

水体铜对黄河鲤肝胰脏抗氧化酶活性和总抗氧化能力的影响

高春生, 王春秀, 张书松

(河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要:为了研究不同浓度的水体铜对黄河鲤肝胰脏抗氧化能力的影响,采用 0.01、0.05、0.10、0.30、0.50、0.70 和 1.00 mg·L⁻¹ Cu²⁺分别刺激黄河鲤 1、3、5、7 d 后,测定黄河鲤肝胰脏抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 和谷胱甘肽过氧化物酶 GPx)的活性及总抗氧化能力(T-AOC)。结果表明,黄河鲤暴露于 0.01 mg·L⁻¹ Cu²⁺溶液时,SOD、CAT 和 GPx 活性及 T-AOC 高于对照组,其中 GPx 活性达到最大,且显著高于对照组($P<0.05$),T-AOC 3、5、7 d 时,显著高于对照组($P<0.05$);Cu²⁺浓度为 0.05 mg·L⁻¹时,SOD 和 CAT 活性及 T-AOC ($P<0.05$)达到最大,其中 SOD 和 CAT 活性 3、5、7 d 时,显著高于对照组($P<0.05$),GPx 活性 1 d 时高于对照组,3、5、7 d 时低于对照组,其中 5、7 d 时,显著低于对照组($P<0.05$);Cu²⁺浓度为 0.10 mg·L⁻¹时,SOD 活性 3、5、7 d 显著低于对照组($P<0.05$),CAT 和 GPx 活性及 T-AOC 显著低于对照组($P<0.05$);高浓度组(0.30、0.50、0.70 和 1.00 mg·L⁻¹)Cu²⁺抑制了 SOD、CAT 和 GPx 活性及 T-AOC。结果提示,黄河鲤肝胰脏 SOD、CAT 和 GPx 活性及 T-AOC 对铜的污染均具指示作用,其中最为灵敏的是 GPx 活性,可以用来指示低剂量重金属的污染。

关键词:铜;黄河鲤;肝胰脏;抗氧化酶;总抗氧化能力

中图分类号:X503.225 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)03-1157-06

Effects of Copper on Activities of Antioxidant Enzymes and Total Antioxidative Competence in Hepatopancreas of *Cyprinus Carpio*

GAO Chun-sheng, WANG Chun-xiu, ZHANG Shu-song

(College of Animal Husbandry Veterinary Science in Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Mirror *Cyprinus carpio* were exposed to different concentrations of copper, 0.01, 0.05, 0.10, 0.30, 0.50, 0.70 and 1.00 mg·L⁻¹, the activities of three antioxidant enzymes, superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) and glutathion peroxidase(GPx), and total antioxidative competence (T-AOC) in hepatopancreas were determined after 1, 3, 5 and 7 days of exposure in order to study the effects of copper on activities of antioxidant enzymes and T-AOC in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*. The results showed that: when fish were exposed to the concentrations of 0.01 mg·L⁻¹, the activities of SOD, CAT and GPx and T-AOC were higher than those of the control respectively ($P<0.05$), the activities of GPx reached a peak, and T-AOC was significantly higher than that of the control after 3 days ($P<0.05$). When fish were exposed to the concentrations of 0.05 mg·L⁻¹, the activities of SOD and CAT and T-AOC ($P<0.05$) reached the peak, and the activities of SOD and CAT were significantly higher than those of the control after 3 days of exposure ($P<0.05$), and the activities of GPx were higher after 1 day, lower after 3 days and significantly lower after 5 days compared with those of the control. When fish were exposed to the concentrations of 0.10 mg·L⁻¹, the activities of SOD were significantly lower than those of the control after 3 days ($P<0.05$), and the activities of CAT and GPx and T-AOC were significantly lower ($P<0.05$) compared with those of the control; When fish were exposed to the concentrations of 0.30 mg·L⁻¹ or higher, the activities of SOD, CAT and GPx and the T-AOC were significantly inhibited ($P<0.05$). These results indicated that: the activities of SOD, CAT and GPx and T-AOC in hepatopancreas of *Cyprinus carpio* might act as indicative functions for the copper contamination (the activities of GPx were the most sensitive). They could be used as a biomarker in evaluating heavy metal contamination.

