

原油对潮间带大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*) 抗氧化酶活性影响的初步探究

田丽娜¹, 杨金生², 周佑霖¹, 曹 锐¹,
张 萌¹, 潘玉英¹

(1.浙江海洋大学 水产学院, 浙江舟山 316022; 2.浙江海洋大学 石油化工与环境学院, 浙江 舟山 316022)

摘 要:以大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)鳃和肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)为生物标志物,探究潮间带沉积物不同浓度原油污染 48 h 后对大弹涂鱼的急性毒性效应。结果显示,随着污染浓度的增加,SOD、GSH-Px 和 GST 活性呈先升高后降低的趋势,表明低浓度污染下大弹涂鱼鳃和肝脏酶活性被激活,高浓度下污染酶活性则受抑制;大弹涂鱼鳃中 SOD、CAT、GST 酶活性最大诱导倍数均高于肝脏,可见大弹涂鱼鳃对原油更敏感;结合不同组织抗氧化酶活性差异显著性分析发现,大弹涂鱼鳃中 SOD 和 GST 对原油污染敏感度更高,更适合作为监测海洋原油污染的有效生物标志物。

关键词:原油;大弹涂鱼;鳃;肝脏;抗氧化酶活性

中图分类号:X171;X55

文献标识码:A

文章编号:1007-6336(2022)01-0135-07

The primary study on antioxidase activities of *Boleophthalmus pectinirostris* exposed to crude oil in intertidal zone

TIAN Li-na¹, YANG Jin-sheng², ZHOU You-lin¹, CAO Rui¹,
ZHANG Meng¹, PAN Yu-ying¹

(1.Fisheries College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 2.School of Petrochemical Engineering & Environment, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione s-transferase (GST) in gills and liver of *Boleophthalmus pectinirostris* were selected as biomarkers to explore the acute biotoxic effects of different concentrations of crude oil in intertidal sediment on *Boleophthalmus pectinirostris* after 48 hours. The results showed that with the increase of pollution concentration, the activities of SOD, GSH-Px and GST increased firstly and then dropped down, indicating that the enzyme activities of gills and liver of *Boleophthalmus pectinirostris* were activated at low concentration while inhibited at high concentration. The maximum induction times of SOD, CAT and GST activities in gills of *Boleophthalmus pectinirostris* were higher than those in liver, which showed that the gills of *Boleophthalmus pectinirostris* were more sensitive to crude oil. Combined with the significance of antioxidant enzyme activities in different tissues,

收稿日期:2020-07-30, 修订日期:2021-06-27

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY19D060003);省属高校基本科研业务费项目(2019J00023);浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)项目(2019R411007);浙江“水产”省一流学科开放课题项目(20190012);国家自然科学基金资助项目(41502261)

作者简介:田丽娜(1992—),女,山东青岛人,硕士,主要研究方向为渔业资源养护与利用, E-mail: 884661978@qq.com

通讯作者:潘玉英,副教授, E-mail: pyyhj02bh@163.com

it was found that the SOD and GST in gills were more sensitive to crude oil pollution and more suitable as effective biomarkers for monitoring marine crude oil pollution.

Key words: crude oil; *Boleophthalmus pectinirostris*; gills; liver; antioxidase activity

随着沿海地区石油勘探、运输和存储的发展,泄漏事故时有发生。石油是一种难溶于水的复杂烃类混合物,其中的多环芳烃具有致癌、致畸、高毒性和持久性特点,且脂溶性强^[1],易经生物富集在各级海洋生物体内积累,危害机体组织,最终通过食物链对人类健康产生巨大危害。潮间带是连接海洋和陆地的重要组成部分,与人类生活密切相关,泄漏的石油大部分会通过人工收集等措施处理,但仍有部分残留在潮间带沉积物内部,在潮汐、波浪等作用下释放到海水中,造成二次污染,威胁海洋生态环境安全^[2]。因此,研究石油类碳氢化合物对潮间带生物的毒性效应对于评估潮间带石油泄漏造成的生态破坏具有重要意义。

