

甲萘威暴露对雄性罗非鱼血清中内分泌相关酶活性的影响

李文婷¹, 裘丽萍², 李志波¹, 李丹丹¹, 宋超², 陈家长^{1,2*}

(1.南京农业大学渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2.中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要: 实验室条件下, 尼罗罗非鱼暴露于不同浓度的甲萘威(0.16、0.8、2 mg·L⁻¹)下 29 d, 通过酶联免疫法测定黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)水平变化, 探讨甲萘威对尼罗罗非鱼内分泌干扰效应。研究结果显示, 在实验期间与对照组相比, 0.16、0.8、2 mg·L⁻¹ 甲萘威暴露下的 LH、FSH、T3、T4 水平均随暴露时间增加不断升高, 其中: 10~19 d 内上升幅度小, 20~29 d 内上升幅度较大, 在实验第 29 d, LH、FSH、T3、T4 水平均达到暴露以来的最大值。研究表明, 从甲萘威对鱼体存在 10 d 的短期积累效应来看, 0.8 mg·L⁻¹ 的甲萘威具有最强的内分泌干扰能力, 此浓度下的 LH、FSH、T3、T4 水平在暴露第 10 d 均高于其他两个浓度组; 从 29 d 的长期积累效应来看, 2 mg·L⁻¹ 浓度组的各激素水平上升幅度最大。

关键词: 甲萘威; 罗非鱼; 内分泌干扰

中图分类号: X503.225 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2014)07-1304-06 doi:10.11654/jaes.2014.07.007

Effects of Carbaryl on Endocrine System in Serum of Nile Tilapia(*GIFT Oreochromis niloticus*)

LI Wen-ting¹, QIU Li-ping², LI Zhi-bo¹, LI Dan-dan¹, SONG Chao², CHEN Jia-zhang^{1,2*}

(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, Jiangsu, China; 2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi 214081, Jiangsu, China)

Abstract: Carbaryl, the worldwide most used carbamate insecticide, has not only the neurotoxicological effects via inhibiting the activity of acetylcholinesterase, but also the endocrine disrupt effects. Under laboratory conditions, Nile tilapias were exposed to different concentrations of carbaryl(0.16, 0.8, and 2 mg·L⁻¹) for 29 days to examine the interfering effects of carbaryl on their endocrine system. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine the levels of luteinizing hormone(LH), follicle-stimulating hormone(FSH), triiodothyronine(T3) and thyroxine(T4). Compared with the control, the LH, FSH, T3 and T4 levels under all carbaryl concentrations(0.16 mg·L⁻¹, 0.8 mg·L⁻¹ and 2 mg·L⁻¹) increased gradually with increasing exposure time, greater increases occurred between the 20th to 29th days. During the short-term exposure(<10 days), however, carbaryl had the strongest endocrine disruption at 0.8 mg·L⁻¹. The LH, FSH, T3 and T4 levels were higher at this concentration than other concentrations. During the long-term exposure(29 days), however, all hormone levels were the greatest at 2 mg·L⁻¹ carbaryl. These results would advance understanding of the effects of carbamates insecticides on the reproduction, physiology, and neuroendocrine immune of tilapia.

Keywords: carbaryl; Nile tilapia; endocrine disruption

甲萘威(1-naphthyl-N-methyl carbamate)是世界上第一个广泛使用的氨基甲酸酯类杀虫剂, 低毒且半

衰期短^[1], 因地表径流及不规范使用等原因, 可在一定程度上对水生生物体和人类健康造成影响。甲萘威具有神经毒性, 抑制乙酰胆碱酯酶的活性, 迫使乙酰胆碱在突触间隙蓄积, 进而引发相应功能症状, 该神经毒性在短时间内是可逆的^[2-3]。

甲萘威毒性积累的靶器官一般是肝、肾等组织, 其暴露可导致鱼鳃部出现零散的薄片状增生区域, 肝、肾、脾发生病变、坏死^[4], 超氧化物歧化酶(SOD)、

收稿日期: 2013-12-08

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2013JBFM05);
现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-49)

