

灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的影响

陆妍, 陈曦, 裘丽萍, 胡庚东, 宋超, 范立民, 郑尧, 孟顺龙, 陈家长

引用本文:

陆妍, 陈曦, 裘丽萍, 胡庚东, 宋超, 范立民, 郑尧, 孟顺龙, 陈家长. 灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(3): 472–480.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0705>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

敌草快对斑马鱼组织损伤及慢性肝脏损害作用

沈文静, 张潇, 赵子昂, 方再光, 谢曦, 王蓉, 胡文婷

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 949–956 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0043>

Se(IV)和Se(VI)在斑马鱼组织中的累积及对抗氧化系统的影响

马珊珊, 赵光辉, 常文越, 刘智, 张依然, 陈红星, 谢凌天

农业环境科学学报. 2019, 38(1): 51–59 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0287>

亚慢性铜暴露对背角无齿蚌鳃抗氧化系统的影响

林子根, 井维鑫, 王兰

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1233–1239 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1175>

湿地植物香蒲根系抗氧化酶活性和根系分泌物对阿特拉津胁迫的响应

武淑文, 侯磊, 刘云根, 范黎明, 叶敏

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2751–2760 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0205>

微塑料与铅复合污染对水稻幼苗根系生长和氧化应激的影响

刘玲, 洪婷婷, 胡倩男, 谢瑞丽, 周颖, 王玲, 汪承润

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2623–2633 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0523>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

陆妍, 陈曦, 裘丽萍, 等. 灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(3): 472–480.

LU Y, CHEN X, QIU L P, et al. Effects of methomyl on antioxidant defense system of zebrafish embryos[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(3): 472–480.



开放科学 OSID

灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的影响

陆妍¹, 陈曦^{1,2}, 裘丽萍², 胡庚东^{1,2}, 宋超^{1,2}, 范立民^{1,2}, 郑尧^{1,2}, 孟顺龙^{1,2*}, 陈家长^{1,2*}

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部水产品质量安全风险因子风险评估实验室(无锡), 中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要:为探究灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的影响及氧化损伤效应, 将受精后 6 h 内的斑马鱼胚胎暴露在浓度为 0、2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的灭多威溶液中, 分别在 24、48、72、96 h 时测定斑马鱼体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)的活性及丙二醛(MDA)的含量。暴露于灭多威后, SOD 活性呈现先降低后升高再降低的趋势, 各浓度处理组与对照组差异显著($P<0.05$); CAT 活性表现为先被诱导后抑制减弱的效应, 其中 20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组 CAT 活性显著高于对照组($P<0.05$); GR、GSH、GSSG 活性呈现先升高后降低的趋势; 与对照组相比, 各浓度处理组斑马鱼胚胎体内 MDA 含量增加, 呈先增加后减少再增加的趋势。灭多威对斑马鱼胚胎具氧化应激效应, 造成鱼体内抗氧化防御因子活性水平及 MDA 含量发生改变, 干扰抗氧化防御系统正常工作, 具有氧化损伤效应。

关键词: 灭多威; 斑马鱼; 胚胎; 抗氧化防御因子; 氧化损伤

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)03-0472-09 doi:10.11654/jaes.2021-0705

Effects of methomyl on antioxidant defense system of zebrafish embryos

LU Yan¹, CHEN Xi^{1,2}, QIU Liping², HU Gengdong^{1,2}, SONG Chao^{1,2}, FAN Limin^{1,2}, ZHENG Yao^{1,2}, MENG Shunlong^{1,2*}, CHEN Jiazhang^{1,2*}

(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China; 2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences/Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Environmental Factors (Wuxi), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: To explore the effects of methomyl on the antioxidant defense system and oxidative damage in zebrafish embryo development, zebrafish embryos were exposed to methomyl solutions of 0, 2, 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ concentrations within 6 h after fertilization. The contents and activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), and malondialdehyde (MDA) were measured at 24, 48, 72 h, and 96 h, respectively. After exposure to methomyl, the SOD activity decreased at first, then increased and decreased, with significant differences between each concentration group and the control group ($P<0.05$). The CAT activity was first induced and then inhibited; the CAT activity in 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ treatment groups was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). The GR, GSH, and GSSG activity increased at first and then decreased. Compared with the control group, the MDA content in zebrafish embryos in each concentration group increased, first increasing, then decreasing, and finally increasing again. Methomyl has an oxidative stress effect on zebrafish embryos, changing the activity level of antioxidant defense factors and MDA content in zebrafish embryos by inhibiting or promoting it, which interferes with the normal operation of the antioxidant defense system, with oxidative damage effects.

Keywords: methomyl; zebrafish; embryo; antioxidant defense factor; oxidative damage

收稿日期: 2021-06-20 录用日期: 2021-10-13

作者简介: 陆妍(1996—), 女, 江苏苏州人, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学、渔业环境保护。E-mail: 1563614605@qq.com

*通信作者: 孟顺龙 E-mail: mengsl@ffrc.cn; 陈家长 E-mail: chenjz@ffrc.cn

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-46); 国家重点研发计划项目(2020YFD0900502)

Project supported: National Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-46); The National Key Research and Development Program of China (2020YFD0900502)

灭多威(Methomyl, MET),分子式为 $C_5H_{10}N_2O_2S$, 又称乙肪威、万灵、灭虫快等,属于氨基甲酸酯类农药^[1]。灭多威是一种强效的杀虫剂,因其选择性强、高效等特点而被广泛使用^[2-3]。1997年,灭多威被世界野生动物基金会列为雌激素类环境内分泌干扰物(Endocrine disrupting chemicals, EDCs)^[4]。EDCs对鱼类的危害主要表现为生殖毒性、遗传毒性、免疫毒性等。野外试验证实鱼类生长发育和生殖障碍与EDCs的暴露有关,处于生命发育早期的胚胎和幼鱼对EDCs尤为敏感,短暂暴露可造成生物体组织器官的不可逆损伤^[5]。浙江省16个市级水源地的灭多威浓度达到 $0.172\ 0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[6];多地检测发现灭多威在自然水体中的残留量为 $0\sim 97\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7];对吉林省6种食用菌农药残留污染情况进行检测,发现灭多威均有检出并且超出欧盟标准($0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[8]。目前我国有关灭多威在水环境中残留限量标准尚未制定,相关工作亟待开展。