Keywords: copper; *Cyprinus carpio*; hepatopancreas; antioxidative enzyme; total antioxidative competence

收稿日期:2007-11-15

基金项目:河南省科技厅资助项目(032409008)

作者简介:高春生(1973-),男,河南新县人,博士,讲师,主要从事水产养殖研究工作。

通讯作者:张书松 E-mail: gchsheng00@163.com

动植物细胞在代谢过程中不断产生自由基,这些自由基会被细胞本身具有的防御体系所清除,在正常生理条件下二者之间始终处于动态平衡,一旦平衡被打破,机体组织内的活性氧自由基不断聚积,使组织代谢功能出现异常并发生组织过氧化现象,从而引发一系列病理及生理变化^[1,2]。因此,抗氧化酶系统在维持机体正常代谢和功能上起着十分重要的作用^[3]。已有研究表明,受到环境化学污染物及环境应激因子胁迫的动植物机体组织能够产生大量自由基,使抗氧化酶活性发生相应的改变^[4-6]。由于抗氧化酶对低浓度的环境化学污染物非常敏感,很多环境毒理实验均将其作为研究、检测及评价污染物引起的机体生化效应的一种重要生物标志物^[7,8]。目前抗氧化酶在动植物抗逆性、病理、肿瘤及衰老等疾病的发生机制方面受到广泛的关注和应用,已经成为生命科学领域中的研究热点。铜是水生动物的营养元素,对多种生长发育相关的生物酶的组成和功能有着重要作用^[9],但是过量的铜又会对蛋白和酶产生毒害^[10]。黄河鲤是我国北方的重要经济鱼类,随着养殖密度和养殖面积的不断扩大,水域环境日趋恶化,特别是在鱼类养殖过程中,硫酸铜是使用时间最长、应用最广泛的药物之一,铜已成为重要的污染物。因此,研究水体铜对鱼类影响不仅对深入了解其作用机制具有重要理论意义,而且对鱼类的健康养殖也具有实用参考价值。虽然有很多报道研究重金属对水生动物的毒性作用^[11-14],但铜对鲤科鱼类总抗氧化能力的影响尚未见报道。因此,本研究用不同浓度的水体铜对黄河鲤进行刺激后,测定肝胰脏组织抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 和谷胱甘肽过氧化物酶 GPx)的活性及总抗氧化能力(T-AOC),研究不同剂量水体铜对黄河鲤抗氧化能力的影响,初步探讨铜的致毒机理,以进一步了解鱼类抗氧化防御体系对重金属引起毒性效应的反应性,为黄河鲤集约化养殖生产和水质的评价、检测提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

黄河鲤 *Cyprinus carpio*, 取自郑州市渔场养殖场,平均体长为 (20.3 ± 1.2) cm, 平均体重为 (108.7 ± 3.3) g。试验前暂养 5 d, 使其尽量排尽体内粪便; 为避免残饵和粪便对金属形态影响, 试验期间不投喂饵料。

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 为分析纯, 由上海试剂一厂生产, SOD 试剂盒、CAT 试剂盒、GPx 试剂盒及 T-AOC 试

剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 标准储备溶液的配制

试验所用的铜标准储备液浓度均为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 用分析纯试剂 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 及高纯水配制而成。

1.2.2 试验浓度设计

设定 7 个浓度组和 1 个对照组 (0、0.01、0.05、0.10、0.30、0.50、0.70、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}^{2+}$), 每组 3 个鱼箱, 作平行试验。试验在水族箱中进行, 每箱 (0.7 m × 0.5 m × 0.5 m) 放黄河鲤 25 尾, 试液 pH (7.5 ± 0.1), 温度 (26 ± 2) °C, 溶氧在 5.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。试验期间不更换试液, 试验方式为静态。

1.2.3 样品的采集

黄河鲤暴露于不同 Cu^{2+} 浓度的试验液中 1、3、5、7 d 后, 在每箱中随机选取黄河鲤 5 尾, 剖杀后迅速取出肝胰脏, 用预冷的去离子水冲洗干净, 滤纸吸干后装袋密封, 置 -20 °C 冰箱中保存备用。

