

石油烃、 Cu^{2+} 对沙蚕的毒性效应及其抗氧化酶系统的影响

孙福红^{1, 2}, 周启星^{1, 3*}, 张倩如^{1, 2}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071)

摘要: 在实验室模拟条件下, 研究了石油烃和不同浓度的 Cu^{2+} 对沙蚕 (*Nereis diversicolor*) 种群的毒性效应及其抗氧化酶系统活性的影响. 结果表明: 石油烃和 Cu^{2+} 对沙蚕均表现出较强的毒性, 暴露 3d 后, 其 LD_{50} 值分别为 $117.5 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $864.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Cu^{2+} 单因子污染暴露 5d 后, 沙蚕体内过氧化物酶 (POD) 的活性受到显著影响, 表现出先受到抑制后缓慢增加的趋势, 超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性也发生显著变化, 其变化趋势为先被诱导而后抑制. 石油烃以其约为半致死剂量水平单因子暴露 5d 后, POD 的活性并未被显著诱导, SOD 的活性则低于对照组. 在石油烃与 Cu^{2+} 复合污染的条件下, 暴露 5d 后沙蚕体内 POD 和 SOD 活性表现出相同的变化趋势, 即先下降后上升. 通过比较, 还发现沙蚕体内 SOD 的活性变化更能灵敏地反映出污染物对沙蚕的毒性作用.

关键词: 沙蚕 (*Nereis diversicolor*); 抗氧化酶系统; 毒性效应; 过氧化物酶 (POD); 超氧化物歧化酶 (SOD)

中图分类号: X171.5; X503.22 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)07-1415-05

Toxic Effects of Petroleum Hydrocarbons and Copper on Polychaete *Nereis diversicolor* and on Its Antioxidant Enzyme Systems

SUN Furhong^{1, 2}, ZHOU Qixing^{1, 3}, ZHANG Qianru^{1, 2}

(1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Under the condition of the laboratory simulation, the toxic effects of petroleum hydrocarbons and various concentrations of copper (Cu^{2+}) on the polychaete *Nereis diversicolor* and on its antioxidant enzyme defense systems were examined. The results indicate that both petroleum hydrocarbons and Cu^{2+} have high toxicity to the polychaete. After a 3-day exposure to petroleum hydrocarbons and Cu^{2+} , the value of LD_{50} was $117.5 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ and $864.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) were influenced significantly through a 5-day exposure to single pollution of Cu^{2+} . The activity of POD was inhibited at first and then enhanced gradually; on the contrary, the activity of SOD showed a tendency of induction firstly and then inhibition. After exposed to petroleum hydrocarbons at the concentration of the value of LD_{50} for 5 days, POD activity of the polychaete was not significantly induced, and the activity of SOD was lower than that of control. A 5-day exposure to the joint-pollution of petroleum hydrocarbons and Cu^{2+} could bring out a decrease in the activities of POD and SOD firstly and then an increase. The changes in the activity of SOD can better reflect the toxic effects of pollutants on the polychaete.

Key words: polychaete (*Nereis diversicolor*); antioxidant enzyme system; toxic effect; peroxidase (POD); superoxide dismutase (SOD)

沙蚕 (*Nereis diversicolor*), 又名海虫、海蛆、方格星虫, 是一种栖息于水-陆交错带特别是沉积物中的环节动物门、多毛纲、游走目、沙蚕科的一种无脊椎动物. 中国近海就有 80 多种, 是鱼、虾和蟹类的食饵^[1, 2]. 它的丰度多少, 会直接影响到水中食物链的长短及生物多样性. 近年来, 随着沿海地区环境污染问题的加剧, 沙蚕的栖息生境受到很大的冲击. 其中, 水-陆交错带重金属的污染是一个较为普遍的现象, 尤其是金属 Cu^{2+} 的污染更为突出. 与此同时, 海洋的油污染, 尤其是近海的油污染, 更是波及到水-

陆交错带. 因此, 在沙蚕的生境中, 往往发生石油烃和 Cu^{2+} 的污染, 甚至两者的复合污染^[3-8]. 以往, 有关研究涉及了重金属对沙蚕的毒性效应^[9-12]. 但是, 随着水-陆交错带石油烃污染的日益严重, 其中的石油烃是否会加剧 Cu^{2+} 对沙蚕的毒性作用, 则是

收稿日期: 2005-08-20; 修订日期: 2005-10-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20477049); 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2004CB418503)

作者简介: 孙福红 (1980~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为污染生态化学与生态毒理学.