生物标志物可为环境污染提供预警信号,抗氧化酶作为生物标志物已被广泛应用于评估污染物的生态毒性效应中。当生物遭受外界污染胁迫时,抗氧化酶系统启动防御机制,清除过量活性氧自由基,维持细胞稳定状态,保护生物体免受伤害^[3]。抗氧化酶系统是机体应对外界胁迫的第一道防线^[4],在参与活性氧(ROS)清除及机体防御保护反应中发挥巨大作用。一些常用的抗氧化酶生物标志物包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽硫转移酶(GST),其活性或含量的大小可反映出生物对外界污染物的清除能力。王晓艳等^[5]探讨栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)鳃和消化盲囊中SOD、CAT酶活性对海洋原油污染监测的有效性;Martínez-Gómez等^[6]结合CAT、GST酶活性进一步探讨“Prestige”号船石油泄漏后三年内对周围生物的影响;Nahrganga等^[7]通过模拟溢油研究北极鳕鱼(*Boreogadus saida*)肝脏中GST、CAT的酶活性响应。经对比,这些文献大多集中在石油烃对海水中鱼类、贝类等生物抗氧化酶系统的影响研究,但关于潮间带沉积物原油污染对生物抗氧化酶活性影响的研究报道则较少。

大弹涂鱼是暖水性近岸小型鱼类,喜穴居软泥底质潮间带或半咸水的河口滩涂,为浙江沿海滩涂常见的土著鱼类,具有存活率高、适应性强、敏感性高等特点^[8],是典型的水陆两栖鱼类,其皮肤兼具辅助呼吸功能,对沉积物及水环境变化反应敏感,是开展研究的绝佳实验对象。将大弹涂鱼暴露于原油污染的潮间带沉积物中,通过测定大弹涂鱼鳃和肝脏组织中SOD、CAT、GSH-Px和GST酶活性,结合差异显著性分析及最大诱导倍数计算,初步探讨原油对大弹涂鱼的毒性效应,为潮间带原油污染风险评估提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验所用大弹涂鱼(不区分雌雄)捕自浙江舟山海域,平均体长(14.57±1.06)cm,平均体重(19.17±3.54)g。实验用水为已过滤的天然海水,盐度为20,pH为7.5,水温为24℃。实验前将大弹涂鱼放在海水养殖箱中驯养一周,期间不喂食,驯养结束后挑选健康活泼的个体进行实验。

测试所用沉积物取自浙江舟山长峙岛潮间带高潮区,风干后过0.1mm标准筛备用。测试原油取自浙江舟山册子岛,为流动相轻质原油,委托自然资源部第一海洋研究所通过气相色谱-质谱法测定其主要组分(表1)。经测定,实验原油主要由烷烃、多环芳烃和生物标志物组成,占比分别为82.78%、11.97%和5.25%。所用SOD、CAT、GSH-Px、GST、蛋白质测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,其他试剂均为国产分析纯试剂。

表1 实验原油基本组分

Tab.1 Basic components of experimental crude oil		
原油组分	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	占比/(%)
烷烃	457.07	82.78
多环芳烃	66.07	11.97
生物标志物	29.01	5.25

1.2 实验设计

实验在 50 L 长方体养殖箱中进行, 箱体内沉积物与海水按照 3 : 2 的质量比进行配制, 混合后沉积物总体积约占箱体 1/3。按照《海洋沉积物质量》(GB 18668—2002)(石油类含量一级、二级和三级标准分别为 500 mg/kg、1000 mg/kg 和 1500 mg/kg)规范要求^[9], 设置 0 mg/kg、500 mg/kg、1000 mg/kg、1500 mg/kg 4 种不同沉积物原油污染浓度梯度。先按照比值在风干的沉积物中加入不同质量原油混合, 再加入相应质量海水搅拌均匀, 混匀后静置观察, 上层有约 5 mm 高的海水, 同时将未加原油的实验组作为空白对照组。挑选身体健康、无损, 且体长和体重相近的大弹涂鱼进行毒性暴露实验, 每个浓度组设 2 个平行, 每个养殖箱中投放 15 尾大弹涂鱼, 期间不投食, 暴露时间为 48 h。