1.2.4 样品的测定

肝胰脏组织样品在 4 °C 下解冻、剪碎, 按 1:9 质量体积比 ($m \cdot V^{-1}$) 加入预冷生理盐水 (含 0.75% NaCl 和 0.03% KCl), 然后用电动匀浆机在冰浴条件下匀浆 (10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 3 min)。匀浆液经 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液备用。测定 SOD 酶活性时上清液稀释至 0.5%, 测定 CAT 酶活性、GPx 酶活性和 T-AOC 时稀释至 5%。

SOD 活性用 SOD 试剂盒 (黄嘌呤氧化酶法) 测定, 其活性单位定义为: 在 30 °C 条件下, 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 1 个亚硝酸盐单位 ($\text{NU} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)。

CAT 活性用 CAT 试剂盒 (紫外分光光度法) 测定, 其活性单位定义为: 每毫克组织蛋白酶分解 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 的量为 1 个活性单位 ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)。

GPx 活性用 GPx 试剂盒 (NTBN 法) 测定, 其活性单位定义为: 在 30 °C 条件下每毫克组织蛋白每分钟扣除酶促反应作用, 使反应体系中 GSH 降低 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为 1 个酶活力单位 ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$)。

T-AOC 用 T-AOC 试剂盒测定, 其定义为: 在 30 °C 条件下, 每分钟每毫克组织蛋白使反应体系的吸光度 (OD) 值, 每增加 0.01 时, 为 1 个总抗氧化能力单位 ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)。

组织匀浆液蛋白含量按不同指标测定前的浓度确定, 以福林-酚试剂法测定^[15]。

1.2.5 数据的统计学分析

采用 SPSS11.0 统计软件,对数据作单因素方差分析。

2 结果与讨论

2.1 铜对黄河鲤肝胰脏 SOD 活性的影响

如图 1 所示,黄河鲤暴露于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 溶液时,SOD 活性高于对照组 ($P>0.05$); Cu^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,SOD 活性达到最大,其中 3、5、7 d 时,显著高于对照组 ($P<0.05$); Cu^{2+} 浓度为 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,3、5、7 d SOD 活性显著低于对照组 ($P<0.05$);高浓度组 ($0.30、0.50、0.70$ 和 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Cu^{2+} 显著抑制了 SOD 活性 ($P<0.05$),其中 Cu^{2+} 浓度为 0.30 和 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,抑制作用随着暴露时间的延长而增强 ($P<0.05$), Cu^{2+} 浓度为 0.70 和 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,3、5、7 d SOD 活性没有显著差别 ($P>0.05$)。结果表明,低浓度 Cu^{2+} 溶液可增加黄河鲤肝胰脏 SOD 活性;高浓度 Cu^{2+} 溶液可抑制黄河鲤肝胰脏 SOD 活性,且这种抑制作用随着浓度升高和暴露时间延长而增强。

肝胰脏是鱼体内主要的解毒器官,其巨噬细胞有活跃的吞噬能力,毒物在肝胰脏内氧化、还原或水解过程中会产生大量的 O_2^- ,而 SOD 能将 O_2^- 转换成 O_2 和 H_2O_2 ^[16],从而使肝组织 SOD 活性升高;在高浓度 Cu^{2+} 溶液中暴露时间继续延长时,SOD 活性又显著下降,可能是因为在高浓度 Cu^{2+} 的胁迫下,当肝组织细胞中活性氧累积超过一定限度,对其生物膜和酶系统产生了破坏,致使组织 SOD 活性下降^[17]。所以,根据本次试验结果,可以认为 Cu^{2+} 浓度大于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对生物体的作用已超过机体的适应能力,酶活性的降低是中毒反应的前兆。

