

2 种有机污染物对鲈鱼生化标志物系统的影响及作用评价

王悠¹, 姜爽¹, 赵晓玮¹, 赵艳芳², 吴鹏¹, 曹西华^{3*}, 唐学玺^{1*}

(1. 中国海洋大学海洋生命学院环境生态系生态学实验室, 青岛 266003; 2. 中国国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061; 3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 : 实验生态条件下筛选了鲈鱼的一组生化标志物组成生化标志物系统, 研究其对不同有机污染胁迫的响应差异。将鲈鱼分别暴露于 2 种有机污染物 0.1 mg/L、1 mg/L 的十二烷基苯磺酸钠 (SDBS) 和 2 μg/L、20 μg/L 的苯并[a]芘 (B[a]P), 研究长时间 (18 d)、亚致死污染胁迫下鲈鱼生化标志物系统各组分 : 肝脏组织抗氧化酶中的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Gpx)、谷胱甘肽 (GSH)、谷胱甘肽硫转氨酶 (GST) 以及诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和脑组织中乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性的变化, 同期检测了热激蛋白 70 (Hsp70) 表达的变化, 并对所得到的结果进行了主成分分析 (PCA)。结果表明 ① 与未受胁迫的对照组相比, B[a]P 胁迫能够显著诱导鲈鱼体内的 SOD、GST、Gpx 活性以及 GSH 含量的变化 ($p < 0.05$), 但对其它几种酶的活性影响并不明显; SDBS 胁迫对 CAT、Gpx、iNOS 和 AChE 活性的诱导作用明显, 但对 SOD、GST 和 GSH 的影响较小。Gpx 是对 2 种污染物胁迫响应最灵敏的一种生化标志物。② 同时测定了不同胁迫条件下鲈鱼血细胞 Hsp70 表达的影响, 结果发现其在 SDBS 胁迫组中的表达始终高于对照组, 而 B[a]P 在胁迫前期能诱导 Hsp70 表达升高, 以后逐渐下降至对照水平。③ 鲈鱼的生化标志物系统的不同组分对不同种类的污染胁迫响应有明显差异, 对结果进行主成分分析 (PCA) 后发现, 基于 PCA 和生化标志物系统的研究方法能有效区分不同污染因子的作用, 可能在海洋环境污染的早期、预警性评价中具有良好的应用前景。

关键词 : 生化标志物系统 ; 有机污染物 ; 污染评价 ; 鲈鱼

中图分类号 : X171.5 文献标识码 : A 文章编号 : 0250-3301(2010)03-0801-07

Effects of Two Organic Pollutants on Biomarker System of Fish *Lateolabrax japonicus* and the Pollution Assessment

WANG You¹, JIANG Shuang¹, ZHAO Xiao-wei¹, ZHAO Yan-fang³, WU Peng¹, CAO Xi-hua³, TANG Xue-xi¹

(1. Laboratory of Ecology, Department of Environmental Ecology, College of Marine Life, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China; 3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract : Responses of a select suite of protective enzymes in *Lateolabrax japonicus* including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (Gpx), reduced glutathione (GSH), glutathione S-transferase (GST), nitric oxide synthase (iNOS) in liver tissue and brain acetylcholinesterase (AChE), which could work as sensitively biochemical biomarkers were analyzed when exposed to different concentrations of sodium dodecylbenzene sulfonate (SDBS) and benzo[a]pyrene (B[a]P) under controlled laboratory conditions. Results showed that ① The biochemical biomarkers included in this investigation, different responses occurred in the enzymatic activities when exposed to different pollutants : the activities of SOD, GST, Gpx and GSH content were significantly induced by B[a]P ($p < 0.05$) while others present little different as compared to the control. Differently, SDBS exposure greatly affected the activities of CAT, Gpx, iNOS and AChE while showed little effect on the other evaluated biomarkers. Gpx was the most sensitive biomarker that sensitively indicated the organic pollution stress. ② The simultaneous assay on heat shock protein 70 (Hsp70) expression was conducted by flow cytometry (FCM) and result presented that Hsp 70 expression could be effectively induced by SDBS as compared to the control throughout the experiment; however, B[a]P obviously induced Hsp70 during the first 12 d and then decreased to the level of the control. ③ The evaluated method of biomarker system combined with principal component analysis (PCA) could effectively distinguish different pollutants under controlled laboratory conditions and might be a promising and warning method for the early assessment of environmental change exposed to different organic pollutions.