48 h 后采集不同暴露浓度组鱼体样品, 在 4 ℃ 下进行解剖, 分离出大弹涂鱼鳃和肝脏, 用冰冷的生理盐水(0.86%)冲洗组织样本, 用滤纸吸干水分后放入冻存管中, 立即放入液氮中冷冻保存, 直至进一步生化分析。

1.3 酶活性测定

将液氮保存的大弹涂鱼鳃和肝脏组织样本在冰上解冻, 吸干水分后称重, 以 1 : 9 的比例加入 4 ℃ 生理盐水后, 在冰浴条件下制备成 10% 组织匀浆, 匀浆后在 4 ℃ 下以 2500 r/min 离心 15 min, 去除细胞碎片, 收集上清液, 进行生化分析。大弹涂鱼鳃和肝脏 4 种酶活性及蛋白含量测定均按照试剂盒要求进行操作, 其中蛋白含量使用考马斯亮蓝法测定, 以牛血清蛋白为标准蛋白, SOD 采用羟胺法测定, CAT 采用钼酸法测定, GSH-Px 和 GST 均采用比色法测定, 酶活性单位为 U/mgprot。

1.4 实验数据处理

1.4.1 数据分析

数据采用 SPSS 19 软件进行统计分析, 酶活性大小用平均值±标准差(*Mean*±*SD*)表示; 用单因素方差分析法分析浓度引起的差异, 其中 $p<0.05$ 表示组间差异显著, $p<0.01$ 表示组间差异极显著。

1.4.2 诱导倍数计算

在某一时间内, 诱导倍数与石油含量存在一定的相关性^[10], 结合最大诱导倍数可进一步分析大弹涂鱼体内抗氧化酶对不同浓度原油的敏感性。

$$I = N_i / N \tag{1}$$

式中: I 为诱导倍数; N_i 为实验组受诱导后酶活性; N 为对照组酶活性。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 大弹涂鱼鳃和肝脏 4 种抗氧化酶活性分布差异

将正常生理条件下大弹涂鱼体内 4 种抗氧化酶活性进行统计, 如表 2 所示。由于各组织的结构和功能不同, 同一种酶在不同组织中表现出酶活性差异, 大弹涂鱼肝脏中 SOD 和 GST 酶活性高于鳃, 鳃中 GSH-Px 酶活性则高于肝脏, CAT 酶活性在两组织中差异不大。而各种酶因其本身结构及功能的差异, 在同一组织中的表达也各不相同, 进一步表现为酶活性不同。

表 2 大弹涂鱼鳃和肝脏中 4 种抗氧化酶活性差异
Tab.2 Differences in the activities of four antioxidant enzymes in the gills and liver of *Boleophthalmus pectinirostris*

组织	酶活性/U·mg prot ⁻¹			
	SOD	CAT	GSH-Px	GST
鳃	12.37±1.04	2.90±0.50	110.19±13.69	50.88±5.64
肝脏	310.35±48.57	3.21±0.63	33.45±9.95	161.02±22.24

2.1.2 不同浓度原油污染对大弹涂鱼鳃和肝脏 4 种抗氧化酶活性影响

将大弹涂鱼暴露于 0 mg/kg、500 mg/kg、1000 mg/kg 和 1500 mg/kg 浓度原油污染沉积物中 48 h 后, 测得大弹涂鱼鳃和肝脏 SOD、CAT、GSH-Px 和 GST 酶活性变化如图 1 所示。

如图 1a、图 1b 所示, 大弹涂鱼鳃和肝脏组织中 SOD 酶活性随着原油暴露浓度的增加总体呈先升高后下降的趋势。大弹涂鱼鳃暴露在 500 mg/kg 浓度组时, SOD 酶活性受到显著诱导 ($p<0.05$), 达到峰值, 为对照组的 1.79 倍; 之后,

