

菲胁迫对红鳍笛鲷急、慢性毒性效应的研究

杨涛^{1,2}, 陈海刚¹, 蔡文贵¹, 秦洁芳^{1,2}, 贾晓平^{1*}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室,
农业部南海渔业资源环境重点野外科学观测实验站, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 210306)

摘要: 为了解海洋菲污染对海洋水产经济鱼类的毒性及致毒机理, 在实验室条件下采用半静态毒性实验研究了菲对红鳍笛鲷的 96 h 急性毒性, 同时分析和比较了不同浓度 (10.0、50.0、250.0 $\mu\text{g/L}$) 菲胁迫 96 h 后红鳍笛鲷肝脏、鳃中超氧化物歧化酶 (SOD) 活力, 丙二醛 (MDA) 含量以及脑组织中乙酰胆碱脂酶 (AChE) 活力的变化。结果表明, 菲对红鳍笛鲷幼鱼的 24、48 和 96 h 半致死浓度 (LC_{50}) 分别为 4.65、3.46 和 3.17 mg/L , 安全浓度为 0.317 mg/L 。在整个胁迫过程中, 低浓度 (10.0 $\mu\text{g/L}$) 菲可诱导红鳍笛鲷肝脏和鳃组织 SOD 活力显著性升高 ($P < 0.05$); 随着浓度升高, 50.0 和 250.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度组肝脏 SOD 活力呈抑制-诱导的波动变化, 鳃 SOD 活力的变化则呈抑制-诱导-抑制的趋势。随着菲曝露时间延长, 各浓度组红鳍笛鲷肝脏和鳃组织的 MDA 含量明显升高; 脑组织中 AChE 活力表现为先升高后降低的趋势。结果提示, 菲对红鳍笛鲷具有很强的毒性, 可在 96 h 内通过氧化损伤途径对机体产生毒性作用, 鉴于 SOD、MDA、AChE 指标对菲的高度敏感特点, 可以用其作为生物标志物来指示多环芳烃类污染物对水生生物的影响, 为渔业资源的科学监控和管理提供理论参考。

关键词: 红鳍笛鲷; 菲; 半致死浓度 (LC_{50}); 超氧化物歧化酶 (SOD); 丙二醛 (MDA); 乙酰胆碱脂酶 (AChE)

中图分类号: X 835; S 917

文献标识码: A

菲 (phenanthrene, PHE) 是一种典型的多环芳烃类 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 化合物, 被广泛用于合成树脂、植物生长激素、还原染料、鞣料等工业, 随着工业化的程度越来越高, 菲在水体环境中的分布也越来越广泛。据报道, 我国厦门的马銮湾海水养殖区的表层海水中检测到菲的浓度为 24.4 ng/L ; 而大亚湾海域的次表层海水中, 菲的浓度高达 435.0 ng/L ; 珠江的澳门水域的表层水中菲的浓度为 101.82 ng/L 。研究得出, 菲对藻类、双壳类、甲壳类和鱼类等海洋生物普遍具有致毒性^[1-2], 而菲的某些甲基衍生物、环戊基衍生物还具有致癌性, 特别是 15H-环戊并 (a) 菲的二甲基及三甲基衍生物具有强烈的

致癌性^[3]。菲对水生生物的污染可以通过监测水体、沉积物或生物体的污染水平进行评价, 然而, 通常这些测定还不能完全反映水生生态系统的环境质量, 况且监测水体中所有的污染物含量也不切实际, 而通过水生生物在污染物暴露下其生化指标的变化来反映生物个体生理过程受到的潜在损害来评价水体生态环境质量是可行的^[4]。

国内外对菲致海洋生物毒性损伤的效应和机理开展了大量的研究工作, 但试验生物主要集中在自然条件下生长的双壳贝类、鱼类等野生种类或人工驯养种类, 而且浓度水平也大多局限于正常的环境浓度水平^[5-7]。由于当前水体环境污染种类和程度的不断加剧, 海水中的野生物种

收稿日期: 2010-11-01 修回日期: 2010-11-24

资助项目: 科技部科研院所社会公益研究专项 (2005DIB3J021); 广东省科技计划项目 (2009B030600001); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (2009YD01); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (2010YD04); 中国水产科学研究院淡水生态与健康养殖重点开放实验室开放课题 (2010FEA03006)