Key words : biochemical biomarkers ; organic pollutant ; pollution assessment ; *Lateolabrax japonicus*

收稿日期 : 2009-03-04 ; 修订日期 : 2009-09-10

基金项目 : 国家海洋局项目 [DOMEPC (MEA)-0101] ; 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2007CB407305) ; 国家海洋局海洋公益性行业科研专项 (200805066) ; 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2004AA639770)

作者简介 : 王悠 (1972 ~), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为生态毒理学, E-mail : wangyou@ouc.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail : caoxh@ms.qdio.ac.cn ; tangxx@ouc.edu.cn

生物体内的抗氧化系统是生物体抵御污染胁迫的第一道屏障,可被环境中的多种污染物灵敏诱导,是表征生物体健康变化的良好的生物标志物^[1-3],近年来更被用以预警性指示环境污染的变化,是一种具有更高灵敏性和特异性的环境评价新方法^[1].其主要组分如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽硫转酶(glutathione-S-transferase, GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, Gpx)等目前已在环境污染评价中得到了广泛的应用和良好的验证^[4,5].但是单一的生物标志物生态相关性较低,只能从某一层次上片面推测出污染物的生态效应,而建立一组能反映生物体主要生理过程变化的生物标志物(a battery of biomarkers)或生物标志物系统(biomarkers system)能更全面地评价污染条件下环境和生物体的健康状况^[6],这也是目前环境污染评价领域的新的研究热点和重点,许多国家和组织都已经陆续开展了相关的研究,如英国的 ECOMAN 计划、欧盟的水体框架指令(WFD)等^[7].在我国,利用生物标志物进行环境健康评价的工作刚刚展开,目前主要集中于对单一生物标志物的研究中,利用生物标志物系统进行污染评价的研究尚鲜见报道.

因此本实验以胶州湾重要的经济鱼类——鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)为目标生物,以胶州湾中2种典型的有机污染物:十二烷基苯磺酸钠(sodium dodecylbenzenesulfonate, SDBS)和苯并[a]芘(Benzo[a]pyrene, B[a]P)为胁迫因子,在实验生态条件下研究了2种污染物的亚致死胁迫对鲈鱼一组生化标志物的影响,并对实验结果进行了主成分分析(principal component analysis, PCA),以期为建立一种有效区分不同胁迫因子的海洋污染早期评价方法提供基础的理论依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鲈鱼(*L. japonicus*)购自烟台市海阳县海珍品养殖厂,体长(15±2)cm,体重(50±3)g,运回实验室后在容积600L的水池中充气驯化培养2周.驯化温度20℃,光暗比为16h:8h,海水pH7.9±0.2,盐度32,溶解氧DO>5mg/L.暂养过程中每天更换培养水体的1/3以保持水体的清洁,并定时投喂海水鱼商业饲料.实验时选择健康、无病烂的鲈鱼,随机分组后进行污染胁迫实验.

1.2 污染胁迫的2种有机污染物

十二烷基苯磺酸钠(SDBS):一种典型的阴离子线性苯磺酸钠表面活性剂,在环境介质中存在广泛.实验所用的SDBS为淡黄色粉末(A.R.,上海化学试剂厂),将一定量的SDBS溶于灭菌海水中,配制成不同的浓度梯度待用;苯并[a]芘(B[a]P):属优先控制的一类持久性有机污染物,常被用作生态毒理学的模式污染物.实验所用B[a]P为淡黄色针状晶体(Sigma,纯度98%),难溶于水,实验中将其溶于丙酮溶液中(0.008%,体积分数),得到B[a]P-丙酮溶液母液备用.

1.3 污染胁迫实验

(1)将驯化好的、健康的鲈鱼置于预先设置好污染物浓度的100L的玻璃缸中充气培养,每缸中6条,培养条件同1.1所述.每日更换全部水体,并补充污染物至初始胁迫浓度^[8].

(2)实验设计 在预实验的基础上设定本实验浓度,每种污染物各设置2个浓度. B[a]P实验组:在培养水体中加入B[a]P-丙酮溶液,使其终浓度分别达到2μg/L和20μg/L;SDBS实验组:在培养水体中加入SDBS溶液,使其终浓度分别为0.1mg/L和1mg/L;实验同时设2个对照组,一个为丙酮对照组,即在培养水体中加入与B[a]P实验组中的丙酮溶剂相等体积的丙酮溶液,以消除丙酮对实验结果的影响;另一组为空白对照,即培养于正常、无污染条件下的一组.实验共持续18d,每6d取样,检测各项生化标志物的变化.