* 通讯联系人, E-mail: Zhouqx@iae.ac.cn; Zhouqx@nankai.edu.cn

一个非常有现实意义的科学问题,有待弄清并加以深入研究。

现有资料表明,在有害因素的应激条件下,生物体的电子传递和 ATP 合成的平衡状态受到破坏,导致电子传递的电子漏,产生的活性氧自由基增加,生物体内活性氧的积累进而引发或加剧膜脂质过氧化作用。有研究证实^[13, 14]: 抗氧化防御系统的重要保护酶——过氧化物酶(peroxidase, POD) 和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 能在一定程度上消除活性氧自由基,维系膜系统的稳定性,降低细胞的受伤害程度。它们的活性在一定程度上能够揭示出污染物对生物的毒性机制^[15], 当活性氧生成量增加时,其活性或含量可因为对污染物的应激而发生改变。有关石油烃和 Cu^{2+} 对沙蚕体内抗氧化酶系统的影响鲜见报道,这也是一个有待研究的科学问题。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器: CP 80 MX 高速低温冷冻离心机; WFZ 800-D3B 型紫外/可见分光光度计。重金属铜为分析纯 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 试剂,由沈阳试剂三厂生产;石油烃购自沈阳地区加油站,为 90 号市售汽油。酶反应试剂采用分析纯或化学纯级别药品。

1.2 实验材料及培养条件

实验所用沙蚕购自江苏省赣榆县沿海滩涂,采集来的沙蚕放在装有底泥的冰盒中被运到实验室,冰盒温度控制在 $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。沙蚕被运到实验室之后,先用采自其生活区域的海水清洗。24h 之后,挑选出健康完整的沙蚕个体,于 250mL 烧杯中预先加入含有不同浓度供试药品的水溶液 100mL,然后每 1 烧杯中加入 9 只沙蚕,每一处理 3 次重复,水溶液每 2d 换 1 次,每天观察并记录死亡数据。为保证沙蚕培养条件的一致性,减少实验误差,实验所用水溶液采用浓缩后的海水晶体配制而成,先将自来水困 2 周以上,不断曝气,盐度维持在 16‰ 左右。然后根据毒性试验的结果设计酶活性实验的各污染物浓度,每一浓度同样 3 次重复。实验温度尽可能控制在 $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。为了消除干扰因素,减少实验误差,实验过程中使用的烧杯均用稀硝酸浸泡。

1.3 酶活性测定

根据毒性试验结果,确定酶活性试验中石油烃和 Cu^{2+} 的浓度。最终在低于 LD_{50} 值的区间内设定 Cu^{2+} 的浓度,即 0、100、150、300 和 $500\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 石

油烃的浓度约为 LD_{50} 值,即 $110.0\text{ }\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$; 复合污染的试验浓度为 $110.0\text{ }\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的石油烃与上述 5 个浓度水平的 Cu^{2+} 复合。培养 5d 后,从烧杯中取出沙蚕个体,用滤纸吸干,迅速称取头部大约 1.0g 置于冰浴中。然后于 $50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 预冷磷酸盐缓冲溶液($\text{pH} = 7.8$, 含 $0.1\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA) 匀浆,将匀浆液于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $15\text{ }000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下低温离心 30min,上清液即为酶提取液,低温保存备用。

