

溢油污染对蟹类幼体的急性毒性效应

唐峰华^{1,2}, 沈鑫绿, 沈新强*

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 上海200090; 2. 上海海洋大学, 上海200090)

摘要 [目的] 了解不同油品对2种蟹类的毒性效应。[方法] 选择国内外常见的4种原油和4种燃料油, 通过油类母液制备和试验液配制, 采用半静态试验法, 研究不同油品对三疣梭子蟹和锯缘青蟹2种蟹类幼体的毒性效应。[结果] 4种原油中, TJ016、TJ015、TJ014、TJ002对三疣梭子蟹和锯缘青蟹2种幼蟹的96 h LC₅₀分别为1 450.095和4 937.369 ng/L、744.342和4 008.723 ng/L、241.671和1 254.620 ng/L、926.612和1 181.351 ng/L。4种燃料油中, -20[#]柴油、F380、F120、F180对2种幼蟹的96 h LC₅₀分别为1 195.187和405.041 ng/L、172.168和5 497.524 ng/L、61.754和287.524 ng/L、12.989和320.873 ng/L。[结论] 8种油对三疣梭子蟹的毒性效应的大小顺序是:F180 > F120 > F380 > TJ014 > TJ015 > TJ002 > -20[#]柴油 > TJ016, 除-20[#]柴油外, 燃料油比原油的毒性效应大; 8种油对锯缘青蟹的毒性效应的大小顺序是:F120 > F180 > -20[#]柴油 > TJ002 > TJ014 > TJ015 > F380 > TJ016, 除F380外, 燃料油比原油的毒性效应大。

关键词 石油类; 蟹类; LC₅₀; 毒性效应

中图分类号 S968.25 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)17-08027-03

Acute Toxicity Effects of Spilled Petroleum Pollution on Crab Larvae

TANG Feng-hua et al. (East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries of Agricultural Ministry, Shanghai 200090)

Abstract [Objective] The aim of the study was to find out the toxicity effects of different oil products on two kinds of crab. [Method] 4 kinds of crude petroleum and 4 kinds of fuel oil common at home and abroad were selected to study the toxicity effects of different oil products on the larvae of *Portunus trituberculatus* and *Scylla serrata*. [Result] Among 4 kinds of crude oil, the 96 h LC₅₀ of the larvae of *P. trituberculatus* and *S. serrata* stressed by TJ016, TJ015, TJ014 and TJ002 were 1 450.095 and 4 937.369 ng/L, 744.342 and 4 008.723 ng/L, 241.671 and 1 254.620 ng/L, 926.612 and 1 181.351 ng/L resp. Among 4 kinds of fuel oil, the 96 h LC₅₀ of two crabs stressed by No. -20 fuel oil, F380, F120, F180 were 1 195.187 and 405.041 ng/L, 172.168 and 5 497.524 ng/L, 61.754 and 287.524 ng/L, 12.989 and 320.873 ng/L. [Conclusion] The toxicity intensity of 8 kinds of oil for the larvae of *P. trituberculatus* in order were F180 > F120 > F380 > TJ014 > TJ015 > TJ002 > No. -20 fuel oil > TJ016 and that for the larvae of *S. serrata* in order were F120 > F180 > No. -20 fuel oil > TJ002 > TJ014 > TJ015 > F380 > TJ016.

Key words Petroleum; Crab; LC₅₀; Toxicity effect

随着我国对外开放和国民经济的迅速发展, 海上船舶来往频繁, 溢油事故时有发生。溢油事故在污染海洋环境的同时, 往往导致海洋生物大量死亡, 影响食物链的循环, 从而破坏海洋生态平衡和降低海洋环境的使用质量。溢油事故形成的大面积油膜可阻隔正常的海气交换过程, 甚至可使气候发生异常^[1]。