1.4 抗氧化酶活性的测定

分别在0、6、12和18d从各组中随机挑选1条鱼,解剖后取出鱼的肝脏和脑组织,用0.9%的生理盐水冲洗后置于消毒预冷的1.5mLEppendorf管中备用.实验时分别取上述组织样品置于5mL的玻璃匀浆器中,加入1.15%KCl溶液匀浆(1:9,质量比),然后在-4℃条件下10000r/min离心15min,取上清液检测酶活性.检测肝组织中的GSH、GST、Gpx、CAT、SOD和iNOS,检测脑组织中的AChE.

超氧化物歧化酶(SOD)采用Fridovich^[9]的氮蓝四唑(NBT)光化学反应法进行;过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(Gpx)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)的活性测定参照Rodriguez-Ariza等的方法^[10];乙酰胆碱脂酶(AChE)活性的测定根据Ellman等^[11]的分光光度法进行;诱导型一氧化氮合酶(iNOS)活性的测定采用iNOS检测试剂盒进行(南京建成生物工程研究所).组织中可溶性蛋白的含量测定采用Bradford的方法^[12].所检测的酶活性

以酶活单位/mg 克蛋白(U/mg)表示. 每实验组设 3 组平行, 实验重复一次($n = 6$).

1.5 热激蛋白 70 (Hsp70) 表达量的测定

用流式细胞术(flow cytometry, FCM)测定 Hsp70 表达量的变化. 断尾法采集鲈鱼血液, 用 4% 多聚甲醛固定. 采集的血液样本分为 2 份: 一份作为阳性处理样, 进行抗 Hsp70 一抗、荧光标记二抗的孵育; 另一份作为阴性本底对照, 只进行荧光标记二抗的孵育; 用流式细胞仪在 525nm 波长处检测 1×10^4 个细胞的平均荧光强度, 计算每个样本的平均荧光强度比值^[13].

1.6 统计分析

所有的酶活性检测结果均以平均值 \pm 标准误(mean \pm SD)给出($n = 6$). 利用单因子方差分析并 Tukey's post-hoc 多重比较检验(Tukey's post-hoc multiple comparison tests)检测不同污染胁迫作用对酶活性的效应. 同时, 利用双变量 Pearson 相关性分析(bivariate pearson correlation analysis)研究污染物胁迫与酶活性变化之间的相关性, $p < 0.05$ 认为

差异显著.

2 结果与分析

2.1 SDBS 污染胁迫对鲈鱼生化标志物系统的影响

0.1 mg/L 和 1 mg/L SDBS 的胁迫对鲈鱼 SOD 活性的影响较小, 酶活性在整个实验过程中的变化与对照组相比变化不大(paired t -test, $p > 0.05$); CAT、GPx 和 GST 的变化类似, 其活性在胁迫中被显著诱导, 其中 CAT 和 Gpx 整个实验过程中均明显高于对照组(paired t -test, $p < 0.05$), GST 的活性在 0 ~ 12 d 内明显增高, 并于 12 d 达到最高, 与对照相比差异显著($p < 0.05$), 之后逐渐降低至对照组水平. iNOS 和 AChE 的活性对 SDBS 的响应截然相反, 2 个浓度组中的 iNOS 活性在 0 ~ 6 d 和 12 ~ 18 d 这 2 个时间范围内有明显的下降, 至 18 d 时 1 mg/L 组的活性约为对照组的 39%, 而 0.1 mg/L 约为对照组的 49%, 差异极显著($p < 0.01$); AChE 的活性在整个实验过程中均明显高于对照组(paired t -test, $p < 0.05$), 并且 0.1 mg/L 组的活性高于 1 mg/L 组(图 1).