通讯作者: 贾晓平, E-mail: jxp60@tom.com

可能已经适应了污染物的暴露而敏感性降低,再加上近年来由于过度捕捞和污染加剧,我国近岸海域野生类资源受到很大的破坏,水产品的人工养殖已占据主要地位。鉴于我国近岸海域 PAHs 污染趋于集中并不断加剧,尤其不久前在墨西哥湾与大连海域发生的石油泄露事件使得该区 PAHs 含量严重超标,严重破坏海洋渔业环境,因此研究非正常环境浓度下菲暴露对近岸海域海水增养殖生物的毒性效应具有重要意义。

红鳍笛鲷 (*Lutjanus erythropterus*) 是我国南海及东海南部海域重要的经济鱼类,由于其个体大、产量高、肉质鲜嫩、经济效益佳,已成为海水网箱养殖业的主要品种之一。本研究通过菲对红鳍笛鲷进行水体模拟胁迫实验,以测得菲对受试鱼的半致死浓度,并讨论菲对鱼体超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量、乙酰胆碱酯酶(AChE)等典型分子生物标志物的影响,以此评价水体菲污染对海洋鱼类可能产生的毒理学影响,为海洋鱼类的健康养殖和评价提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

从海南陵水新村港附近育苗场购买活泼健康、体色正常、大小均一的6月龄红鳍笛鲷作为受试生物,其体长为 (4.15 ± 0.23) cm,体重为 (1.94 ± 0.87) g。实验容器采用底部半径0.4 m、高1.2 m、容积为600 L的玻璃钢圆筒。红鳍笛鲷暂养7 d,日换水1/2,养殖密度为200~300 ind/m³,期间连续充气,并投喂鱼饲料。实验海水取自育苗场附近,经沉淀池沉淀和砂滤后待用,海水盐度为34~36,pH为7.7~7.9,水温为22~25℃。

菲为分析纯,购于美国Sigma公司。丙酮为分析纯,购于广州化学试剂公司。SOD、MDA、AChE和蛋白质测试试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 急性毒性实验

急性毒性实验采用半静态染毒实验法,每隔24 h换水一次,根据预实验结果按对数间距设5个质量浓度组[2.00、2.51、3.22、4.01、5.02 mg/L(丙酮助溶,体积比<0.01%)],同时设丙酮对照组,每组设2个平行,各放入10尾鱼。实验开始后每隔6 h观察实验鱼游动、觅食等生活状态,记录幼鱼在12、24、48、72和96 h的活动和死亡

情况,及时捞出死亡个体。

1.3 亚急性毒性实验

浓度设置 首先用丙酮溶解菲,配成2 g/L的储备液;据急性毒性实验后得出的菲对红鳍笛鲷的安全浓度设置10.0、50.0、250.0 μg/L和丙酮对照4个浓度组,每个浓度组设置两个平行,每组放入30条红鳍笛鲷,每12小时完全更换实验溶液1次,昼夜充气,采用自然光照,每天定时投喂鱼饲料。

组织匀浆的制备 分别于胁迫后12、24、48、96 h从各浓度组随机取5条鱼,迅速取出肝脏、鳃以及鱼脑组织,用0.86%预冷生理盐水淋洗、滤纸吸附后用预冷的Tris-HCl缓冲液(0.01 mol/L Tris, 0.25 mol/L 蔗糖, 0.1 mmol/L EDTA, pH 7.5)匀浆,6 000 r/min离心10 min后,取上清液进行蛋白质含量和酶活力测定。肝脏的匀浆比例为1:4、鳃和脑的匀浆比例为1:9[组织质量(g):缓冲液体积(mL)]。

实验指标的测定 SOD、AChE活性及MDA、蛋白含量指标均按试剂盒说明方法进行。SOD定义为每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达到50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U),活性测定采用黄嘌呤氧化酶法,单位为U/mg prot;MDA测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法,单位为nmol/mg prot;AChE定义为每毫克组织蛋白在37℃保温6 min,水解反应体系1 μmol基质为1个活力单位(U),单位为U/mg prot;考马斯亮蓝显色法测定总蛋白含量,单位为mg/mL prot。所有指标吸光值均用UV-7504单光束紫外可见分光光度计(江苏省常州市诺基仪器有限公司)测定。