石油污染对海洋生物的危害越来越被人们重视。不同的油品, 由于其组分不同, 毒性效应也不同。一般低沸点的芳香族烃对一切生物都具有毒性, 而高沸点芳香烃具有长效毒性^[2-3]。目前国内关于溢油污染的研究主要集中在石油污染对海洋生态环境和渔业的影响方面^[4-6], 以及单一油品对一些具体的海洋生物的生理影响上^[7-9], 但在不同油品对同一海洋生物的毒性效应的系统研究方面鲜见报道, 特别是对蟹类的毒性效应研究更是少见。笔者选择国内外常见的4种原油和4种燃料油, 开展对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)和锯缘青蟹(*Scylla serrata*)幼体的急性毒性试验, 旨在了解不同油品对2种蟹类的毒性效应, 以为科学评价不同油类污染对底栖性生物资源的影响提供依据。

1 材料与试验方法

1.1 材料 受试生物三疣梭子蟹和锯缘青蟹取自浙江省象山县东陈育苗场, 试验前受试生物暂养2 d, 选择足够数量、个体差异不大的三疣梭子蟹和锯缘青蟹幼体供试验用。其

中, 三疣梭子蟹的平均体长(0.750 ± 0.005) cm, 平均体重(0.020 ± 0.005) g; 锯缘青蟹的平均体长(2.000 ± 0.500) cm, 体重(0.006 ± 0.002) g。试验用水为取自象山东陈育苗场的海水, 沙滤后用于试验。

试验用4种原油分别是印尼原油(TJ016)、沙特原油(TJ015)、伊朗原油(TJ014)、俄罗斯原油(TJ002), 4种燃料油分别为-20[#]柴油、F380、F120、F180, 均由交通部水运科学研究所提供。

1.2 油类母液制备和试验液配制

1.2.1 油类母液制备。将8种油分别与过滤海水按1:500(W/W)配比, 作为母液浓度。先采用磁力搅拌器搅拌30 min, 预热温度控制在40℃以内, 再置于超声清洗器中连续振荡8 h, 静置冷却后注入母液贮瓶中。

1.2.2 试验液配制。曝油前, 根据不同试验要求按一定浓度间距配制试验液系列, 设4个浓度组加1个空白组, 同时设1个平行组。在对受试蟹类预试验的基础上, 确定各试验油品浓度设置具体如下: 原油TJ016、TJ015、TJ014、TJ002的浓度分别为2 000、200、20、2 ng/L; 而燃料油-20[#]柴油、F380、F120、F180的浓度分别为200、20、2、0.2 ng/L。

1.3 试验方法 试验在细胞培养板中进行, 每组投入20 ind. 仔蟹, 满足统计学要求, 采用半静态试验, 即48 h更换试验溶液, 保持浓度不变, 进行96 h毒性试验。试验期间, 水温:(25 ± 2)℃; 盐度:23.5‰~25.0‰; pH值7.43~8.34; DO: > 5.0 mg/L。在试验过程中, 每隔2 h记录1次受试生物的死亡数, 计算其24、48、72和96 h的死亡率。

1.4 数据统计方法 采用概率-对数法计算24、48、72及96 h LC₅₀值^[10], 并运用SPSS软件检验剂量-反应相关关系

基金项目 国家科技支撑计划资助项目(2006BAC11B03); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(2007-M9)。

作者简介 唐峰华(1982-), 男, 浙江湖州人, 硕士研究生, 研究方向: 渔业水域环境评价与保护。* 通讯作者, 研究员, E-mail: xinjiang.shen@hotmail.com。

收稿日期 2009-03-05

的显著性。

2 结果与分析

2.1 8 种油对三疣梭子蟹幼体的毒性效应 试验过程中,从开始至 24 h,4 种原油中各个浓度组板孔中的幼蟹均未有异常表现,活动正常。直到 48 h,试验中开始出现幼蟹死亡情况。由试验现象可以初步说明:4 种原油中,TJ016 对幼蟹的毒害作用反应最慢,其他 3 种相对较快;4 种燃料油中,F120 和 F180 对幼蟹的毒害作用反应最快,-20# 柴油毒性最慢。8 种油对三疣梭子蟹幼体毒性的 96 h 剂量-反应相关关系及线性显著性如表 1 所示。

表 1 8 种油对三疣梭子蟹幼体急性毒性的剂量-反应相关关系

Table 1 Dose reaction correlation of acute toxicity of eight kinds of oil to the larvae of *Portunus trituberculatus*

