

萘对斑马鱼(*Danio rerio*)内脏团抗氧化防御系统的胁迫与生物响应

王隽媛, 边红枫, 金香琴, 盛连喜*

(东北师范大学城市与环境科学学院, 国家环境保护湿地生态与植被恢复重点实验室, 长春 130024)

摘要: 经急性毒性实验, 得到萘对成体斑马鱼 96 h 的半数致死浓度(LC₅₀) 为 11.8 mg·L⁻¹. 在此基础上, 设置 5 个浓度梯度: 0、1/6 LC₅₀、1/4 LC₅₀、1/3 LC₅₀、1/2 LC₅₀, 研究了在不同的暴露时间下(0.5、1、2、4、14 d), 萘对斑马鱼抗氧化防御系统的影响. 结果表明, 还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx) 和谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST) 对萘非常敏感, 在暴露 0.5 d 时就受到抑制或诱导. 0.5 d 后 GPx 活性整体上调, 只在第 14 d 时高浓度组(1/3 LC₅₀ 和 1/2 LC₅₀ 浓度组) GPx 活性被抑制; GST 和 GSH 则总体上是低于对照的. 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) 活性在 2d 后呈现先诱导后抑制; 过氧化氢酶(catalase, CAT) 活性在 1 d 后整体上受抑制. 萘对斑马鱼内脏团抗氧化防御系统能产生影响, 其变化可作为生物标志物, 来评价暴露于多环芳烃有机污染物的鱼类的生物学效应.

关键词: 萘; 斑马鱼(*Danio rerio*); 急性毒性; 抗氧化防御系统

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0516-06

Stress and Biological Response of Naphthalene on the Antioxidant Defense System in Visceral Mass of Zebrafish (*Danio rerio*)

WANG Jun-yuan, BIAN Hong-feng, JIN Xiang-qin, SHENG Lian-xi

(State Environmental Protection Key Laboratory of Wetland Ecology and Vegetation Restoration, College of Urban and Environmental Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China)

Abstract: With the acute toxicity test, we obtained the median lethal concentration (LC₅₀) of naphthalene to the zebrafish for 96 h, which was 11.8 mg·L⁻¹. Then we set up five treatments (0, 1/6 LC₅₀, 1/4 LC₅₀, 1/3 LC₅₀ and 1/2 LC₅₀) and exposed zebrafish to these treatments for 0.5, 1, 2, 4, 7 and 14d respectively to study the effects of naphthalene on the antioxidant defense system in visceral mass of zebrafish. The results showed that GSH, GPx and GST were very sensitive to naphthalene and were inhibited or induced at 0.5 d exposure. The activities of GPx were induced on the whole after 0.5 d, but were inhibited at higher concentration treatments (1/3 LC₅₀ and 1/2 LC₅₀ treatments) at 14d exposure; while the activities of GST and the contents of GSH were almost lower than that of the control. The activities of SOD were induced first and then inhibited after 2d; the activities of CAT were inhibited almost in the all treatments after 1d. The effects of naphthalene on the antioxidant defense system in visceral mass of zebrafish could be used as biomarkers to estimate the biological effect of fish exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons.

Key words: naphthalene; zebrafish(*Danio rerio*); acute toxicity; antioxidant defense system

萘是重要的化工原料, 被广泛用作制备染料、树脂、溶剂等, 也用作驱虫剂(俗称樟脑丸), 由于其低毒长效的特性被列入美国及欧共体环境保护机构所确定的优先控制污染物黑名单^[1]. 它可通过城市生活污水、工业废弃物、大气沉降、表面径流以及土壤漫析等途径进入水体, 危害水生生物的生长、发育和繁殖, 而且对人体健康有潜在危害^[2, 3], 现已成为水质保护的又一新课题.

抗氧化防御系统是鱼体内重要的活性氧清除系统. 当生物体内活性氧自由基生成量增加时, 其活性防御成分抗氧化酶和部分抗氧化剂的合成随即增加, 因此, 抗氧化防御系统成分的改变可以作为机体遭受氧化胁迫的早期预警生物标志物. 抗氧化防御

系统主要包括抗氧化酶以及抗氧化小分子. 前者如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx), 后者包括谷胱甘肽(GSH)、维生素E和胡萝卜素等^[4, 5].