灭多威能影响组织器官抗氧化酶活性,并对生物机体造成损伤效应^[9]。以仓鼠为研究对象发现,氧化损伤可能是环境雌激素生殖毒性的作用机理之一^[10];灭多威使雄性大鼠血清、睾丸中丙二醛(MDA)含量显著上升,超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量有所下降,并且染毒后,大鼠睾丸组织抗氧化能力减弱,抗氧化系统处于失代偿状态,导致脂质过氧化反应增强、氧自由基增多,影响睾丸的生精功能^[11];在鱼体受到外源污染物的胁迫时,体内抗氧化防御系统会作为一种代偿机制来抵消生物体产生的活性氧^[12]。鱼类等生物机体中存在一套完备的抗氧化防御体系,其中一类重要的抗氧化防御因子包括:SOD、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、GSH、氧化型谷胱甘肽(GSSG)等,它们的活性会因污染物的存在而被诱导或抑制^[13],是指示生物体是否处于污染胁迫状态的重要参数^[14]。同时,MDA含量可用于判定胞膜脂质过氧化损伤程度^[15]。因此,根据上述抗氧化防御因子活性及含量的变化可以一定程度上反映生物体所受外源环境胁迫的程度^[16-17]。

本文旨在探究灭多威对斑马鱼体内抗氧化防御因子活性水平的影响,进一步了解灭多威对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的损伤效应,以期斑马鱼作为污染检测指示生物提供理论依据,为了解灭多威对鱼类健康的潜在危害及相关水质标准的制定提供可参考的资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

试验用鱼购自上海费曦生物科技有限公司,为AB系野生型斑马鱼。斑马鱼饲养于中国水产科学研究院淡水渔业研究中心养殖室,采用更新式半静态水养殖,饲养于 $28\text{ cm}\times 38\text{ cm}\times 30\text{ cm}$ 规格的缸中。光暗比为 $14\text{ h}:10\text{ h}$,水温控制在 $(28\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$,pH为 $7.2\sim 7.6$,溶解氧含量为 $(7.0\pm 0.2)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每日喂食3次丰年虾卵,每天更换一半的养鱼用水,养鱼用水为曝气一周的去氯自来水。动物福利按中国水产科学研究院淡水渔业研究中心规定(2011AA1004020012)执行。

1.1.2 主要试剂与仪器

试验所用灭多威原药(纯度97%)购自上海焦点生物技术有限公司。试验中所示浓度为药物的有效成分含量。氯化钠(NaCl,分析纯)购自上海联试化工试剂有限公司。总蛋白(TP)、SOD、CAT、GR、GSH、GSSG、MDA试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

试验主要仪器为DW-86L超低温保存箱(海尔,青岛)、PWC 124型分析天平[艾德姆衡器(武汉)有限公司]、BioTek酶标仪(美国伯腾仪器有限公司)、紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司)、GKC 21-4控温水浴锅(南通沪南科学仪器有限公司)、PGX-150B智能光照培养箱(无锡沃信仪器有限公司)、80 i光学显微镜(Nikon,日本)、小型台式离心机(Sigma,德国)。

1.2 试验方法

1.2.1 胚胎收集

繁殖前夜停止喂食,将斑马鱼按照雌雄比例3:2放入孵化网箱内,用隔板将雌鱼和雄鱼分开过夜。次日待光照刺激后,将隔板抽开,雄鱼和雌鱼开始追逐时,记录产卵时间。收集6 h内的受精卵,放入培养皿中,用养鱼用水清洗两遍,将残饵以及未受精的、发白的死卵挑出,在显微镜下挑选发育健康的胚胎,放在培养皿中备用。

1.2.2 暴露试验

前期试验表明,96 h时灭多威对体长 $(3.12\pm 0.22)\text{ cm}$ 、体质量 $(0.31\pm 0.03)\text{ g}$ 的斑马鱼的 LC_{50} 为 $2.119\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,因此,本研究将灭多威浓度分别设置为0(对照)、2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,每个浓度设置3个平行。将健康的胚胎随机放入装有灭多威溶液的6孔板中,每孔加入5 mL灭多威溶液和30枚胚胎。将6孔板放

入28℃的光照培养箱中,光暗比为14 h:10 h,连续暴露96 h。暴露期间每隔24 h更换一半的灭多威溶液,期间吸去死卵。分别在24、48 h时随机取出25枚胚胎,在72、96 h时随机取出25条仔鱼放入1.5 mL的离心管中,液氮速冻后放入-80℃冰箱备用。

1.2.3 MDA及抗氧化参数测定

按照质量(g):体积(mL)=1:19的比例向样品中加入0.75%的生理盐水,用电动研磨器充分研磨后,放入冷冻离心机(2 500 r·min⁻¹、4℃)离心10 min,离心后取上清液(5%组织匀浆液),放入1.5 mL离心管中待测。

TP采用考马斯亮蓝法进行测定,MDA含量采用TBA法进行测定。SOD、CAT、GR、GSH、GSSG活性按照试剂盒步骤进行测定。

1.3 统计分析

使用Excel 2016进行数据统计与整理,使用SPSS 25.0进行统计描述,多个样本平均数采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以Duncan法进行组间两两比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义,使用GraphPad Prism 8.0.1做图。

2 结果与分析

2.1 斑马鱼胚胎发育及形态变化

在试验暴露期间,灭多威浓度组斑马鱼胚胎均出现发育畸形,且畸形率呈现随灭多威浓度升高而增大的趋势,主要表现为心包水肿、体轴弯曲、尾部发育畸形等(图1)。96 h时,测得0、2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组斑马鱼体长分别为(4.04±0.24)、(3.89±0.17)、(3.85±0.19)、(3.83±0.15) cm,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组斑马鱼体长小于对照组斑马鱼体长,且斑马鱼个体体长呈

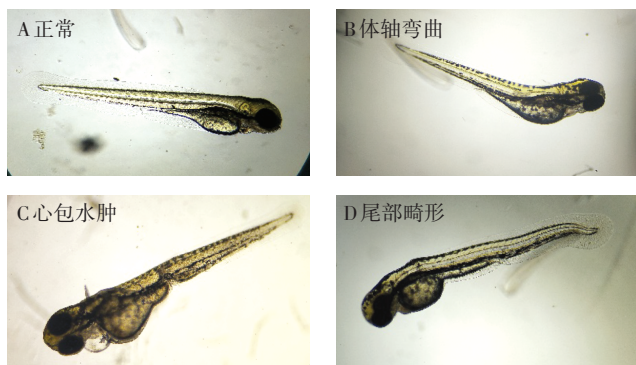


图1 灭多威暴露下引起的斑马鱼畸形(×100倍)