POD 活性的测定采用愈创木酚法^[16, 17]。反应体系包括: $2.9\text{ mL } 0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液($\text{pH} = 6.0$); $1\text{ mL } 2\%$ H_2O_2 ; $1\text{ mL } 50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 愈创木酚; $10\text{ }\mu\text{L}$ 酶提取液。加入酶液后开始计时充分反应 3min,以 721 型分光光度计 470nm 处测定反应体系的吸光度,计算酶活性。1 个酶活单位以每 min 每 g 鲜重酶单位表示。

SOD 活性的测定采用氮蓝四唑法^[16, 17]。反应介质包括: $50\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液($\text{pH} = 7.8$),内含 $0.1\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA, $77.12\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝基四氮唑蓝, $13.37\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲硫氨酸。置于光强 $3\text{ }000\text{ lx}$ 的荧光灯下,照光 10min,反应温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 黑暗终止反应,以 721 型分光光度计 560nm 处测定反应体系的吸光度值。1 个酶活性单位(U) 定义为引起 3.0 mL 反应液达到 50% 抑制所需的酶量。

1.4 数据处理

实验结果使用 SPSS 统计软件进行分析,用“平均数 $\pm$ 标准偏差”表示。采用回归分析方法进行剂量-效应关系分析,并用 t 检验法对组间数据进行差异显著性分析, $p < 0.05$ 表明差异显著, $p < 0.01$ 表明差异极显著, $p > 0.1$ 表明差异不显著。

2 结果与分析

2.1 对沙蚕的毒性效应

石油烃和 Cu^{2+} 对沙蚕(*Nereis diversicolor*) 的毒性试验结果如图 1 和图 2 所示。结果表明: 石油烃和 Cu^{2+} 均对沙蚕有毒害作用。沙蚕受到 Cu^{2+} 的毒害作用后,中毒症状主要表现为: 高浓度处理组沙蚕迅速开始剧烈弹跳和扭动,低浓度组要几 min 之后出现扭动反应。随着暴露时间的增长,沙蚕身体开始出现红肿充血,僵硬弯曲,进而部分身体糜烂,直至死亡。石油烃处理组的沙蚕中毒症状与 Cu^{2+} 相似,但不如 Cu^{2+} 反应剧烈。

石油烃处理组的沙蚕培养 3d 后,当其暴露浓度为 $50\text{ }\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,沙蚕开始出现死亡症状,死亡率

为 44.4%; 当处理浓度达到 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 死亡率达到 100%. 经回归分析后得出沙蚕的死亡率对石油烃浓度的变化呈二次曲线关系, 其回归方程表示如下:

$$y = -4 \times 10^{-4} x_1^2 + 0.35x_1 + 14.5 \quad (1)$$

$$(n = 5, R^2 = 0.901, p < 0.01)$$

其中 y 为沙蚕的死亡率(%), x_1 为暴露溶液中石油烃的浓度($\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$). 根据该回归方程计算出石油烃对沙蚕的半致死剂量值(LD_{50})为 $117.5 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$. 如图 1 所示, 当石油烃的浓度大于 $100 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其死亡率随石油烃的浓度增加呈明显的线性上升趋势.

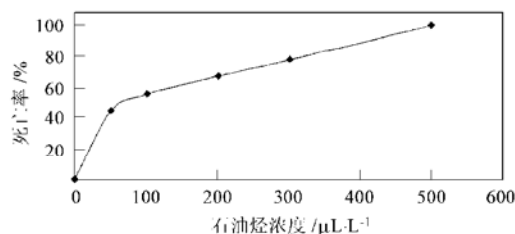


图 1 不同浓度的石油烃对沙蚕(*Nereis diversicolor*)的毒性效应

Fig. 1 Toxicity of different concentrations of petroleum hydrocarbons to polychaete *Nereis diversicolor* after a 3-day exposure

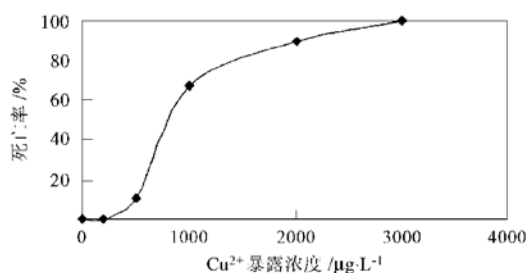


图 2 不同浓度的 Cu^{2+} 对沙蚕(*Nereis diversicolor*)的毒性效应

Fig. 2 Toxicity of different concentrations of Cu^{2+} to polychaete *Nereis diversicolor* after a 3-day exposure