目前, 国内外对萘污染的研究主要集中于耐污植物与微生物的生物去除与修复^[6-12]. 关于萘污染对鱼体毒理学的研究报道鲜见^[13-15], 国内此方面的研究更少^[2]. 本研究以标准实验鱼斑马鱼(*Danio*

收稿日期: 2008-04-02; 修订日期: 2008-05-21

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2004CB418505); 吉林省科技发展计划项目(20065021)

作者简介: 王隽媛(1983~), 女, 硕士, 主要研究方向为环境生态学, E-mail: wangjy911@nenu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: shenglx@nenu.edu.cn

rerio) 为实验材料, 试图通过分析萘暴露下斑马鱼内脏团抗氧化防御系统——SOD、CAT、GPx、GST 活性和 GSH 含量的变化, 探讨萘通过氧化还原途径的致毒机制, 以及以上指标作为萘污染水体中的生物标记的可行性。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

T6 新世纪普析通用紫外分光光度计, Sigma 高速冷冻离心机。

5, 5'-二巯基-2, 2'-二硝基苯甲酸(DTNB) (购自 Sigma); SOD 活性测定试剂盒(购自南京建成)。其余试剂均采用分析纯, 萘(AR) 购自北京化工厂。

1.2 实验生物及助溶剂选择

实验对象为当年生成体斑马鱼(*Danio rerio*), 购自长春市青怡坊花鸟鱼市场。实验前在实验室驯养 2 周, 采用自然光照周期, 早晚定时投喂定量观赏鱼饲料, 自然死亡率 < 1%。平均体长 $2.5 \text{ cm} \pm 0.1 \text{ cm}$, 平均体重 $0.27 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}$ 。试验用水为曝气充氧除氯 24 h 以上的自来水, 水温 $23^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 。水质条件 pH 7.0 左右, 溶解氧 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。

乙醇、二甲基亚砷和丙酮都可作为助溶剂。Hallare 等^[6] 试验证明丙酮对斑马鱼影响最小, 本试验选择丙酮作为助溶剂, 其在本试验中的最高用量为 $0.68 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$, 占试验溶液体积的 0.068% (< 0.1%), 满足助溶剂使用的要求。

1.3 急性毒性试验

按鱼类急性毒性试验标准方法^[7] 进行。在预实验的基础上设置 10、10.8、11.6、12.6、13.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 5 个浓度梯度, 同时以空白和丙酮为对照, 均设 3 个平行。在每一试验浓度组和对照组的 2 L 试验液中随机放入 10 尾斑马鱼。试验期间温度 $23^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 不投饵, 每天更换相同浓度的溶液 1/2, 按时观察鱼的中毒症状并及时将死鱼捞出, 记录死鱼数量。用 SPSS 10.0 统计分析软件中的 Probit 方法计算 96 h 半数致死浓度(median lethal concentration, LC_{50})。

1.4 萘暴露胁迫试验

在急性毒性试验的基础上, 设 5 个浓度梯度: 0、1/6 LC_{50} 、1/4 LC_{50} 、1/3 LC_{50} 、1/2 LC_{50} 。每个浓度组 100 尾鱼, 分别置于 $50 \text{ cm} \times 20 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$ 玻璃缸中, 每缸盛水 28 L。试验期间温度基本稳定在 $23^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 每天更换相同浓度的溶液 1/2, 投放定量观赏鱼饲料。

分别于暴露的 0.5、1、2、4、7、14 d 取样, 将 10

尾斑马鱼活体解剖, 取出内脏团, 迅速置于冰浴中, 按 1: 30(质量浓度) 的比例加入预冷的 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5), 匀浆后将匀浆液于 4°C , 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min, 取上清液置于 -75°C 冰箱中保存, 用于 SOD、CAT、GPx、GST 活性分析和蛋白质含量测定。另取 5 尾鱼, 解剖, 称重, 按组织: 5% 三氯乙酸(0°C) 为 1: 5 的比例制取匀浆, 于 4°C , 5 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min, 取上清液用于 GSH 含量测定。

1.5 谷胱甘肽含量及酶活性的测定

还原型谷胱甘肽(GSH) 含量测定采用 Beutler 改良法^[18], 超氧化物歧化酶(SOD) 活性的测定采用黄嘌呤氧化酶法(南京建成试剂盒)^[19], 过氧化氢酶(CAT) 活性的测定采用紫外分光光度法^[20], 谷胱甘肽过氧化物酶(GPx) 活性的测定采用 DTNB 直接显色法^[8], 谷胱甘肽硫转移酶(GST) 活性的测定采用 CDNB 比色法^[18]。