作者简介: 李文婷(1989—), 女, 江苏镇江人, 硕士研究生, 主要从事渔业生态环境方面的研究。

* 通信作者: 陈家长 E-mail: chenjjz@ffrc.cn

过氧化氢酶(CAT)及谷胱甘肽转移酶(GST)等酶活性均受到抑制^[9]。甲萘威暴露下的藻类抗氧化能力也有所降低^[6]。长期接触甲萘威的人有头痛、神经衰弱、肌肉痉挛等症状并随着暴露时间的延长不断加剧^[7]。

甲萘威对水生动物的内分泌干扰作用主要表现在对机体具有雌激素效应、对甲状腺具有一定的损害作用,0.01 mg·L⁻¹ 甲萘威即可引起产卵期鱼体肝脏和性腺组织中蛋白质及脂肪的大幅下降^[8]。甲萘威能够引起雄性罗非鱼血液中卵黄蛋白原(VTG)的异常升高,睾酮(T)水平下降、总雌二醇量(E2)升高^[9-10],抑制由卵泡刺激素诱导的孕酮的合成^[11]。甲萘威暴露下的机体甲状腺会发生组织病变^[12-14],甲状腺功能受损^[15],且影响甲状腺激素水平,T3、T4 水平下降^[16]。

幼体罗非鱼尤其是受精后 14~24 d 的幼鱼受温度影响极易产生性别分化,36 ℃下的罗非鱼幼体雄性率高达 80%^[17]。由于成年雄性罗非鱼的适应性、免疫力、生长速度及经济效益明显高于雌鱼,一定剂量的甲萘威很可能干扰雄性罗非鱼的生长发育,进而影响经济效益。本文研究在不同浓度甲萘威暴露下,通过测定雄性尼罗罗非鱼血清中黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)水平,分析其与剂量及时间之间的效应关系,进一步探讨甲萘威对罗非鱼内分泌相关酶的干扰效应。

1 材料及方法

1.1 实验材料与试剂

实验用鱼为雄性尼罗罗非鱼,于 2013 年 4 月购自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南泉养殖基地(无锡),平均体重为(185.2±11.4)g,平均体长为(21.9±1.7)cm,无甲萘威暴露的体积为 200 L 水族箱,pH7.0~7.5,水温(25±1)℃。水中溶氧 5.5~7.0 mg·L⁻¹,含有总 Fe 离子 0.05 mg·L⁻¹、总 Zn 离子 0.02 mg·L⁻¹,Pb、Cu 和 Cd 均未检出,符合我国渔业水质标准(GB 11607—89)。

丙酮等试剂来源于生物工程股份有限公司;酶联免疫 ELISA 试剂盒等来源于美国 R&D 公司。

1.2 实验设计

在甲萘威暴露实验开始前进行为期 3 周的驯养,实验鱼每天均按照体重的 2%投喂饲料,12 h 光照 12 h 黑暗交替。甲萘威暴露浓度的确定根据实验室此前研究来制定。甲萘威对罗非鱼的 96 h LC₅₀ 为 17.86 mg·L⁻¹,在浓度为 0.8 mg·L⁻¹ 时,甲萘威对罗非鱼具有雌激素效应^[12]。因此,此实验选用甲萘威实际处理浓

度为 0、0.16、0.8、2 mg·L⁻¹。

丙酮作甲萘威溶剂,设置为阴性对照组。每个处理组设 2 个平行,将尼罗罗非鱼分别暴露于上述不同浓度的甲萘威中,在体积为 200 L 的水族箱中随机放入尼罗罗非鱼 20 尾。整个暴露实验持续 30 d,实验期间每隔 24 h 换水 50%,补充新水并补齐甲萘威至原有浓度。分别于甲萘威暴露的第 10、19、29 d 采取罗非鱼尾部静脉血液,研究在亚急性条件下不同质量浓度的甲萘威对雄性罗非鱼内分泌相关酶的干扰效应。

