴露浓度的增加而不断升高, 在 75 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组时达到最高, 为对照组的 2.58 倍, 表现出良好的剂量-效应关系, 其线性回归方程为 $y = 0.0068x + 0.0132$ ($r^2 = 0.9083$) (x 表示原油 WSF 浓度, y 表示黄鳍鲷肝 EROD 活性); 随着剂量继续升高到 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, 活性略有下降, 但仍然呈现显著性差异。

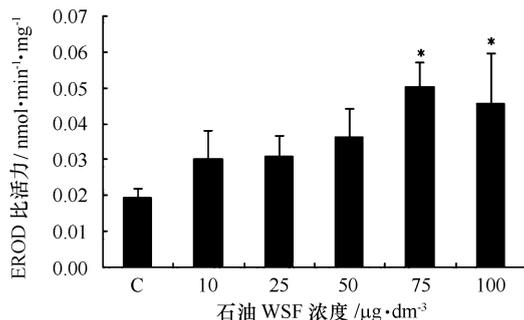


图 2 不同浓度原油 WSF 对黄鳍鲷肝微粒体 EROD 活性的影响

$n=4$, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

3.3 原油 WSF 暴露对褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性的剂量-效应

从图 3 可以看出, 原油 WSF 暴露 5 d 后褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性与对照组相比被显著诱导, EROD 活性随着暴露浓度的增加而不断升高, 在 50 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组时达到最高, 为对照组的 5.92 倍, 随后逐渐下降, 但在 75 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组酶活性仍然显示显著差异, 到 100 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组时已基本下降到对照组水平。

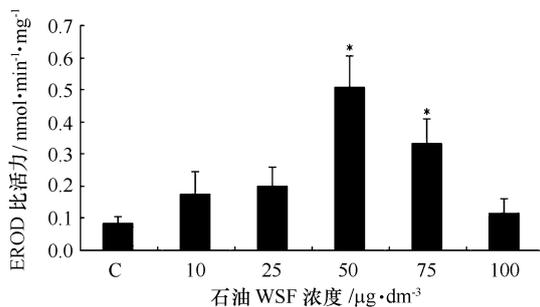


图 3 不同浓度原油 WSF 对褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性的影响

$n=4$, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

3.4 原油 WSF 暴露对黑鲷肝微粒体 EROD 活性的时间-效应及其恢复过程

从图 4 可以看出, 在 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓

度下,黑鲷肝微粒体 EROD 活性先是随着暴露时间的延长而不断升高,在暴露第 4 天时达到最高,为对照组的 5.31 倍,随后逐渐下降。诱导 4 天后开始恢复实验,随着恢复时间的延长,EROD 活性逐渐下降,并恢复到对照组水平。

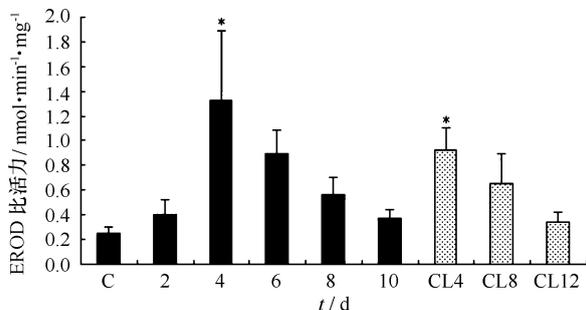


图 4 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度下黑鲷肝微粒体 EROD 活性的时间-效应和恢复过程

$n=4$, CL4, CL8 和 CL12 为暴露 4 d 后开始恢复实验第 4, 8 和 12 天, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

3.5 原油 WSF 暴露对黄鳍鲷肝微粒体 EROD 活性的时间-效应及其恢复过程

从图 5 可以看出,在 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度下,黄鳍鲷肝微粒体 EROD 活性先是随着暴露时间的延长而不断升高,到第 2 天时,酶活性就呈现出显著变化,到第 4 天时活性最高,为对照组的 5.29 倍,随后逐渐下降,但第 6 天时酶活性仍然具有显著差异。诱导 4 天后开始恢复实验,在恢复期第 4 天 EROD 活性就已经恢复到对照组水平,并在恢复期第 8 天和第 12 天保持稳定。