1.6 酶样蛋白质含量测定

蛋白质含量用 Bradford 方法测定, 以牛血清白蛋白(BSA) 为标准蛋白^[21]。

1.7 统计分析

实验结果表示为平均数 \pm 标准误差(mean \pm SDE)。使用 SPSS 10.0 统计软件和单边 ANOVA 法对组间数据进行差异性显著分析, $p < 0.05$ 表明差异显著, $p < 0.01$ 表明差异极显著。

2 结果与分析

2.1 96 h 急性毒性试验

在试验过程中, 试验鱼投入试验液后都首先呈现游动速度加快。1 h 后, 在高浓度组中的鱼逐渐出现侧游 \rightarrow 仰游 \rightarrow 沉底 \rightarrow 部分死亡的变化过程。低浓度组鱼出现症状时间较晚, 中毒特征与高浓度组相同, 但挣扎时间较长。根据实验过程中观察和记录的试验样本的死亡数, 计算出萘对斑马鱼 96 h 半数致死浓度(LC_{50}) 的值为 $11.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其 95% 置信限为 $11.4 \sim 12.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 萘对斑马鱼内脏团 SOD 活性的影响

图 1 是萘对斑马鱼内脏团 SOD 影响的结果。可以看出, 各浓度组 SOD 酶活性在前 1 d, 均与对照相近, 无显著性差异。第 2 d 时, 高浓度组(1/2 LC_{50} 浓度组) 酶活性被抑制, 其他各染毒组酶活性均被诱导, 这与张景飞等^[2] 的研究结果有一定的相似性, 污染物低剂量与高剂量可能对生物的生理生化产生相反的反应, 低剂量的污染物对代谢有一定的“促进”作用, 高剂量的污染物抑制正常的生理生化过程^[23]。

Stebbing^[24]认为在毒物低浓度下出现的这种现象,是生物体在低毒情况下的刺激反应,他把这一现象称为“毒物兴奋效应”。而在高剂量组中,酶活性之所以下降可能是因为活性氧自由基在机体抗氧化能力未增加之前对细胞造成了一定的损伤作用,但这种损伤并未对细胞造成严重伤害,因此出现酶活性在第4d时处于诱导状态,1/4 LC₅₀、1/3 LC₅₀和1/2 LC₅₀浓度组的诱导率分别为77%、67% ($p < 0.01$)和38% ($p < 0.05$)。之后,酶活性下降,到14d时均低于对照,表现为极显著差异($p < 0.001$)。这可能表明,来不及清除的活性氧自由基使细胞受到了更严重的损伤。酶活性整体上表现为先诱导后抑制。

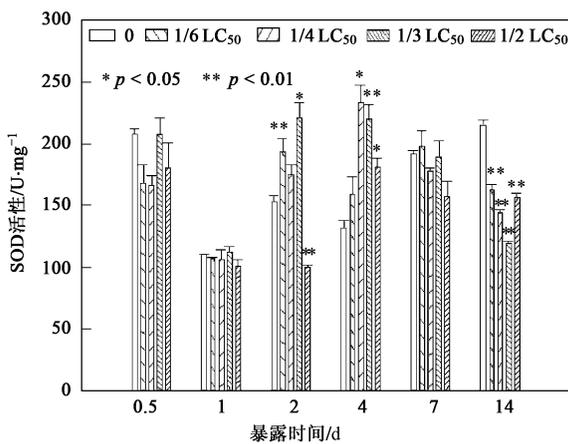


图1 萘对斑马鱼内脏SOD活性的影响

Fig. 1 Effects of naphthalene on the activities of SOD in visceral mass of zebrafish

2.3 萘对斑马鱼内脏团CAT活性的影响

图2是萘对斑马鱼内脏团CAT影响的结果。从中可以看出,在0.5d时,除1/4 LC₅₀浓度组外,其余各浓度组活性均与对照接近,无显著差异。1d时,1/6 LC₅₀和1/4 LC₅₀浓度组与对照接近,而1/3 LC₅₀和1/2 LC₅₀浓度组酶活性下降($p < 0.01$)。2d时,各浓度组酶活性均受到极显著抑制($p < 0.001$),抑制率与染毒浓度呈正比,分别为23%、28%、31%和75%,1/2 LC₅₀组达到最大抑制。而其他3个染毒组在4d时达到最大抑制,分别被抑制了60%、52%和79% ($p < 0.001$)。这可能反映出H₂O₂在鱼体内开始积累,1d时高浓度组先被抑制,第2d时各浓度组表现出随浓度依赖的抑制。抗氧化酶活性对氧化胁迫的升高反应,在时间上可能需要一个滞后过程,接着酶活性下降幅度缩小,出现在4~7d逐渐升高的现象,1/6 LC₅₀和1/4 LC₅₀低浓度组在7d时恢复到对