1.3 酶活性测定

1.3.1 血清中黄体生成素(LH)水平的测定

采用酶联免疫法(ELISA)试剂法。ELISA 试剂法是把抗原与抗体的免疫特异性反应与酶的高效催化作用有机结合起来的一种检测技术,采用酶促反应的放大作用来显示初级免疫学反应^[18]。其过程为:反应板中包被特异性抗体;加待测标本,形成抗体-抗原复合物;加酶标抗体,使复合物上的抗原与酶标抗体结合;加底物后,酶催化底物呈有色物质,根据颜色反应的程度进行定性定量^[19]。

为防止血液凝固,注射器在采集血液前用抗凝剂肝素液(南京建成生物工程研究所)润洗,再从罗非鱼尾部静脉取血约 1 mL,4 ℃,3500 r·min⁻¹ 离心 15 min (Sigma 2-16K, Germany),取上层血清置入-80 ℃超低温冰箱中储存备用(Forma-86C, America)。酶联免疫法测定血清中 LH 的水平(BioTek ELx808)。

1.3.2 血清中卵泡刺激素(FSH)水平的测定

方法同 1.3.1。

1.3.3 血清中三碘甲状腺原氨酸(T3)水平的测定

方法同 1.3.1。

1.3.4 血清中甲状腺素(T4)水平的测定

方法同 1.3.1。

1.4 统计学方法

采用 JMP 软件对 LH、FSH、T3、T4 测定数据进行统计和单因素方差分析,并以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

雄性尼罗罗非鱼在甲萘威不同浓度亚急性暴露下,随暴露时间的不同,其体内 LH、FSH、T3、T4 酶活性水平的测定结果分别如图 1、图 2、图 3、图 4 所示。

2.1 LH 水平变化趋势

如图 1 所示,在暴露第 10 d,与丙酮阴性对照组相比,3 个浓度组的 LH 水平均上升。0.8 mg·L⁻¹ 浓度

组的 LH 水平显著高于 $0.16, 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 ($P < 0.05$); $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平基本持平。暴露第 19 d, $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平下降; $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平与第 10 d 基本持平; $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平呈上升趋势并略高于 $0.8, 0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 且 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平与阴性对照组相比差异不显著。暴露第 29 d, 所有浓度组 LH 水平随处理时间延长均呈现暴露以来最大值; $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平高于 $0.16, 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组, 且与阴性对照组相比有显著差异 ($P < 0.05$); $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平与 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组差异不显著。 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 LH 水平自甲萘威暴露以来随处理时间的延长呈现单一上升趋势。

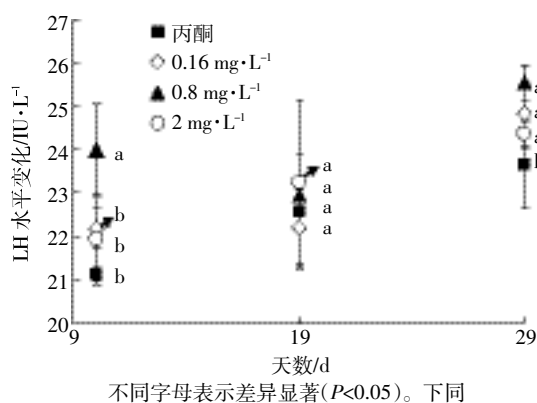


图1 雄性罗非鱼血清中 LH 水平随时间的变化

Figure 1 Changes in serum LH level of male tilapia over time

2.2 FSH 水平变化趋势

如图 2 所示, 在暴露第 10 d, 与丙酮阴性对照组相比, 3 个浓度组的 FSH 水平均上升; $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 FSH 水平显著高于 $0.16, 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 ($P < 0.05$); $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组略高于 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组。暴露第 19 d, $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 FSH 水平下降略低于其