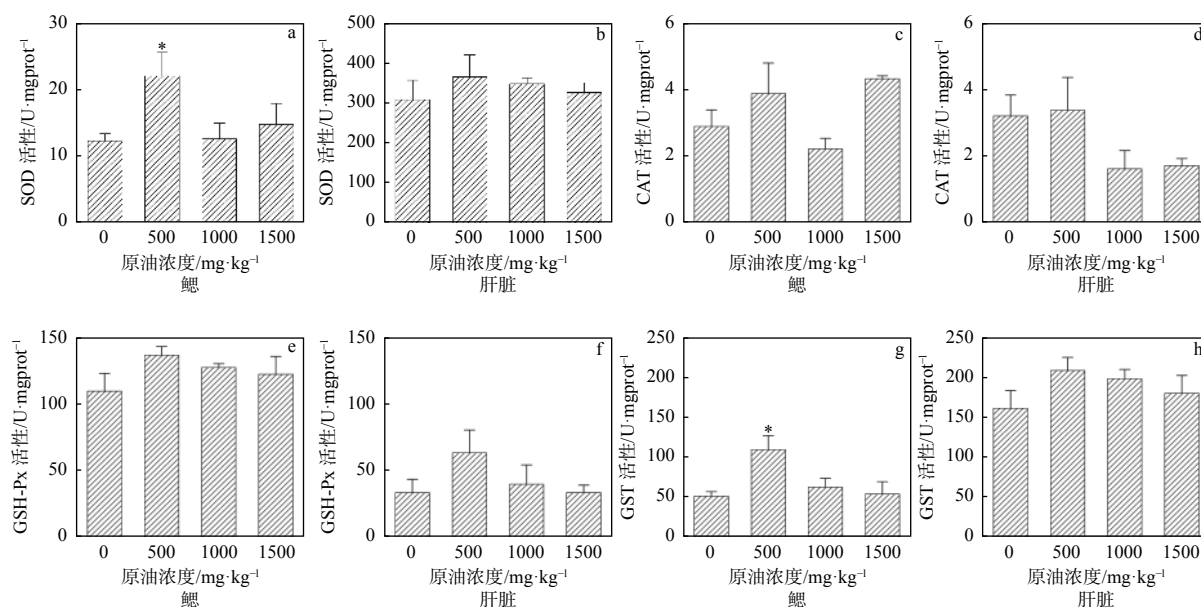


图 1 不同浓度原油对大弹涂鱼鳃和肝脏 4 种抗氧化酶活性影响(注: *表示与对照组相比差异性显著, $p < 0.05$)

Fig. 1 Effect of crude oil on the activities of four antioxidant enzymes in gills and liver of *Boleophthalmus pectinirostris* (Note: *indicates significant differences between treatment groups and control group, $p < 0.05$)

随着原油浓度的增加, SOD 酶活性下降明显, 但均高于对照组。在大弹涂鱼肝脏中, 各暴露组 SOD 酶活性与对照组差异均不显著 ($p > 0.05$), 在 500 mg/kg 浓度组时, SOD 酶活性值达到最大, 为对照组的 1.13 倍, 之后, 随着实验组浓度的增加 SOD 酶活性呈下降趋势。

如图 1c 所示, 大弹涂鱼鳃中 CAT 酶活性随原油暴露浓度的增加呈升高-降低-升高趋势, 且各暴露组中 CAT 酶活性与对照组差异均不显著 ($p > 0.05$)。其中, 在 500 mg/kg 浓度组时, CAT 酶活性受到诱导高于对照组, 是对照组的 1.34 倍; 在 1000 mg/kg 浓度组时, CAT 酶活性则低于对照组, 是对照组的 0.77 倍; 在 1500 mg/kg 浓度组时, CAT 酶活性受到诱导达到最大值且高于对照组, 是对照组的 1.49 倍。如图 1d 所示, 大弹涂鱼肝脏中 CAT 酶活性随着原油暴露浓度的增加呈先升高后降低趋势, 且各暴露组中 CAT 酶活性与对照组差异均不显著 ($p > 0.05$), 在 500 mg/kg 浓度组时, CAT 酶活性达到最大值且高于对照组, 之后, 随着暴露组浓度的增加 CAT 酶活性下降明显, 且均低于对照组。