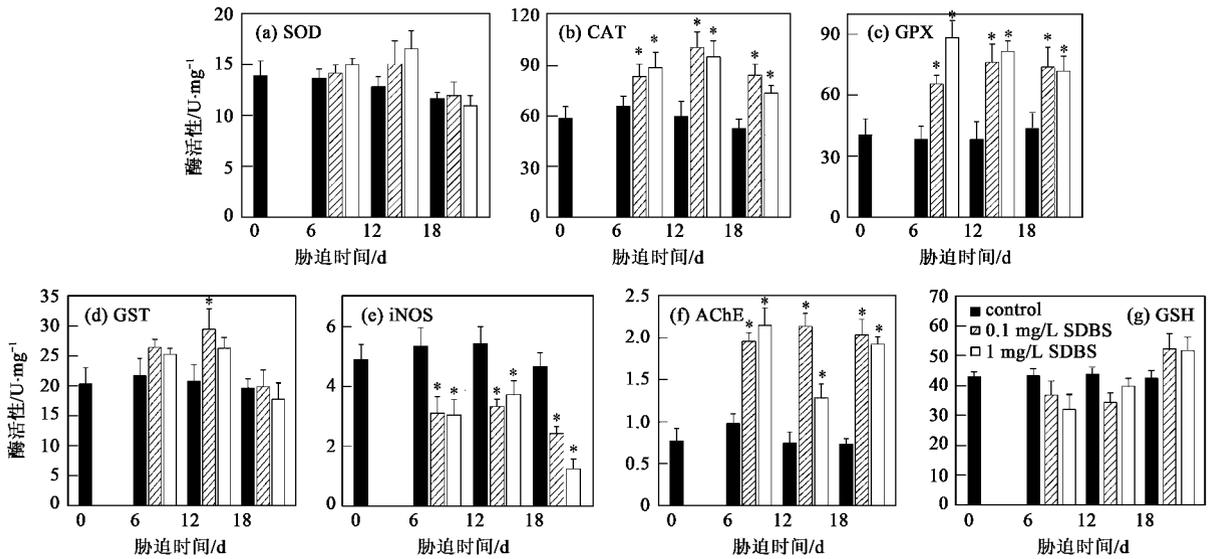


图 1 SDBS 胁迫对鲈鱼生化标志物系统的影响

Fig. 1 Effects of SDBS stress on the biochemical biomarker system of fish *L. japonicus*

2.2 B[a]P 污染胁迫对鲈鱼生化标志物系统的影响

B[a]P 胁迫对鲈鱼生化标志物的影响如图 2 所示. paired t -test 检验结果显示空白对照组和丙酮溶剂对照组之间的酶活差异不显著($p > 0.05$), 说明在培养体系中加入的丙酮不会对实验结果产生影响, 本实验的结果是由 B[a]P 胁迫而产生的.

B[a]P 胁迫能明显诱导 SOD 活性, 处理组的活

性均明显高于对照组($p < 0.05$), 其中 20 μ g/L 组的活性在 6 d 时达到最高约为对照组的 1.1 倍左右($p < 0.001$), 之后活性随胁迫时间的延长稍有下降, 但 2 μ g/L 组的活性在整个实验过程中保持持续升高的变化趋势. Gpx 表现出类似的变化趋势, 20 μ g/L 组的活性在整个实验过程中均显著高于对照组($p < 0.05$), 2 μ g/L 组的活性在胁迫 6 d 后活性明显高于对照组($p < 0.05$); GST 的变化略有不同,

