

4 种多环芳烃对仿刺参耗氧率和排氮率的影响研究

刘 帅^{1,2}, 詹泽荣^{3,4,5}, 车 鉴⁶, 颌海波^{3,4,5}, 魏海峰^{3,4,5}, 李正炎^{1,2},
刘长发^{3,4,5}

(1. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100; 2. 中国海洋大学 海洋环境与生态教育部重点实验室, 山东 青岛 266100; 3. 辽宁省近岸海洋环境科学与技术重点实验室, 辽宁 大连 116023; 4. 大连海洋大学 海洋科技与环境学院, 辽宁 大连 116023; 5. 辽宁省近海生态环境与灾害防护工程技术创新中心, 辽宁 大连 116023; 6. 大连鑫玉龙海洋生物种业科技股份有限公司, 辽宁 大连 116222)

摘要: 为探究多环芳烃(PAHs)对海洋生物的生态毒理效应, 作者将仿刺参(*Apostichopus japonicus*)分别暴露于质量浓度为 10、20、50、100、150 $\mu\text{g/L}$ 的菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽中, 检测 4 种代表性多环芳烃胁迫下仿刺参的耗氧率和排氮率。结果显示: 在不同质量浓度多环芳烃的胁迫下, 仿刺参的耗氧率均显著高于对照组, 且单位体质量仿刺参耗氧率受三甲基菲浓度影响最大, 其相关方程为 $y = 4.8971x + 1.2267$, $R^2 = 0.8945$; 单位体质量仿刺参排氮率随 4 种多环芳烃浓度的增加出现上下波动的现象, 且在菲胁迫下, 其排氮率波动幅度最大, 在菲质量浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 时达到最大值 22.87 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$; O : N 比在 4 种不同浓度多环芳烃的作用下均显著高于对照组并整体随暴露浓度呈上升趋势, 且受二甲基蒽浓度影响最大, 其相关方程为 $y = 0.3471x + 0.3967$, $R^2 = 0.8435$ 。上述实验结果为多环芳烃类污染物对仿刺参的毒性作用机制探究提供了科学依据。

关键词: 多环芳烃; 仿刺参(*Apostichopus japonicus*); 耗氧率; 排氮率; O : N 比

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)04-0106-08

DOI: 10.11759/hyxx20210816005

随着沿海工业的迅速发展和海洋溢油事故的频发, 石油中的多环芳烃(PAHs)以各种不同方式迁入海洋, 严重破坏了中国海洋生态系统^[1]。石油组分的 1%~6% 为 PAHs, 其具有种类繁多、易扩散、危害性强等特点^[2]。石油等其他产品进入海洋后, 会降解生成菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽等多环芳烃, 长时间滞留海洋会危害海洋环境^[3]。起初, 学者们大多研究水环境中^[4]沉积物^[5]、食品^[6]和大气^[7]中多环芳烃的分布特征、来源及其风险评估, 现今, 部分国内外学者研究了多环芳烃对海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)^[8]、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)^[9]的毒性影响, 但关于多环芳烃对海洋棘皮动物的毒性影响研究仍不够完善。海洋底层 PAHs 浓度较上层水更高, 且海洋棘皮动物为浅海底栖动物, 其受 PAHs 暴露的影响较其他海洋生物更大^[9]。因此, 有必要研究多环芳烃对海洋棘皮动物的毒理效应, 为其他研究者提供研究数据基础。

仿刺参属棘皮动物门(Echinodermata)、刺参科(Stichopodidae)、仿刺参属(*Apostichopus*), 是一种温

带海洋性物种^[10-11], 在山东、河北、辽宁等沿海地区广泛存在, 具有较高的食用价值和经济价值^[12]。杜俊俏^[13]、吕福荣^[14]和林芳^[15]分别进行了多环芳烃类污染物对马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)、马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)胚胎和翡翠贻贝(*Perna viridis*)胚胎的毒理学研究, 但国内外对棘皮动物的

收稿日期: 2021-08-16; 修回日期: 2021-09-27

基金项目: 国家重点研发项目(2018YFC1407600); 辽宁省教育厅服务地方项目(DL201804); 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金项目(201309, 201809); 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室基金项目(201013); 大连海洋大学农业农村部北方海水增殖重点实验室基金项目(2018-KF-21)

[Foundation: National Key R&D Project, No. 2018YFC1407600; Local Project of Liaoning Education Department, No. DL201804; Open Foundation of Key Laboratory of Oil Spill Identification and Damage Assessment Technology of State Oceanic Administration, Nos. 201309, 201809; Key Laboratory of Coastal Ecological Environment of State Oceanic Administration, No. 201013; Key Laboratory of Seawater Enhancement and Aquaculture in North China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Dalian Ocean University, No. 2018-KF-21]