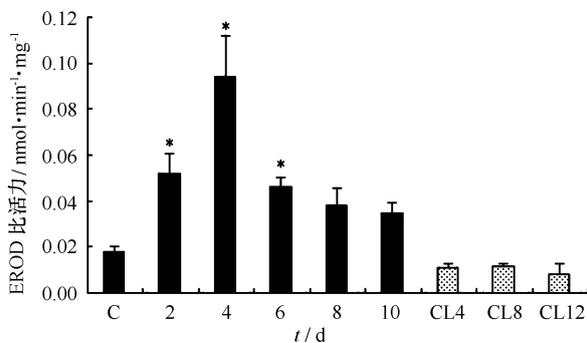


图 5 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度下黄鳍鲷肝 EROD 活性的时间-效应及其恢复过程

$n=4$, CL4, CL8 和 CL12 为暴露 4 d 后开始恢复实验第 4, 8 和 12 天, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

3.6 原油 WSF 暴露对褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性的时间-效应及其恢复过程

从图 6 可以看出,在 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度下,褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性先是随着暴露时间的延长而不断升高,在暴露第 4 天时达到最高,为对照组的 5.79 倍,随后逐渐下降,但第 6 天时酶活性仍然具有显著差异。诱导 4 d 后开始的恢复实验表明,在恢复实验的第 4 天,与对照组相比依然具有显著性差异,随着恢复时间的延长,EROD 活性逐渐下降,并恢复到对照组水平。

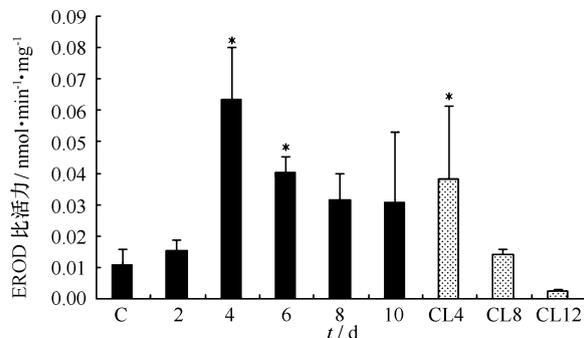


图 6 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度下褐菖鲉肝 EROD 活性的时间-效应及其恢复过程

$n=4$, CL4, CL8 和 CL12 为暴露 4 d 后开始的恢复实验第 4, 8 和 12 天, * 表示与对照组相比有显著性差异, $P<0.05$

4 讨论

本研究采用阿根廷原油 WSF 进行诱导,其成分复杂,由于采用的荧光分光光度法是通过测定石油烃组分中芳烃的荧光强度来测定石油烃浓度的^[11],所以可以认为测定所得的原油浓度主要是指芳烃类化合物的总浓度。

由于强烈诱导 EROD 的化合物如 PAHs 等在自然界中多存在于沉积物中,在早先的实验中观察到 EROD 活性与污染沉积物密切相关。在港口沉积物中暴露的叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*),肝 EROD 活性一般比对照站点的高^[12],但从北海的石油生产地区及邻近站点采集的大西洋鳕 (*Gadus morhua*)、黑线鳕 (*Melanogrammus aeglefinus*) 和拟庸鲽 (*Hippoglossoides platessoides*),它们的肝 EROD 活性与对照站位的比较没有增加^[13]。在实验生态条件下的体内诱导和体外诱导实验中,绝大多数研究发现其诱导量与石油类及 PAHs 的污染程度有较好的相关性^[6, 14-16],但也有少数研究未发现明显的诱导^[17]。