1.4 数据处理

用Bliss法计算急性毒性数据LC₅₀;亚急性毒性数据用SPSS 13.0统计分析,结果用平均值±标准偏差表示;用单因素方差分析法分析胁迫引起的差异,用LSD法比较组间数据, $P < 0.05$ 时即被认为差异显著,用回归方法作相关性检验。

2 结果

2.1 菲对红鳍笛鲷的急性毒性

在整个急性毒性测试过程中,观察不同浓度菲胁迫下实验鱼的生活行为。对照组所有实验鱼在整个实验过程中泳动、呼吸、觅食、对外界物理

刺激(如轻敲缸壁)等行为无明显变化。2.00 mg/L 菲胁迫下鱼大多浮于上层水面呼吸,翻转或直立游泳,但鱼并无死亡。2.51、3.22、4.01 mg/L 下红鳍笛鲷普遍出现失去平衡,侧翻并沉入桶底,呈典型麻痹状态,24 h 后逐渐死亡,96 h 的死亡率分别为 30%、60%、60%。5.02 mg/L 下受试鱼在实验开始 1 h 之内全部失去平衡,并在 2 h 以后开始逐渐死亡,至 24 h 全部死亡。

表 1 菲对红鳍笛鲷的急性 LC₅₀ 值及 95% 置信区间

Tab.1 LC₅₀ value and 95% confidence interval of *L. erythropterus* for PHE

暴露时间(h) time	回归方程 regression equation	LC ₅₀ (mg/L)	95% 置信度(mg/L) 95% confidence interval
24	$y = -2.12 + 10.66Lgx$	4.65	4.15 ~ 5.27
48	$y = 1.20 + 7.05Lgx$	3.46	3.00 ~ 3.98
96	$y = 0.92 + 8.14Lgx$	3.17	2.77 ~ 3.60

注:y 代表致死率,x 代表胁迫浓度(mg/L)。

Notes:y represent for lethality,x represent for exposure concentration (mg/L).

菲对红鳍笛鲷幼鱼的 24、48、96 h 的 LC₅₀ 值分别为 4.65、3.46、3.17 mg/L(表 1),安全浓度通过公式 $SC = 96 \text{ h LC}_{50} \times 0.1$ 计算得到,为 0.317 mg/L。有毒物质对鱼类的毒性按 LC₅₀ 的大小分为剧毒、高毒、中毒、低毒和微毒 5 个等级(<1 mg/L 为剧毒,1~100 mg/L 为高毒,100~1 000 mg/L 为中毒,1 000~10 000 mg/L 为低毒,>10 000 mg/L 为微毒或无毒)^[8]。据此判断,本实验中菲对红鳍笛鲷幼鱼为高毒物质。

2.2 红鳍笛鲷对菲胁迫的亚急性毒性响应

菲对红鳍笛鲷 SOD 活力的影响 不同浓度的菲均能引起两种组织 SOD 活力的抑制或诱导变化。图 1 中,肝脏组织 SOD 活力在低浓度(10.0 μg/L)下被诱导升高,并在 24、96 h 时与对照组有显著性差异($P < 0.05$);中高浓度组(50、250 μg/L) SOD 活力呈抑制-诱导的变化趋势,其中,250 μg/L 处理组变化最为显著,12 h 的抑制率就达到 75.1% ($P < 0.01$),之后,SOD 活力逐渐升高以致被诱导,96 h 结束时诱导率为 46.0% ($P < 0.01$),且 96 h 时各处理组 SOD 活力之间存在显著的剂量-效应,两者关系呈抛物线型, $R^2 = 0.89$ 。图 2 中,10.0 μg/L 胁迫下,鳃组织 SOD 活力变化与肝脏的变化规律相似,与对照组差异显著($P < 0.05$);50、250 μg/L 处理组 SOD 活力变化则呈现抑制-诱导-抑制的趋势,