Figure 1 Zebrafish deformities caused by methomyl exposure(×100 times)

现随灭多威浓度升高而缩短的趋势。斑马鱼胚胎在24 h时死亡数最多,斑马鱼累计死亡率呈现随灭多威浓度升高而升高的趋势(表1)。

表1 不同浓度灭多威对斑马鱼胚胎累计死亡率的影响

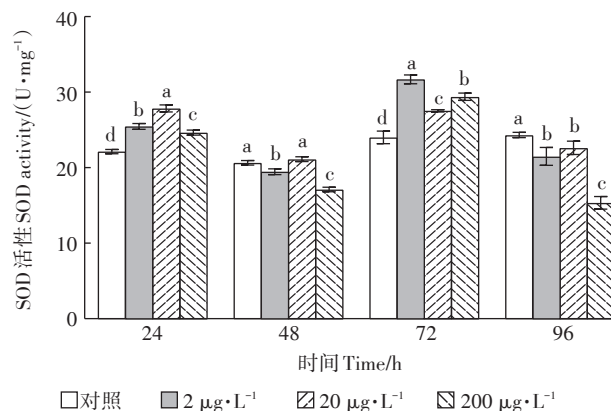
Table 1 Effects of different concentrations of methomyl on cumulative mortality of zebrafish embryo

浓度 Concentration/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	胚胎个数 Number of embryos	累计死亡率Cumulative mortality/%			
		24 h	48 h	72 h	96 h
0	90	11.85	15.56	15.56	15.56
2	90	13.33	17.04	17.04	17.04
20	90	15.56	20.00	20.74	20.74
200	90	20.00	25.93	27.41	27.41

2.2 灭多威对抗氧化参数变化的影响

灭多威对SOD活性的影响如图2所示。整个试验暴露期间,3个浓度组SOD活性呈现先降低后升高再降低的变化趋势。具体分析,SOD活性在24、72 h时被诱导,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组与对照组相比具显著差异($P<0.05$)。在72 h时,暴露于2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度中的SOD活性达到最大,显著高于对照组($P<0.05$),为对照组的132.06%。在96 h时,处理组SOD活性呈下降趋势,其中200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度暴露下SOD活性值最低,为对照组的63.10%。

灭多威对CAT活性的影响如图3所示。整个试验暴露期间,与对照组相比,3个浓度组CAT活性均高于对照组,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组CAT活性呈先升高后降低的趋势,20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组CAT活性与对照组相比具显著性差异($P<0.05$),且呈现先诱导后抑制减



不同小写字母代表处理间差异显著($P<0.05$)。下同

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments($P<0.05$). The same below

图2 灭多威对SOD活性的影响

Figure 2 The effect of methomyl on SOD activity

弱效应。具体分析,整个试验期间,20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下CAT活性显著高于对照组 ($P<0.05$); 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威暴露下CAT活性值在72 h时达到最大,为对照组的180.84%;200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威暴露下其CAT活性值在48 h时达到最大,为对照组的296.48%。

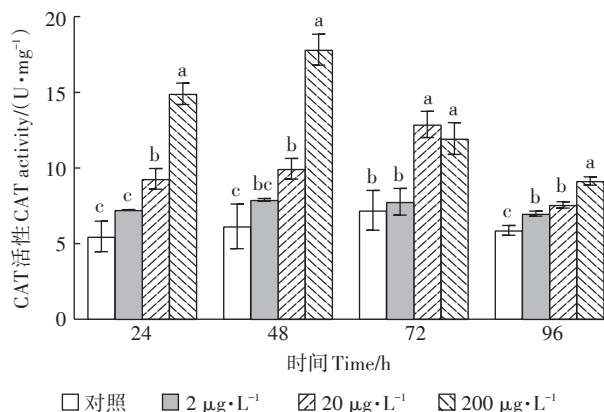


图3 灭多威对CAT活性的影响

Figure 3 The effect of methomyl on CAT activity

灭多威对GR活性的影响如图4所示。在整个试验暴露期,除20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组外,GR活性呈先升高后降低的趋势,20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GR活性呈现先降低后升高再降低的趋势。具体分析,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度条件下,灭多威对GR活性产生诱导作用,且在48 h时,GR活性显著升高 ($P<0.05$) 达到最大值,为对照组的139.44%。在24、72 h时,20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下,GR活性显著升高 ($P<0.05$),而在48、96 h时低于对照组。在24、48、72 h时,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下GR活性显著高于对照组 ($P<0.05$),且在48 h时活性达到最高值,为对照组的147.74%。

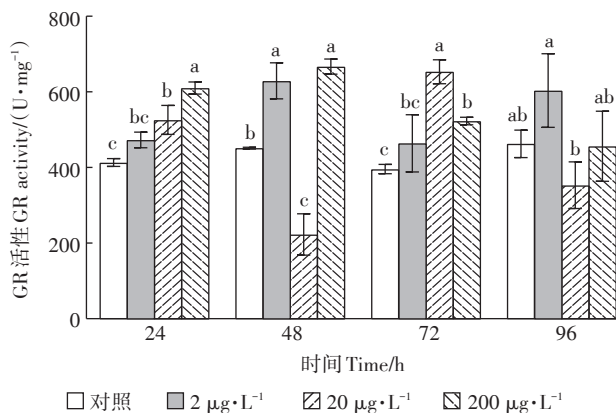


图4 灭多威对GR活性的影响

Figure 4 The effect of methomyl on GR activity

灭多威对GSH活性的影响如图5所示。整个试验暴露期间,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GSH活性呈先升高后降低的趋势;20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GSH活性低于对照组,且在48~96 h时呈现随灭多威浓度升高而降低的趋势。具体分析,在48 h和72 h时,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露组的GSH活性高于对照组,但与对照组相比无显著性差异 ($P>0.05$)。试验期间,20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下,GSH活性显著低于对照组 ($P<0.05$)。200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下,GSH活性在96 h时达到最低值,为对照组的57.86%。