作者简介: 刘帅(1998—), 男, 安徽铜陵人, 研究生, 主要从事海洋环境方面研究, E-mail: 1455344975@qq.com; 魏海峰(1978—), 通信作者, E-mail: weihai Feng@dlou.edu.cn; 李正炎(1971—), 通信作者, E-mail: zhengyan@ouc.edu.cn

毒理学研究匮乏。呼吸和代谢是海洋生物新陈代谢的基本生理活动,可以反映海洋生物新陈代谢规律和环境因子(多环芳烃)对海洋生物生理活动的影响,且氧氮比(O:N)表示海洋生物呼吸代谢量度,可反映海洋生物受 PAHs 等污染物胁迫时的生理响应^[16],能够展现海洋生物对环境的适应性以及生理活动特性。目前,已有报道研究低氧^[17]、温度^[18]、溶解氧^[19]等对仿刺参代谢的影响,但标志性污染物多环芳烃对仿刺参的代谢影响研究仍不够完善。因此,研究不同浓度多环芳烃对仿刺参耗氧率、排氨率和 O:N 比的影响规律,可为评估污染物的毒性效应及生态风险提供科学理论依据以及为刺参养殖业提供重要基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

菲、三甲基菲、蒽、二甲基蒽购自 Sigma 公司(Sigma-Aldrich Corporation, USA),纯度均大于 97%;丙酮购自上海国药集团化学试剂有限公司。

1.2 实验设计

仿刺参购自大连海宝渔业有限公司,选取健康正常的仿刺参作为实验动物,其离水体体质量为(12±2) g,捕捞后用泡沫箱加冰袋低温保存并运回实验室。仿刺参需在实验室条件下驯养 1 周。驯养期间,每天向玻璃缸中投喂适量鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)藻粉饲养仿刺参,实验用水为大连黑石礁砂滤后的海水,通过空调系统使水温保持(15±1) °C。将菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽用丙酮溶液分别配成 500 mg/L 的 4 种储备液,将这 4 种储备液与海水配置所需的不同浓度多环芳烃溶液。经预实验,获取菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽浓度实验范围后,按等差间距依次设置 10、20、50、100、150 μg/L 5 个实验梯度,并设置 1 个空白对照组和 1 个丙酮助溶剂对照组,预实验结果显示各组实验中丙酮对照组与空白对照组均无显著差异,因此忽略丙酮对实验的影响。选用 125 mL 细口试剂瓶作为代谢瓶,实验前采用预曝气的方法确保海水溶解氧达到饱和状态,然后将试剂瓶加入菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽储备液使其达到设计的浓度,每个瓶中加入 1 条称重的仿刺参后立即用 PE 保鲜膜封口,每个处理组 10 个平行样,实验进行 4 h,最后用电极法和靛酚蓝法测定溶解氧和氨氮的含量,根据测量结果计算耗氧率

和排氨率。

1.3 计算

耗氧率(oxygen consumption rate, OCR)、排氨率(ammonia-N excretion rate, AER)和氧氮比(O:N)值分别以下表达式来计算:

$$R_{OC}=[DO_0-DO_t] \times V/W/t, \quad (1)$$

$$R_{AE}=[(N_t-N_0) \times V]/W/t, \quad (2)$$

$$O:N \text{ 值} = R_{OC} / R_{AE}, \quad (3)$$

式中, R_{OC} 和 R_{AE} 分别表示单位体质量仿刺参耗氧率(mg/(g·h))和排氨率(μg/(g·h)); DO_0 、 DO_t 分别为实验开始、结束后水中溶解氧含量(mg/L); N_t 、 N_0 分别为实验开始、结束后水中总氨氮浓度(μg/L), V 为试验瓶水的体积(L), t 为实验时间(h), W 为仿刺参体质量(g)。

1.4 数据处理

实验数据用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,用 Excel 对数据进行整理和进一步加工。采用 ANOVO-单因素方差分析法将各处理组与对照组作差异性分析,且 $P < 0.05$ 时,表示差异显著。

2 结果

2.1 菲对仿刺参耗氧率、排氨率和 O:N 比的影响

由图 1 可知,仿刺参单位体质量耗氧率随菲暴露浓度增加呈逐渐上升的趋势,其排氨率随菲暴露质量浓度增加呈先上升再下降最后上升的趋势,其 O:N 比随菲暴露质量浓度增加整体呈逐渐上升的趋势。菲质量浓度为 10、20、50、100 和 150 μg/L 的耗氧率均显著高于对照组($P < 0.05$),当菲质量浓度达到 150 μg/L 时,耗氧率达到最大值 8 mg/(g·h),较对照组升高 280.95%;仿刺参单位体质量排氨率在菲质量浓度为 10、20、100 和 150 μg/L 时显著高于对照组($P < 0.05$),当菲质量浓度达到 20 μg/L 时,排氨率达到最大值 22.87 μg/(g·h),较对照组升高 99.39%;O:N 比在菲质量浓度为 10、20、50、100 和 150 μg/L 时显著高于对照组($P < 0.05$),O:N 比随着菲质量浓度的升高(20~100 μg/L)出现了显著上升,20~100 μg/L 质量浓度下 O:N 比超过对照 111.1%~222.2%,说明仿刺参在菲的作用下体内能量物质的代谢方式发生了显著变化,并且随着菲浓度的升高其代谢所需能量可能大多来自于脂肪和碳水化合物。