如图 1e、图 1f 所示, 在暴露 48 h 后大弹涂鱼鳃和肝脏的 GSH-Px 酶活性变化趋势大致相

同, 呈先升高后下降趋势, 且各暴露组中 GSH-Px 酶活性与对照组差异均不显著 ($p > 0.05$)。其中, 大弹涂鱼鳃暴露在 500 mg/kg 浓度组时, GSH-Px 酶活性受到诱导达到峰值, 为对照组的 1.25 倍; 之后, 随着暴露组原油浓度的增加, GSH-Px 酶活性逐渐下降, 且各暴露组中 GSH-Px 酶活性均高于对照组。大弹涂鱼肝脏暴露于 500 mg/kg 浓度组时, GSH-Px 酶活性达到最大值, 为对照组的 1.89 倍; 之后, 随着暴露组浓度的增加, GSH-Px 酶活性逐渐下降, 在 1500 mg/kg 浓度组时达到最低值, 但均高于对照组。

如图 1g、图 1h 所示, 大弹涂鱼鳃和肝脏 GST 酶活性随着原油暴露浓度的增加呈先升高后降低趋势。大弹涂鱼鳃暴露于 500 mg/kg 浓度组时, GST 酶活性受到显著诱导高于对照组 ($p < 0.05$), 此时 GST 酶活性为对照组的 2.14 倍; 之后, 随着暴露组浓度的增加, GST 酶活性降低, 在 1500 mg/kg 浓度组时达到最低值, 但均高于对照组。大弹涂鱼肝脏中, 各暴露组 GST 酶活性与对照组差异均不显著 ($p > 0.05$), 其中, 500 mg/kg 暴露组 GST 酶活性最大 ($p > 0.05$), 为对照组的 1.43 倍; 之后, 随着原油浓度的增加, GST 酶活性逐渐下降, 在 1500 mg/kg 浓度组时达到最低值,

且各暴露组中 GST 酶活性均高于对照组。

2.1.3 4 种酶的最大诱导倍数差异

如表 3 所示, 与对照组相比, 大弹涂鱼鳃中 SOD、GSH-Px、GST 酶活性与肝脏中 4 种酶活性最大诱导倍数对应浓度皆为 500 mg/kg, 说明大弹涂鱼在接触原油时即产生氧化应激反应, 与低浓度下大弹涂鱼体内抗氧化酶活性升高趋势一致。比较大弹涂鱼鳃和肝脏中 4 种酶的最大诱导倍数发现, 大弹涂鱼鳃中 SOD、CAT、GST 酶活性最大诱导倍数均高于肝脏, 说明大弹涂鱼鳃对原油污染更加敏感。

表 3 大弹涂鱼鳃和肝脏 4 种酶活性最大诱导倍数差异
Tab.3 Differences of the maximum induction times of four enzyme activities in gills and liver of *Boleophthalmus pectinirostris*

组织	酶	最大诱导倍数	最大诱导倍数对应原油浓度/mg·kg ⁻¹
鳃	SOD	1.80±0.26	500
	CAT	1.52±0.21	1500
	GSH-Px	1.26±0.13	500
	GST	2.16±0.35	500
肝脏	SOD	1.20±0.21	500
	CAT	1.07±0.31	500
	GSH-Px	1.98±0.66	500
	GST	1.31±0.167	500

2.2 讨 论

抗氧化酶作为生物标志物已在海洋石油污染监测领域得到广泛应用, 可通过测定生物受原油污染后的抗氧化酶活性的变化评估潮间带的环境污染状况。有研究表明, 石油暴露对鱼体抗氧化酶系统毒性影响大部分集中在鳃和肝脏等靶组织中^[11], 鳃是抵抗污染物的第一道防线, 是污染物进入鱼体的重要途径之一^[12]; 肝脏是生物体内解毒的主要器官, 是多环芳烃代谢转化的主要场所^[13]。将大弹涂鱼暴露于原油污染, 其鳃和肝脏均发生氧化代谢清除自由基以维持生物体正常状态, 但由于鳃和肝脏结构及生理功能有所不同, 所以对污染物的敏感程度也存在差异。