油品 Oil	剂量-反应的相关线性 Dose reaction correlation	相关系数 r	显著性检验 F
TJ016	$y = 0.6072x + 3.0804$	0.9264	18.15*
TJ015	$y = 1.1464x + 1.7078$	0.7977	5.25
TJ014	$y = 0.6641x + 3.4173$	0.9557	31.59**
TJ002	$y = 0.5770x + 3.2881$	0.9896	141.83**
-20# 柴油	$y = 0.4649x + 3.5693$	0.9294	12.68*
F380	$y = 0.7226x + 3.3843$	0.9862	70.85**
F120	$y = 0.8226x + 3.5270$	0.9852	66.29**
F180	$y = 1.5956x + 3.2232$	0.9474	17.53*

注:y 为死亡概率单位,x 为溢油浓度的对数值;* 表示 $0.01 < P < 0.05$ 为显著,** 表示 $P < 0.01$ 为特别显著,无* 表示不显著。下同。

Note:y stands for death probit;x stands for the logarithm value of spilled oil concentration;* mean significance($0.01 < P < 0.05$) and ** mean extremely significance($P < 0.01$);The data without * had no significant difference. The same as below.

8 种油不同时间段对三疣梭子蟹幼体的半致死浓度如图 1 所示。以 96 h LC_{50} 为判据,结果说明,8 种油对三疣梭子蟹毒性效应的大小顺序是:F180 > F120 > F380 > TJ014 > TJ015 > TJ002 > -20# 柴油 > TJ016。由此可见,除 -20# 柴油外,燃料油比原油的毒性效应大。

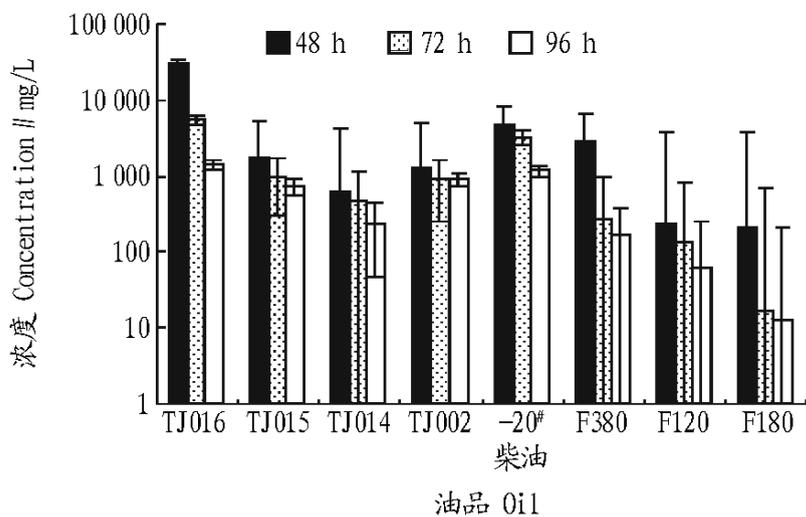


图 1 8 种油对三疣梭子蟹幼体不同时间段的半致死浓度

Fig.1 LC_{50} of eight kinds of oil to the larvae of *Portunus trituberculatus* at different time

2.2 8 种油对锯缘青蟹幼体的毒性效应 锯缘青蟹试验组的现象与三疣梭子蟹的情况类似,8 种油对锯缘青蟹幼体毒性的 96 h 剂量-反应相关关系及线性显著性见表 2。不同的是,其出现死亡的时间提早,24 h 内各高浓度组和次浓度组

均已出现死亡现象,即存在 24 h 的半致死浓度。同样,4 种原油中,TJ016 对幼蟹的毒害作用反应最慢;4 种燃料油中,F120 和 F180 对幼蟹的毒害作用反应最快,毒性最慢的是 F380。

表 2 8 种油对锯缘青蟹幼体急性毒性的剂量-反应相关关系

Table 2 Dose reaction correlation of the acute toxicity of eight kinds of oil to the larvae of *Scylla serrata*