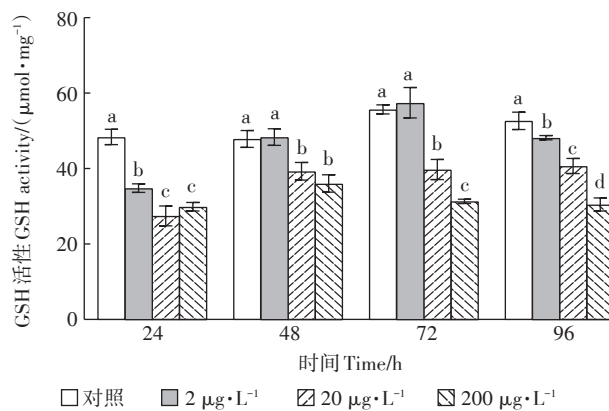


图5 灭多威对GSH活性的影响

Figure 5 The effect of methomyl on GSH activity

灭多威对GSSG活性的影响如图6所示。整个试验暴露期间,2、20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下,GSSG活性呈先升高后降低的趋势,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GSSG活性呈上升趋势。具体分析,在72 h时,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露条件下灭多威对GSSG活性具显著影响 ($P<0.05$)。在48 h时,20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度条件下GSSG活性显著高于对照组 ($P<0.05$),并且此时GSSG活性达到最大值,为对照组的207.12%。

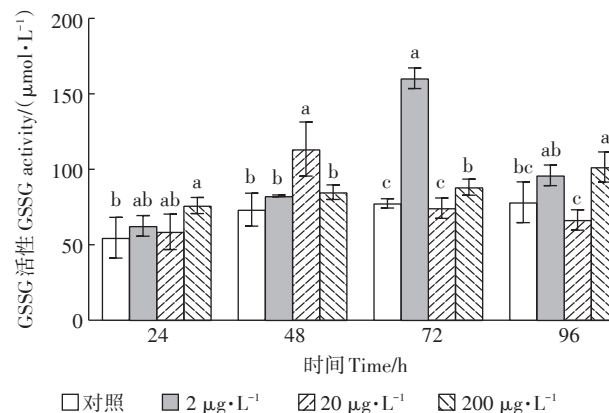


图6 灭多威对GSSG活性的影响

Figure 6 The effect of methomyl on GSSG activity

整个试验期间,200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威暴露条件下,GSSG活性高于对照组,并且在24、72、96 h时达到显著水平($P<0.05$)。

2.3 灭多威对MDA含量影响

灭多威对MDA含量的影响如图7所示。整个试验暴露期间,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组MDA含量高于对照组,呈先增加后减少再增加的趋势。具体分析,在24 h时,20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与对照组相比差异显著($P<0.05$)。48、72、96 h时,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组与对照组相比存在显著性差异($P<0.05$)。其中在96 h时,2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下的MDA含量在整个暴露期间达到最大值,分别为对照组的297.78%和378.43%。

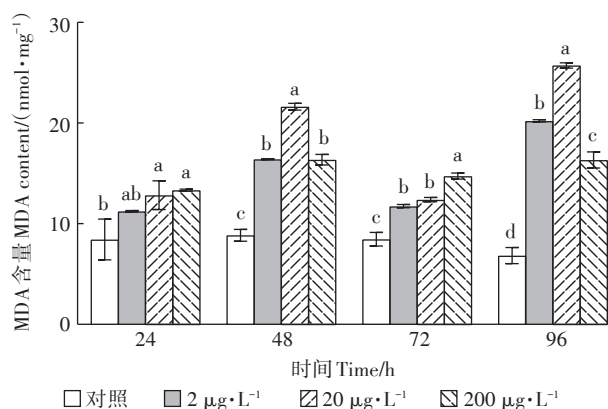


图7 灭多威对MDA含量的影响

Figure 7 The effect of methomyl on MDA content

3 讨论

生物体内存在氧化与抗氧化调节机制^[18],受到农药等外源污染物刺激时,抗氧化防御因子水平会发生变化,使生物体处于氧化应激状态^[19]。生物体内的抗氧化防御系统在一定程度上能够减轻氧化应激反应,对受损的生物大分子具有一定的修复作用^[20]。研究表明,抗氧化防御因子的重要特性之一是在氧化应激状态下其活性或含量能够发生变化,能间接反映出外源污染物的存在^[21]。因此,可以通过测定抗氧化防御因子的活性来评判外源污染物对生物体的氧化损伤程度^[22]。

3.1 灭多威对抗氧化参数变化的影响

SOD是一种关键的抗氧化酶^[23],它与CAT共同筑起了清除体内活性氧的第一道防线^[24]。SOD通过歧化反应将超氧化物转化为氧气和过氧化氢^[25],过氧化氢可以被CAT分解清除,生成水和氧气,从而避免氧

自由基对细胞的氧化损伤。研究报道^[26],采用0.05、0.50、1.20 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 的三唑磷农药对斑马鱼染毒4周后,斑马鱼SOD活性整体呈现先被诱导后抑制的趋势,这与本试验的变化趋势是一致的。本试验中,SOD活性在24 h时被诱导,推测是在受到灭多威刺激后鱼体迅速启动防御机制,产生大量SOD保护细胞免受自由基造成的损伤。灭多威经过一定时间的积累会对斑马鱼正常生长发育造成影响,浓度越高,对鱼体损害越大^[27]。同时斑马鱼体内的活性氧自由基随时间的延长在不断积累,使SOD处于激发状态^[26,28],故在72 h时SOD活性升高且2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组SOD活性值最大。RUDNEVA^[29]在研究过程中发现,在卵子发生与胚胎发育的过程中,杜父鱼(*Proterorhinus marmoratus* 和 *N. melanostomus*) 和鲇鱼 (*Blennius sanguinolentus*) 在胚胎发育至V期时,其SOD活性会有所下降^[30]。斑马鱼胚胎是一个“封闭系统”,发育早期只能通过绒毛膜上的孔洞获取氧气才能满足斑马鱼胚胎的正常生长发育^[31-32],且胚胎所需耗氧量要比在卵子发生时期大得多^[28],故在本试验中,48 h时SOD活性有所降低。研究表明,在20.39 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的灭多威作用下,尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) 幼鱼SOD活性随时间延长而降低^[33];PETERS等^[34]的研究表明,大菱鲆(*Scophthalmus maximus*) 从胚胎到孵化后第11 d其SOD活性逐渐下降,摄氧量升高3倍左右,上述研究变化趋势与本文结果相似。在本试验中,暴露96 h后,2、20、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组SOD活性低于对照组,且SOD活性与斑马鱼累计死亡率呈显著负相关($P<0.05$),表明SOD活性随时间的延长被持续激活,长时间作用会引起代偿失调损伤机体^[11],斑马鱼体内的酶系统因此遭到破坏,导致SOD活性降低。在96 h时200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组SOD活性值最低,可能有以下两种原因:一是高浓度灭多威长时间积累,鱼体不能及时代谢,达到幼鱼机体阈值,导致其抗氧化防御系统受损;二是灭多威与SOD结合导致SOD失活,最终活性降低,且96 h时,3个浓度组中200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组斑马鱼累计死亡率为最高。