经分析测定, 该实验中原油的主要成分为烷烃、多环芳烃和生物标志物, 其中烷烃和多环芳烃占比高达 94%。有研究表明, 烷烃类化合物难

溶于水, 易积聚于沉积物中^[14], 而多环芳烃溶解度比烷烃大, 具有“三致”效应, 毒性更强, 是原油危害的主要来源^[15], 同时多环芳烃具有亲脂性^[16], 更易进入生物体内。有研究表明, 动物活动对环境污染极为敏感^[17]。大弹涂鱼具有两栖性, 既可穴居于沉积物, 又可生活于水中, 实验暴露时间较短, 烷烃类化合物来不及降解。因此, 沉积物和水中的不溶性组分可直接附着于鳃和鱼体表面, 除对其造成物理损伤外, 原油水溶性组分和亲脂性成分亦会被吸收进鱼体, 即使该浓度不足以致死, 生物也会受到有毒的可溶性碳氢化合物的影响^[18]。石油化合物中的脂溶性组分进大弹涂鱼体内后, 在有关酶作用下经 I 相反应改变其化学结构, 形成某些极性基团(如 -OH、-SH、-COOH 等), 水溶性增加, 这些产物可与机体内的某些成分(如葡萄糖醛酸、氨基酸等)经 II 相反应即结合反应形成水溶性大、极性强的化合物, 易排出体外, 是一种解毒过程^[5]。除此之外, 石油烃在进入水生生物体后, 可通过自身或中间代谢产物的氧化还原反应产生大量活性氧自由基, 如超氧阴离子(O₂⁻)、·OH、H₂O₂ 等, 对生物细胞造成过氧化杀伤。在这些形式中, ·OH 和 O₂⁻最为活跃, 这导致了 CAT 和 SOD 最早参与解毒反应^[19], 其次为 GSH-Px 和 GST。

研究表明, 大弹涂鱼鳃和肝脏中 SOD、GSH-Px 和 GST 酶活性随着原油浓度增大呈先升高后降低趋势, 这之前海水石油污染后马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)、沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)中抗氧化酶活性变化等研究结论相似^[10,20]。在低浓度下 4 种酶活性均呈上升趋势, 这说明大弹涂鱼对原油产生氧化应激反应, 体内抗氧化酶开始清除过量 ROS 代谢产物, 减少 ROS 对细胞产生的损伤, 从而维持机体正常代谢, 这是大弹涂鱼应对污染的保护性反应^[21]。研究发现, 大弹涂鱼暴露于较高浓度原油中随着污染浓度增加鳃和肝脏出现酶活性抑制现象, 这表明原油浓度升高后细胞受到部分损伤, 肝脏中 CAT 表现尤为明显。

对比大弹涂鱼鳃和肝脏 2 种组织 4 种酶活

性最大诱导倍数发现,其鳃的敏感性大于肝脏,可能由于鳃是污染物最先聚集的主要区域。结合不同原油浓度对大弹涂鱼鳃和肝脏酶活性影响差异显著性发现,仅鳃中 SOD、GST 酶活性发生显著诱导现象(图 1a 和图 1g),这表明大弹涂鱼鳃 SOD、GST 对原油敏感性更强。原油中有有机物经鳃或体表进入生物体内后与 I 相解毒酶作用,经 II 相解毒酶催化与内源物质结合转化,完成在生物体内的代谢^[22]。外源物质在代谢过程中产生大量 ROS,此时,抗氧化酶发挥作用,清除过量 ROS 防止过氧化。SOD 作为解毒过程中的第一道抗氧化酶防御屏障^[20],通过歧化反应清除 O_2^- ,维持生物体稳态。GST 是生物体 II 相反应主要解毒酶,参与多种污染物的生物转化。在低浓度下, SOD、GST 酶表现出显著诱导,其酶活性变化能够反映生物体内毒性效应,相关研究结果也表明, SOD、GST 酶可作为生物标志物进行海洋石油污染监测预警^[23-24]。然而,在其常规性用于污染监测生物标志物之前,需要进行更多的毒性暴露实验研究并进行现场验证,以证明其可靠性。

3 结论

(1)污染暴露后,大弹涂鱼 4 种酶活性表现为低浓度诱导,高浓度抑制。大弹涂鱼暴露于原油污染后,体内抗氧化防御机制启动,并进行活性氧自由基消除和解毒等一系列功能响应。当原油胁迫超过其防御能力时,酶活性下降,会表现出抑制作用。