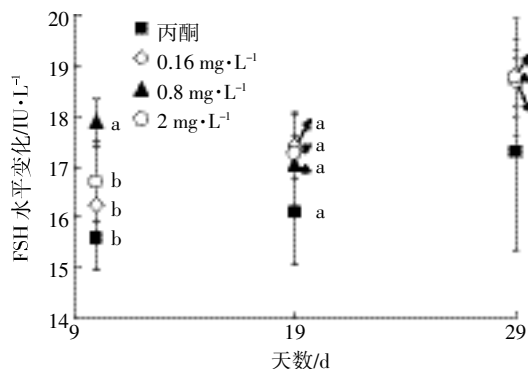


图2 雄性罗非鱼血清中 FSH 水平随时间的变化

Figure 2 Changes in serum FSH level of male tilapia over time

他 2 个浓度组; $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 FSH 水平上升与 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组基本持平。暴露第 29 d, 三个浓度组 FSH 水平均随处理时间的延长上升到甲萘威暴露以来的最大值, 且 3 个浓度组 FSH 水平基本持平, 与阴性对照组相比差异不显著。 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 FSH 水平自甲萘威暴露以来随处理时间的延长呈现单一上升趋势。

2.3 T3 水平变化趋势

如图 3 所示, 在暴露第 10 d, 与丙酮阴性对照组相比, 3 个浓度组的 T3 水平均上升。 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 T3 水平显著高于 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组; $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 T3 水平略高于 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组; 且 $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组与阴性对照组相比差异显著。暴露第 19 d, $0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 T3 水平下降, 均呈现暴露以来的最低值; $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 T3 水平上升并高于其他浓度组。暴露第 29 d, 3 个浓度组 T3 水平明显上升并达到暴露以来最大值。 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 T3 水平自甲萘威暴露以来随处理时间的延长呈现单一上升趋势。

2.4 T4 水平变化趋势

如图 4 所示, 在暴露第 10 d, 与丙酮阴性对照组

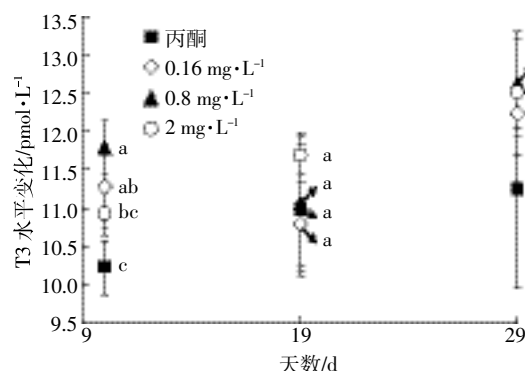


图3 雄性罗非鱼血清中 T3 水平随时间的变化

Figure 3 Changes on serum T3 level of male tilapia over time

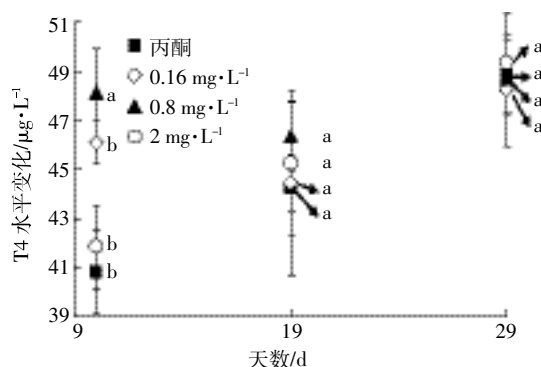


图4 雄性罗非鱼在血清中 T4 水平随时间的变化

Figure 4 Changes in serum T4 level of male tilapia over time

相比,3个浓度组的T4水平均上升; $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T4水平显著大于其他2个浓度组($P<0.05$)。暴露第19 d, $0.16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T4水平有所下降,与对照组相比差异不显著; $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T4水平上升趋势明显。暴露第29 d,3个浓度组T4水平均有所上升并达到甲萘威暴露以来最大值,且与对照组相比差异不显著。 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T4水平自甲萘威暴露以来随处理时间的延长呈现单一上升趋势。