照水平,而1/3 LC₅₀和1/2 LC₅₀组仍处于抑制($p < 0.01$)。14d时趋势与7d时相似。整体上,几乎所有处理组CAT活性均低于对照。

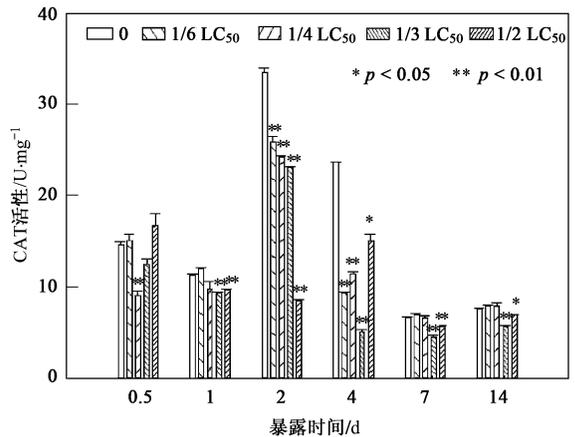


图2 萘对斑马鱼内脏CAT活性的影响

Fig. 2 Effects of naphthalene on the activities of CAT in visceral mass of zebrafish

2.4 萘对斑马鱼内脏团GPx活性的影响

图3是萘对斑马鱼内脏团GPx影响的结果。从中可以看出,0.5d时,酶活性被诱导,随着染毒浓度增大,逐渐增高,诱导率分别为39% ($p < 0.05$)、100%、130%和140% ($p < 0.001$)。1~7d,酶活性略有下降,但整体上处于诱导状态。14d时,1/6 LC₅₀和1/4 LC₅₀低浓度组被显著诱导,而1/3 LC₅₀和1/2 LC₅₀高浓度组被极显著抑制($p < 0.01$),酶活性随浓度升高而降低。整体上来看,1/6 LC₅₀和1/4 LC₅₀低浓度组始终处于诱导状态,而1/3 LC₅₀和1/2 LC₅₀高浓度组只在第14d时被抑制。

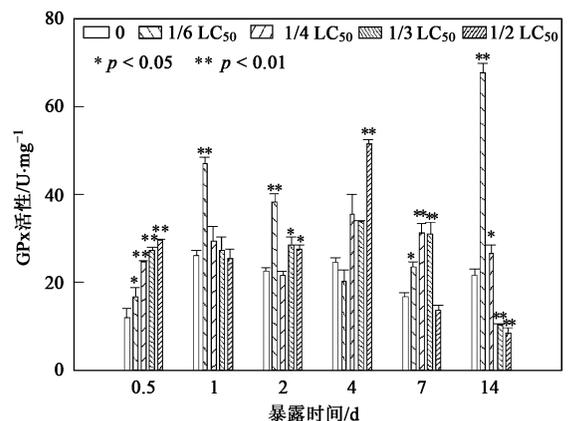


图3 萘对斑马鱼内脏GPx活性的影响

Fig. 3 Effects of naphthalene on the activities of GPx in visceral mass of zebrafish

2.5 萘污染对斑马鱼内脏团 GST 活性的影响

图4是萘对斑马鱼内脏团 GST 影响的结果. 从中可以看出, 0.5 d 时, 各浓度组随浓度增大酶活性呈递增趋势, 1/2 LC₅₀ 组被极显著诱导 ($p < 0.001$). 而 1d 时出现抑制, 随浓度增大酶活性降低, 除 1/6 LC₅₀ 组外, 其他染毒组均被极显著抑制 ($p < 0.001$), 抑制率分别为 36%、45% 和 50%. 在 1~14 d, 不同浓度染毒组的酶活性在不同时间段虽个别有回升, 但整体上看基本处于抑制状态. 到 14 d 时, 随浓度增大, 抑制率增大, 1/4 LC₅₀、1/3 LC₅₀ 和 1/2 LC₅₀ 染毒组均被极显著抑制 ($p < 0.01$), 分别被抑制了 17%、23% 和 44%, 有很好的剂量-效应关系. 从 0.5 d 后, 各浓度组酶活性整体上处于抑制状态.