CAT是一种内源性氧清除剂^[35],具有强烈的抗氧化特性,对生物体内羟自由基与超阴离子有很好的抑制效果,也可以抑制MDA的生成,降低生物体内MDA含量^[36-37]。研究表明^[34],暴露于0.1、0.5、1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氟苯虫酰胺中,斑马鱼肝脏CAT活性被诱导;刘存歧等^[38]指出,大菱鲆体内CAT活性在卵子发生和细胞发育时会有所升高,这与本试验中在24、48 h时,CAT

活性升高且高于对照组的趋势一致。MENG等^[39]的研究表明,暴露时间为0~30 d、灭多威暴露浓度高于 $0.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,罗非鱼肝脏CAT活性被诱导,在前12 d时,表现为浓度越高,CAT活性越高,这与本文研究结果相似。本试验中,在24、48、96 h时,CAT活性被诱导,且 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组在48 h时CAT活性值最高;而72 h时, $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组CAT活性低于 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组,可能是高浓度灭多威暴露下斑马鱼体内酶系统受到一定损伤,CAT部分失活导致的。暴露至96 h时,CAT活性与斑马鱼累计死亡率呈显著正相关($P<0.05$),2、20、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组CAT活性被诱导。此时CAT活性呈现随灭多威浓度升高而升高的趋势,但随着暴露时间增加诱导效应减弱。王钰钦等^[40]的研究发现,经灭多威处理42 d后,吉富罗非鱼肝脏CAT活性降低;李方敏等^[26]在研究 $0.05\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的三唑磷对斑马鱼肝脏CAT活性影响时,也观察到相似的变化趋势,本文与以上研究结果相似。CAT活性出现下降趋势可能是由于随着灭多威暴露时间的延长,鱼体内活性氧的调节作用使得CAT活性被抑制。

GSSG与GSH可以相互转化^[41],而GR可以在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)支持下将GSSG还原成为GSH^[42-43]。FELIX等^[44]的研究表明, 0.2 、 0.4 、 $0.8\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氯胺酮处理斑马鱼胚胎,在原肠期(受精后5.5 h)暴露至受精后8 h,GSSG活性升高;西维因和甲基对硫磷的混合物暴露下,鲫鱼脑、肝、鳃、肌肉内GSSG活性显著升高^[45],这与本文试验结果相似。本试验中,24、48 h时3个浓度组GSSG活性升高,2、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露下,GR活性显著升高($P<0.05$)。暴露至72 h时, $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GSSG活性显著升高至最大值,说明低浓度灭多威对鱼体内GSSG产生适应性诱导反应,导致出现上升趋势。此时20、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组中GSSG活性呈现随灭多威浓度升高而升高的趋势,GR活性呈现随灭多威浓度升高而降低的趋势,说明高浓度灭多威暴露对斑马鱼产生了强氧化胁迫,从而使GR活性代偿性增加,以清除体内因氧化胁迫而产生的过量氧自由基。48 h时,暴露于 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组中的GSSG活性显著升高,GR活性被抑制,其可能是为了维持谷胱甘肽解毒系统的稳定^[14]。在暴露至96 h时, $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组中GSSG活性降低,GR活性升高,可能是由于长时间、低浓度灭多威暴露下对斑马鱼幼鱼产生了中毒反应,进而导致GSSG活性降低,而GR活性随着适应性诱导反应有所升高。WU等^[46]研究发现,斑马鱼胚胎暴露于双酚A(BPA)中

168 h后,斑马鱼胚胎GR活性被抑制,这与本文结果相似。本试验中20、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组在暴露96 h后,GR活性低于对照组,呈现降低趋势。 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威暴露下,GSSG活性有所降低但高于对照组,GR活性下降较明显。同一时间下,GSH活性也明显降低,其原因可能是GR通过催化GSH降低体内氧自由基的含量,从而减少氧化应激带来的损伤^[47-48]。研究表明,GR活性降低,谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性增强,可催化GSH反应生成GSSG,清除机体内的过氧化物及脂质过氧化物,从而达到保护机体的目的^[49],这与本试验结果一致,即暴露在 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威溶液下,GSSG含量升高,GR含量降低。

GSH与GSSG是一类非常重要的非酶促自由基清除剂,对增强鱼类抗氧化应激能力以及解毒能力发挥着举足轻重的作用^[50]。GSH既可以作为一种独立的抗氧化剂,也可以在谷胱甘肽S-转移酶(GST)催化下,与毒物结合生成可溶性无害物质,参与机体的解毒作用^[51-52]。研究发现,暴露在BPA中的斑马鱼仔鱼体内GSH活性受到抑制^[53];暴露于三氯生中的斑马鱼肝脏GSH活性与对照组相比受到抑制^[54],上述试验结果与本研究类似。本试验中,20、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威暴露下,GSH活性被抑制,显著低于对照组($P<0.05$),推测高浓度灭多威暴露下,GSH氧化还原状态被破坏,抗氧化防御系统受损。在48、72 h时,暴露于 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威中的GSH活性呈升高趋势。王钰钦等^[40]在研究 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 灭多威对吉富罗非鱼肝脏14 d GSH活性影响时也发现了类似的趋势,这可能是长时间灭多威刺激下,GSH活性被大量激发所致。发育至96 h后,2、20、 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组GSH活性低于对照组,呈现随灭多威浓度升高而降低的趋势,并且与累计死亡率呈显著负相关($P<0.05$)。王世豪等^[55]将斑马鱼暴露于 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸四环素溶液中2周,观察到了与本研究类似的结果。这说明随着浓度的升高、暴露时间的延长,在强氧化胁迫下斑马鱼体内GSH合成机制或适应性机能遭到破坏^[38],且浓度越高破坏越严重,造成发育毒性作用,表现为低孵化率、高畸形率、高累计死亡率。

3.2 灭多威对MDA含量影响

脂质过氧化物含量是反映氧化损伤发生程度的重要指标。MDA作为脂质过氧化产物之一,其含量可以反映出生物体内脂质过氧化水平的高低^[56-57]。熊道文等^[58]的研究表明膜系统遭受损害与MDA有关。MDA能降低细胞膜的通透性与流动性,与鱼体