3 讨论

3.1 甲萘威暴露与下丘脑-垂体-性腺轴相关酶LH和FSH水平变化的相关性

研究证实甲萘威是环境内分泌干扰物的一种,它干扰生物体发育过程中正常激素的合成、释放、运输、代谢和排出,进而干扰机体内环境的平衡,导致其神经系统、免疫系统、生长发育及其新陈代谢受到不同程度的影响^[20]。甲萘威对内分泌干扰效应的研究有部分集中在甲萘威暴露下实验动物体内性激素及生理变化上,即下丘脑-脑垂体-性腺轴。 $7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 甲萘威的暴露可干扰平均体重在120~130 g的雄性幼兔精子的生成,以及造成精子能动性的下降^[3]。研究表明,雌性大白鼠在喂食剂量为 $7\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 甲萘威1个月后可增加性周期的改变,慢性给药 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 甲萘威改变了雄性大白鼠6-磷酸葡萄糖脱氢酶的活性^[21]。陈家长的实验研究证实了低剂量的甲萘威在一定程度上诱导了雄性罗非鱼体内雌二醇水平升高,高剂量的甲萘威反而呈现抑制作用并且刺激卵黄蛋白原的异常升高,且30 d暴露下,鱼体内睾酮T的水平显著低于阴性对照组。

下丘脑分泌促性腺激素释放激素,促进垂体前叶分泌黄体生成素LH和促卵泡素FSH^[22]。LH调节雄激素的合成与分泌,FSH促使支持细胞分泌雄激素蛋白和抑制素^[23],控制雄激素向雌激素的转化^[24]。LH与FSH一起作用于雄性罗非鱼睾丸的间质细胞和支持细胞,促进精子生成,在雌性罗非鱼体内促进卵泡的生长发育。精巢功能受损首先是睾丸支持细胞和曲细精管嵌合体受损,致使FSH水平升高,累及间质细胞,致使LH水平升高,精巢产生不可逆转的受损^[25],紧接着FSH和LH水平降低,致使精巢功能下降,精液质量极差甚至无精。

水生生物在甲萘威暴露下的LH、FSH水平的变化研究很少,一般受试动物以鼠居多。对大鼠进行甲萘威单独染毒,发现LH和FSH水平均降低,但与阴性对照组相比,对LH及FSH的主效应无统计学意义^[26]。

本实验中,LH和FSH随甲萘威的暴露水平折线上升,在暴露第10 d,与丙酮阴性对照组相比,3个浓度组LH和FSH水平均上升且 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组LH水平显著高于 0.16 、 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组($P<0.05$)。低剂量甲萘威在短时间内促进了LH及FSH的释放,在雄性动物机体内,FSH及LH水平越高,越容易引发性功能障碍,且LH水平随FSH水平的升高而升高^[27-28]。到甲萘威暴露第19 d,机体逐渐适应并作出相应调整,与对照组相比,并无显著差异。随暴露时间的不断延长,甲萘威与LH和FSH水平呈现出剂量-效应及时间-效应关系。在甲萘威暴露第29 d,各个剂量组的LH和FSH水平均达到暴露以来的最大值,此时罗非鱼精巢受损严重,有可能引发性功能障碍。

现有研究证实,雌激素和甲状腺激素等部分激素生物学效应具有非单调剂量效应^[29]。有些内分泌干扰物呈现低剂量促进、高剂量抑制的作用^[30],有些则相反^[31]。这种复杂的剂量效应关系可能与受体多样性、选择性竞争以及激素的负反馈调节和机体自身因素有关。