其中 250 μg/L 在 12 h 时抑制率达到 45.0%,50 μg/L 在 48 h 的诱导率为 45.9% ($P < 0.05$)。

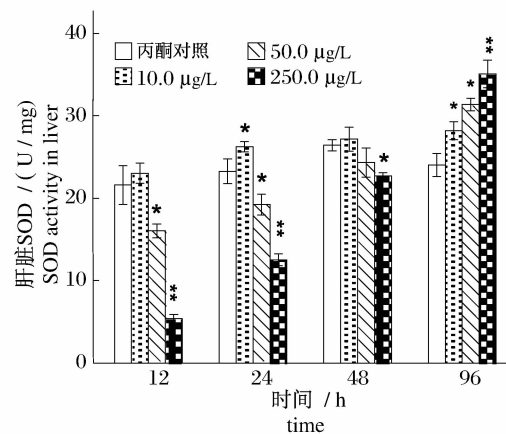


图 1 菲对红鳍笛鲷肝脏 SOD 活力的影响

* 表示处理组与对照组之间的差异($P < 0.05$), ** 表示极显著差异($P < 0.01$),下同。

Fig. 1 Effects of phenanthrene on SOD activities in livers of *L. erythropterus*

* indicate significant difference between treatments with control group ($P < 0.05$), ** indicate the difference is extremely significant, the same below.

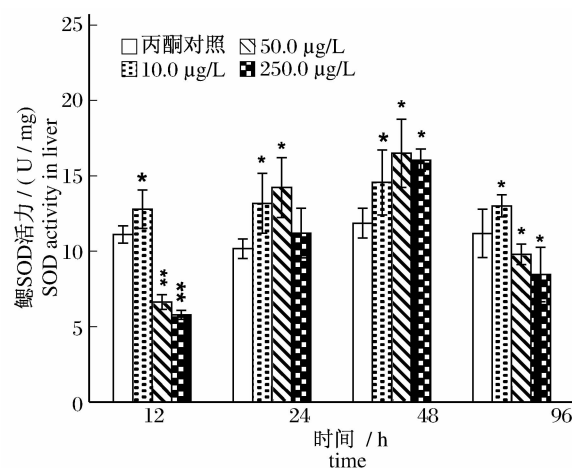


图 2 菲对红鳍笛鲷鳃组织 SOD 活力的影响

Fig. 2 Effects of phenanthrene on SOD activities in gills of *L. erythropterus*

菲对红鳍笛鲷丙二醛(MDA)含量的影响

菲对红鳍笛鲷肝脏和鳃 MDA 含量影响的结果分别如图 3 和图 4 所示,随浓度的升高或时间的延长,MDA 含量呈增加的趋势。图 3 中,菲胁迫 12 h,各处理组与对照组均无显著性差异,之后的 24 h MDA 含量有所增加,96 h 结束后,250 μg/L 处理组 MDA 含量高出对照组 79.7% ($P < 0.01$)。

图 4 的结果显示,24 h 胁迫后,10、250 $\mu\text{g/L}$ 处理组鳃中 MDA 含量显著高于对照组 ($P < 0.05$),随胁迫时间的延长,MDA 含量逐渐上升,96 h 时,250 $\mu\text{g/L}$ 处理组 MDA 含量高对对照组 74.6% ($P < 0.01$),且各处理组 MDA 含量之间存在显著的剂量-效应。

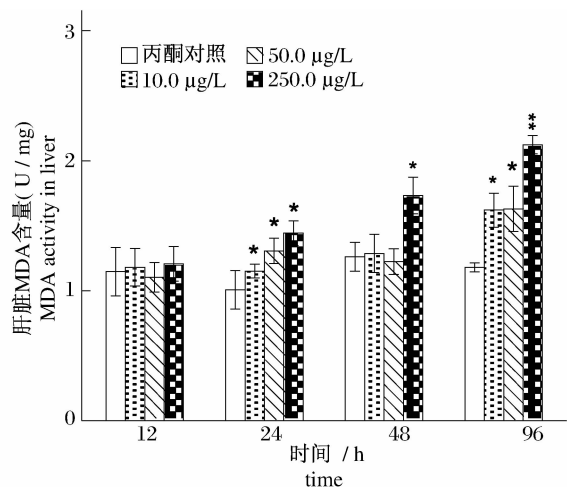


图 3 菲对红鳍笛鲷肝脏 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of phenanthrene on MDA contents in livers of *L. erythropterus*