如图 2 所示, 暴露 3d 后, 当 Cu^{2+} 的浓度为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 沙蚕开始出现死亡现象, 死亡率约为 11.0%; 当 Cu^{2+} 的浓度上升到 $3000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 沙蚕死亡率为 100%. 经统计分析得出沙蚕的死亡率随 Cu^{2+} 的浓度增加也呈二次曲线关系, 其回归方程可表示为:

$$y = -1.0 \times 10^{-5} x_2^2 + 0.078x_2 - 9.57 \quad (2)$$

$$(n = 5, R^2 = 0.953, p < 0.01)$$

其中, x_2 为暴露溶液中 Cu^{2+} 的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$). 根据

该回归方程计算 Cu^{2+} 对沙蚕的半致死剂量值(LD_{50})为 $864.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

从图 2 还可以看出: 在试验浓度条件下, 沙蚕死亡率随 Cu^{2+} 浓度增加的变化曲线近似“S”型, 在低浓度处死亡率较低, 曲线呈“凹”型; 随着浓度的增加, 死亡率迅速增加, 当 Cu^{2+} 的浓度从 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 死亡率由 11.0% 迅速增加到 66.7%; 当 Cu^{2+} 的浓度继续增大时, 曲线呈“凸”型, 死亡率的增加趋于平缓状态.

2.2 沙蚕体内抗氧化酶系统的变化

暴露 5d 后, 石油烃、 Cu^{2+} 单一与复合污染条件下沙蚕体内 POD 活性变化如图 3 所示. 从图 3 可看出: 单一与复合污染条件下, 沙蚕体内 POD 活性的变化趋势基本相似, 先下降再缓慢升高, POD 活性总体上表现出单一污染高于复合污染的趋势, 只有在 Cu^{2+} 的浓度为 0 和 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时才表现出相反的趋势. 二者的 POD 活性在 Cu^{2+} 的浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 差异极显著($p < 0.01$). 在 Cu^{2+} 单一处理条件下, 各处理组 POD 活性均低于对照组, 并且在 $300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理下达到最低值, 仅为对照组的 47.7%; 同样, 在复合污染条件下, 各处理组 POD 活性均低于对照组和石油烃单一处理 ($110.0 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$). 当 Cu^{2+} 浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, POD 活性达到最低值. 石油烃单一处理条件下, POD 的活性并未被显著诱导($p > 0.05$), 这可能是由于该处理浓度相当于 LD_{50} 值大小, 在该浓度下并未激发产生大量的活性氧自由基.

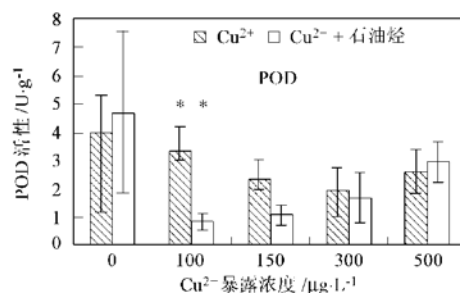


图 3 石油烃、 Cu^{2+} 单一与复合污染对沙蚕(*Nereis diversicolor*) POD 活性的影响(** * $p < 0.01$)
Fig. 3 Single and joint effects of petroleum hydrocarbons and Cu^{2+} on the activity of POD in the polychaete *Nereis diversicolor* (** * $p < 0.01$)

SOD 活性的变化与 POD 稍微有所不同. 在 Cu^{2+} 单一污染条件下, SOD 的活性表现出 3 个明显变化趋势. 如图 4 所示, 首先, SOD 的活性被极显著的诱导($p < 0.01$), 大约是对照组的 7.3 倍, 说明此