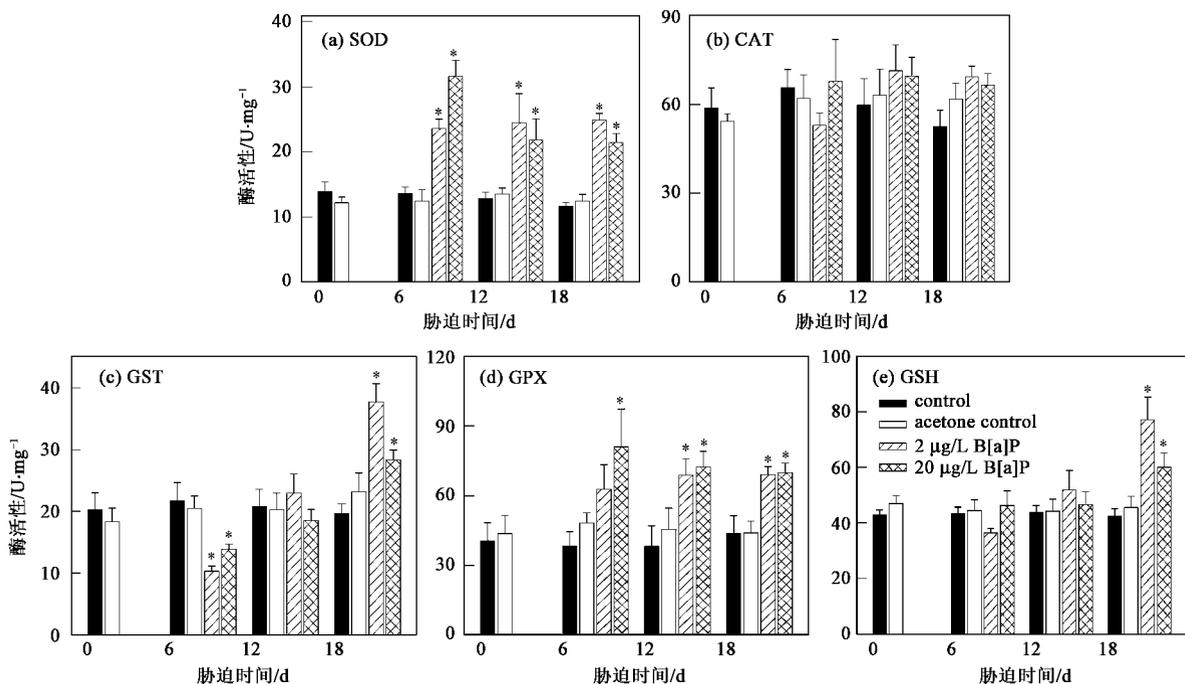


图2 B[a]P 污染胁迫对鲈鱼生理生化标志物的影响

Fig.2 Effects of B[a]P stress on the biochemical biomarker system of fish *L. japonicus*

在胁迫 6 d 时处理组的活性受到显著抑制 ($p < 0.05$), 之后活性逐渐升高并在 18 d 时达到最高 ($p < 0.05$). GSH 含量在胁迫 6 d 以后活性逐步增高, 并在 18 d 时达到最高 ($p < 0.05$), 并且 2 µg/L 组的活性诱导作用更显著; 与 SDBS 胁迫不同, B[a]P 胁迫并未引起 CAT、iNOS 和 AChE 活性的明显变化 ($p > 0.05$) (图 2).

2.3 2 种污染胁迫对鲈鱼热激蛋白 Hsp70 含量的影响

相同胁迫条件下检测了 B[a]P 和 SDBS 胁迫对鲈鱼血液中 Hsp70 表达的影响, 结果显示: SDBS 胁迫能有效诱导 Hsp70 的表达, 其在处理组中的表达在整个实验过程中均高于对照组, 其中 1 mg/L 组在 6 d 以及 0.1 mg/L 组在 12 d 时的表达达到显著水平 ($p < 0.05$); B[a]P 胁迫的前 12 d, 20 µg/L 组中 Hsp70 的表达明显高于对照组 ($p < 0.05$), 2 µg/L 组中的表达也高于对照组但未达到显著水平 ($p > 0.05$); 至 18 d 时处理组中的表达均低于对照组, 但差异不明显 ($p > 0.05$) (图 3).

3 讨论

3.1 B[a]P 和 SDBS 胁迫对鲈鱼的生化标志物系统的影响

McCord 等^[14]提出的活性氧 (reactive oxygen

species, ROS) 伤害学说已经广泛用于生物体的抗逆生理机制的研究. 抗氧化防御系统是生物体清除 ROS 的第一道屏障, 而抗氧化酶系统是其中的主要成分, 其各组分在抵御氧化胁迫中通过不同的作用途径在抵御氧化胁迫方面发挥重要作用. SOD 是 ROS 的关键酶, 能触发 $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 反应, 而 GSH、Gpx 和 GST 则在清除 H_2O_2 中具有重要作用; CAT 可以保护细胞免受羟过氧化物的胁迫, 使 H_2O_2 歧化产生 H_2O 和 O_2 , 当细胞产生胁迫的适应反应时, CAT 对于细胞获得抗性十分重要. 已有的研究表明, 不同的抗氧化酶对不同污染胁迫的响应是不同的^[3,9]. 在本实验中, B[a]P 胁迫能够诱导鲈鱼体内的 SOD、GST、Gpx 活性以及 GSH 含量的显著变化, 但其它几种酶活性的变化变化不大; 而 SDBS 胁迫能诱导鲈鱼体内 CAT、Gpx、iNOS 和 AChE 活性的显著变化, 但 SOD、GST 和 GSH 的变化较小. 2 种有机污染物的胁迫均能使鲈鱼体内的 Gpx 活性明显升高, 显示 Gpx 在鲈鱼抵御外界胁迫作用方面可能具有更重要的作用. 这种响应差异可能与不同污染物的致毒途径之间存在一定的关系: 由于阴离子表面活性剂具有两性性质, 它能够和一些如蛋白质、DNA 分子等极性、非极性大分子结构相互作用, 引起生物功能的紊乱^[15], 比如 Nielsen 等^[16]的研究发现一种离子表面活性剂能够和酶结