内蛋白质等生物大分子结合,改变自身结构,从而对机体产生影响^[59]。研究表明,随着氧化应激水平升高,MDA含量有所上升^[60-61]。段志文等^[62]以3、15、30 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的呋喃丹对大鼠经口染毒7 d后,大鼠睾丸组织匀浆中MDA含量增加;宋玥颐^[63]的研究表明,斑马鱼暴露在0.1、0.5、1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氟苯虫酰胺14 d后,斑马鱼肝脏中MDA含量显著增加,这与本研究结果相似。本文研究表明,灭多威处理组MDA含量高于对照组,在48、72、96 h时,2、20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组MDA含量显著高于对照组,MDA含量呈现随灭多威浓度升高而增加的趋势,且在96 h时2、20、200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的MDA含量均达到最大值。这说明随着时间的延长灭多威在鱼体内不断积累,大量脂质过氧化反应发生,机体抗氧化防御系统被破坏,对膜系统造成损伤作用^[56]。96 h时,2、20、200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组中,200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组MDA含量最低,推测高浓度灭多威对斑马鱼造成了更为严重的毒性作用,部分MDA与斑马鱼体内生物大分子结合并使其功能结构发生改变^[59],影响斑马鱼正常发育。这与斑马鱼累计死亡率相印证,即灭多威浓度越高,斑马鱼累计死亡率越高。

4 结论

(1)在2、20、200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 灭多威浓度暴露下丙二醛含量显著增加($P < 0.05$),脂质过氧化水平升高,扰乱了斑马鱼胚胎抗氧化防御系统的正常功能。

(2)经灭多威暴露后斑马鱼胚胎内超氧化物歧化酶、氧化型谷胱甘肽活性变动不稳定,过氧化氢酶活性先被诱导后抑制减弱,谷胱甘肽还原酶活性总体表现为诱导状态,还原型谷胱甘肽活性整体被抑制。

(3)抗氧化防御因子活性的变化破坏了斑马鱼胚胎自身氧化防御系统的平衡,造成氧化应激及功能异常,对斑马鱼胚胎抗氧化防御系统具有氧化损伤效应。

参考文献:

- [1] VAN-SCOY A R, YUE M, DENG X, et al. Environmental fate and toxicology of methomyl[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, 222: 93-109.
- [2] STRATHMANN T J, STONE A T. Reduction of the carbamate pesticides oxamyl and methomyl by dissolved Fe II and Cu I [J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(12): 2461-2469.
- [3] WU X, SUN X, ZHANG C, et al. Micro-mechanism and rate constants for OH-initiated degradation of methomyl in atmosphere[J]. *Chemosphere*, 2014, 107(7): 331-335.
- [4] YI M Q, LIU H X, SHI X Y, et al. Inhibitory effects of four carbamate insecticides on acetylcholinesterase of male and female *Carassius auratus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C-Toxicology & Pharmacology*, 2006, 143(1): 113-116.
- [5] 孟顺龙, 宋超, 范立民, 等. 水体中环境内分泌干扰物(EDCs)污染现状及其对鱼类的生殖危害[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(1): 202-208. MENG S L, SONG C, FAN L M, et al. Pollution of environment endocrine disrupting chemicals(EDCs) in water and its adverse reproductive effect on fish[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 29(1): 202-208.
- [6] 王静, 刘铮铮, 潘荷芳, 等. 浙江省市级饮用水源地氨基甲酸酯农药的分析方法、污染特征及健康风险研究[J]. *环境化学*, 2010, 29(4): 623-628. WANG J, LIU Z Z, PAN H F, et al. Research on analysis methods, pollution characteristics and health risks of carbamate pesticides in municipal drinking water sources in Zhejiang Province[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(4): 623-628.
- [7] EI-GEUNDI M S, NASSAR M M, FARRAAG T E, et al. Removal of an insecticide(methomyl) from aqueous solutions using natural clay[J]. *Alexandria Engineering Journal*, 2012, 51(1): 11-18.
- [8] 王辉龙. 吉林省食用菌中农药残留检测与风险评估[D]. 长春: 长春中医药大学, 2020. WANG H L. Detection and risk assessment of pesticide residues in edible fungi in Jilin Province[D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2020.
- [9] EI-DEMERDASH F, ATTIA A A, ELMAZOUUDY R H. Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2012, 47(12): 1948-1954.
- [10] 马爱团, 陈耀星, 王子旭. 己烯雌酚对成年雄性金色仓鼠的生殖毒性与氧化损伤的关系[J]. *动物学报*, 2007(6): 1076-1082. MA A T, CHEN Y X, WANG Z X. Relationship between reproductive toxicity and oxidative damage induced by diethylstilbestrol in adult male golden hamsters[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2007(6): 1076-1082.
- [11] 虎明明, 刘秀芳, 李杰, 等. 辛硫磷和灭多威对雄性大鼠生殖系统的联合毒性作用[J]. *癌变·畸变·突变*, 2008, 20(5): 389-392, 401. HU M M, LIU X F, LI J, et al. Combined toxicity of phoximand methomyl on reproductive function in male rats[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis*, 2008, 20(5): 389-392, 401.
- [12] NWANI C D, LAKRA W S, NAGPURE N S, et al. Toxicity of the herbicide atrazine: Effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch)[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2010, 7(8): 3298-3312.
- [13] 李应德, 段廷玉. AM真菌对紫花苜蓿茎点霉叶斑病及豌豆蚜为害的影响[J]. *生态学杂志*, 2020, 39(4): 1214-1221. LI Y D, DUAN T Y. Effects of AM fungi on alfalfa leaf spot caused by *Phoma medicaginis* and pea aphids *Acyrtosiphon pisum*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(4): 1214-1221.
- [14] 沙婧婧. 两种多溴联苯醚(BDE-47、BDE-209)对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)的毒性效应研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015. SHA J J. The toxic effects of two kinds of polybrominated diphenyl ethers(BDE-47, BDE-209) on *Brachionus plicatilis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [15] KASPAR J W, NITURE S K, JAISWAL A K. Nrf2: Inrf2(Keap1) signaling in oxidative stress[J]. *Free Radical Biology and Medicine*,