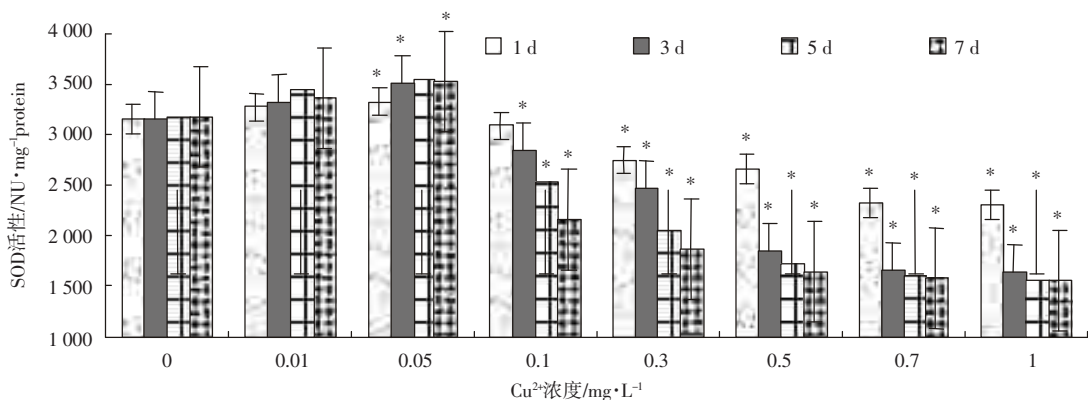
2.2 铜对黄河鲤肝胰脏 CAT 活性的影响

如图 2 所示,黄河鲤暴露于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 溶液时,CAT 活性高于对照组 ($P>0.05$); Cu^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,CAT 活性达到最大,其中 3、5、7 d 时,显著高于对照组 ($P<0.05$); Cu^{2+} 浓度大于或等于 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,各浓度组铜显著抑制了 CAT 活性 ($P<0.05$),且在同一浓度下抑制作用随着暴露时间延长而增强。结果表明, Cu^{2+} 对黄河鲤肝胰脏 CAT 活性的影响与其对 SOD 活性的影响相似。

CAT 是动物体内一种重要的抗氧化酶,它能进一步将 H_2O_2 转化成水^[18],CAT 活性的诱导表明细胞内该酶的底物 H_2O_2 浓度大量增加。 H_2O_2 浓度的大量增加,一方面可能是由于累积在鱼体内的重金属铜激发了大量的 H_2O_2 ;另一方面可能是受 SOD 的应激反应所产生^[9]。诱导的顶点浓度 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 可认为是生物对污染从适应到中毒反应的阈值,浓度在 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下,铜对黄河鲤 CAT 的激活作用可认为是生物对污染的适应反应,以增强机体消除活性氧自由基的能力,浓度大于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可认为污染对生物体的作用已超过机体的适应能力,酶活性的降低可认为是中毒反应的前兆。

2.3 铜对黄河鲤肝胰脏 GPx 活性的影响

如图 3 所示,黄河鲤暴露于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 溶液时,GPx 活性达到最大,且显著高于对照组 ($P<0.05$); Cu^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,暴露 1 d 时,GPx 活性高于对照组 ($P>0.05$),3、5、7 d 时,GPx 活性低于对照组,其中 5、7 d 时,显著低于对照组 ($P<0.05$);高浓度组 ($0.10、0.30、0.50、0.70$ 和 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),暴露 1 d 时,GPx 活性与对照组相比差异不显著,而暴露 3、5、7 d 时 GPx



注: * 表示与对照组相比差异显著,即 $P<0.05$,下同。

Note: * is significant difference compared with the control group, the same as below

图 1 铜对黄河鲤肝胰脏 SOD 活性的影响

Figure 1 Effects of copper on SOD activity in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*

活性显著低于对照组($P<0.05$),且在同一浓度下抑制作用随着暴露时间的延长而增强(除 Cu^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。结果表明,随着铜浓度的增加,黄河鲤 GPx 的活性先升高,然后逐渐下降;而高浓度组 GPx 活性在短时间内激活后受到抑制。

GPx 也是动物体内一种重要的抗氧化酶,它能催化 H_2O_2 的还原反应,对由活性氧和羟自由基诱发的脂质过氧化物及过氧化氢有极强的清除能力,从而保护生物大分子和生物膜结构免受过氧化物损伤^[20,21]。本试验中,黄河鲤暴露于 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 溶液时,GPx 活性被诱导且达到最大,表明该酶的底物脂类氢氧化物浓度大量增加^[22];而浓度大于 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,GPx 活性在短时间内激活后受到抑制,且随着暴露时间的延长,抑制作用加强,可能是由于机体内抗氧化系统其他成分的介入,降低了活性氧浓度,也可能是由于黄河鲤肝胰脏中该酶代谢外源化合物的能力被饱和,使鱼出现中毒而受到抑制^[23]。GPx 活性降低可能造成