3.2 甲萘威暴露与下丘脑-垂体-甲状腺轴相关酶T3和T4水平变化的相关性

目前,对环境激素的内分泌干扰效应的研究逐渐由下丘脑-脑垂体-性腺轴延伸至下丘脑-脑垂体-甲状腺轴。Liu等^[32]研究发现暴露在PTU下的斑马鱼体内T3、T4水平下降,Zhang等^[12]发现久效磷杀虫剂的暴露引起了成年雄性金鱼甲状腺滤泡上皮组织的畸形发育及肥大,且T3水平下降,对T4水平无影响。甲萘威有可能控制甲状腺受体的拮抗活性从而干扰机体正常甲状腺功能^[33]。本实验中,在甲萘威暴露第10 d, $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T4水平显著高于 0.16 、 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组,T3水平显著高于 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组。据此认为,甲萘威短时间内暴露,T3和T4水平呈现了非单调剂量效应关系,低剂量组促进T3和T4水平的上升,高剂量组则起抑制作用。甲萘威暴露第19 d, $0.16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组T3和T4水平均下降,且处于甲萘威暴露以来的最低值。随着暴露时间的延长,时间效应关系不断加强,在甲萘威暴露第29 d,各个剂量组的T3和T4水平均达到暴露以来的最大值,但与丙酮对照组相比差异不明显。Sinha等^[16]研究发现鲶鱼暴露于甲萘威96 h后血清中T3水平升高,而T4水平受到抑制。Peter等^[34]研究表明甲萘威暴露48 h致使攀鲈T3水平降低,对T4水平无影响。由此可见,物种之间的差异以及甲萘威急性暴露时间的长短

都会对内分泌相关酶水平产生不同的影响。鲶鱼暴露于甲萘威 16 d 后 T3、T4 水平以及 T3/T4 值均下降^[6], 而本实验雄性罗非鱼在甲萘威中暴露 19 d 后 T3、T4 水平也下降并处于整个暴露阶段的最低值, 估计甲萘威对水生生物长时间的暴露致使甲状腺相关激素水平下降。除此之外, 物种大小、规格、抵抗力、所处的生长发育阶段的不同, 以及甲萘威纯度和水体质量参数等差异也可能会对酶水平产生不同影响, 具体影响结果有待进一步研究。

本实验中, 雄性尼罗罗非鱼在甲萘威暴露下的各个激素指标随着处理时间的延长呈现折线上升趋势。这种现象体现了内分泌干扰物的非单调剂量效应关系, 同时一定程度上说明了甲萘威可能对不同物种或同一物种不同发育时期的内分泌干扰效应也不尽相同。

4 结论

(1) 甲萘威暴露第 10 d, $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组的 LH、FSH、T4 水平显著高于其他 2 个浓度组及对照组, 说明 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲萘威在短期暴露下对罗非鱼的内分泌系统产生较大的干扰效应。

(2) 甲萘威暴露第 19 d, $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组的 LH、FSH、T3、T4 水平与暴露第一阶段相比有所下降, 原因可能是机体对甲萘威暴露做出适应性调节, 也可能因为激素的负反馈调节, 一定程度上体现了甲萘威对机体内分泌干扰效应的非单调剂量效应关系。

(3) 甲萘威暴露第 29 d, 所有剂量组下 LH、FSH、T3、T4 水平均达到暴露以来最大值, 且 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组各激素水平自暴露以来, 一直呈现单一上调趋势, 说明 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲萘威在长期暴露下对罗非鱼的内分泌系统产生较大的干扰效应。

(4) 实验后期所有激素呈现上升趋势, 与前人研究有一定出入, 可能与物种之间的差异(物种大小、规格、抵抗力和所处的生长发育阶段不同)以及甲萘威暴露时间的长短和水体质量参数等差异有关。

参考文献:

- [1] Liu D, Thomson K, Strachan W M J. Biodegradation of carbaryl in simulated aquatic environment[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1981, 27(1):412-417.
- [2] Gunasekara A S, Rubin A L, Goh K S, et al. Environmental fate and toxicology of carbaryl[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 196:95-121.
- [3] Herr D W, Mwanza J C, Lyke D F, et al. Relationship between brain and plasma carbaryl levels and cholinesterase inhibition[J]. *Toxicology*, 2010, 276(3):172-183.
- [4] Boran H, Altinok I, Capkin E. Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Tissue and Cell*, 2010, 42(3):158-164.
- [5] Matos P, Peixoto F, Carrola J, et al. Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007, 89(1):73-80.
- [6] Habib K, Kumar S, Manikar N, et al. Biochemical effect of carbaryl on oxidative stress, antioxidant enzymes and osmolytes of cyanobacterium *Calothrix brevisima*[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 87(6):615-620.
- [7] Branch R A, Jacqz E. Subacute neurotoxicity following long-term exposure to carbaryl[J]. *The American Journal of Medicine*, 1986, 80(4):741-745.
- [8] Kaur K, Dhawan A. Effect of carbaryl on tissue composition, maturation, and breeding potential of *Cirrhina mrigala*(Ham.) [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1996, 57(3):480-486.
- [9] 陈家长, 王泽镭, 裴丽萍, 等. 西维因对雄性罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)内分泌干扰效应的研究[J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(6):627-632.
- [10] 陈家长, 王泽镭, 瞿建宏, 等. 17β -雌二醇与 1-萘酚对雄性罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)雌激素效应的比较[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(4):754-759.
- [11] CHEN Jiang-zhang, WANG Ze-rong, QIU Li-ping, et al. Research on endocrine disrupting effect of carbaryl on male tilapia(*GIFT Oreochromis niloticus*) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(6):627-632.
- [12] 陈家长, 王泽镭, 瞿建宏, 等. 17β -雌二醇与 1-萘酚对雄性罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)雌激素效应的比较[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(4):754-759.
- [13] CHEN Jiang-zhang, WANG Ze-rong, QU Jian-hong, et al. The comparative effect between 1-naphthol and 17 beta on estrogenic effects in male tilapia(*GIFT Oreochromis niloticus*) [J]. *Ecology and Environmental Science*, 2012, 21(4):754-759.
- [14] Cheng S P, Chen J F, Qiu Y, et al. Carbaryl inhibits basal and FSH-induced progesterone biosynthesis of primary human granulosa-lutein cells[J]. *Toxicology*, 2006, 220(1):37-45.
- [15] Zhang X N, Tian H, Wang W, et al. Exposure to monocrotophos pesticide causes disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in adult male goldfish(*Carassius auratus*) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 193:158-166.
- [16] Shtenberg A I, Rybakova M N. Effect of carbaryl on the neuroendocrine system of rats[J]. *Food and Cosmetics Toxicology*, 1968, 6(4):461-467.
- [17] Brucker-Davis F. Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function[J]. *Thyroid*, 1998, 8(9):827-856.
- [18] Ghosh P, Bhattacharya S. Impact of nonlethal levels of Metacid-50 and carbaryl on thyroid function and cholinergic system of *Channa punctatus*[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*;BES, 1989, 2(2):92.
- [19] Sinha N, Lal B, Singh T P. Carbaryl-induced thyroid dysfunction in the freshwater catfish *Clarias batrachus*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1991, 21(3):240-247.
- [20] Devlin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influ-