(2)大弹涂鱼鳃中 SOD、CAT、GST 酶活性最大诱导倍数均高于肝脏,表明大弹涂鱼鳃较肝脏对原油污染敏感性高。

(3)分析不同抗氧化酶活性差异显著性发现,大弹涂鱼鳃中 SOD、GST 酶活性对原油污染的响应更为敏感,较适合作为海洋石油污染监测的有效生物标志物。

参考文献:

- [1] JIANG Z B, HUANG Y J, CHEN Q Z, et al. Acute toxicity of crude oil water accommodated fraction on marine copepods: the relative importance of acclimatization temperature and body size[J]. *Marine Environmental Research*, 2012, 81: 12-17.
- [2] 吴 健. 溢油事故对河口滩涂生态系统的污染胁迫及生态损害评估研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- [3] BAUSSANT T, BECHMANN R K, TABAN I C, et al. Enzymatic and cellular responses in relation to body burden of PAHs in bivalve molluscs: a case study with chronic levels of North Sea and Barents Sea dispersed oil[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2009, 58(12): 1796-1807.
- [4] 蔡中华, 陈艳萍, 周 进, 等. 生物标志物(Biomarkers)在海洋环境监测中的研究与进展[J]. *生命科学*, 2012, 24(9): 1035-1048.
- [5] 王晓艳, 冯丽娟, 蒋凤华, 等. 原油水溶性成分对栉孔扇贝抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2013, 43(7): 45-50.
- [6] MARTÍNEZ-GÓMEZ C, FERNÁNDEZ B, VALDÉS J, et al. Evaluation of three-year monitoring with biomarkers in fish following the *Prestige* oil spill (N Spain)[J]. *Chemosphere*, 2009, 74(5): 613-620.
- [7] NAHRGANG J, CAMUS L, CARLS M G, et al. Biomarker responses in polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to the water soluble fraction of crude oil[J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 97(3): 234-242.
- [8] 陈大刚, 张美昭. 中国海洋鱼类[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2015.
- [9] GB 18668—2002, 海洋沉积物质量[S].
- [10] 段美娜, 杨柏林, 丁光辉, 等. 消油剂与 120# 燃料油对马粪海胆(*Hemicentrotus pul-cherrimus*)抗氧化酶活性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(6): 191-198.
- [11] NERO V, FARWELL A, LISTER A, et al. Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 63(3): 365-377.
- [12] EVANS D H, PIERMARINI P M, CHOE K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste[J]. *Physiological Reviews*, 2005, 85(1): 97-177.
- [13] MOREIRA S M, MOREIRA-SANTOS M, RIBEIRO R, et al. The 'Coral Bulker' fuel oil spill on the north coast of Portugal: spatial and temporal biomarker responses in *Mytilus galloprovincialis*[J]. *Ecotoxicology*, 2004, 13(7): 619-630.
- [14] 张 倩, 宋金明, 彭全材, 等. 胶州湾表层海水中的正构烷烃及其来源解析[J]. *环境科学*, 2017, 38(7): 2763-2772.
- [15] 沈君逸, 贾玉芳, 赵 文. 原油和消油剂对鱼类毒性的研究

- 进展[J]. *生物学杂志*, 2014, 31(5): 85-88, 98.
- [16] 李天云. 利用河蚬研究沉积物中有机氯农药和多环芳烃在生物体内的累积效应[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [17] COSTA L G. Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1996, 104(S1): 55-67.
- [18] BRAGA M A, BRAUKO K M, VICENTINI M, et al. Cytotoxicity and enzymatic biomarkers as early indicators of benthic responses to the soluble-fraction of diesel oil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164: 21-31.
- [19] BONET B, CORCOLL N, GUASCH H. Antioxidant enzyme activities as biomarkers of Zn pollution in fluvial biofilms[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 80: 172-178.
- [20] 李井懿, 童一帆, 程千卉, 等. 海水中原油对双齿围沙蚕 (*Perinereis aibuhitensis*) 的急性毒性效应及其体内抗氧化酶活性的影响[J]. *环境科学研究*, 2018, 31(11): 1972-1978.
- [21] 蒋凤华, 高伟, 赵美丽, 等. 原油污染对栉孔扇贝抗氧化酶活性的影响[J]. *海洋科学*, 2012, 36(7): 28-33.
- [22] YUAN M Q, WANG Y, ZHOU B, et al. An integrated biomarker response index for the mussel *Mytilus edulis* based on laboratory exposure to anthracene and field transplantation experiments[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2017, 35(5): 1165-1178.
- [23] LUNA-ACOSTA A, BUSTAMANTE P, THOMAS-GUYON H, et al. Integrative biomarker assessment of the effects of chemically and mechanically dispersed crude oil in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 598: 713-721.
- [24] 任加云, 苗晶晶, 李学平, 等. 石油烃暴露对栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 组织生物转化酶及DNA损伤的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2016 (3): 46-54.