油品 Oil	剂量-反应的相关线性 Dose reaction correlation	相关系数 r	显著性检验 F
TJ016	$y = 3.5745x - 8.2024$	0.9983	9.52*
TJ015	$y = 1.7232x - 1.2087$	0.8799	10.29*
TJ014	$y = 1.9023x - 0.8943$	0.9576	44.20**
TJ002	$y = 1.9163x - 0.8876$	0.9606	47.72**
-20# 柴油	$y = 2.3470x - 1.1198$	0.9374	21.74*
F380	$y = 1.6978x - 1.2556$	0.8774	10.03*
F120	$y = 2.4549x - 1.0358$	0.9320	19.83*
F180	$y = 2.4318x - 1.0949$	0.9378	21.90*

8 种油各时间段对锯缘青蟹幼体的半致死浓度如图 2 所示。以 96 h LC_{50} 为试验终点,结果说明,8 种油对锯缘青蟹毒害作用的大小顺序是:F120 > F180 > -20# 柴油 > TJ002 > TJ014 > TJ015 > F380 > TJ016。由此可见,除 F380 外,燃料油比原油的毒性效应大。

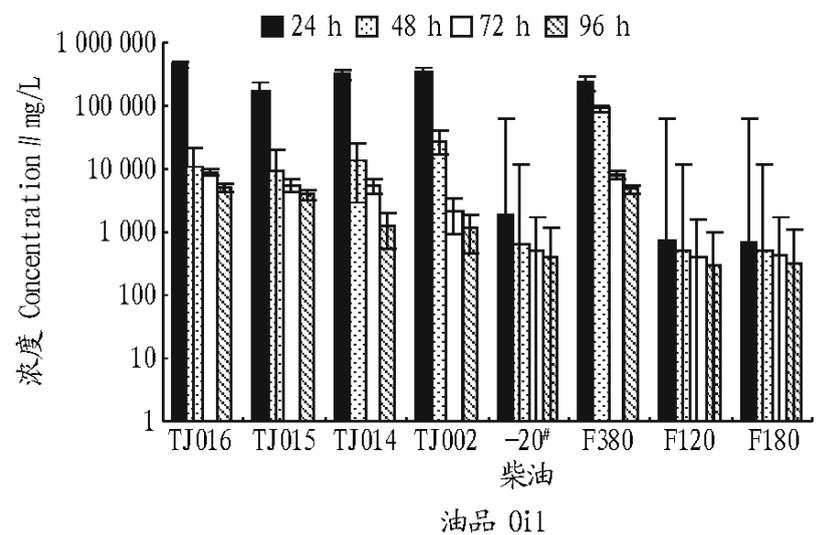


图 2 8 种油对锯缘青蟹幼体不同时间段的半致死浓度

Fig.2 LC_{50} of eight kinds of oil to the larvae of *Scylla serrata* at different time

3 讨论

3.1 不同油类对蟹类毒性效应差异性分析 每种油的水溶性、芳香烃含量、不同时间的蒸发量都是不一样的,所以造成其生物累积性和持续性都是有差异的,最终致使不同油种对生物和环境的毒害具有差异性^[11]。以 96 h 为试验终点,8 种不同的油类对 2 种蟹类的毒性效应差异性结果比较见图 3。其中原油 TJ016 其乳化冷却后的油膜呈固体状,对 2 种蟹类没有油膜阻氧的毒害作用,是致使其毒害作用偏小的一个原因;而其他 3 种原油乳化后油膜较厚,特别是 TJ015、TJ014 最高浓度组油膜呈黑色,致使蟹类幼体严重缺氧而死亡。燃料油中 F180 和 F120 的乳化液乳化效果较好,呈淡黄色,同时油膜也较厚,是造成 F180 和 F120 毒性偏大的原因之一。而 -20# 柴油其乳化后的液体呈白色透明状,油膜很薄,其对蟹类幼体的阻氧作用不明显,整个试验中最高浓度组死亡率低,对蟹类幼体的毒害作用较小。