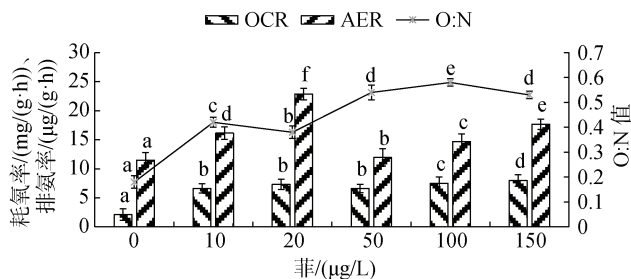


图1 菲对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响
Fig. 1 Influence of phenanthrene on the oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and the total O:N ratio of *Apostichopus japonicus*

显著性差异 ($P < 0.05$) 用不同小写字母表示, 无显著性差异 ($P > 0.05$) 用相同小写字母表示, 下同

Significant differences ($P < 0.05$) with different lowercase letters, there was no significant difference ($P > 0.05$) with the same lowercase letter, the same below

2.2 三甲基菲对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响

由图2可知, 仿刺参单位体质量耗氧率随菲暴露浓度增加呈逐渐上升的趋势, 其排氨率随菲暴露质量浓度增加呈上下波动的无规律趋势, 其O:N比随菲暴露质量浓度增加整体呈逐渐上升的趋势。仿刺参单位体质量耗氧率、排氨率和O:N比随三甲基菲暴露浓度增加呈现一定的变化趋势。三甲基菲质量浓度为10、20、50、100和150 µg/L的耗氧率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 出现显著的剂量-效应关系, 其相关性方程为 $y = 4.8971x + 1.2267$, $R^2 = 0.8945$, 且当三甲基菲质量浓度达到150 µg/L时, 耗氧率达到最大值27.8 mg/(g·h), 较对照组升高1224%; 与对照组相比, 仿刺参单位体质量排氨率随处理组质量浓度的升高呈现上下波动的趋势, 但波动幅度不大; O:N比随着三甲基菲浓度的升高整体呈上升的趋势, 其相关性方程为 $y = 0.3026x + 0.4993$, $R^2 = 0.5933$, 当三甲基菲质量浓度达到100 µg/L时, O:N比达到最大值2.16, 较对照组升高1037%。说明仿刺参在三甲基菲的作用下体内能量物质的代谢方式发生了显著的变化, 并且随着三甲基菲质量浓度的升高其代谢所需能量可能大多来自于脂肪和碳水化合物。

2.3 蒽对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响

由图3可知, 仿刺参单位体质量耗氧率随菲暴露质量浓度增加呈逐渐上升的趋势, 其排氨率随菲暴露质量浓度增加呈上下波动的无规律趋势, 其O:N

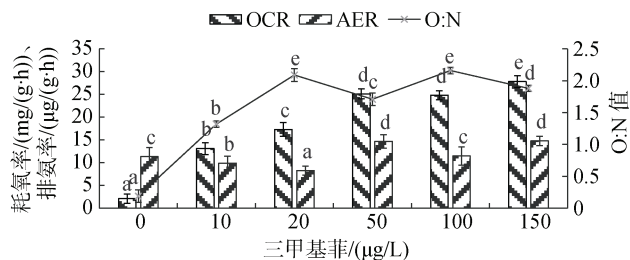


图2 三甲基菲对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响
Fig. 2 Effects of 3-methylphenanthrene on the oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and the total O:N ratio of *Apostichopus japonicus*

比随菲暴露质量浓度增加整体呈逐渐上升的趋势。蒽质量浓度为10、20、50、100和150 µg/L的耗氧率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 出现显著的剂量-效应关系, 相关性方程为 $y = 2.46x + 3.44$, $R^2 = 0.9552$, 且当蒽质量浓度达到150 µg/L时, 耗氧率达到最大值19 mg/(g·h), 较对照组升高201.6%; 仿刺参单位体质量排氨率在蒽质量浓度为10 µg/L时显著高于对照组, 且在蒽质量浓度为20和150 µg/L时显著低于对照组 ($P < 0.05$); O:N比随着蒽质量浓度的升高整体呈上升的趋势, 其相关性方程为 $y = 0.2897x + 0.296$, $R^2 = 0.7969$, 当蒽质量浓度达到150 µg/L时, O:N比达到最大值2.18, 较对照组升高289.3%。说明仿刺参在蒽的作用下体内能量物质的代谢方式发生了显著的变化, 并且随着蒽浓度的升高其代谢所需能量可能大多来自于脂肪和碳水化合物。