时沙蚕体内积累了大量的活性氧自由基, SOD 为清除这些干扰物质而被诱导. SOD 作为生物体内清除活性氧自由基的重要抗氧化酶, 其活性受到诱导已经得到许多实验的证实, 如生物体在 Hg 的应激条件下, SOD 活性升高^[8]; 暴露于 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BaP 中 7d 时, 大弹涂鱼肝脏中 SOD 活性被显著诱导^[18], 这与本试验中得到的结果基本一致. 而后, 沙蚕体内 SOD 活性受到显著的抑制, 这一方面可能是由于沙蚕出现中毒症状, 致使 SOD 代谢外源性化合物的能力受到破坏或饱和^[19], 另一方面可能是由于沙蚕体内抗氧化防御系统的其它成分的介入, 清除了部分活性氧^[20]. 第 3 阶段, 沙蚕体内 SOD 活性随着 Cu^{2+} 浓度的增加开始缓慢回升, 在试验浓度下, 各处理组 SOD 的活性均显著高于对照组; 当石油烃的暴露浓度为 $110.0 \text{ } \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 沙蚕体内 SOD 活性低于对照组.

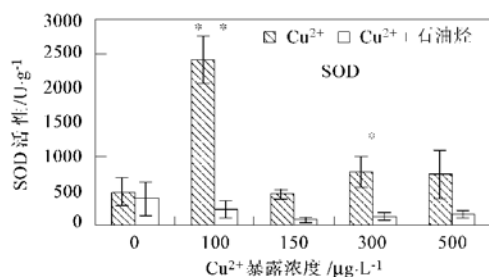


图 4 石油烃、 Cu^{2+} 单一与复合污染对沙蚕 (*Nereis diversicolor*) SOD 活性的影响 (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

Fig. 4 Single and joint effects of petroleum hydrocarbons and Cu^{2+} on the activity of SOD in the polychaete *Nereis diversicolor* (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

而在石油烃与 Cu^{2+} 复合污染条件下, 沙蚕体内 SOD 活性表现出先下降再缓慢上升的趋势, 但均显著低于石油烃单一处理的活性 ($p < 0.05$). 而且, Cu^{2+} 单一处理条件下沙蚕体内 SOD 的活性均高于 Cu^{2+} 、石油烃复合污染作用下的活性, 二者在 Cu^{2+} 的浓度为 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时差异极显著 ($p < 0.01$), 在 Cu^{2+} 的浓度为 $300 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时差异显著 ($p < 0.05$).

3 讨论

目前为止, 尽管国内外尚未见石油烃对沙蚕 (*Nereis diversicolor*) 的毒性效应的报道, 但已有不少研究探索了 Cu 对沙蚕 (*Nereis diversicolor*) 的毒性效应. Zhou 等人^[10] 对英国 Dulas 湾、Blackwater 和 West Thurrock 等 3 个地区的沙蚕种群进行了毒性试验研究, 结果发现: 上述地区暴露于 Cu 2000

$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的沙蚕种群 4d 后均全部死亡. Mouneyrac 等人^[11] 对英国 Blackwater 地区的沙蚕进行了毒性试验, 结果发现: 暴露 4d 后, Cu 对沙蚕的 LD_{50} 值为 $15.0 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

