

十溴联苯醚对底栖生物和土壤微生物的毒理效应探讨

杜红燕, 朱琳, 张清敏, 李燕

(南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071)

摘要: 为了研究溴系阻燃剂——十溴联苯醚(DeBDE 或 BDE209)对底栖生物和土壤微生物群落的影响,以红虫(淡水单孔蚓)和土壤中总微生物及枯草芽孢杆菌纯菌种为受试生物,分别测定了十溴联苯醚对红虫 Na^+, K^+ -ATP 酶及 SOD 活性的影响和对土壤中总微生物及枯草芽孢杆菌纯菌种呼吸强度的影响。结果表明,随着十溴联苯醚暴露浓度的增加,红虫的 Na^+, K^+ -ATP 酶呈现激活的趋势,但激活强度逐渐降低,SOD 活性则呈现先激活后抑制的趋势;随着十溴联苯醚暴露时间的增加,红虫的 Na^+, K^+ -ATP 酶亦呈现激活的趋势,SOD 活性呈现先激活后抑制的趋势。土壤总微生物和枯草芽孢杆菌在十溴联苯醚作用下表现出一致的抑制趋势,但随着时间的延长,抑制作用逐渐恢复。因此,ATP 酶和 SOD 相结合作为生物受到十溴联苯醚胁迫的分子指标,以及利用枯草芽孢杆菌评价土壤微生物受到十溴联苯醚胁迫的微生物指标都具有一定的可行性。

关键词: 十溴联苯醚;红虫; Na^+, K^+ -ATP 酶;SOD;土壤微生物;枯草芽孢杆菌;呼吸

中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0502-06

Toxicological Effects of Decabromodiphenyl Ether Exposure on Benthonic Invertebrates and Soil Microorganisms

DU Hong-yan, ZHU Lin, ZHANG Qing-min, LI Yan

(College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: As one of the most popular used brominated flame retardant, decabromodiphenyl ether (DeBDE) has been increasingly used in market and detected in many environment mediums. The experiment was performed to study the effects of DeBDE on benthonic invertebrates and soil microorganisms. *Monopylephorus Limosus* were exposed to DeBDE solution, and were taken out then homogenized, the Na^+, K^+ -ATPase and SOD activities were measured to study the toxic effects of DeBDE on benthonic invertebrates. The effects of DeBDE on the respiration of *Bacillus subtilis* and mixed soil microorganisms were also been measured with a microbe electrolysis respiration apparatus. The Na^+, K^+ -ATP activities of *Monopylephorus Limosus* were induced in the concentration of $1\sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and the SOD activities were induced at $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and then were inhibited at $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of the exposure concentration, significantly. Under a concentration of $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the Na^+, K^+ -ATPase activities of *Monopylephorus Limosus* were maximally induced at day 6 and the SOD activities were induced at day 3 and then were inhibited at day 10, significantly. DeBDE had similar influences on the respiration of *Bacillus subtilis* and mixed soil microorganisms, both were inhibited at a concentration of $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. It was feasible to use Na^+, K^+ -ATP combined with SOD as a biomarker and *Bacillus subtilis* as a microorganism marker for pollution stress of DeBDE in soil or sediment environment.

Keywords: decabromodiphenyl ether (BDE-209, DeBDE); *Monopylephorus Limosus*; Na^+, K^+ -ATPase; SOD; soil microorganism; *Bacillus subtilis*; respiration

十溴联苯醚(BDE-209 或 DeBDE)作为一种溴系阻燃剂(brominated flame retardants, BFRs),广泛用作

电子电器设备、自动控制设备、建筑材料和纺织品等商品化产品的添加剂。近年来十溴联苯醚的生产和需求量持续增加,是目前使用最为广泛的多溴联苯醚类阻燃剂,已经在各种环境介质(如大气、沉积物、土壤、室内空气以及各种生物体等)和人体中检出,并且含量逐年增加^[1]。十溴联苯醚作阻燃添加剂的产品在制造、使用、循环回收或是废弃的过程中,释放的十溴联

收稿日期:2007-06-17

基金项目:国家自然科学基金项目(30470319)