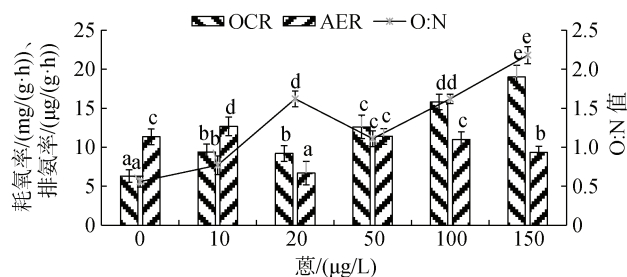


图3 蒽对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响
Fig. 3 Effects of anthracene on the oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and the total O:N ratio of *Apostichopus japonicus*

2.4 二甲基蒽对仿刺参耗氧率、排氨率和O:N比的影响

由图4可知, 仿刺参单位体质量耗氧率随菲暴露质量浓度增加整体呈逐渐上升的趋势, 其排氨率随菲暴露质量浓度增加呈上下波动的无规律趋势,

其 O : N 比随菲暴露质量浓度增加整体也呈逐渐上升的趋势。二甲基蒽质量浓度为 10、20、50、100 和 150 $\mu\text{g/L}$ 的耗氧率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 出现显著的剂量-效应关系, 其相关性方程为 $y = 4.34x + 3.2933$, $R^2 = 0.822$, 且当二甲基蒽质量浓度达到 150 $\mu\text{g/L}$ 时, 耗氧率达到最大值 33.7 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 较对照组升高 439.2%; 仿刺参单位体质量排氨率在二甲基蒽质量浓度为 50 和 150 $\mu\text{g/L}$ 时显著高于对照组, 且在二甲基蒽质量浓度为 20 和 100 $\mu\text{g/L}$ 时显著低于对照组 ($P < 0.05$); O : N 比随着二甲基蒽质量浓度的升高整体呈上升的趋势, 其相关性方程为 $y = 0.3471x + 0.3967$, $R^2 = 0.8435$, 当二甲基蒽质量浓度达到 150 $\mu\text{g/L}$ 时, O : N 比达到最大值 2.6, 较对照组升高 364.3%。说明仿刺参在意的作用下体内能量物质的代谢方式发生了显著的变化, 并且随着二甲基蒽质量浓度的升高其代谢所需能量可能大多来自于脂肪和碳水化合物。

表 1 4 种多环芳烃毒性比较

Tab. 1 Comparative toxicity study of four distinct PAHs

| PAHs | 耗氧率促进率/% | 排氨率促进率/% | O : N 抑制率/% | 综合评价/% |
|------|----------|----------|-------------|--------|
| 菲 | 243 | 45 | 172 | 460 |
| 三甲基菲 | 930 | 4 | 864 | 1798 |
| 蒽 | 110 | -10 | 161 | 261 |
| 二甲基蒽 | 232 | -3 | 225 | 454 |

3 讨论

3.1 多环芳烃对仿刺参耗氧率的影响

海洋生物耗氧率可直接或间接反映海洋生物的代谢和生理状况, 了解其呼吸规律可为海洋生物生理生态学研究提供科学依据。多环芳烃会对海洋生物呼吸器官的结构和功能产生一定的影响作用, 通过促进呼吸器官细胞的 DNA 合成和改变其细胞抗氧化酶活性, 提高海洋生物的呼吸速率, 激发应激反应实现自我保护^[20]。本实验中, 在 4 种不同浓度的多环芳烃胁迫下, 仿刺参耗氧率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且随 4 种多环芳烃浓度的升高整体呈不同程度的上升趋势, 这与周建聪^[21]研究的不同规格红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 在质量浓度为 0~8 mg/L 氨氮急性攻毒条件下耗氧率上升和张赛赛^[22]研究的单环刺螯稚螯 (*Urechis unicinctus*) 在质量浓度为 0.019 8~0.050 2 mg/L 亚硝酸盐胁迫条件下耗氧率上升的现象

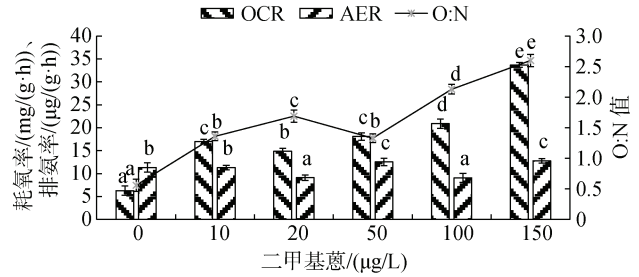


图 4 二甲基蒽对仿刺参耗氧率、排氨率和 O : N 比的影响
Fig. 4 Effects of 2-methylphenanthrene on the oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and the total O : N ratio of *Apostichopus japonicus*