一些研究表明, 抗氧化酶活性的变化与污染物的浓度具有相关性^[20, 21], 在其耐性限度内, 随着污染物浓度的增加, POD 和 SOD 活性也增加; 但超过了它的耐性阈值, 细胞受到严重伤害, 导致其应激的能力下降, 因此 POD 和 SOD 活性也就不可避免地降低^[21]. 而其它一些研究也发现不同浓度下的 PAHs 并未导致抗氧化酶的显著变化^[22]. 各种抗氧化酶在功能上既存在相关性, 又相对独立地催化不同的反应, 对相同的暴露条件可能会表现出不同的变化趋势^[23, 24]. 在正常情况下, SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶会共同作用清除机体产生的活性氧自由基, SOD 能催化超氧自由基 (O_2^-) 发生歧化反应生成 H_2O_2 , 其本身就是一种重要的活性氧化物. H_2O_2 通过 2 种酶解毒 POD 和 CAT. 本研究中单一污染条件下, POD 和 SOD 活性表现出了明显不同的变化趋势, 其中 SOD 活性所表现出的变化规律似乎能够更好地反映出沙蚕应激能力的强度. 在复合污染条件下, 沙蚕体内 POD、SOD 活性均低于 Cu^{2+} 单一处理, 这可能是由于石油烃的存在干扰了 Cu^{2+} 对沙蚕的毒性效应; 而且, 在复合污染条件下, POD、SOD 活性表现出相同的变化趋势, 即在 Cu^{2+} 浓度较低时受抑制, 分别在 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $150 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最低值, 尔后随着 Cu^{2+} 浓度的增加缓慢上升, 但其值仍低于石油烃单一浓度处理; 并且 POD、SOD 活性低于对照组. 由此可以看出, 在复合污染条件下, 石油烃与 Cu^{2+} 联合作用机理十分复杂, 污染物的不同浓度组合表现出对沙蚕不同的作用机制.

根据张景飞和王晓蓉^[25] 的研究报道: 暴露于 2, 4-DCP 长达 40d 的鲫鱼, 其肝脏中 Se-GPx 的活性均表现出了显著的诱导作用. 本实验中的 POD 活性未表现出上述诱导作用, 可能是由于不同的生物种类. 有研究报道^[19]: 将鲫鱼暴露于 BaP 96h, 对照组中肝脏 GPx 的活性在不同的取样时间也出现了较大的变化, 认为该酶易受污染以外的其它因素的影响, 因此 GPx 的活性变化不足以反映生物体受伤害的程度, 灵敏度较低. 抗氧化酶活性的增加或抑制不仅取决于污染物的作用强度和时间, 而且取决于受试生物的敏感性. 本研究测得了暴露 5d 后, 沙蚕体内抗氧化酶活性的变化, 因此有必要对沙蚕不同暴露时间内 POD、SOD 活性的变化进行研究, 以更好

地揭示生物体在污染物的应激条件下酶活性总的变化趋势,为 POD、SOD 能否作为生物标记物更好地反映环境污染状况以及生物体受伤害程度提供科学依据。

4 结论

(1) 在毒性试验中,分别将沙蚕暴露于不同浓度的石油烃 Cu^{2+} 3d 后,测得石油烃对沙蚕的 LD_{50} 值为 $117.5 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, Cu^{2+} 对沙蚕的 LD_{50} 值为 $864.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(2) 在石油烃单一污染暴露条件下,POD 的活性未被显著的诱导,SOD 活性则受到了轻微的抑制;在 Cu^{2+} 单一污染条件下,沙蚕体内 POD 和 SOD 活性均有较显著的变化($p < 0.05$),其中 POD 的活性先显著下降,在 $300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最低值,然后缓慢上升,但均低于对照组,SOD 的活性与之不同,先被显著诱导达到最大值后又被抑制,但始终高于对照组的活性。

(3) 在石油烃和 Cu^{2+} 复合污染条件下,沙蚕体内 POD 和 SOD 活性表现出相同的变化趋势,即先抑制后缓慢上升,但其值均低于石油烃 Cu^{2+} 单一浓度处理,并且低于对照组。

(4) 通过对上述生理指标变化趋势的比较,沙蚕体内 SOD 的活性变化似乎更能反映出污染物对沙蚕的毒性作用,但其能否作为生物标记物反映环境污染状况需要更进一步的调查和研究。

参考文献:

- [1] Fish J D, Fish S A. Students' Guide to the Seashore [M]. London: Unwin Hyman Ltd. 1989.
- [2] 顾小英,蒋霞敏,郑忠明,等. 双齿围沙蚕 (*Perinereis aibuhiteus* Grube) 的生物学特征和开发利用现状[J]. 现代渔业信息, 2002, 17(8): 33~ 34.
- [3] Christensen M, Andersen O, Banta G T. Metabolism of pyrene by the polychaetes *Nereis diversicolor* and *Arenicola marina* [J]. Aquatic Toxicology, 2002, 58: 15~ 25.
- [4] Kungolos A, Samaras P, Kippoulou A M, et al. Interactive toxic effects of agrochemicals on aquatic organisms [J]. Water Science and Technology, 1996, 40: 357~ 364.
- [5] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995. 1~ 29.
- [6] Zhou Q X. Soil-quality guidelines related to combined pollution of chromium and phenol in agricultural environments [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 1996, 2(3): 591~ 607.
- [7] Zhou Q X, Gao Z M. Compound contamination and secondary ecological effects of Cd and As in soil-alfalfa ecosystems [J]. Journal of Environmental Sciences, 1994, 6(3): 330~ 336.
- [8] 周启星,孔繁翔,朱琳. 生态毒理学[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 68~ 76.
- [9] Dallinger R, Rainbow P S. Ecotoxicology of metals in invertebrates [M]. Chelsea: Lewis Publishers, 1993.
- [10] Zhou Q X, Rainbow P S, Smith B D. Tolerance and accumulation of the trace metals zinc, copper and cadmium in three populations of the polychaete *Nereis diversicolor* [J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2003, 83: 65~ 72.
- [11] Mouneyrac C, Mastain O, Amiard J C, et al. Trace metal detoxification and tolerance of the estuarine worm *Hediste diversicolor* chronically exposed in their environment [J]. Marine Biology, 2003, 143: 731~ 744.
- [12] Bryan G W. Heavy metal contamination in the sea [A]. In: Marine Pollution [M]. New York: Academic Press. 1976. 185~ 302.
- [13] Conte C, Mutti I, Puglisi P. DNA fingerprinting analysis by a PCR based method for monitoring the genotoxic effect of heavy metals pollution [J]. Chemosphere, 1998, 37: 2739~ 2749.
- [14] 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.
- [15] 陈荣,郑微云,余群,等. 石油污染对僧帽牡蛎 (*Ostrea cucullata*) 抗氧化酶的影响[J]. 环境科学学报, 2002, 22(3): 385~ 388.
- [16] 吕淑霞. 基础生物化学实验指导[M]. 中国农业出版社, 2003.
- [17] Wu X Y, Von Tiedemann A. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone [J]. Environmental Pollution, 2002, 116: 37~ 47.
- [18] 冯涛,郑微云,郭祥群,等. 苯并(a) 芘对大弹涂鱼肝脏超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 台湾海峡, 2001, 20(2): 182~ 186.
- [19] 李康,周忠良,王明山,等. 苯并(a) 芘对鲫鱼 (*Carassius asratus*) 肝脏抗氧化酶的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 10(1): 88~ 91.
- [20] Hai D Q, Varga S I, Matkovics B. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1997, 117C: 83~ 88.
- [21] 马剑敏,李金,张改娜,等. Hg^{2+} 与 POD 复合处理对小麦萌发及幼苗生长的影响[J]. 植物学通报, 2004, 21(5): 531~ 538.
- [22] Vigano L, Arillo A, Falugi C, et al. Biomarkers of exposure and effect in flounder (*Platichthys flesus*) exposed to sediments of the Adriatic Sea [J]. Marine Pollution Bulletin, 2001, 42: 887~ 894.
- [23] Ahmad I, Hamid T, Fatima M, et al. Induction of hepatic antioxidants in fresh water catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1523: 37~ 48.
- [24] Klumpp D W, Humphrey C, Hong H S, et al. Toxic contaminants and their biological effects in coastal waters of Xiamen, China II: biomarkers and embryo malformation rates as indicators of pollution stress in fish [J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 44: 761~ 769.
- [25] 张景飞,王晓蓉. 2,4-二氯苯酚低浓度长期暴露对鲫鱼肝脏抗氧化酶系统的影响[J]. 环境科学, 2003, 24(5): 136~ 140.