作者简介:杜红燕(1982—),女,硕士研究生,研究方向为环境生物学和生态毒理学。E-mail: duhongyan@mail.nankai.edu.cn

通讯作者:朱琳 E-mail: zhulin@nankai.edu.cn

苯醚进入到空气、水、土壤的循环系统中。因其挥发性低、水溶性低、在环境中比较稳定,主要存在于河流沉积物、底泥、土壤中,对环境和人类的威胁日益加重升高^[2,3]。十溴联苯醚排放到环境中后,经光解、高温分解、生物及微生物降解等过程,会转化为多溴二苯并二恶英、多溴二苯并呋喃以及低溴代的联苯醚,更容易进入生物体,引起更强的毒性作用。十溴联苯醚本身也被测试出具有潜在的致癌性,并对子代的免疫功能产生影响。虽然目前已有一些禁用指令,鉴于其在环境中的稳定性和持久性,对水生、沉积物及土壤生态系统而言,需要作额外的生态毒性研究,才能确认潜在的风险。本文旨在通过研究十溴联苯醚对红虫和土壤微生物及典型枯草芽孢杆菌的影响,获知其对底泥、河流沉积物生态环境的生态毒理学效应,为十溴联苯醚的环境风险评价和安全合理使用提供依据。

本实验室红虫属环节动物门、近孔寡毛目、颤蚓科(*Tubificidae*)、单孔蚓属(*Monopylephorus*)的淡水单孔蚓(*Monopylephorus limosus*)^[4],是淡水底栖动物群的优势种之一,并经本实验室其他研究发现其对污染物有较强的抗性^[5],而 Na^+ , K^+ -ATP、SOD 酶变化可以反映毒物对机体的影响^[6],因此选取红虫为受试生物,研究十溴联苯醚对其 Na^+ , K^+ -ATP 及 SOD 酶活性的影响。

土壤微生物的呼吸作用反映了微生物的活性,是评价化学物质对生态环境安全性的重要指标^[7]。由于十溴联苯醚主要存在于土壤和沉积物,而目前关于十溴联苯醚对微生物呼吸强度的影响未见文献报道,因此本实验对土壤微生物呼吸强度进行研究。由于枯草芽孢杆菌往往作为生物研究的模式种,是生物学研究的重要材料之一^[8],因此选取枯草芽孢杆菌纯菌种单独进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

十溴联苯醚试剂(纯度:98%,百灵威化学技术有限公司);其他试剂均为国产分析纯或优级纯;考马斯亮兰蛋白测试试剂盒、超微量 ATP 酶测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

实验用土采自南开大学校内花园 0~20 cm 的耕作层土壤。土样经风干,过 1 mm 筛备用。枯草芽孢杆菌,购于中国科学院微生物研究所微生物菌种保藏中心。

85-2 型恒温磁力搅拌器(巩义市英峪高科仪器

厂);2100N 浊度计(美国 HACH 公司);LRH-800-GS 人工气候箱(广东省医疗器械厂);SCIENTZ-II 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);冷冻离心机(3K30、sigma 公司);755B 紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);电热恒温水浴锅(江苏省金坛市医疗仪器厂);BI-2000 微生物电解呼吸仪(Bioscience Inc.)、DC-1020 低温恒温槽(宁波新芝生物科技股份有限公司)、THZ-82A 气浴恒温振荡器(江苏省金坛市医疗器械厂)、WP750 中型机械型微波炉、灭菌锅(上海云泰仪器仪表有限公司)。

1.2 方法和步骤

1.2.1 十溴联苯醚对红虫 Na^+ , K^+ -ATP 酶和 SOD 酶活影响实验方法

1.2.1.1 染毒实验及样品处理

称取 BDE209 0.1 g 于 1 000 mL 烧杯中,加乙醇助溶(对照实验发现,助溶剂对实验结果无显著影响)。覆盖铝箔在避光条件下用恒温磁力搅拌器充分搅拌,得到稳定的 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ BDE209 悬浊母液(溶解度限制)。分别量取 0、0.4、4、40 mL 悬浊母液加入 100 mL 烧杯用曝气水稀释至 40 mL,配成浓度分别为 0、1、10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的悬浊液,浊度分别为 0、1.11、16.43、144 NTU。每个烧杯放入 20 条红虫,各做 3 个平行,双层铝箔包裹后,于 25 °C 人工气候箱培养。