- ences[J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3):191-364.
- [18] 方平, 李英文. 酶联免疫吸附法在水产养殖中的应用[J]. 水利渔业, 2004, 24(1):12-14.
- FANG Ping, LI Ying-wen. The application of ELISA in aquaculture[J]. *Reservoir Fisheries*, 2004, 24(1):12-14.
- [19] 吴端宗, 林国诚. ELISA 测定血清 LH, FSH 的方法学评价[J]. 现代检验医学杂志, 2002, 17(2):15-16.
- WU Duan-zong, LIN Guo-cheng. Detection of serum LH and FSH with enzyme-linking immunoassay[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2002, 17(2):15-16.
- [20] 时国庆, 李栋, 卢晓坤, 等. 环境内分泌干扰物质的健康影响与作用机制[J]. 环境化学, 2011, 20(1):211-223.
- SHI Guo-qing, LI Dong, LU Xiao-kun, et al. The health effects and related mechanism of environmental andocrine disruptors[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 20(1):211-223.
- [21] Avilova G G. The residual and toxicity of carbaryl[J]. *Translated Collection of Pesticide*, 1983, 5(5):52-60.
- [22] Butcher R L, Collins W, Fugo N. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat[J]. *Endocrinology*, 1974, 94(6):1704-1708.
- [23] 余高妍, 颜崇淮, 余晓刚, 等. 低水平铅暴露对雄性幼兔睾丸组织和内分泌激素影响的研究[J]. 环境与职业, 2007, 24(3):300-304.
- YU Gao-yan, YAN Chong-huai, YU Xiao-gang, et al. The effect of low-level lead exposure on the testicle tissue and hormone of male rabbits in juvenile stage[J]. *Journal Occupational and Environmental Medicine*, 2007, 24(3):300-304.
- [24] 王慧, 田华, 汝少国. EEDs 对鱼类性激素合成途径干扰作用研究进展[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(3):306-314.
- WANG Hui, TIAN Hua, RU Shao-guo. Research progress indisrupting effects of EEDs on steroid hormone biosynthesis pathway of fish[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(3):306-314.
- [25] 周琴. 双酚 A 对男性生殖功能的影响及机制探讨[D]. 太原: 山西医科大学, 2013.
- ZHOU Qin. The impacts of BPA on human male reproduction and mechanism[D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2013.
- [26] 李玲, 王秀琴, 田晓梅, 等. 西维因与氰戊菊酯联合染毒对雄性大鼠的生殖毒性[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(12):1072-1075.
- LI Ling, WANG Xiu-qin, TIAN Xiao-mei, et al. Combined toxicity of carbaryl and fenvalerate to fertility in male rats[J]. *Journal of Environment and Health*, 2011, 28(12):1072-1075.
- [27] 游金辉, 王继忠, 吴成秀, 等. 男性不育与性功能障碍患者生殖激素水平的改变[J]. 川北医学院学报, 1999, 14(3):8-9.
- YOU Jin-hui, WANG Ji-zhong, WU Cheng-xiu, et al. The level of serum reproductive hormone in male infertility and sexual function in sufficiency[J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 1999, 14(3):8-9.
- [28] Giagulli V A, Vermeulen A. Leydig cell function in infertile men with idiopathic oligospermic infertility[J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1988, 66(1):62-67.
- [29] 楼钦钦, 田密, 秦占芬, 等. 内分泌干扰物的非单一剂量-效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(3):295-305.
- LOU Qin-qin, TIAN Mi, QIN Zhan-fen, et al. Research progress in non-monotonic dose-response of endocrine disruptors[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(3):295-305.
- [30] Muto T, Wakui S, Imano N, et al. Mammary gland differentiation in female rats after prenatal exposure to 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl[J]. *Toxicology*, 2002, 177(2):197-205.
- [31] Larson D L, McDonald S J, Hamilton S, et al. Effects of the herbicide atrazine on *Ambystoma tigrinum* metamorphosis: Duration, larval growth, and hormonal response[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 1998, 71(6):671-679.
- [32] Liu C S, Zhang X W, Deng J, et al. Effects of prochloraz or propylthiouracil on the cross-talk between the HPG, HPA, and HPT axes in zebrafish[J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45(2):769-775.
- [33] Sun H, Shen O X, Xu X L, et al. Carbaryl, 1-naphthol and 2-naphthol inhibit the beta-1 thyroid hormone receptor-mediated transcription in vitro[J]. *Toxicology*, 2008, 249(2):238-242.
- [34] Peter V S, Babitha G S, Bonga S E, et al. Carbaryl exposure and recovery modify the interrenal and thyroidal activities and the mitochondria-rich cell function in the climbing perch *Anabas testudineus* Bloch[J]. *Aquatic Toxicology*, 2012, 125:306-313.