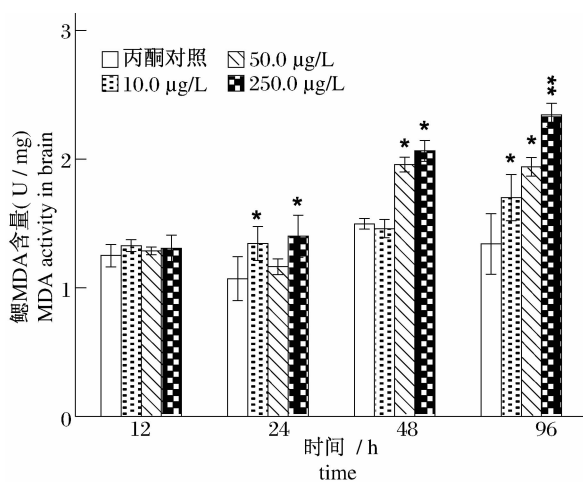


图 4 菲对红鳍笛鲷鳃 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of phenanthrene on MDA contents in gills of *L. erythropterus*

菲对红鳍笛鲷脑组织 AChE 活力的影响
菲胁迫对红鳍笛鲷脑组织 AChE 活力影响的结果如图 5 所示,AChE 活力整体上呈现低浓度或短时下被诱导,高浓度或长时间下被抑制的趋势。菲处理 12 h 后,250 $\mu\text{g/L}$ 组 AChE 活力高出对照组 28.7% ($P < 0.05$),而其余两组与对照无显著

性差异。之后,低浓度组开始被诱导,48 h 时,10 $\mu\text{g/L}$ 处理组 AChE 活力被诱导 76.0% ($P < 0.01$)。96 h 胁迫结束时,各处理组 AChE 活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$),低浓度组抑制率最低,为 13.1%,高浓度组抑制率最高,为 71.7% ($P < 0.05$),且各浓度 AChE 活力之间存在极显著的剂量-效应关系,两者呈抛物线型, $R^2 = 0.99$ 。

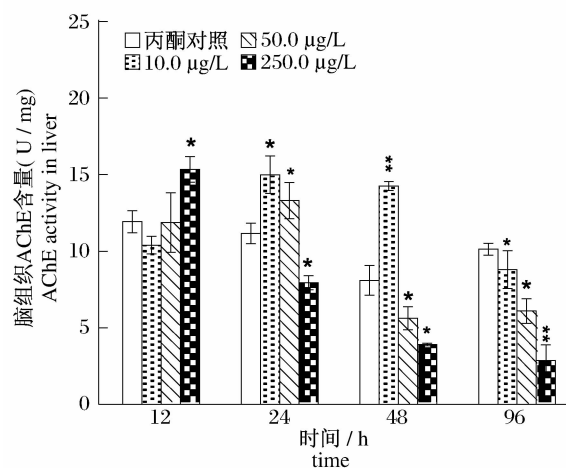


图 5 菲对红鳍笛鲷脑组织乙酰胆碱脂酶活力的影响

Fig. 5 Effects of phenanthrene on AChE activities in brain of *L. erythropterus*

3 讨论

3.1 菲对红鳍笛鲷肝脏及鳃 SOD 活力的影响

菲在水环境中作为性激素类似物,可影响鱼类与繁殖有关的形态、行为和生理功能,抑制鱼卵孵化率,增加仔鱼的死亡率^[9],已对鱼类的健康养殖以及渔业资源的保护产生不小的危害。此外,菲还能够在鱼组织中富集,并诱导抗氧化酶的激活,而 SOD 这种抗氧化酶已被用作多环芳烃对鱼贝类污染胁迫的生物指标^[10-14]。很多研究证实,当生物体受到低浓度或短时间胁迫时,SOD 活性往往升高,而受到高浓度或长时间胁迫时,SOD 活力又会降低。赵元凤等^[15]通过镉对鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 的污染胁迫后发现,0.01、0.1、0.5 mg/L 低浓度 Cd^{2+} 对鲢鱼组织 SOD 起诱导作用,1.00 mg/L 高浓度对 SOD 起抑制作用。本研究低浓度组 (10 $\mu\text{g/L}$) 胁迫下红鳍笛鲷肝、鳃组织的 SOD 活性在大部分时间都处于诱导状态,STEBBING 等^[16]认为,生物体在低浓