分别于培养 0、1、3、6、10 d 取出红虫,用蒸馏水洗净,滤纸拭干,称重,放入 5 mL 离心管,按 1 g:10 mL 的比例加入预冷的 Tris-HCl 缓冲液(pH=7.4, 0.01 mol·L⁻¹ Tris-HCl, 0.000 1 mol·L⁻¹ EDTA-2Na, 0.01 mol·L⁻¹ 蔗糖, 0.8% 的氯化钠溶液)。在冰浴中用超声波细胞粉碎机匀浆,匀浆液于 1 500 r·min⁻¹ 下离心 15 min,取上清液立即进行酶活性测定。

1.2.1.2 蛋白含量及酶活的测定

Na^+ , K^+ -ATP 及 SOD 酶活力的测定均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行。计算 Na^+ , K^+ -ATP 酶活力时,定义每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位,即微摩尔磷/毫克蛋白/小时($\mu\text{mol Pi/mg prot/hour}$)。计算 SOD 酶活力时,定义每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。样品上清液中的蛋白含量用考马斯亮兰法测定。

1.2.2 十溴联苯醚对土壤总微生物及枯草芽孢杆菌呼吸强度的影响实验方法

1.2.2.1 土壤中微生物的活化培养^[9]

称取 4 份土,每份 10 g,并加 50 mL 水于 250 mL 密闭锥形瓶,各加入 0.2 g 葡萄糖进行诱导,将锥形瓶放入 25 ℃气浴恒温振荡器恒温振荡培养 7 d。

1.2.2.2 制备枯草芽孢杆菌的培养基、MM1 培养液和菌悬液^[10]

培养基:分别称取牛肉膏 1.2 g,蛋白胨 4.0 g,氯化钠 2.0 g 于 500 mL 烧杯中,加入 400 mL 蒸馏水,在微波炉中加热搅拌至透明,制成肉汤培养基。调 pH 值至 7.0~7.2,121 ℃灭菌 20 min,备用。

MM1 培养液:分别称取 K₂HPO₄ 14 g,KH₂PO₄ 6 g,FeSO₄ 0.01 g,MgSO₄·7H₂O 0.2 g,柠檬酸钠 1 g,(NH₄)₂SO₄ 2 g 于 1 000 mL 锥形瓶中,加入 1 000 mL 蒸馏水,混匀备用。

菌悬液:从保存斜面上挑取一环芽孢杆菌菌体到 10 mL 肉汤培养液中,在 37 ℃下 150 r·min⁻¹ 振荡培养过夜,将其全部转入 100 mL 新鲜肉汤培养液中,37 ℃下恒温振荡培养 24 h,至对数生长期(OD₆₀₀=1.5)。

1.2.2.3 土壤微生物呼吸的测定

测定对土壤微生物呼吸的影响时,在各瓶中加入表 1 所示物质,使每瓶中体积均为 300 mL,BDE209 浓度为 10 mg·kg⁻¹,同时做 2 个平行,2 个对照。气密性检查完成后开始测定。

测定对枯草芽孢杆菌呼吸的影响时,分别在各瓶中加入表 2 所示物质,使每瓶中体积均为 300 mL,BDE209 浓度为 10 mg·L⁻¹,同时做 2 个平行,2 个对照。气密性检查完成后开始测定。

1.3 数据分析

实验数据用 spss13.0 统计软件进行方差分析,结果用平均值±标准误差(Mean±SDE)表示,组内数据用

one-sample t test 检验,组间数据用 one-way avona 检验,P<0.05 认为存在显著差异,P>0.05 认为不存在显著差异。

2 结果与讨论

2.1 十溴联苯醚对红虫 Na⁺,K⁺-ATP 酶和 SOD 酶活力的影响

2.1.1 十溴联苯醚暴露浓度和暴露时间对红虫 Na⁺,K⁺-ATP 酶活力的影响

分别对在 0、1、10、100 mg·L⁻¹ 浓度下暴露 6 d 红虫进行分析,研究不同的十溴联苯醚暴露浓度对红虫 Na⁺,K⁺-ATP 酶活力的影响,结果见图 1。由图 1 可见,随着暴露浓度的增加,Na⁺,K⁺-ATP 酶活呈现激活的趋势。1 mg·L⁻¹ 时 Na⁺,K⁺-ATPase 被显著激活(P<0.05),随着暴露浓度的增加,激活程度逐渐下降。