- 2009, 47(9):1304-1309.
- [16] RODRIGUEZ-BRITO B, LI L L, WEGLEY L, et al. Viral and microbial community dynamics in four aquatic environments[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(6):739-751.
- [17] 严小军, 祁鹏志, 郭宝英, 等. Nrf2参与水生动物氧化应激调控的研究进展[J]. *海洋与湖沼*, 2021, 52(4):799-812. YAN X J, QI P Z, GUO B Y, et al. The advances in research of Nrf2 pathway involved in oxidative stress regulation in aquatic animals[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2021, 52(4):799-812.
- [18] 章倩, 张木子, 黎明, 等. 牛磺酸对急性氨中毒的鲫和草鱼抗氧化及炎症相关基因表达影响的比较[J]. *水产学报*, 2020, 44(2):289-299. ZHANG Q, ZHANG M Z, LI M, et al. Comparison effects of taurine on acute ammonia toxicity in genes involved in antioxidant and inflammation of *Carassius auratus* and *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(2):289-299.
- [19] ALTURFAN A A, TOZANBECEREN A, SEHIRLIA O, et al. Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(4):4589-4596.
- [20] YOUSUF S, ATIF F, AHMAD M, et al. Resveratrol exerts its neuroprotective effect by modulating mitochondrial dysfunctions and associated cell death during cerebral ischemia[J]. *Brain Research*, 2009, 1250:242-253.
- [21] STARA A, KRISTAN J, ZUSKOVA E, et al. Effect of chronic exposure to prometryne on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2013, 105(1):18-23.
- [22] 强俊, 徐跑, 何杰, 等. 氨氮与拥挤胁迫对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和肝脏抗氧化指标的联合影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(12):1837-1848. QIANG J, XU P, HE J, et al. The combined effects of external ammonia and crowding stress on growth and biochemical activities in liver of (GIFT) Nile tilapia juvenile (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(12):1837-1848.
- [23] CATALGOL B, OZHAN G, ALPERTUNGA B. Acrylamide-induced oxidative stress in human erythrocytes[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2009, 28(10):611-617.
- [24] 王小龙. 黄姑鱼超氧化物歧化酶家族基因的克隆、表达及其功能研究[D]. 厦门:集美大学, 2018. WANG X L. Cloning, expression and functional characterization of superoxide dismutase multigene family in *Nibea albiflora* [D]. Xiamen:Jimei University, 2018.
- [25] 朱祎, 刘伊凡, 王怡, 等. 布氏鲷超氧化物歧化酶基因的序列分析及组织分布[J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(增刊1):2020-2028. ZHU Y, LIU Y F, WANG Y, et al. Sequence and expression analysis of the superoxide dismutase gene from snubnose pompano (*Trachinotus blochii*) [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2021, 40(Suppl 1):2020-2028.
- [26] 李方敏, 姚灿灿, 丁存宝. 三唑磷对斑马鱼肝脏氧化损伤作用研究[J]. *生物化工*, 2020, 6(1):97-99, 106. LI F M, YAO C C, DING C B. Oxidative damage of zebrafish liver by triazophos[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2020, 6(1):97-99, 106.
- [27] 胡俊西, 武向伟, 庄文静. 天多威暴露下斑马鱼的组织学变化[J]. *漳州师范学院学报(自然科学版)*, 2009, 22(2):107-111. HU J X, WU X W, ZHUANG W J. Histopathological alterations of brachydanio rerio in methomyl exposure[J]. *Journal of Zhangzhou Teachers College(Natural Science Edition)*, 2009, 22(2):107-111.
- [28] 赵于丁, 徐敦明, 范青海, 等. 3种农药亚致死浓度对斑马鱼AChE和EROD活性的影响[J]. *江苏农业学报*, 2008, 24(6):989-991. ZHAO Y D, XU D M, FAN Q H, et al. Effects of sublethal concentration of three pesticides on AChE and EROD activities in *Brachydanio rerio* [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 24(6):989-991.
- [29] RUDNEVA I I. Antioxidant system of black sea animals in early development[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1999, 122(2):265-271.
- [30] CETTA C M, CAPUZZO J M. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* [J]. *Marine Biology*, 1982, 71(3):327-337.
- [31] ZHANG Q R, KOOP M, BABIAK I, et al. Low incubation temperature during early development negatively affects survival and related innate immune processes in zebrafish larvae exposed to lipopolysaccharide[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):827-839.
- [32] 楚璐萌, 田子颖, 崔蕊, 等. 低氧对斑马鱼胚胎发育和红细胞生成的抑制作用[J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(1):1-8. CHU L M, TIAN Z Y, CUI R, et al. Inhibition effects of hypoxia on embryonic development and erythropoiesis in zebrafish[J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2021, 29(1):1-8.
- [33] MOHAMED A A R, RAHMAN A N, SALEM G A, et al. The antioxidant role of a taurine-enriched diet in combating the immunotoxic and inflammatory effects of pyrethroids and/or carbamates in *Oreochromis niloticus* [J]. *Animals*, 2021, 11(5):1318.
- [34] PETERS L D, LIVINGSTONE D R. Antioxidant enzyme activities in embryologic and early larval stages of turbot[J]. *Journal of Fish Biology*, 1996, 49(5):986-997.
- [35] 刘灵芝, 钟广荣, 熊莲, 等. 过氧化氢酶的研究和应用新进展[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(3):15-18. LIU L Z, ZHONG G R, XIONG L, et al. Research and application progress of catalase[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2009, 26(3):15-18.
- [36] 铁梅, 刘丽, 庄晓虹, 等. 硒蛋白和过氧化氢酶清除羟自由基作用的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(17):16-20. TIE M, LIU L, ZHUANG X H, et al. Studies on scavenging hydroxyl free radical by selenoprotein and catalase[J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(17):16-20.
- [37] WANG J, YU X P, JIA R, et al. An in vitro and in silico study to explore the response of catalase to 4-chlorophenol and their interacting mechanisms[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2021, 337:116444.
- [38] 刘存歧, 王伟伟, 张亚娟. 水生生物超氧化物歧化酶的酶学研究进展[J]. *水产科学*, 2005(11):52-55. LIU C Q, WANG W W, ZHANG Y J. Advance on superoxide dismutase in aquatic organisms [J]. *Fisheries Science*, 2005(11):52-55.
- [39] MENG S L, CHEN J Z, XU P, et al. Hepatic antioxidant enzymes SOD and CAT of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in response to pesticide methomyl and recovery pattern[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 92(4):388-392.
- [40] 王钰钦, JAMES P M, 孟顺龙, 等. 雍菜对受天多威污染养殖水体