2.5 4 种多环芳烃的毒性比较

根据抗氧化酶多种指标综合评价的方法^[28], 分别计算出多环芳烃对仿刺参的耗氧率的平均促进率、排氨率的平均促进率和 O : N 的平均抑制率进行了毒性比较, 结果如下: 三甲基菲 > 菲 > 二甲基蒽 > 蒽, 见表 1。

一致。因此, 可以推测, 耗氧率可反映各种海洋生物有机体内糖、脂肪和蛋白质的代谢程度情况, 海洋生物通过有氧呼吸消耗体内营养物质, 为海洋生物生命活动提供 ATP, 当海洋生物受到外界不良环境胁迫时, 会改变机体相关系统的代谢情况, 提高营养物质分解速率来适应外界不良环境胁迫^[23]。实验中, 单位体质量仿刺参耗氧率受三甲基菲浓度影响最大, 耗氧率随三甲基菲浓度的升高呈约 5 倍数的增长, 这可能与三甲基菲毒性作用较其他种类多环芳烃强有关, 强毒性三甲基菲提高呼吸器官-呼吸树细胞 CAT 活性, 及时清除活性氧和氧自由基, 避免机体细胞、组织超过氧化损伤的承受范围, 从而有效提高自身的呼吸速率。高士博^[24]研究表明, 仿刺参呼吸树经 6 种苯系物胁迫后, 其 CAT 活性主要呈上升趋势, 且随苯、甲苯和乙基苯作用浓度的升高, 仿刺参呼吸树 CAT 活性明显增加, 呈存在显著剂量效应关系 ($P < 0.01$), 其中乙基苯的促进作用最强, 约为 15 倍。

3.2 多环芳烃对仿刺参排氮率的影响

仿刺参为排氮型海洋生物,其蛋白质代谢的最终产物以氨态氮的形式直接排出体外,故掌握其代谢特点可为海洋生物生理学研究提供基础数据^[17]。据资料显示,多环芳烃通过作用于仿刺参的多环芳烃受体蛋白(AhR),来诱导或抑制细胞色素酶(CYP1A)的合成,从而改变海洋生物物质代谢方式^[25-26]。本实验中,在质量浓度为 10~20 $\mu\text{g/L}$ 菲的作用下,仿刺参排氮率呈现上升的趋势,可能与在不良环境条件下,短时间内刺参采取应激反应,利用蛋白质作为能量来源使其排氮率升高有关,且胁迫作用越大,应激反应越明显,这与 NERICE 等^[25-26]研究结果一致。当菲处理组质量浓度大于 20 $\mu\text{g/L}$ 时,仿刺参排氮率上升程度较低浓度处理组低,这可能是由于高浓度菲破坏部分多环芳烃受体蛋白,从而降低了细胞色素酶的合成,抑制了代谢产物排放。根据表 1 可知,三甲基菲的毒性最强,在三甲基菲处理组质量浓度为 10~20 $\mu\text{g/L}$ 时,仿刺参排氮率出现显著下降的趋势($P<0.05$),这与强毒性三甲基菲直接破坏多环芳烃受体蛋白,且浓度越高破坏程度越大有关。当三甲基菲处理组质量浓度大于 20 $\mu\text{g/L}$ 时,仿刺参机体出现明显的生理紊乱现象,故排氮率先上升再下降最后上升。由于蒽和二甲基蒽的毒性较菲和三甲基菲弱,故处理组中仿刺参排氮率维持在 11.34 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (对照组数值)附近波动,且单位体质量仿刺参排氮率平均抑制率不超过 10%。曾丽璇等^[27]报道,双酚 A 和壬基酚对河蚬(*Corbicula fluminea*)排氮率的影响表现为随胁迫程度的升高而增加。刘慧玲等^[28]研究显示,不同浓度亚硝酸盐对双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)排氮率的影响表现为,随胁迫程度的升高先增加后降低。魏海峰等^[8]研究表明,质量浓度为 20、50、150 $\mu\text{g/L}$ 的非暴露导致中间球海胆(*Strongylocentrotus intermendus*)排氮率显著高于对照组。这些研究结果都表现出不一致性,证实了不同浓度和种类的污染物对不同海洋生物排氮率的影响不同,生物排氮率是否与污染物浓度具有相关性有待进一步研究。

3.3 多环芳烃对仿刺参 O : N 比的影响

O : N 比表示有机体体内蛋白质与脂肪和碳水化合物分解代谢的比率,也可分析耗氧率中的氧原子数与排氮率中的氮原子数之间的倍数关系,O : N 比值越小,则有机体利用的蛋白质越多,利用脂肪