度下出现的这种现象,是缘于“毒物兴奋效应”;中、高浓度(50、250 $\mu\text{g}/\text{L}$)处理下,肝脏 SOD 在前 48 h 显著低于对照组、鳃 SOD 在 12 h 被显著抑制,这可能是因为活性氧自由基对细胞产生了损伤作用,但这种损伤尚未对细胞造成严重伤害,肝脏 SOD 酶活性在 96 h 显著被诱导,鳃 SOD 活性在 48 h 升高也正好说明这一点,之后鳃 SOD 活力在 96 h 胁迫结束后又显著抑制,可能反映出活性氧的增加超过了 SOD 酶的歧化能力,而导致细胞损伤、功能受到破坏,进而导致酶活力的降低。

目前,发现能够灵敏指示环境污染物程度的生物种、生物组织和生物指示物是环境生物监测急需解决的关键问题之一。本实验中,鳃组织的 SOD 活力整体上要低于肝脏,这主要是由于它们的生理功能不同,鳃是呼吸器官,而肝脏是解毒器官,也是主要的靶器官。但鳃组织 SOD 活力敏感性更高,这表现在 50、250 $\mu\text{g}/\text{L}$ 下其活力在 24 h 时显著升高(此时肝脏 SOD 活性被显著抑制),这可能是毒物与鳃直接接触而激活 SOD 的原因。但当暴露时间进一步延长,过高的菲会使鳃中的 H_2O_2 不能及时清除而产生积累,导致 SOD 活性受到抑制迅速下降,而此时肝脏 SOD 活性显著升高,这可能由于菲引起的代谢产物透过鳃汇集到肝脏,激活其 SOD 活性^[17]。因此本研究认为,红鳍笛鲷鳃更适合作为监测菲污染的组织选择。

3.2 菲对红鳍笛鲷肝脏及鳃 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂质过氧化作用的产物,是生物膜系统受伤害的重要指标之一。任加云等^[18]通过苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)的胁迫发现,各处理组消化盲囊中 MDA 含量随着时间而升高,中高浓度组鳃中 MDA 也有相同的趋势;汪美贞等^[19]研究表明,黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)在 12.5 mg/L Cd 浓度中胁迫 20 d 后,肝脏 MDA 含量显著高于对照组。本实验结果表明,肝脏和鳃中 MDA 对菲胁迫响应基本相似,MDA 含量均随着菲胁迫浓度的增加有显著的升高,证实了一定浓度的菲胁迫可引起红鳍笛鲷的脂质过氧化水平增高,产生氧化性损伤,并且两种组织受损伤的程度相似。研究表明,MDA 能与膜上的蛋白质氨基酸残基或核酸反应生成 Schiff 碱,增大膜的透性,促进膜的渗漏,降低膜的稳定性,破坏细胞膜上的离子通道,从而

使细胞膜的结构与功能发生紊乱,严重时导致细胞死亡^[19]。同时,MDA 含量与胁迫时间也存在着显著的时间-效应关系,并在胁迫 4 d 时达到最高值,这也预示着生物体抗氧化酶系统遭到破坏,鳃中 SOD 活力在胁迫第 4 天的显著降低也反映了这一点,而肝脏膜系统却并没有随 SOD 活力的上升而免受损伤,其原因是由于本实验中红鳍笛鲷受到的胁迫程度过重而使其自身修复系统难以发挥作用,还是红鳍笛鲷本身无法克服菲胁迫带来的损伤,这些有待于进一步的研究。

3.3 菲对红鳍笛鲷脑组织 AChE 活力的影响

AChE 在中枢及外周神经系统与 Ach(乙酰胆碱)受体一起参与完成神经-神经及神经-肌肉突触之间动作电位的传递,保证神经信号在生物体内的正常传递,因此,AChE 已成为检测污染物是否具有神经毒性的指标^[21]。一般认为,鱼体 20% 以上的 AChE 被抑制可认为暴露作用存在,50% AChE 被抑制可认为对鱼体生存有危害,70%~80% AChE 被抑制则可导致死亡。本实验中,96 h 后菲对红鳍笛鲷产生抑制作用,且高浓度组对鱼神经组织的毒性作用明显(抑制率为 71.7%),相对于急性毒性试验中 96 h LC_{50} 为 3.17 mg/L,AChE 的抑制率也可考虑作为菲胁迫条件下的生物监测指标。DE LA TORRE 等^[22]也发现鱼在污染水体中其脑组织 AChE 抑制作用明显,AChE 反应灵敏,认为可以利用 AChE 长期跟踪监测水体污染状况。此实验下,AChE 活力表现为短时间或低浓度胁迫下升高,长时间或高浓度胁迫下降的趋势,这同王媛媛^[23]等将鲫(*Carassius auratus*)幼体胁迫于石油污染土壤或孔雀石绿后得出的结论一致。李少男等^[24]认为低浓度三唑磷对鱼脑组织中 AChE 的诱导可能是机体为弥补酶受到抑制后的生理功能下降而采取的一种应激反应。随着时间的延长或浓度的升高,AChE 活力被抑制,表明红鳍笛鲷脑组织受到的神经毒性增大;也可能是大量的活性氧抑制了酶的活力;还有学者得出,AChE 活力的抑制与 LPO 水平相关^[25-26]。本实验高浓度菲胁迫下实验鱼出现反应迟钝、游泳行为异常等现象,这可能是由于 AChE 活性的降低,使得神经肌肉兴奋传递过程中 Ach 难以降解,导致肌肉和神经系统兴奋性升高而发生肌肉痉挛等,从而引起中毒。