分别对在 10 mg·L⁻¹ 浓度下 0、1、3、6、10 d 的红

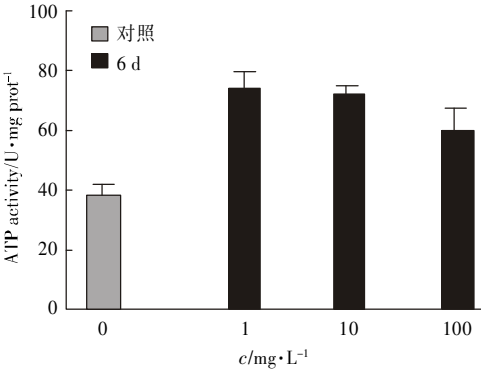


图 1 十溴联苯醚暴露浓度对红虫 Na⁺,K⁺-ATP 酶活的影响

Figure 1 The toxic effect of DeBDE on Na⁺,K⁺-ATPase of *Monopylephorus Limosus* with different concentrations

表 1 土壤微生物呼吸实验各瓶所加物质

Table 1 Substances of each flask in soil microbe respiration experiment

Vials	Activatied soil sample g · 50 mL ⁻¹	BDE209 /mg	MM1 solution /mL
Vial 1、 2	10	0	250
Vial 3、 4	10	0.1	250

表 2 枯草芽孢杆菌呼吸实验各瓶所加物质

Table 2 Substances of each flask in Bacillus subtilis respiration experiment

Vials	Bacterium solution /mL	BDE209 /mg	MM1 solution /mL
Vial 1、 2	30	0	270
Vial 3、 4	30	3	270

虫进行分析,研究不同的十溴联苯醚暴露时间对红虫 Na^+, K^+ -ATP 酶活力的影响,结果见图 2。由图 2 可见,随着暴露时间的延长, Na^+, K^+ -ATP 酶活一直呈激活趋势($P<0.05$),在 6 d 时激活作用达到最强,6 d 前呈现明显的时间-效应关系,当暴露时间 ≥ 6 d 时,激活程度开始降低($P<0.05$)。

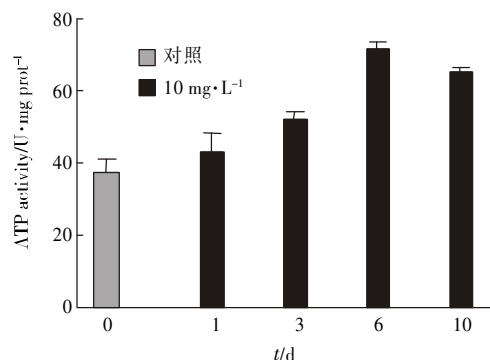


图 2 十溴联苯醚暴露时间对红虫 Na^+, K^+ -ATP 酶活的影响

Figure 2 The toxic effect of BDE on Na^+, K^+ -ATPase of *Monopylephorus Limosus* with a time course

Na^+, K^+ -ATP 酶是生物体内重要的代谢酶之一,是镶嵌在膜上的一种蛋白酶,也是膜上主动转运离子泵的重要组成部分。浓度较低或暴露时间较短时十溴联苯醚对 ATP 酶具有诱导作用,这与叶央芳等^[11]研究苯噻草胺对多食鞘氨醇杆菌 ATP 酶的影响结果一致,表明红虫细胞膜受到损伤,影响到体内的离子平衡。随着暴露浓度增加或暴露时间的延长,酶活性又开始下降,可推测红虫组织损伤较重,导致细胞膜的生理功能减弱,红虫体内的能量运输阻断, Na^+, K^+ 泵运转减慢,代谢产物大量堆积,酶活力的降低也导致红虫渗透压调节能力降低^[12]。

2.1.2 十溴联苯醚暴露浓度和暴露时间对红虫 SOD 酶活力的影响

分别对在 0、1、10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下暴露 6 d 红虫进行分析,研究不同的十溴联苯醚暴露浓度对红虫 SOD 酶活力的影响,结果见图 3。由图 3 可见,随着暴露浓度的增加,SOD 酶活呈现先激活后抑制的趋势。10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 SOD 酶被激活($P<0.05$),到 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时酶活性又开始显著下降($P<0.05$)。