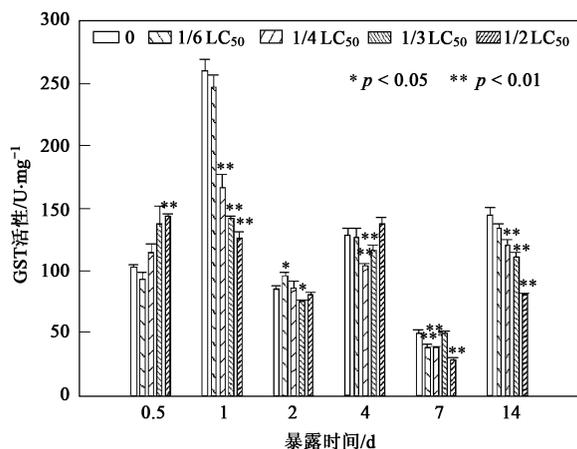


图4 萘对斑马鱼内脏 GST 活性的影响

Fig. 4 Effects of naphthalene on the activities of GST in visceral mass of zebrafish

2.6 萘污染对斑马鱼内脏团 GSH 含量的影响

图5是萘对斑马鱼内脏团 GSH 影响的结果. 从中可以看出, 0.5 d 时, 随浓度增大, GSH 含量下降, 1/3 LC₅₀ 和 1/2 LC₅₀ 浓度组与对照有极显著差异 ($p < 0.01$), 1 d 时, 1/6 LC₅₀、1/3 LC₅₀ 和 1/2 LC₅₀ 浓度组的 GSH 含量达到最低值 ($p < 0.001$). 随后, GSH 含量升高, 到 7 d 时基本与对照接近, 但到 14 d 时, 各浓度组均低于对照水平, 分别降低了 23%、30%、21% 和 21%, 表现为极显著差异 ($p < 0.001$). 从整体上来看, 各浓度组的 GSH 含量均低于对照水平.

3 讨论

外源化学物在生物体内的转化过程可分为前后 2 个阶段: ①外源化合物在第一相解毒酶的催化作用下, 经过氧化、还原、水解反应, 生成中间代谢产

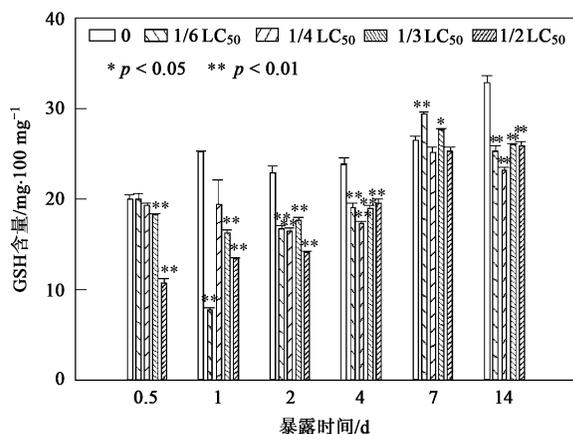


图5 萘对斑马鱼内脏 GSH 含量的影响

Fig. 5 Effects of naphthalene on the contents of GSH in visceral mass of zebrafish

物; ②在第二相解毒酶的催化作用下, 中间代谢产物和一些内源性分子结合成为水溶性产物并通过胆汁和尿液被排泄到体外^[25]. 萘进入体内后, 在肝微粒体中经细胞色素 P450 氧化酶作用, 可代谢生成 1, 2-环氧化物和氧化萘, 生成的中间产物一方面可与抗氧化小分子 GSH 和作为二相解毒酶的 GST 直接结合, 一方面可经环氧化物水解酶等代谢成萘酚、萘醌及 1, 2-二氢-1, 2-二羟萘、二硫-1, 4-二羟萘等多种代谢产物, 同时伴随大量的活性氧自由基 (如 O₂⁻, •OH, H₂O₂) 产生^[26]. 活性氧自由基若不及时被清除, 就会引起 DNA 断裂、脂质过氧化、酶失活等损伤, 对机体造成氧化胁迫^[27]. 因此, 抗氧化防御系统在清除活性氧自由基方面起着重要的作用^[28, 29]. 本试验结果也证实, 它们的活性或含量的改变可以作为机体受到氧化胁迫的指示.