本研究中三种海洋鱼类在不同浓度原油 WSF 诱导 5 d 后,肝微粒体 EROD 活性随着暴露浓度的增加而不断升高,表现出较好的剂量-效应关系。褐菖鲉肝 EROD 活性的最低诱导浓度是 $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$,在该浓度下其 EROD 活性为对照组的 5.92 倍;黑鲷和黄鳍鲷肝 EROD 活性的最低诱导浓度都是 $75 \mu\text{g}/\text{dm}^3$,所不同的是在 $75 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 浓度下,黑鲷肝 EROD 活性为对照组的 2.26 倍,而黄鳍鲷肝 EROD 活性比较高,为对照组的 2.58 倍;在 $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 浓度下黑鲷肝 EROD 活性达到最高,为对照组的 2.36 倍,而黄鳍鲷肝 EROD 活性较 $75 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 组反而略有下降。在高浓度原油 WSF 浓度下,褐菖鲉肝 EROD 活性的下降可能是原油 WSF 中的 PAHs 竞争性抑制 EROD 活性的结果^[18]。

与对照组相比,原油 WSF 诱导褐菖鲉肝 EROD 活性显著变化的浓度最低,在三种鱼类中表现最敏感;除了 $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 的原油 WSF 浓度外,在每个诱导浓度条件下黄鳍鲷肝 EROD 活性提高的幅度都大于黑鲷,并且在 $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 浓度下已经开始下降。因此,对于原油 WSF 而言,褐菖鲉、黄鳍鲷、黑鲷肝 EROD 活性的敏感性依次下降,而黑鲷的诱导浓度范围则较广。

在时间-效应的研究中,在 $40 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 暴露下,黄鳍鲷肝 EROD 活性在第 2 天时就表现出显著的诱导效应,并在第 4 天时达到最高;黑鲷和褐菖鲉肝 EROD 活性仅在第 4 天时表现出

显著的诱导效应并达到最高。这与 0# 柴油 WSF 暴露后褐菖鲉肝 EROD 活性增强^[6]、柴油 WSF 暴露后欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 肝 EROD 酶活性增强^[19]、石油暴露诱导鲱鱼 (*Clupea pallasii*) EROD 酶活性升高^[20] 相一致。Livingstone 等^[21] 研究发现,暴露于沉积污染物中的欧洲黄盖鲽 (*Limanda limanda*),它的肝 EROD 活性先增加,随后持续下降。本研究中,随着暴露时间的延长,三种鱼肝 EROD 活性于第 6 天开始呈下降趋势,并接近对照组水平,这与污染物的抑制作用有关,表现出污染物的毒性作用。在诱导 4 d 后开始的恢复实验中,随着恢复时间的延长,三种鱼肝 EROD 活性均下降并恢复到对照组水平,其中黄鳍鲷恢复最快,4 d 后 EROD 活性就已经恢复到对照组水平。

比较三种鱼肝 EROD 活性在 $40 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 暴露下的时间-效应,可以看出三种鱼肝 EROD 活性均在暴露第 4 天时达到最高,与对照组比较均具有显著差异,黄鳍鲷和黑鲷的最大诱导倍数几乎相同,褐菖鲉的最高(表 1)。所不同的是黄鳍鲷肝 EROD 活性在染毒第 2 天就呈现显著差异,三种鱼中仅黑鲷在第 6 天时未呈现显著差异;与第 4 天相比,在第 6、8 和 10 天,黑鲷肝 EROD 活性下降的幅度分别为 32.31%, 57.31% 和 72.28%,黄鳍鲷肝 EROD 活性下降的幅度分别为 50.89%、59.54% 和 63.00%,褐菖鲉肝 EROD 活性下降的幅度分别为 36.39%, 50.48% 和 51.56%。由此可

表 1 三种鱼类原油 WSF 剂量-效应和时间-效应和恢复实验结果比较

比较内容	黑鲷	黄鳍鲷	褐菖鲉
最低诱导剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	75	75	50
诱导倍数	2.36	2.58	5.92
诱导酶活显著变化剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	75,100 ↑	75,100 ↓	50,75 ↓
最短诱导时间/d	4	2	4
4 d 时诱导倍数	5.31	5.29	5.79
诱导时间/d	4	2,4,6 ↓	4,6 ↓
酶活恢复时间/d	8	4	8
作为监测生物优点	监测污染物浓度范围较广	效应快、恢复快、诱导时间较长	敏感、诱导倍数高、诱导后酶活性保持的时间长