分别对在 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下 0、1、3、6、10 d 的红虫进行分析,研究不同的十溴联苯醚暴露时间对红虫 SOD 酶活力的影响,结果见图 4。由图 4 可见,随着暴露时间的延长,SOD 酶活亦呈现先激活后抑制的趋势

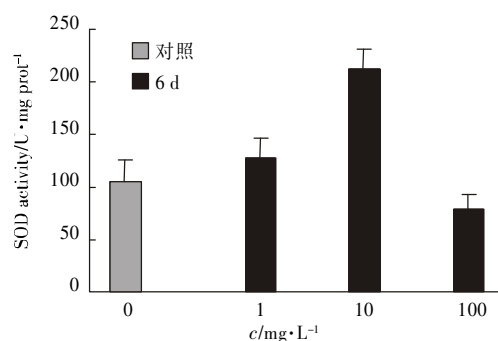


图 3 十溴联苯醚暴露浓度对红虫 SOD 酶活的影响

Figure 3 The toxic effect of DeBDE on SOD of *Monopylephorus Limosus* with different concentrations

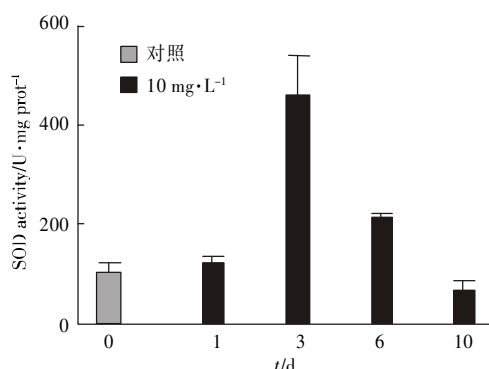


图 4 十溴联苯醚暴露时间对红虫 SOD 酶活的影响

Figure 4 The toxic effect of DeBDE on SOD of *Monopylephorus Limosus* with a time course

($P<0.05$), 3 d 时激活作用达到最强,当暴露时间 ≥ 3 d 时,酶活开始降低。

SOD 酶普遍存在于水生动物体内,是生物体内惟一一种以自由基为底物的抗氧化酶^[13],是清除超氧阴离子(O_2^-)的特异性专一性酶,能有效将 O_2^- 分解为 H_2O_2 和 O_2 ^[14],并有终止自由基连锁反应的作用。浓度较低或暴露时间较短时十溴联苯醚对 SOD 酶具有诱导作用,说明十溴联苯醚污染已对红虫造成氧化性胁迫,抗氧化酶活性的增加是机体对抗氧化胁迫的一种适应性变化。暴露浓度增加或暴露时间的延长时,酶活性开始下降,表明在一定暴露浓度和时间范围内,SOD 酶对十溴联苯醚的解毒能力随着暴露浓度和时间的增加而降低。

2.2 十溴联苯醚对土壤总微生物及枯草芽胞杆菌呼吸影响

十溴联苯醚对土壤总微生物呼吸影响如图 5 所示,由图 5 可见,6 h 前,10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 累积耗氧量(微生物呼吸强度)高于对照,对土壤微生物的呼吸产生激

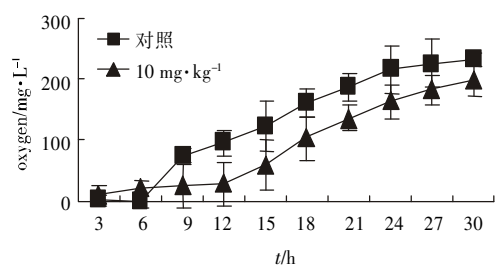


图5 十溴联苯醚对土壤微生物呼吸的影响

Figure 5 The effect of DeBDE on soil microbe respiration

活作用,但差异不显著($P>0.05$)。6 h后,10、100、1 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组的耗氧量均低于对照,对土壤微生物的呼吸产生抑制作用($P<0.05$)。随着时间的延长,对照与染毒组趋于接近。