和碳水化合物越少^[29],且 O : N 比可评价海洋生物受水环境危害程度和作为生物体适应环境压力的指标^[30-31]。本实验中,O : N 比与菲、三甲基菲、蒽和二甲基蒽的质量浓度呈现正相关关系,说明随着多环芳烃质量浓度的升高其代谢所需能量来自于脂肪和碳水化合物,对有机体内的蛋白质利用较少,这与魏海峰^[8]和范德朋^[32]的实验结论“O : N 比与多环芳烃的质量浓度呈现负相关关系,表明其代谢所需能量主要由原来的蛋白质转向脂肪和碳水化合物”相反,该实验研究结果差异性产生的原因可能与海洋生物不同导致其呼吸代谢途径和机制存在差异有关,其现象产生原因和作用机制有待进一步研究分析。

4 结论

4 种多环芳烃对仿刺参耗氧率和 O : N 比具有显著的影响,且在低浓度暴露条件下其也具有相应的反应表现,因此耗氧率和 O : N 比可以作为海洋环境多环芳烃污染的潜在生物监测指标。

按照多环芳烃对仿刺参耗氧促进率、排氮促进率和氨氮比抑制率综合评价得出 4 种多环芳烃的毒性大小顺序为三甲基菲>菲>二甲基蒽>蒽,且三甲基菲毒性强度远大于其他 3 种多环芳烃,因此有关部门监控海洋水环境污染因子时,应着重加强三甲基菲检测力度。

参考文献:

- [1] ENGRAFF M, CLEMENTINE S, SMITH K E C, et al. Aquatic toxicity of PAHs and PAH mixtures at saturation to benthic amphipods: Linking toxic effects to chemical activity[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 102(3): 142-149.
- [2] MU J L, WANG J Y, JIN F, et al. Comparative embryotoxicity of phenanthrene and alkyl-phenanthrene to marine medaka (*Oryzias melastigma*)[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 85(2): 505-515.
- [3] 田蕴, 郑天凌, 胡忠. 海洋环境中多环芳烃的微生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(4): 439-443.
- [4] TIAN Yun, ZHENG Tianling, HU Zhong. Advances in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2003, 9(4): 439-443.
- [4] 杜士林, 丁婷婷, 董淮晋, 等. 沙颍河流域水环境中多环芳烃污染及风险评价[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 601-611.

- DU Shilin, DING Tingting, DONG Huaijin, et al. Pollution and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water environment of the Shaying River basin[J]. *Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 2020, 39(3): 601-611.
- [5] 刘强, 高建华, 石勇, 等. 北黄海北部表层沉积物中多环芳烃的分布特征及控制因素分析[J]. *海洋环境科学*, 2020, 39(1): 53-58.
LIU Qiang, GAO Jianhua, SHI Yong, et al. Distribution characteristics and control factors of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments in the northern North Yellow Sea[J]. *Marine Environmental Science*, 2020, 39(1): 53-58.
- [6] 余晓琴. 食品中污染物苯并[a]芘解读(上)[N]. *中国市场监管报*, 2019-12-5(8).
YU Xiaoqin. Contaminant benzo[a] pyrene in food interpreted(above)[N]. *China Market Regulation News*, 2019-12-5(8).
- [7] 邓伟. 南黄海、东海表层沉积物中脂肪烃与多环芳烃的分布特征及来源初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
DENG Wei. Preliminary study on the distribution characteristics and sources of aliphatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of the South Yellow Sea and East China Sea[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [8] 魏海峰, 刘长发, 刘远. 4种多环芳烃对海胆耗氧率和排氨率的影响研究[J]. *环境科学与技术*, 2017, 40(S1): 100-104.
WEI Haifeng, LIU Changfa, LIU Yuan. Study on the effects of four polycyclic aromatic hydrocarbons on the oxygen consumption rate and ammonia discharge rate of sea urchins[J]. *Environmental Science and Technology*, 2017, 40(S1): 100-104.
- [9] 陶文卿. 苯并[a]芘对仿刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参毒性效应的研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
TAO Wenqing. Study on the toxic effects of benzo[a] pyrene on the juvenile ginseng of *Apostichopus japonicus*[D]. Yantai: Yantai University, 2021.
- [10] 郭凯, 赵文, 季华, 等. 辽宁春、夏季刺参池塘健康养殖的管理技术要点[J]. *中国水产*, 2013, 4: 53-54.
GUO Kai, ZHAO Wen, JI Hua, et al. Key technical points of healthy pond culture management of *Stichopus japonicus* in spring and summer in Liaoning province[J]. *China Fisheries*, 2013, 4: 53-54.
- [11] 李多慧, 田甲申, 罗耀明, 等. 丙烯酸对仿刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参免疫酶活性的影响[J]. *河北渔业*, 2017, 10: 4-8.
LI Duohui, TIAN Jiashen, LUO Yaoming, et al. The effects of acroleic acid on the immune enzyme activity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Hebei Fishery*, 2017, 10: 4-8.
- [12] 何翠, 黄国强. 全国及主要刺参养殖省份刺参养殖状况分析[J]. *渔业信息与战略*, 2014, 29(1): 24-30.
HE Cui, HUANG Guoqiang. On *Apostichopus japonicus* culture in China and major culture provinces[J]. *Fishery Information and Strategy*, 2014, 29(1): 24-30.
- [13] 杜俊俏, 廖承红, 周海龙, 等. 马氏珠母贝 hsp90 基因的克隆及芘胁迫对其表达水平的影响[J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(3): 503-511.
DU Junqiao, LIAO Chenghong, ZHOU Hailong, et al. Cloning of hsp90 gene and expression analysis after exposure to pyrene in *Pinctada martensii*[J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(3): 503-511.
- [14] 吕福荣, 熊德琪, 丁士强, 等. 石油烃分散液对马粪海胆浮游幼虫的急性毒性效应[J]. *大连海事大学学报*, 2008, 32(2): 24-27.
LV Furong, XIONG Deqi, DING Shiqiang, et al. Acute toxic effects of petroleum hydrocarbon water-accommodated fractions on larvae development of *Hemicentrotus pulcherrimus*[J]. *Journal of Dalian Maritime University*, 2008, 32(2): 24-27.
- [15] 林芳, 毛楷林, 江秀, 等. BaP 和 DDT 暴露对翡翠贻贝胚胎重要酶活性影响的比较研究[J]. *生态毒理学报*, 2018, 13(3): 129-137.
LIN Fang, MAO Kailin, JIANG Xiu, et al. Comparative studies of the critical enzymes activity of *Perna viridis* embryo exposed to BaP and DDT[J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(3): 129-137.
- [16] 王雅倩, 赵文, 程芳晋, 等. 体重和温度对中国蛤蚧耗氧率和排氨率的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(6): 544-548.
WANG Yaqian, ZHAO Wen, CHENG Fangjin, et al. Effects of body weight and temperature on oxygen consumption and ammonia excretion in clam *Macra chinensis*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(6): 544-548.
- [17] 李根瑞. 仿刺参对环境低氧胁迫的生理生化响应研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
LI Genrui. Study on the physiological and biochemical responses of *Apostichopus japonicus* to environmental hypoxia stress[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [18] 张鹏, 董双林. 温度对青色系与红色系仿刺参生长和能量分配的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2013, 43(8): 24-30, 48.
ZHANG Peng, DONG Shuanglin. Effect of temperature on the growth and energy metabolism of red and green variant of *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Ocean University of China (Natural Science)*, 2013, 43(8): 24-30, 48.
- [19] 周晓梦, 张秀梅, 李文涛. 温度和溶解氧对仿刺参存