综上所述,菲暴露下红鳍笛鲷幼鱼各组织酶

活性的变化,反映了鱼体在不同时间段对非污染物的响应,对这种诱导或抑制酶活的机理仍需进一步探讨。本实验条件下,鱼体鳃组织抗氧化防御系统在短时间内即会被诱导,起到保护作用,敏感性(24 h)高于肝脏(96 h),但在96 h的曝露过程中,两种组织受到的氧化损伤都呈上升趋势,而非胁迫96 h后对中枢神经系统产生显著的抑制。因此,在应用这些酶学指标作为指示生物的生化分析指标时,应考虑到其有效时间段,并对三种生化指标综合分析,从而提高其可靠性。

参考文献:

- [1] ALBERS. Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons [M] // Handbook of Ecotoxicology. New York: Lewis Publishers, 2003: 1-32.
- [2] US EPA. Toxic release inventory public data release [S]. Office of Environmental Information. United States Environmental Protection Agency, Washington. DC, 2006.
- [3] CORREIA A D, GONÇALVES R, SCHOLZE M, et al. Biochemical and behavioral responses in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to phenanthrene [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 347(1-2): 109-122.
- [4] EVERAARTS J M, SLEIDERINK H M, DEN BESTEN P J, et al. Molecular response as indicators of marine pollution: DNA damage and enzyme induction in *Limanda limanda* and *Asterias rubens* [J]. Environ Health Perspect, 1994, 102(suppl. 12): 37-43.
- [5] 王淑红,王新红,陈荣,等. 荧蒽、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): 504-509.
- [6] SUN Y Y, YU H X, ZHANG J F, et al. Bioaccumulation, depuration and oxidative stress in fish *Carassius auratus* under phenanthrene exposure [J]. Chemosphere, 2006, 63(8): 1319-1327.
- [7] MARIE L H, SHAW D B, TAMARA S, et al. Effects of the model PAH phenanthrene on immune function and oxidative stress in the haemolymph of the temperate scallop *Pecten maximus* [J]. Chemosphere, 2010, 78: 779-784.
- [8] 孔志明. 环境毒理学[M]. 南京: 南京大学出版社, 2008: 241-242.
- [9] 黄菲,胡莹莹,焦艳,等. 菲(PHE)短期暴露对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)繁殖行为及产卵、受精、孵化和仔鱼死亡率的影响[J]. 北京师范大学学报:自然科学版,2010,46(1): 63-67.
- [10] 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.
- [11] 李康,周忠良,王明山,等. 苯并(a)芘对鲫鱼(*Carassius auratus*)肝脏抗氧化酶的影响[J]. 应用与环境生物学报,2003,10(1): 88-91.
- [12] CHEUNG C C C, SIU W H L, RICHARDSON B J, et al. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis* [J]. Environmental Pollution, 2004, 128: 393-403.
- [13] LIMA I, MOREIRA S M, RENDON-VON OSTEN J, et al. Biochemical responses of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* to petrochemical environmental contamination along the Northwestern coast of Portugal [J]. Chemosphere, 2007, 66: 1230-1242.
- [14] 李康,周忠良,陈立侨,等. 苯并[a]芘对鲫鱼生物标志物的影响研究[J]. 环境科学研究, 2006, 19(1): 91-96.
- [15] 赵元凤,吕景才,宋晓阳,等. 镉污染对鲢鱼超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的影响[J]农业生物技术学报,2002,10(3): 267-271.
- [16] STEBBING A R D. Hormesis the stimulation of growth by low levels of inhibitions [J]. Science of the Total Environment, 1982, 22(1): 213-234.
- [17] 李文英,熊丽,刘荣,等. 邻苯二甲酸二丁酯(DBP)对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)生理生化特性的影响[J]. 生态毒理学报,2007,2(1): 117-123.
- [18] 任加云,潘鲁青,苗晶晶. 苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响[J]. 环境科学学报,2006,26(7): 1180-1186.
- [19] WANG M Z, JIA X Y, DONG A H, et al. Effects of cadmium on oxidative stress and antioxidative ability in Frog *Rana nigromaculata* under a long term exposure [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(6): 1718-1724.
- [20] LI G, LI L, YIN D. A novel observation: melatonin's interaction with malondialdehyde [J]. Neuro Endocrinology Letters, 2005, 26(1): 61-66.
- [21] KIRBYM F, MORRIS S, HURST M, et al. The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries [J]. Marine Pollution Bulletin, 2000, 40: 780-791.