十溴联苯醚对枯草芽孢杆菌呼吸影响如图6所示,由图6可见,10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 累积耗氧量(微生物呼吸强度)均低于对照,对土壤微生物的呼吸产生抑制作用($P<0.05$)。随着时间的延长,对照与染毒组趋于接近。

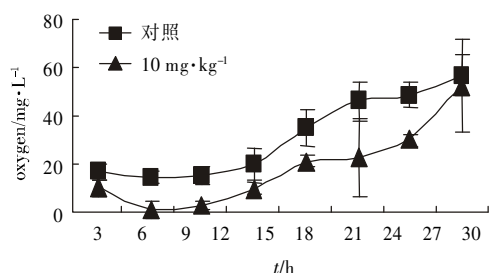


图6 十溴联苯醚对枯草芽孢杆菌呼吸的影响

Figure 6 The effects of DeBDE on *Bacillus subtilis* respiration

10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 染毒土壤中总微生物和 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 染毒枯草芽孢杆菌的累积耗氧量均低于对照,说明该浓度十溴联苯醚对微生物的呼吸强度产生抑制作用,这与谢慧等^[15]研究涕灭威砒对土壤微生物呼吸作用的影响结果一致,但这种影响是非持续性影响,随着时间延长,微生物呼吸作用逐渐恢复,可能有两种原因,一是微生物对十溴联苯醚开始适应,呼吸强度逐渐稳定;二是微生物通过代谢或共代谢消耗了十溴联苯醚,污染物被降解利用。

3 结论

本试验研究发现,十溴联苯醚对红虫的 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶和 SOD 酶都有一定的影响,对土壤中总微生物以及枯草芽孢杆菌的呼吸强度都有一定的抑制作用。因此,十溴联苯醚对水生底栖生物会产生一定的生态毒

理效应,对底泥、河流沉积物生态环境存在一定的风险。

(1)随着十溴联苯醚暴露浓度的增加,红虫的 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶呈现激活的趋势,且激活程度逐渐降低;SOD 酶活则呈现先激活后抑制的趋势。

(2)随着十溴联苯醚暴露时间的增加,红虫的 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶呈现激活的趋势,且激活作用逐渐降低;SOD 酶活呈现先激活后抑制的趋势。

(3)10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 十溴联苯醚染毒土壤中总微生物和 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 十溴联苯醚染毒枯草芽孢杆菌的呼吸强度均受到抑制作用,但这种影响是非持续性影响,随着时间延长,微生物呼吸作用逐渐恢复。

(4)红虫在十溴联苯醚胁迫下, $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶和 SOD 酶发生变化,同时观察到高浓度染毒的红虫体节断裂的现象,说明 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶和 SOD 酶能够反映十溴联苯醚胁迫下红虫个体或种群上的生态学变化,且更为准确和敏感。因此,利用 SOD 酶和 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP}$ 酶相结合作为生物受到十溴联苯醚胁迫的分子指标、以及利用枯草芽孢杆菌评价土壤微生物受到十溴联苯醚胁迫的微生物指标均具有一定的可行性。

参考文献:

- [1] 陈社军,麦碧娴,曾永平,等.珠江三角洲及南海北部海域表层沉积物中多溴联苯醚的分布特征[J].环境科学学报,2005,25(9):1265-1271.
CHEN She-jun, MAI Bi-xian, ZENG Eddy Y, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in surficial sediments of the Pearl River Delta and adjacent South China Sea[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(9): 1265-1271.
- [2] Choi J W, Fujimaki S, Kitamura K, et al. Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and diphenyl ethers in Japanese human adipose Tissue[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003,37(5):817-821.
- [3] Li Q Q, Loganath A, Chong Y S, et al. Determination and occurrence of polybrominated diphenyl ethers in maternal adipose tissue from inhabitants of Singapore[J]. *Chromatography B-analytical Technologies in the Biomedical and Life Science*, 2005,819(2):253-257.
- [4] 陈旭,朱琳,王启山,等.“红虫”生长发育及繁殖的生物学研究[J].给水排水,2005,31(6):38-40.
CHEN Xu, ZHU Lin, WANG Qi-shan, et al. Pilot study on growth and reproduction of Red Worm[J]. *Water and Wastewater Engineering*, 2005, 31(6):38-40.
- [5] 杨瑶,朱琳,赵巍,等.几种消毒剂对自来水中“红虫”的杀灭效果比较[J].环境科学与技术,2006,29(4):66-68.
YANG Yao, ZHU Lin, ZHAO Wei, et al. Comparative testing for killing *Chironomus Larva* in tap water using different disinfectants[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 29(4): 66-68.
- [6] 徐立红,张甬元,陈宜瑜,等.分子生态毒理学研究进展及其在水环