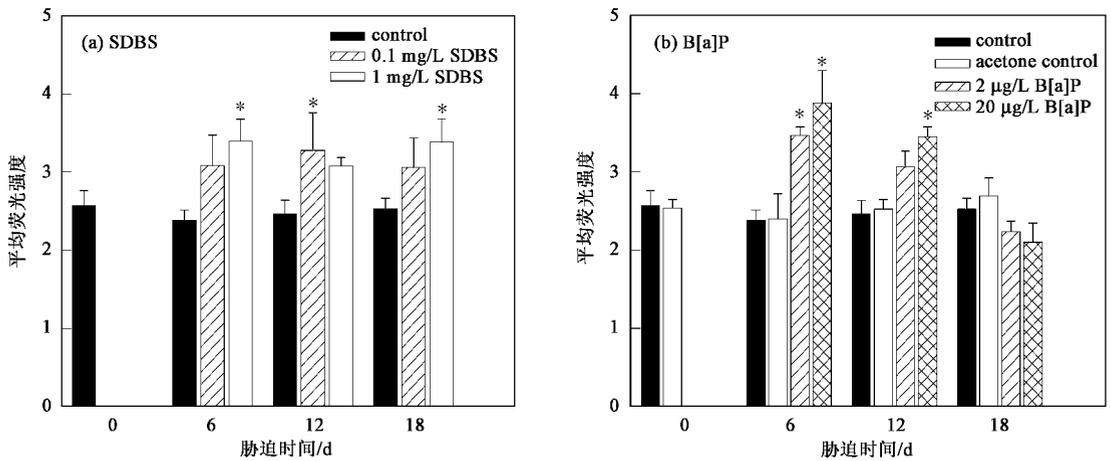


图3 SDBS 和 B[a]P 胁迫对鲈鱼 Hsp70 表达的影响

Fig. 3 Effects of SDBS and B[a]P stress on Hsp70 expression of fish *L. japonicus*

合在一起,增加酶分子的弹性,当活性剂的浓度较高时,则能够破坏蛋白质的膜结构,导致蛋白质结构的破坏和酶活性的改变,而 B[a]P 对海洋生物的毒性作用则主要由于其在代谢转化过程中产生的大量 ROS 中间产物,在生物体的产生氧化胁迫(oxidative stress),但不同的抗氧化酶对不同污染物的响应是不同的。AChE 是表征污染物神经毒性的生物标志物^[17],本实验中,SDBS 能有效诱导 AChE 活性的变化,是一种具有神经毒性的有机污染物,而实验浓度下的 B[a]P 胁迫并未对鲈鱼表现出神经毒性。异生物质可诱导 iNOS 的表达,但本实验中 iNOS 对 SDBS 的胁迫响应非常灵敏,对 B[a]P 却不敏感,表现出一定的胁迫响应的特异性。

表1 鲈鱼不同生理生化标志物之间的 Pearson 相关系数统计¹⁾Table 1 Pearson correlation coefficients among the biochemical biomarkers of *L. japonicus*

	SOD	CAT	Gpx	GSH	GST	iNOS	AChE
SOD		-0.161	0.365	0.988 *	1.000 **	0.566 *	-0.438
CAT	-0.062		0.860 *	-0.007	-0.149	-0.905 *	0.958 *
Gpx	-0.353	0.956 *		0.504 *	0.376	-0.561 *	0.677 *
GSH	0.954 *	0.240	-0.056		0.990 *	0.432	-0.294
GST	0.987 *	-0.220	-0.498	0.894 *		0.556 *	-0.427
iNOS	0.486	-0.902 *	-0.989 *	0.202	0.620 *		-0.989 *
AChE	-0.621 *	0.820 *	0.952 *	-0.358	-0.738 *	-0.987 *	

1) SDBS 左下角部分, B[a]P 右上角部分, * 表示在 0.05 水平上显著相关

3.2 鲈鱼的 Hsp70 对 B[a]P 和 SDBS 胁迫的响应

热激蛋白(heat shock proteins, HSPs)又称为压力蛋白,是在环境胁迫下被诱导的一系列蛋白质,常被用作指示环境污染胁迫的敏感的生物标志物^[18], Hsp70 是其中高度保守的一种,可被多种污染物灵敏诱导,能预警性地指示水体的污染变化;另一方

同时对 18 d 时各高浓度实验组的检测结果进行了 Pearson 相关系数分析(表 1),结果显示多个酶间均有一定的相关性,比如 SDBS 胁迫下 AChE 的变化同 SOD、GST 和 iNOS 显著负相关($p < 0.05$)但和 Gpx 和 GST 的变化呈显著正相关($p < 0.05$),另外 GST、Gpx 与 SOD 之间具有显著的相关性;B[a]P 胁迫下 SOD 则与 GSH、GST 和 iNOS 之间具有显著的相关性($p < 0.05$)。其可能原因在于许多复合物都具有异生物质特性,但由抗氧化酶承担的细胞抗氧化反应在功能上有重叠,其活性之间也存在相关性。表 1 的结果同时显示, iNOS 与多种酶的变化之间均有显著的相关性,可能作为一种预警性的生物标志物而在指示环境污染变化方面具有良好的应用前景。