- [22] DE LA TORRE F R, FERREARI L, SALIBIAN A. Freshwater pollution biomarker: response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 2002, 131: 271–280.
- [23] 王媛媛, 周启星, 范亚维. 鲫鱼脑 AChE 活性对水体中石油污染土壤和孔雀石绿的响应 [J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(3): 466–470.
- [24] 李少南, 谢显传, 谭亚军, 等. 三唑磷对麦穗鱼脑组织中乙酰胆碱酯酶的诱导 [J]. *农药学学报*, 2005, 7(1): 59–62.
- [25] BALLINGER C A, CUETO R, SQUADRITO G, *et al.* Antioxidant mediated augmentation of ozone-induced membrane oxidation [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2005, 38: 515–526.
- [26] SCHOLZ N L, TRUELOVE N K, LABENIA J S, *et al.* Dose-additive inhibition of chinook salmon acetylcholinesterase activity by mixtures of organophosphate and carbamate insecticides [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(5): 1200–1207.

Acute and chronic toxicity effects of phenanthrene in seawater on crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*)

YANG Tao^{1,2}, CHEN Hai-gang¹, CAI Wen-gui¹, QIN Jie-fang^{1,2}, JIA Xiao-ping^{1*}

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Fishery Ecology Environment, Guangdong Province of China, Key Field Scientific Experimental Station of South China Fishery Resource and Environment, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510300, China;

2. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Phenanthrene (PHE) is one of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) and has toxic effects on aquatic animals after being released into the natural water, and crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*) is one of Osteichthys species and an important link of eco-system in south China sea. In order to understand the toxic effects and mechanism of PHE on *L. erythropterus*, an acute semi-static toxic test was carried out, and the oxidative stress relative indicators (activities of SOD and content of MDA in liver and gills, activities of AChE in brain) were investigated with crimson snapper (*L. erythropterus*) exposed to phenanthrene with different concentration (0, 10.0, 50.0, 250 $\mu\text{g/L}$) for 96 h. The results showed that 24, 48, 96 h LC_{50} values were 4.65, 3.46, 3.17 mg/L , respectively, and its safe concentration (SC) of PHE on crimson snapper was 0.317 mg/L . After being exposed for 96 h, SOD activities of the liver and gills followed an induced trend with 10.0 $\mu\text{g/L}$ exposed. It was inhibited firstly and then induced with 50.0 $\mu\text{g/L}$ and 250 $\mu\text{g/L}$ in the liver, however it was followed the inhibited-induced-inhibited trend of that in gills. The MDA content in the liver and gills has been increasing with time passing, and this also illustrates that the injury degree rose. AChE activity in brain was induced when crimson snapper exposed to low phenanthrene concentration, however inhibited when exposed to higher concentration and it illustrates that phenanthrene could do harm to neurotransmission in fish brain. It is indicated that PHE has performed a higher toxic effect on *L. erythropterus*, SOD, AChE activities and MDA contents are probable for being the bio-indicators to the phenanthrene pollution because of their higher sensitivities, and could provide information about monitoring and managing of fishery resources.

Key words: crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*); phenanthrene; LC_{50} ; SOD; MDA; AChE

Corresponding author: JIA Xiao-ping. E-mail: jxp60@tom.com