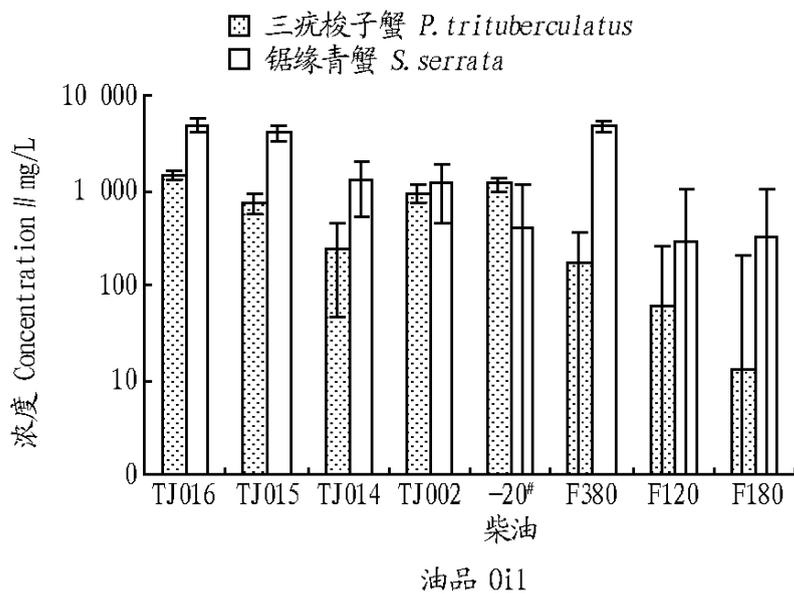


图3 8种不同的油类对2种蟹类的96h半致死浓度比较

Fig. 3 The comparison of 96h LC₅₀ of eight links of oil to two links of crabs

无论从试验过程中观察到的现象,还是从半致死浓度的比较中均可得出:燃料油的毒性效应普遍比原油大。这一试验结果与相关文献报道的不同油类水溶性毒性的大小相符合。Rice等试验了Cook Inlet原油和2号燃料油对39种海洋生物的毒性,发现2号燃料油对海洋鱼类、甲壳类、贝类和棘皮类的毒性均大于原油^[12]。Anderson等和Tatem等将仔虾曝于3种油类溶液中,发现油类的毒性大小顺序为:轻质燃料油>重质燃料油>原油^[13-14]。

3.2 溢油污染对海洋生物的毒害机理 不同油类的毒性差异是由其所含组分差异所造成的,尤其与低分子量烷烃和芳香烃的组成及其绝对含量有密切关系。特别是海洋生物的幼体,对石油污染都十分敏感,这是因为它们的神经中枢和呼吸器官都很接近表皮,而表皮都很薄,有毒物质很容易侵入体内,而且幼体运动能力较差,不能及时逃离污染区域。所以一旦出现海上溢油事故,不但对游泳动物和鱼类产生影响,而且对所有海洋生物的幼体包括底栖生物都将产生深远的毒害作用。如美国海洋生物学家们研究了1969年发生于美国东部海域的一次中等程度的石油污染事件的后果指出,石油污染对蟹类幸存者的损害有种种表现,例如动作迟缓、发育畸形、生长缓慢等,直到石油污染后的4~5年,在蟹类生物细胞组织中,仍能发现遗存着石油衍生物质的痕迹^[15]。由此可见,对溢油污染事故进行正确的评估,准确测算污染水平,是至关重要的任务。

关于油类污染对海洋生物的毒害机理探讨的文献不多。在生物化学方面,刘发义报道了不同浓度的胜利油田原油对梭鱼(*Mugil soiyu*)肝脏混合功能氧化酶(MFO)中的芳烃羟化酶(AHH)活性的诱导效应,认为在梭鱼肝脏有效解毒能力范围内,海水中原油浓度与AHH活性成正比^[16]。唐森铭等使

用中尺度底栖生态系在模拟的生态环境下对菲律宾蛤仔群落的柴油污染效应作了初步研究,讨论了底质油污对蛤仔群落的潜在影响^[17]。而在分子生物学方面的报道更是鲜见,郁昂等研究表明,DNA损伤的程度随污染时间的延长而增加,并存在一定的剂量-效应关系;解除污染后,DNA损伤恢复到对照水平;DNA损伤可作为监测海洋石油污染的生物标志物^[18]。