- 活、代谢及运动能力的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1209-1219.
- ZHOU Xiaomeng, ZHANG Xiumei, LI Wentao. Effects of temperature and dissolved oxygen on the survival, activity and the adaptation strategy of metabolism in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(8): 1209-1219.
- [20] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 菲和芘对蚯蚓(*Eisenia fetida*) 细胞色素 P450 和抗氧化酶系的影响[J]. 环境化学, 2007, 26(2): 202-206.
- ZHANG Wei, SONG Yufang, SUN Tieheng, et al. Influence of phenanthrene and pyrene on cytochrome P450 and antioxidant enzymes in earthworms (*Eisenia fetida*)[J]. Environmental Chemistry, 2007, 26(2): 202-206.
- [21] 周建聪, 蔡利, 杨静茹等. 温度和氨氮对不同规格红螯螯虾耗氧率与排氨率的影响[J]. 渔业科学进展, 2021, 42: 1-9.
- ZHOU Jiancong, CAI Li, YANG Jingru, et al. Effects of temperature and ammonia on oxygen consumption and ammonia excretion rates of *Cherax quadricarinatus* with different sizes[J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42: 1-9.
- [22] 张赛赛, 董美艳, 田斌等. pH、氨氮和亚硝酸盐对单环刺螯稚螯耗氧率和排氨率的影响[J]. 水产学杂志, 2021, 34(4): 35-42.
- ZHANG Saisai, DONG Meiyang, TIAN Bin, et al. Effects of pH, ammonia nitrogen and nitrite on oxygen consumption and ammonia excretion of echiuran worm *Urechis unicinctus*[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2021, 34(4): 35-42.
- [23] 王杨科, 王琦, 张育辉. 镉对黄鳝耗氧率的影响[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(2): 140-143.
- WANG Yangke, WANG Qi, ZHANG Yuhui. Effects of cadmium on the oxygen consumption rate of Swamp Eel (*Monopterus albus*)[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(2): 140-143.
- [24] 高士博. 6 种苯系物对仿刺参呼吸树和肠组织的氧化胁迫和神经毒性[D]. 大连: 大连海洋大学, 2015.
- GAO Shibo. The oxidative stress and neurotoxicity of 6 kinds of BTEX activities in respiratory tree and intestine of Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2015.
- [25] NERICE C, SILVA A, MERINO G. Effect of two temperatures on ammonia excretion rates of *Seriola lalandi* (Palm fish) juveniles under rearing conditions[J]. Aquacultural Engineering, 2012, 46: 47-52.
- [26] WANG Sifeng, ZHANG Zhifeng, CUI He, et al. The effect of toxic sulfide exposure on oxygen consumption and oxidation products in *Urechis unicinctus* (Echiura: Urechidae)[J]. Ocean Univ China (Oceanic and Coastal Sea Research), 2010, 9: 157-161.
- [27] 曾丽璇, 张悦君, 康园, 等. 双酚 A 和壬基酚对河蚬呼吸代谢和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2014, 23(1): 122-128.
- ZENG Lixuan, ZHANG Yuejun, KANG Yuan, et al. Effects of BPA and NP on respiratory metabolism and antioxidant enzymes in Asian clam[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(1): 122-128.
- [28] 刘慧玲, 郭文浚, 谭振华, 等. pH、亚硝酸盐和氨氮对双齿围沙蚕耗氧率和排氨率的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(3): 52-56.
- LIU Huiling, GUO Wenjun, TAN Zhenhua, et al. Effects of pH, ammonia and nitrite on oxygen consumption and ammonia excretion of *Perinereis aibuhitensis*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2016, 36(3): 52-56.
- [29] 秦艳杰, 李霞, 吴立新, 等. 饥饿和再投喂对中间球海胆代谢和生长的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(6): 521-525.
- QIN Yanjie, LI Xia, WU Lixin, et al. Effects of starvation and refeeding on metabolism and growth in sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2011, 26(6): 521-525.
- [30] AHMED F, SEGAWA S, YOKOTA M, et al. Effect of light on oxygen consumption and ammonia excretion in *Haliotis discus discus*, *H. gigantea*, *H. madaka* and their hybrids[J]. Aquaculture, 2008, 279(1): 160-165.
- [31] MARCELA C M, PABLO A C. Oxygen consumption and ammonia excretion of the freshwater crab *Trichodactylus borellianus* exposed to chlorpyrifos and endosulfan insecticides[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2008, 92(3): 150-155.
- [32] 范德朋, 潘鲁青, 马甦, 等. 温度对缢蛏(*Sinonovacula constricta*)耗氧率和排氨率的影响[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2002, 1: 56-62.
- FAN Depeng, PAN Luqing, MA Shen, et al. Effects of temperature on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate of *Sinonovacula constricta*[J]. Journal of Ocean University of Qingdao (Natural Science edition), 2002, 1: 56-62.