- 的净化及对鱼类生长的影响[J]. 中国农学通报, 2020, 36(3): 147-153. WANG Y Q, JAMES P M, MENG S L, et al. Ipomoea aquatica: Purification of aquaculture water contaminated by methomyl and effect on fish growth[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(3): 147-153.
- [41] ELIA A C, GALARINI R, TATICCHI M I, et al. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003, 55(2): 162-167.
- [42] AYDEMIR D, HASHEMKHANI M, DURMUSOGLU E G, et al. A new substrate for glutathione reductase: Glutathione coated Ag₂S quantum dots[J]. *Talanta*, 2018, 194: 501-506.
- [43] PLANCARTE A, NAVA G, MUNGUIA J A. A new thioredoxin reductase with additional glutathione reductase activity in *Haemonchus contortus*[J]. *Experimental Parasitology*, 2017, 177: 82-92.
- [44] FELIX L M, VIDAL A M, SERAFIM C, et al. Ketamine-induced oxidative stress at different developmental stages of zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(66): 61254-61266.
- [45] KHARE A, CHHAWANI N, KUMARI K. Glutathione reductase and catalase as potential biomarkers for synergistic intoxication of pesticides in fish[J]. *Biomarkers*, 2019, 24(7): 666-676.
- [46] WU M H, XU H, SHEN Y, et al. Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short-term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(10): 2335-2341.
- [47] MICHIE K L, DEES J L, FLEMING D, et al. Role of *Pseudomonas aeruginosa* glutathione biosynthesis in lung and soft tissue infection[J]. *Infection and Immunity*, 2020, 88(6): e00116-20.
- [48] LIU H J, WANG X, YANG Z L. Identification and biochemical characterization of the glutathione reductase family from *Populus trichocarpa*[J]. *Plant Science*, 2020, 294: 110459.
- [49] 吕洁婷, 孙静, 郑光辉, 等. 单核细胞增多性李斯特菌谷胱甘肽还原酶GR的生物学特性[J]. 微生物学报, 2021, 61(3): 714-728. LÜ J T, SUN J, ZHENG G H, et al. Characterization of the glutathione reductase from *Listeria monocytogenes*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(3): 714-728.
- [50] 周艳玲, 孙育, 黄燕华, 等. 水产动物谷胱甘肽营养生理作用的研究进展[J]. 饲料研究, 2016(19): 38-43, 53. ZHOU Y L, SUN Y, HUANG Y H, et al. Research progress on the nutritional physiology of glutathione in aquatic animals[J]. *Feed Research*, 2016(19): 38-43, 53.
- [51] 王芳倩, 张文兵, 麦康森, 等. 饲料中添加还原型谷胱甘肽对牙鲆生长和抗氧化能力的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2011, 41(4): 51-56. WANG F Q, ZHANG W B, MAI K S, et al. Effects of dietary reduced glutathione on growth and anti-oxidative capability of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2011, 41(4): 51-56.
- [52] 陈可可, 李瑞, 李彤彤, 等. 还原型谷胱甘肽对青鱼幼鱼生长性能和生理功能的影响[J]. 现代农业科技, 2020(20): 182-185. CHEN K K, LI R, LI T T, et al. Effects of reduced glutathione on growth performance and physiological functions of herring carp juveniles[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2020(20): 182-185.
- [53] 杨晶, 陈朋宇, 钟文珏, 等. 氧化石墨烯和双酚A对斑马鱼早期发育氧化损伤的联合效应[J]. 科学通报, 2019, 64(21): 2199-2206. YANG J, CHEN P Y, ZHONG W J, et al. The combined effects of graphene oxide and bisphenol A on oxidative damage in early development of zebrafish[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2019, 64(21): 2199-2206.
- [54] 卢崇伟. 环境内分泌干扰物三氯生、双酚A对斑马鱼的毒性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2016. LU C W. Toxicological effects of bisphenol A and triclosan on the zebrafish[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016.
- [55] 王世豪, 石明浩, 刘苏. 顺序暴露场景下四环素和砷对斑马鱼的联合毒性效应[J]. 环境科学学报, 2020, 40(12): 4590-4597. WANG S H, SHI M H, LIU S. Combined toxicity of tetracycline and arsenic on zebrafish in sequential exposure scenarios[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(12): 4590-4597.
- [56] 夏勇, 陈岗, 傅剑云, 等. 纳米二氧化钛暴露对斑马鱼氧化应激的影响[J]. 浙江预防医学, 2015, 27(8): 768-771, 779. XIA Y, CHEN T, FU J Y, et al. A study on the effect of nanometer titanium dioxide on the oxidative stress in zebrafish[J]. *Zhejiang Journal of Preventive Medicine*, 2015, 27(8): 768-771, 779.
- [57] 刘修园, 赵海刚, 陈志厚, 等. 氟虫双酰胺对蚯蚓的生化毒性与细胞毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(4): 293-301. LIU X Y, ZHAO H G, CHEN Z H, et al. Biochemical toxicity and cytotoxicity of flubendiamide on earthworms (*Eisenia fetida*)[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(4): 293-301.
- [58] 熊道文, 方涛, 陈旭东, 等. 纳米材料对斑马鱼的氧化损伤及应激效应研究[J]. 环境科学, 2010, 31(5): 1320-1327. XIONG D W, FANG T, CHEN X D, et al. Oxidative stress effects and damage of nanoscale TiO₂ and ZnO on zebrafish[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(5): 1320-1327.
- [59] 靳晓敏, 吴垠, 杨松. 两种菊酯类农药对鲤血清CAT和SOD的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3): 615-618. JIN X M, WU Y, YANG S. Effects of two kinds of prethrin pesticide on CAT and SOD in serum of common carp[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3): 615-618.
- [60] GEDIK S, ERDEMLI M E, GUL M, et al. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in wistar rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 764-770.
- [61] INCE S, KUCUKKURT I, DEMIREL H H, et al. Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats[J]. *Chemosphere*, 2014, 108: 197-204.
- [62] 段志文, 张玉敏, 李海山, 等. 呋喃丹对雄性大鼠急性生殖损伤的研究[J]. 工业卫生与职业病, 2002, 28(5): 267-270. DUAN Z W, ZHANG Y M, LI H S, et al. Study on acute toxic effects of carbofuran on reproductive system of male rats[J]. *Industrial Health and Occupational Diseases*, 2002, 28(5): 267-270.
- [63] 宋玥颀. 氯虫苯甲酰胺和氟苯虫酰胺在斑马鱼体内的富集和毒性效应研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2020. SONG Y Y. Bioaccumulation and toxic effects of chlorantraniliprole and flubendiamide in zebrafish (*Danio rerio*)[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.