该研究采用磁力搅拌器搅拌、一定时间的超声波乳化等操作,模拟溢油在海洋中风浪、涡动、湍流作用下的乳化过程^[19],以及用培养板作为试验容器,较好地阻止了2种幼蟹相互的侵扰和捕食。并通过试验,获得8种不同油品对三疣梭子蟹和锯缘青蟹的急性毒性效应值。在此基础上,计划下一步从蟹类的酶活性、血清蛋白等生物化学方面研究石油污染的毒性效应。

参考文献

- [1] 田立杰,张瑞安.海洋油污对海洋生态环境的影响[J].海洋湖沼通报,1999(2):65-69.
- [2] LAWS EDWARD A.水污染导论[M].余刚,张祖麟,牛军峰,等,译.北京:科学出版社,2004:431-480.
- [3] 薛秋红,孙耀,王修林,等.紫贻贝对石油烃的生物富集动力学参数的测定[J].海洋水产研究,2001,22(1):32-36.
- [4] 王伟杰,吴长江.海洋石油污染对渔业的危害及其防治对策[J].山东环境,1995(2):20-21.
- [5] 张瑞安.油污对渔业生态影响严重[J].海洋信息,1997(6):20-21.
- [6] 沈新强,丁跃平,袁骥.海洋溢油事故对天然渔业资源损害评估[J].中国农业科技导报,2008,14(1):60-64.
- [7] 蔡子平,庄栋法,陈孝麟,等.柴油在海洋底栖围隔生态系中的分布及其变化[J].台湾海峡,1995,14(1):5-8.
- [8] 沈阔,张勤,徐韧.石油污染对莫桑比克罗非鱼血清酶活性的影响[J].海洋环境科学,1998,20(4):60-64.
- [9] 翁妍,郑微云,余群.石油污染对真鲷幼体谷胱甘肽过氧化物酶影响的研究[J].环境科学学报,2001,20(1):91-94.
- [10] 王桂春,张兆琪.氯化钠和碱度对罗氏沼虾仔虾的毒性研究[J].青岛海洋大学学报:自然科学版,2001,31(4):523-528.
- [11] 贾小平,林钦.广东沿海牡蛎石油烃污染研究V.牡蛎体中的芳香烃化合物[J].海洋环境科学,1992,11(3):18-23.
- [12] RICE S D, MOLES A, TAYLOR T T, et al. Sensitivity of 39 estuarine species to cook inlet crude oil and No.2 fuel oil. Proceedings of 1979 oil spill conference[M]. Washington D.C.:National Academy Press, 1979:161-168.
- [13] ANDERSON J W, NEFF J M, COX B A, et al. Characteristics of dispersions and water soluble extracts of crude oil and refined oil and their toxicity to estuarine crustaceans and fish[J]. Mar Biol, 1974, 27(1):75-88.
- [14] TATEM H E, LOX B A, ANDERSON J N, et al. The toxicity of oils and petroleum hydrocarbons to estuarine crustaceans[J]. Estuarine Coastal Mar Sci, 1978, 6(3):365-373.
- [15] MOHNH A BOHICOB, 刘爱菊, 李若钝.石油污染对海洋生态系统的影晌[J].海岸工程,1995,14(4):61-65.
- [16] 刘发义.石油污染对梭鱼肝脏混合功能氧化酶的影响.不同浓度原油对AHH活性的诱导[J].海洋环境科学,1991,10(3):49-51.
- [17] 唐森铭,庄栋法.中尺度底栖生态系中贝类群落对柴油污染效应的初步研究[J].生态学报,1993,15(4):85-90.
- [18] 郁昂,陈荣,王重刚.柴油水溶性成分对僧帽牡蛎DNA损伤的初步研究[J].海洋科学,2004,28(11):10-14.
- [19] 赵云英,杨庆霄.溢油在海洋环境中的风化过程[J].海洋环境科学,1997,16(1):45-52.

istry, 1997, 16(9):1373-1391.

- [13] 罗祖友,程超,李伟,等.藤茶水溶性多糖的分离纯化及性质的研究[J].食品科学,2007,28(1):151-154.

(上接第7980页)

- [12] DCAPEKP, MATULOV M, KARDO OV A. An acidic heteropolysaccharide from the flowers of *Milva mauritiana* L. [J]. Journal of Carbohydrate Chem