Effect of four distinct PAHs on the oxygen consumption and the ammonia exhalation rate of *Apostichopus japonicus*

LIU Shuai^{1, 2}, ZHAN Ze-rong^{3, 4, 5}, CHE Jian⁶, JIE Hai-bo^{3, 4, 5}, WEI Hai-feng^{3, 4, 5}, LI Zheng-yan^{1, 2}, LIU Chang-fa^{3, 4, 5}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3. Key Laboratory of Coastal Marine Environmental Science and Technology of Liaoning Province, Dalian 116023, China; 4. Dalian Ocean University, School of Marine Science and Environment Engineering, Dalian 116023, China; 5. Technology Innovation Center for Coastal Ecological Environment and Disaster Protection, Dalian 116023, China; 6. Dalian Xinyulong Marine Biological Seed Technology Co., Dalian 116222, China)

Received: Aug. 16, 2021

Key words: PAHs; *Apostichopus japonicus*; oxygen consumption; ammonia excretion; O : N ratio

Abstract: To investigate the toxic effects of PAHs, which is mainly composed of phenanthrene, 3-methylphenanthrene, anthracene, and 2-methylanthracene on the marine organisms, the sea cucumber *Apostichopus japonicus* was introduced to PAHs at varied concentrations of 10, 20, 50, 100 and 150 $\mu\text{g/L}$, respectively. The oxygen consumption rate and the ammonia excretion rate of *A. japonicus* under the stress of four distinct PAHs were measured accordingly. The results demonstrated that under the stress of four respective concentrations of PAHs, the oxygen consumption rate of *A. japonicus* was significantly higher than that of the control group, and the concentration of 3-methylphenanthrene had the greatest influence on the oxygen consumption rate per unit body weight, with the correlation equation of $y = 4.897 1x + 1.226 7$, $R^2 = 0.894 5$. Similarly, the ammonia emission per unit body weight also fluctuated with the increase of PAH concentration. Under the phenanthrene stress, with the phenanthrene concentration of 20 $\mu\text{g/L}$, the ammonia exhalation rate fluctuated the most and reached the maximum of 22.87 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$. The O : N ratio was substantially higher than those of the control group under the four distinct concentrations of PAHs, and proliferated with the overall exposure concentration, and was most affected by the concentration of 2-methylanthracene with the correlation equation of $y = 0.347 1x + 0.396 7$, $R^2 = 0.843 5$. The experimental results established a scientific rationale for exploring the toxic mechanism of PAHs on *A. japonicus*.

(本文编辑: 谭雪静)