注:100 ↑ 表示在 $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度条件下相对应的鱼肝 EROD 活性继续上升;

100 ↓ 表示在 $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 浓度条件下相对应的鱼肝 EROD 活性下降,其它的类推;

6 ↓ 表示在 $40 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 暴露下第 6 天与第 4 天相比鱼肝 EROD 活性下降。

见,在 $40 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ 原油 WSF 暴露下,黄鳍鲷肝 EROD 活性最早被诱导,褐菖鲉肝 EROD 活性的诱导程度最大,达到最高后随着暴露时间的延长,三种鱼肝 EROD 活性均逐渐降低,其中褐菖鲉肝 EROD 活性降低较慢。在诱导 4 d 后开始的恢复实验中,黑鲷和褐菖鲉肝 EROD 活性随着恢复时间的延长逐渐下降,并恢复到对照组水平;黄鳍鲷在恢复到第 4 天时肝 EROD 活性就已经恢复到对照组水平,并在恢复期第 8 天和第 12 天保持稳定。由此可见,在原油污染胁迫消除后,黄鳍鲷肝 EROD 活性的恢复

能力较强,而褐菖鲉在受到原油污染后,其恢复速度较慢,更有利于在海洋污染事件,包括急性污染事件(如溢油)中指示污染的生化效应和造成的生物损害。

综合上述实验结果和鱼类的生态习性^①考虑,对于石油类污染物,黑鲷、黄鳍鲷和褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性都可以作为污染效应的监测指标;就三种鱼类比较而言,褐菖鲉最敏感,更适合于作为石油类污染及其生化效应,尤其是低剂量效应的监测生物。

参考文献:

- [1] 冯士箴,王辉. 海洋科学[M]. 北京:海洋出版社,2001.
- [2] 张玉生. 加快海洋污染生物效应监测新技术研究保护厦门海域生态环境[G]//厦门市海洋经济发展战略和海洋环境保护研讨会论文集.北京:海洋出版社,2006:104—107.
- [3] BALK L. Characterization of xenobiotic metabolism in the feral teleost northern pike (*Esox lucius*)[D]. Stockholm:Stockholm University,1985.
- [4] GB 17378.4—2007 海洋监测规范:第4部分:海水分析[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
- [5] GB 3097—1997 海水水质标准[S]. 北京:国家环境保护局,1997.
- [6] 余铭恩. 褐菖鲉(*Sebastes marmoratus*)肝微粒体细胞色素 P-450 加单氧酶的研究——动力学反应条件、诱导和监测[D]. 厦门:国家海洋局第三海洋研究所,2003.
- [7] STEGEMAN J J, BINDER R. L, ORREN A. Hepatic and extrahepatic microsomal electron transport components and mixed-function oxygenases in the marine fish *stenotomus versicolor*[J]. Biochem Pharmacol, 1979, 25: 3431—3439.
- [8] FORLIN L. Effect of clophen A50, 3-methylcholanthrene, pregnenolone-16 α carbonitrile and phenobarbital on the hepatic microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase system in rainbow trout(*Salmo gairdneri*), of different age and sex[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1980, 54: 420—430.
- [9] BURKE M D, MAYER R T. Ethoxyresorufin: direct fluorimetric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene[J]. Drug Metab Dispos, 1974, 2: 583—588.
- [10] 郭敏亮,姜涌明. 考马斯亮蓝显色液组分对蛋白质测定的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 558—561.
- [11] 贾小平,林钦,吕晓瑜,等. 广东沿海牡蛎石油烃污染研究[J]. 海洋环境科学, 1990, 9(1): 13—17.
- [12] RICHARD T, GIULIO D, HABIG C, et al. Effects of Black Rock Harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish [J]. Aquat Toxicol, 1993, 26:1—22.
- [13] AAS E, KLUNGSOR J. PAH metabolites in bile and EROD activity in North sea fish [J]. Marine Environmental Research, 1998, 46(1-5): 229—232.
- [14] BILLIARD S M, BOLS N C, HODSON P V. In vitro and in vivo comparisons of fish specific CYP1A induction relative potency factors for selected polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 59: 292—299.
- [15] BOSVELD A T, DE BIE PA, VAN DEN BRINK N W, et al. In vitro EROD induction equivalency factors for the 10 PAHs generally monitored in risk assessment studies in The Netherlands[J]. Chemosphere, 2002, 49: 75—83.
- [16] FENT K., BÄTSCHER R. Cytochrome P450 1A induction potencies of polycyclic aromatic hydrocarbons in a fish hepatoma cell line: demonstration of additive interactions. Environ[J]. Toxicol Chem, 2000, 19: 2047—2058.
- [17] 陈加平,徐立红,吴振斌,等. 苯并(a)芘致毒的鱼的分子生态毒理学指标研究[J]. 环境科学, 1999, 19(5): 417—420.
- [18] WANG Yun, ZHENG Rong-hui, ZUO Zheng-hong, et al. Relation of hepatic EROD activity and cytochrome P4501A level in *Sebastes marmoratus* exposed to benzo[a]pyrene[J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, 20(1): 101—104.
- [19] PACHECO M, SANTOS M A. Biotransformation, endocrine, and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2001, 49: 64—75.