面, Hsp70 的诱导表达可随着环境因子的种类、胁迫浓度或时间而波动,比如 Theodorakis 等^[20]在对太阳鱼 *Lepomis macrochirus* Hsp70 表达的研究中发现, Hsp70 的表达在胁迫前 12 d 时较对照组有所升高,到 16 d 时的表达量则低于对照组的水平。本研究结果显示,高浓度组的 B[a]P(20 µg/L)胁迫在前 12

d 时能显著诱导 Hsp70 的表达, 而到 18 d 时的表达量基本降至对照水平. 有研究表明, Hsp70 的一个重要功能是在发生构象改变的蛋白质得到恢复. 在 3.1 的分析中笔者推测, SDBS 能够通过改变抗氧化酶的构象而对酶活性产生影响, 因此与 B[a]P 相比, SDBS 对 Hsp70 的诱导表明作用更显著.

3.3 基于生化标志物系统和主成分分析(PCA)的污染评价方法的探讨

利用 2 种方法对所得到的结果进行主成分分析, 探讨建立一种新的、能区分不同污染物胁迫的环境污染评价新方法. 对 2 个不同浓度组、胁迫 12 d 和 18 d 的数据均进行了分析, 结果发现, 各检测指标之间具有较强的相关性, 且 Bartlett 球度检验相伴概率为 0.000, 小于显著性水平 0.05, 适合作因子分析, 但低浓度组胁迫 12 d 时的生化标志物系统各组分的活性变化较明显, 因此下述的分析采用此条件下的数据进行. 通过 PCA 分析, 得到所测定的 7 种抗氧化酶(SOD、CAT、Gpx、GSH、GST、iNOS、AChE) 经正交旋转后的因子(主成分)负荷矩阵(表 2), 从表 2 中可以看出上述 7 种因子的全部信息可由 2 个主因子支配: F_1 因子主要支配 CAT、Gpx、AChE; F_2 因子主要支配 SOD、GSH、GST、iNOS, 进一步的因子转换矩阵结果显示 F_1 能够反应原变量中 71.5% 的信息, F_2 能够反应原变量信息中 69.9% (表 3).

表 2 正交旋转后的因子(主成分)负荷矩阵¹⁾

Table 2 Rotated component matrix(a)

项目	主成分	
	1	2
SOD	-0.150	0.989
CAT	1.000	-0.011
Gpx	0.865	0.501
GSH	3.623E-03	1.000
GST	-0.138	0.990
iNOS	-0.900	0.435
AChE	0.955	-0.297

1) 因子提取方法: 主成分分析; 旋转方法: 凯撒最大方差旋转法; 因子正交旋转经过 3 次迭代收敛

表 3 因子转换矩阵¹⁾

Table 3 Component transformation matrix

	1	2
1	-7.15	0.699
2	0.699	0.715

1) 因子提取方法: 主成分分析法; 正交旋转方法: 凯撒最大方差旋转法

在上述研究的基础上, 根据因子得分进行进一步分析, 结果如图 4 所示. 从中可以看出, 对所建立的生化标志物系统进行 PCA 分析能有效区分 SDBS 处理组、B[a]P 处理组以及对照组.

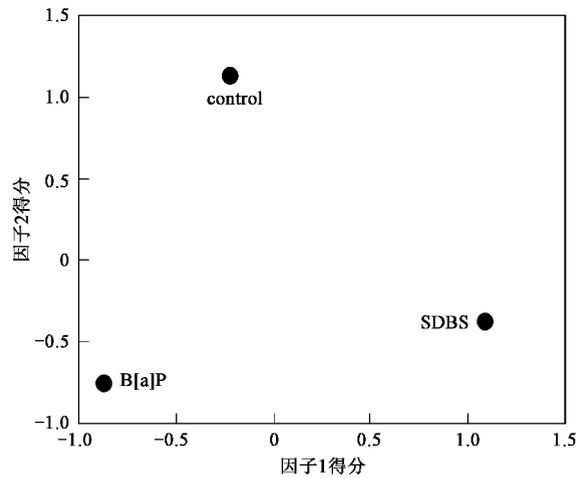


图 4 根据因子得分所得到的不同污染物分布

Fig. 4 Distribution of different pollutants according to factor scores

4 结论

(1) 所建立的指示生物体不同生理状态的生化标志物系统对不同污染物的胁迫响应不同, 其中 Gpx 是对 2 种污染物响应最灵敏的一种生化标志物.