SOD 在歧化 O₂⁻ 生成 H₂O₂ 的过程中起重要作用, 且 SOD 是最先与 O₂⁻ 作用的酶^[30]. CAT 主要存在于哺乳动物的肝、肾的过氧酶体中, 担负 H₂O₂ 和过氧化物的分解与转化功能. GPx、GST 可特异的催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 对氢过氧化物的还原反应, 催化 H₂O₂ 及其他过氧化物转变为无毒性产物, 同时 GST 还是二相解毒代谢酶, 能催化 GSH 与许多次级底物结合, 包括脂质过氧化的次级产物^[31, 32]. 而 GSH 不仅可以作为 GPx、GST 的底物, 通过这 2 种酶起解毒作用, 还可以通过自身来调节细胞内脂质过氧化水平^[33]. 在本试验中, GST 酶活性在 0.5 d 时各浓度组均被诱导, 呈现随浓度的依赖, 而 GSH 与其趋势相反, 浓度越大含量越低. GST 的诱导表现了对化学物的应激反应, 引起二相结合过程, 即萘在一相

反应中形成的 1,2-环氧化物和氧化萘与内源分子相结合. 这与 Teles 等^[15]的研究结果相似, 他们的结果表明, 在萘处理的黄鳗(*Anguilla anguilla* L.) 的肝脏中, GST 活性在 2 h 时即被诱导, 反应敏感. 在本项研究中, 0.5 d 时 GPx 表现出与 GST 同样的趋势. 而 SOD、CAT 分别在第 2、1 d 时才出现应激反应, 这个结果可能表明, GPx、GST、GSH 较 SOD、CAT 来说, 对萘污染可能更敏感一些. 这个结论与前面提到的 Teles 等的研究结果有一定的相似, 且 Gemansky 等^[34]在对萘处理下小鼠的研究中也发现, GPx 反应敏感一些, SOD 活性变化较小. 同时, 本研究发现, SOD 酶要晚于 CAT、GPx、GST 发生反应. 这与 Livingstone 等^[35]曾观察到的 SOD 与 CAT 的变化模式不等同的现象相似, 这种现象可能主要由于 O₂⁻ 的歧化反应并不是 H₂O₂ 的唯一来源, 后者还可以通过氨基酸或细胞色素 P450 氧化酶激活来生成.

抗氧化防御系统的各个组分, 在功能上可能既存在相关性, 又相对独立地催化不同反应. 在本试验中, GSH 含量整体上低于对照水平. GSH 的减少与萘氧化物的生成有密切的关系, GSH 与萘氧化物结合后被排出可能是造成细胞内 GSH 减少的部分原因^[36], 与 Vijayavel 等^[33]对萘处理下的蟹 (*Scylla serrata*) 的研究结果有一定的相似性. 0.5d 后, GST 活性整体上被抑制, 可能是因为谷胱甘肽的减少, 萘氧化物和萘环氧化物大量产生, 开始在体内积累, 降低了 GST 的活性. 因此, 萘的环氧化物、萘氧化物可能被更多地代谢为萘酚、萘醌等, 产生更多的活性氧^[26], 从而使 GPx、SOD 酶活性被诱导. 这 2 种酶活性的升高可能是作为补偿机制, 来抵消活性氧的产生^[37]. 而 CAT 整体上活性较低, 这可能因为该酶活性中心含有较多的一SH, 易成为 H₂O₂ 的攻击目标, 说明该酶易受到损伤, 这与李康等^[25]的研究结果相似. 在第 14d 时, 除 CAT、GPx 的低浓度组外, 其余几种酶的各浓度组均出现抑制现象, 这可能说明, 活性氧的积累未对低浓度组产生影响, 但在高浓度组中, 活性氧的积累超过了抗氧化酶的生成, 从而造成了细胞的损伤, 对其活性产生了抑制.

关于多环芳烃对鱼类毒理学的研究表明, 实验动物的种类、性别、年龄及其所处的生理状态等内在因素及季节、温度和诱导物的差异等外在因素均能影响酶活性的表达. 该实验结果也显示, 即使是同一种酶的对照组之间, 也存在一定的差异性, 在国内外的其他学者的研究中, 也有这种现象存在^[38-40]. 所以若使酶活性具有时间可比性, 可以对对照组的结

果为基准, 用其诱导率或抑制率 (%) 表示各处理组的变化^[38,41,42].