① 余铭恩,郑榕辉,张玉生. 褐菖鲉肝微粒体 EROD 活性测量方法的研究. 待发表.

- [20] ROBERT E, MARK G, STANLEY D, et al. Mixed function oxygenase induction in pre- and post-spawn Herring(*Clupea pallasii*) by petroleum hydrocarbons[J]. *Comp. Biochem Physiol*, 1997, 166C(2): 141—147.
- [21] LIVINGSTONE D R, ARCHIBALD S, CHIPMAN J K, et al. Antioxidant enzymes in liver of the dab (*Limanda-limanda*) from the North Sea[J]. *Mar Lcol Prog Ser*, 1992, 91: 97—104.

A comparison of the hepatic microsomal EROD activity in three species of marine fish exposed to crude oil WSF

ZHENG Rong-hui¹, ZHANG Yu-sheng¹, CHEN Qing-fu¹

(1. *Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China*)

Abstract: The dose response, time-course induction and rehabilitation of hepatic microsomal EROD activity from *Sparus macrocephalus*, *Sparus latus* and *Sebastiscus marmoratus* were studied by crude oil water soluble fraction (WSF). The results show that in the dose-response experiments for 5 d, the hepatic EROD activity is significantly induced at the dose of 50 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ WSF for *Sebastiscus marmoratus* and at the dose of 75 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ WSF for both *Sparus macrocephalus* and *Sparus latus*; the induction of the hepatic EROD activity is the highest in *Sebastiscus marmoratus*, but has a wider concentration range in *Sparus macrocephalus*. In the time-course experiments exposure to 40 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ WSF, the hepatic EROD activity of *Sparus latus* is significantly induced after 2 d of exposure; three species of fish hepatic EROD activities are significantly induced and reach a maximal level after the exposure of 4 d, then decreased and close to the control levels after 6 d of exposure. In the rehabilitation experiment, three species of fish hepatic EROD activities decrease and return to the control levels after 4 or 8 d of exposure. In general, the hepatic EROD activity from the above three species of fish can all be used for monitoring the oil pollution; However, for the comparison of the three species of fish, *Sebastiscus marmoratus* is more sensitive to the crude oil WSF and more suitable for monitoring marine environmental oil pollution and its biochemical effect, especially low-dose biochemical effect.

Key words: *Sparus macrocephalus*; *Sparus latus*; *Sebastiscus marmoratus*; hepatic microsomal EROD; crude oil WSF; biochemical effects