- 境保护中的意义[J].水生生物学报,1995,19(2):171-185.
- XU Li-hong, ZHANG Yong-yuan, CHEN Yi-yu, et al. The advances of molecular ecotoxicology and its significance in water environment protection[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1995, 19(2): 171-185.
- [7] 刁晓平,孙英健,孙振钧,等.3种兽药对土壤微生物呼吸的影响[J].中国农业大学学报,2006,11(2):39-43.
- DIAO Xiao-ping, SUN YING-jian, SUN Zhen-jun, et al. Effects of three kinds of veterinary drugs on microbe respiration in different soils [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006, 11(2): 39-43.
- [8] 石春芝,陶天申.神农架自然保护区大九湖芽孢杆菌资源调查[J].氨基酸和生物资源,2001,23(1):1-4.
- SHI Chun-zhi, TIAO Tian-shen, YUE Ying-yu, et al. The resources of *Bacillus* in Dajiu Lake of Shennongjia nature reserve region [J]. *Amino Acids and Biotic Resources*, 2001, 23(1): 1-4.
- [9] 傅丽君,赵士熙,王海,等.4种农药对土壤微生物呼吸及过氧化氢酶活性的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2005,34(4):441-445.
- FU Li-jun, ZHAO Shi-xi, WANG Hai, et al. Effects of four pesticides on catalase activity in soil and soil respiration[J]. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2005, 34(4): 441-445.
- [10] 侯树宇,张清敏,多森,等.白腐真菌和细菌对芘的协同生物降解研究[J].农业环境科学学报,2005,24(2):318-321.
- HOU Shu-yu, ZHANG Qing-min, DUO Miao, et al. Coordinated biodegradation of pyrene by a consortium of white rot fungus and bacteria[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2005, 24(2): 318-321.
- [11] 叶央芳,闵航,吕镇梅,等.除草剂苯噻草胺污染对多食鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium multivolum*)抗氧化酶和ATP酶的影响[J].环境科学学报,2006,26(1):151-156.
- YE Yang-fang, MIN Hang, LU Zhen-mei, et al. Effect of herbicide mefenacet pollution on antioxidant enzyme and ATPase of *Sphingobacterium multivolum* Y1[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(1): 151-156.
- [12] 张纪亮,李瑞霞,王重刚,等.三丁基锡对罗非鱼稚鱼生长和ATP酶活力的影响[J].厦门大学学报(自然科学版),2006,45(5):692-695.
- ZHANG Ji-liang, LI Rui-xia, WANG Chong-gang, et al. Effect of tributyltin exposure on growth and activities of ATPase in juvenile *Tilapia nilotica*[J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2006, 45(5): 692-695.
- [13] 刘慧,王晓蓉,王为木,等.低浓度锌及其EDTA配合物长期暴露对鲫鱼肝脏锌富集及抗氧化系统的影响[J].环境科学,2005,26(1):173-176.
- LIU Hui, WANG Xiao-rong, WANG Wei-mu, et al. Effects of long-term exposure of low level Zinc and Zn-EDTA complex on Zinc accumulation and antioxidant defense system in liver of *Carassius auratus*[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(1): 173-176.
- [14] 纪靛靛,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.
- Ji Liang-liang, Li Fa-yun, Luo Yi, et al. Free radicals in *Carassius auratus liver*: Their generation and oxidative stress induced by 2,4,6-trichlorophenol[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(1): 129-132.
- [15] 谢慧,朱鲁生,王军,等.涕灭威及其有毒代谢产物对土壤微生物呼吸的影响[J].农业环境科学学报,2005,24(1):191-195.
- XIE Hui, ZHU Lu sheng, WANG Jun, et al. Effects of aldicarb and its toxic metabolites on soil respiration[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2005, 24(1): 191-195.