4 结论

(1) 萘对斑马鱼 96 h 半数致死浓度 (LC₅₀) 及 95% 置信限为 11.8 (11.4~12.3) mg·L⁻¹.

(2) 斑马鱼在萘的暴露条件下, 有机体的抗氧化防御系统对胁迫的响应, 在所测定的几种酶中分别表现出不同的敏感性, GPx、GST、GSH 可能更敏感一些, 而 SOD、CAT 次之.

(3) 对污染物的生物响应, 在生物体内是连续的代谢过程, 运用多种生物标记物将能更加准确地评价有机污染物对生物体的影响, 以及有机体对胁迫反应的过程.

参考文献:

- [1] 王晓燕, 尚伟. 水体有毒有机污染物的危害及优先控制污染物 [J]. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2002, 23(3): 73-78.
- [2] Shi H H, Sui Y X, Wang X R, et al. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus* [J]. Comp Biochem Phys C, 2005, 140: 115-121.
- [3] Schreiner C A. Genetic toxicity of naphthalene: a review [J]. J Toxicol Env Health, Part B, 2003, 6 (2): 161-183.
- [4] Hasspieler B M, Behar J V, Carlson D B, et al. Susceptibility of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*) to oxidative stress: a comparative study [J]. Aquat Toxicol, 1994, 28: 53-64.
- [5] Stephensen E, Svavarsson J, Surve J, et al. Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland [J]. Aquat Toxicol, 2000, 48: 431-442.
- [6] 万寅婧, 占新华, 周立祥. 土壤中芘、菲、萘、苯对小麦的生态毒性影响 [J]. 中国环境科学, 2005, 25(5): 563-566.
- [7] 袁蓉, 刘建武, 成旦红, 等. 凤眼莲对多环芳烃 (萘) 有机废水的净化 [J]. 上海大学学报 (自然科学版), 2004, 10(3): 272-276.
- [8] 刘建武, 林逢凯, 王郁, 等. 水生植物根系对多环芳烃 (萘) 吸附过程研究 [J]. 环境科学与技术, 2003, 26(1): 32-35.
- [9] 温洪宇, 廖银章, 李旭东. 菌株 N-1 对萘的降解特性研究 [J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(1): 96-98.
- [10] 杨春, 杨琦, 杨素银, 等. 萘好氧降解菌的筛选及降解特性的初步研究 [J]. 环境科学与技术, 2005, 28(6): 19-22.
- [11] Mollea C, Bosco F, Ruggeri B. Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies [J]. Chemosphere, 2005, 60(5): 636-643.
- [12] Marcon R, Bestetti G, Frati F, et al. Naphthalene and biphenyl oxidation by two marine *Pseudomonas* strains isolated from Venice Lagoon sediment [J]. Int Biodeter Biodegr, 2007, 59(1): 25-31.
- [13] Tintos A, Gesto M, Miguez JM, et al. Naphthalene treatment alters liver intermediary metabolism and levels of steroid hormones in plasma of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Ecol Environ Safe,