(2) 基于生化标志物系统和主成分分析的污染评价新方法不仅能够阐明污染物的亚致死、长时间胁迫对生物的影响, 而且能有效区分 2 种不同的污染因子, 可能作为一种新的环境污染评价方法在实践中得以应用和发展.

致谢: 本实验是在中国科学院海洋研究所生态学实验室完成的. 感谢吴继法博士在实验实施过程中给予的大力协助.

参考文献:

- [1] Vander O R, Beyer J, Vermeulen N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review [J]. *Environ Toxicol Pharmacol* 2003, **13**: 57-149.
- [2] 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]. *Environ Pollut*, 2004, **128**: 393-403.
- [3] Ahmad I, Pacheco M, Santos M A. Enzymatic and nonenzymatic antioxidants as an adaptation to phagocyte-induced damage in *Anguilla anguilla* L. following *in situ* harbor water exposure [J]. *Ecotoxicol Environ Saf* 2004, **57**: 290-302.
- [4] Lam P K S, Gray J. The use of biomarkers in environmental

- monitoring programmes [J]. *Mar Pollution Bull* ,2003 ,**46** : 182-186.
- [5] Galloway T S ,Brown R J ,Browne M A ,*et al.* A multi biomarker approach to environmental assessment [J]. *Environ Sci Technol* , 2004 ,**38** :1723-1731.
- [6] Regoli F ,Gorbi S ,Frenzilli G ,*et al.* Oxidative stress in ecotoxicology :from analysis of individual antioxidants to a more integrated approach[J]. *Mar Environ Res* 2002 ,**54** :419-423.
- [7] Bowen R E ,Depledge M H. Rapid assessment of marine pollution (RAMP) [J]. *Mar Pollu Bull* 2006 ,**53** :631-639.
- [8] Wu J , Yu Z , Song X ,*et al.* Response of integrated biomarker of fish (*Lateolabrax japonicus*) exposed to benzo[a]pyrene and sodium dodecylbenzene sulfonate[J]. *Ecol Environ Saf* ,2006 , **65** 230-236.
- [9] Rodriguez-Ariza A ,Peinado J ,Pueyo C ,*et al.* Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas [J]. *Can J Fish Aquat Sci* ,1993 ,**50** 2568-2573.
- [10] Fridovich I. Superoxide dismutase[J]. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* ,1974 ,**41** 35-97.
- [11] Ellman L ,Courtney K D ,Anderson V ,*et al.* A new rapid colorimetric determination of cholinesterase activity[J]. *Biochem Pharmacol* ,1961 ,**7** 88-95.
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding[J]. *Analytical Biochem* ,1976 ,**72** 248-254.
- [13] 曲凌云 ,孙修勤 相建海 ,等. 栉孔扇贝血淋巴细胞 HSP70 表达变化的 FCM 法检测[J]. *高技术通讯* 2004 ,**14**(4) 94-96.
- [14] McCord J M ,Fridovich I. Superoxide dismutase :an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein) [J]. *J Biol Chem* , 1969 ,**244** :6049-6055.
- [15] Xiao J X ,Sivars U ,Tjerneld F. Phase behavior and protein partitioning in aqueous two-phase systems of cationic-anionic surfactant mixture[J]. *J Chromatogr B* 2000 ,**743** 327-338.
- [16] Nielsen A D ,Borch K ,Westh P. Thermochemistry of the specific binding of C¹² surfactants to bovine serum albumin [J]. *Biochim Biophys Acta* 2000 ,**1479** 321-331.
- [17] Fulton M H ,Key P B. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects [J]. *Environ Toxicol Chem* , 2001 ,**20** 37-45.
- [18] Sanders B M. Stress proteins in aquatic organisms : An environmental perspective [J]. *Crit Re Toxicol* ,1993 ,**23**(1) : 49-75.
- [19] Veldhuizen T M D ,Holwerda D A ,Zandee D I. Anoxic survival time and metabolic parameters as stress indices in sea mussels exposed to cadmium or polychlorinated biphenyls [J]. *Arch Environ Contam Toxicol* ,1991 ,**20** 259-265.
- [20] Theodorakis C W ,Surney S J ,Bickham J W ,*et al.* Sequential expression of biomarkers in bluegill sunfish exposed to contaminated sediments [J]. *Ecotoxicol* ,1992 ,**1** :45-73.