(上接第 134 页)

- [8] 池源, 石洪华, 孙景宽, 等. 城镇化背景下海岛资源环境承载力评估[J]. *自然资源学报*, 2017, 32(8): 1374-1384.
- [9] KERSTETTER D L, BRICKER K S. Relationship between carrying capacity of small island tourism destinations and quality-of-life[M]//UYSAAL M, PERDUE R, SIRGY M. *Handbook of Tourism and Quality-of-Life Research. International Handbooks of Quality-of-Life*. Dordrecht: Springer, 2012.
- [10] 刘伟. 海岛旅游环境承载力研究[J]. *中国人口·资源与环境*, 2010, 20(5): 75-79.
- [11] GUYONDET T, ROY S, KOUTITONSKY V G, et al. Integrating multiple spatial scales in the carrying capacity assessment of a coastal ecosystem for bivalve aquaculture[J]. *Journal of Sea Research*, 2010, 64(3): 341-359.
- [12] 张志卫, 丰爱平, 李培英, 等. 基于能值分析的无居民海岛承载力: 以青岛市大岛为例[J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(4): 572-575, 585.
- [13] CAO J K, ZHANG J, MA S Q. The analysis of water resource ecological carrying capacity of Hainan international Island[J]. *Ecosystem Assessment and Fuzzy Systems Management*, 2014, 254: 63-71.
- [14] ZHANG L Y, CHUNG S S, QIU J W. Ecological carrying capacity assessment of diving site: a case study of Mabul Island, Malaysia[J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, 183: 253-259.
- [15] SHI H H, SHEN C C, ZHENG W, et al. A model to assess fundamental and realized carrying capacities of island ecosystem: A case study in the southern Miaodao Archipelago of China[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2016, 35(2): 56-67.
- [16] 涂振顺, 杨顺良, 姬厚德. 无居民海岛资源环境承载力多目标规划模型初探[J]. *海洋开发与管理*, 2018, 35(3): 81-86.
- [17] ZHANG R J. Assessing the carrying capacity of tourist resorts: an application of tourists' spatial behavior simulator based on GIS and multi-agent system[J]. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 2005, 10(4): 779-784.
- [18] 狄乾斌, 韩增林, 刘锴. 海岛地区人口容量与海洋水产资源承载力初步研究——以大连长海县为例[J]. *中国渔业经济*, 2007 (2): 28-33.
- [19] 李保磊, 赵玉慧, 杨琨, 等. 渤海海洋环境状况及保护建议[J]. *海洋开发与管理*, 2016, 33(10): 59-62.
- [20] 张晓霞, 陶平, 程嘉熠, 等. 海岛近岸海域资源环境承载能力评价及其应用[J]. *环境科学研究*, 2016, 29(11): 1725-1734.
- [21] 杨正先, 索安宁, 张振冬, 等. “短板效应”理论在资源环境承载能力评价中的应用及优化研究[J]. *海洋环境科学*, 2018, 37(4): 602-607.
- [22] 张志锋, 索安宁, 杨正先, 等. 海洋资源环境承载能力评价预警技术与实践[M]. 北京: 海洋出版社, 2019.
- [23] 任保卫. 无居民海岛资源环境承载力监测与预警评价试点研究——以三沙湾为例[J]. *海洋环境科学*, 2018, 37(4): 545-551.
- [24] 张晓昱, 花卫华, 袁广旺, 等. 江苏省无居民海岛资源环境承载力评价[J]. *江苏海洋大学学报: 自然科学版*, 2020, 29(1): 56-61.