- 2007, **66**(2): 139-147.
- [14] Correia T G, Maranho A, Goncalo C G, *et al.* Naphthalene effect on kingfish (*Atherinella brasiliensis*) metabolic rate[J]. *Comp Biochem Phys*, 2007, **148**(2): S74.
- [15] Teles M, Pacheco M, Santos M A. *Anguilla anguilla* L. liver ethoxyresonufin *O*-deethylation, glutathione S-transferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and β -naphthoflavone[J]. *Ecotox Environ Safe*, 2003, **55**(1): 98-107.
- [16] Hallare A, Nagel K, Klöhler H R, *et al.* Comparative embryotoxicity and proteotoxicity of three carrier solvents to zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J]. *Ecotox Environ Safe*, 2006, **63**: 378-388.
- [17] 韦进宝, 吴峰, 钱沙华, 等. 环境监测手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. 246-250.
- [18] 庞战军. 自由基医学研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 147-202.
- [19] 季建平. 超氧化物歧化酶微量快速测定法[J]. *南京铁道医学院学报*, 1991, **10**(1): 27-30.
- [20] 徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度测定[J]. *环境化学*, 1997, **16**(1): 73-76.
- [21] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976, **72**: 248-254.
- [22] 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系统的影响[J]. *环境科学*, 2003, **24**(5): 136-140.
- [23] Calabrese E J. Paradigm lost, paradigm found: The reemergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences[J]. *Environ pollut*, 2005, **138**: 378-411.
- [24] Stebbing A R D. Hormesis-The stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. *Science Total Environ*, 1982, **22**(3): 213-234.
- [25] 李康, 周忠良, 陈立侨, 等. 苯并(a)芘对鲫鱼生物标志物的影响研究[J]. *环境科学研究*, 2006, **19**(1): 91-95.
- [26] Bogen K T, Benson J M, Yost G S, *et al.* Naphthalene metabolism in relation to target tissue anatomy, physiology, cytotoxicity and tumorigenic mechanism of action[J]. *Regul Toxicol Pharm*, 2008, **51**: 27-36.
- [27] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals[J]. *Comp Biochem Phys C: Comparative Pharmacology*, 1991, **100**(1-2): 173-176.
- [28] 王重刚, 陈奕欣, 郑微云, 等. 苯并(a)芘和芘的混合物暴露对梭鱼脾脏抗氧化防御系统的影响[J]. *海洋学报*, 2003, **25**(增刊): 135-139.
- [29] 纪靓靓, 李法云, 罗义, 等. 2, 4, 6-三氯苯酚诱导鲫鱼肝脏自由基的产生及其氧化应激[J]. *应用生态学报*, 2007, **18**(1): 129-132.
- [30] Kappus H. Lipid peroxidation: Mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance[A]. In: *Oxidative Stress*[C]. London, UK: Academic Press, 1985. 273-310.
- [31] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism[J]. *Aquat Toxicol*, 1991, **19**(2): 137-161.
- [32] Mitchell A E, Lakritz J, Jones A D. Quantification of individual glutathione S-transferase isozymes in hepatic and pulmonary tissues of naphthalene-tolerant mice[J]. *Arch Toxicol*, 2000, **74**: 215-221.
- [33] Vijayavel K, Gomathi R D, Durgabhavani K, *et al.* Sublethal effect of naphthalene on lipid peroxidation and antioxidant status in the edible marine crab *Scylla serrata*[J]. *Mar Pollut Bull*, 2004, **48**: 429-433.
- [34] Gemansky M, Jamall I S. Organ-specific effects of naphthalene on tissue peroxidation, glutathione peroxidases and superoxide dismutase in the rat[J]. *Arch Toxicol*, 1988, **61**(6): 480-483.
- [35] Livingstone D R, Archibald S, Chipman J K, *et al.* Antioxidant enzymes in liver of the dab (*Limanda*) from the North Sea[J]. *Mar Eco Prog Ser*, 1992, **91**: 97-104.
- [36] Richieri P R, Buckpitt A R. Glutathione depletion by naphthalene in isolated hepatocytes and by naphthalene oxide *in vivo*[J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, **37**(12): 2473-2478.
- [37] Singh V K, Patel D K, Jyoti, *et al.* Blood levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in children and their association with oxidative stress indices: An Indian perspective[J]. *Clin Biochem*, 2008, **41**(3): 152-161.
- [38] Üner N, Onuc E, Sevgiler Y. Oxidative stress-related and ATPase effects of etoxazole in different tissues of *Oreochromis niloticus*[J]. *Environ Toxicol Phar*, 2005, **20**: 99-106.
- [39] Jing G, Li Y, Xie L P, *et al.* Different effects of Pb^{2+} and Cu^{2+} on immune and antioxidant enzyme activities in the mantle of *Pinctada fucata*[J]. *Environ Toxicol Phar*, 2007, **24**: 122-128.
- [40] 孙媛媛, 于红霞, 沈骅, 等. 2-硝基-4-羟基二苯胺(HC Orange No. 1)在鲫鱼肝脏中的富集及其对肝脏抗氧化指标的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2005, **24**(1): 26-30.
- [41] 张景飞, 王晓蓉, 沈骅. 低浓度 2, 4-DCP 对鲫鱼肝脏抗氧化防御系统的影响[J]. *中国环境科学*, 2003, **23**(5): 531-534.
- [42] Contardo-Jara V, Wiegand C. Biotransformation and antioxidant enzymes of *Lumbricalus variegatus* as biomarkers of contaminated sediment exposure[J]. *Chemosphere*, 2008, **70**(10): 1879-1888.