活性氧自由基的积累和对细胞膜的损伤,降低生物的适应能力和健康水平,从而启动一系列的中毒反应,因此,诱导的顶点浓度 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 可认为是生物对污染从适应到中毒反应的阈值。

2.4 铜对黄河鲤肝胰脏 T-AOC 的影响

如图 4 所示,黄河鲤暴露于 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 溶液时,T-AOC 高于对照组,其中 3、5、7 d 时,显著高于对照组($P<0.05$); Cu^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T-AOC 达到最大,显著高于对照组 ($P<0.05$); Cu^{2+} 浓度大于 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,各浓度组 T-AOC 显著低于对照组 ($P<0.05$),浓度越大,T-AOC 越小,其中 Cu^{2+} 浓度为 0.30 和 $0.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,T-AOC 随着暴露时间的延长而减小 ($P<0.05$), Cu^{2+} 浓度为 0.70 和 $1.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,5 和 7 d SOD 活性没有显著差别($P>0.05$)。结果表明,黄河鲤暴露于低浓度 Cu^{2+} 溶液中,可增加 T-AOC,高浓度时,可降低黄河鲤的 T-AOC。

T-AOC 是近年研究发现的用于衡量机体抗氧化

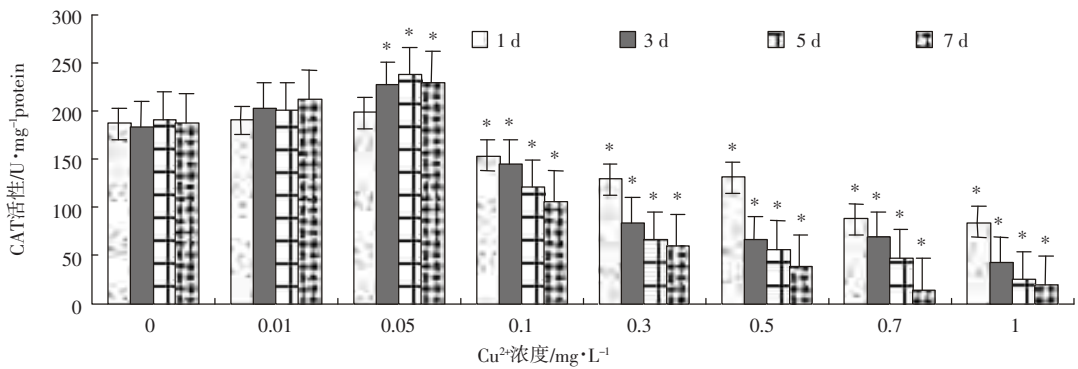


图 2 铜对黄河鲤肝胰脏 CAT 活性的影响

Figure 2 Effects of copper on CAT activity in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*

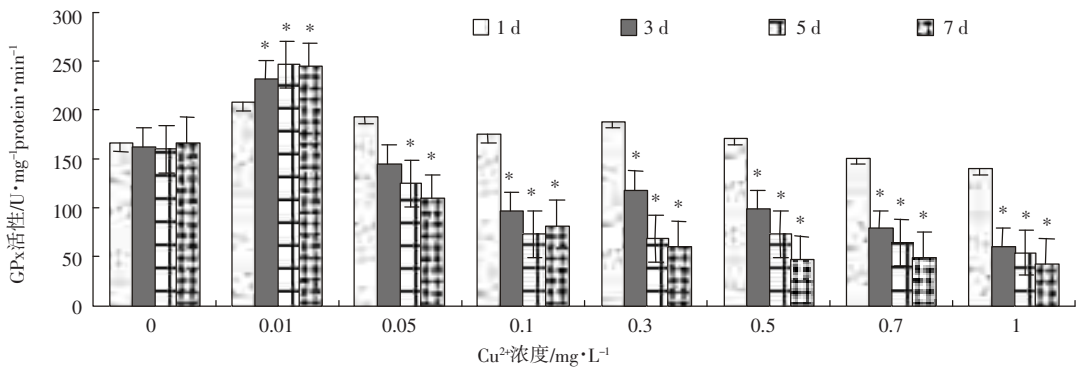


图 3 铜对黄河鲤肝胰脏 GPx 活性的影响

Figure 3 Effects of copper on GPx activity in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*

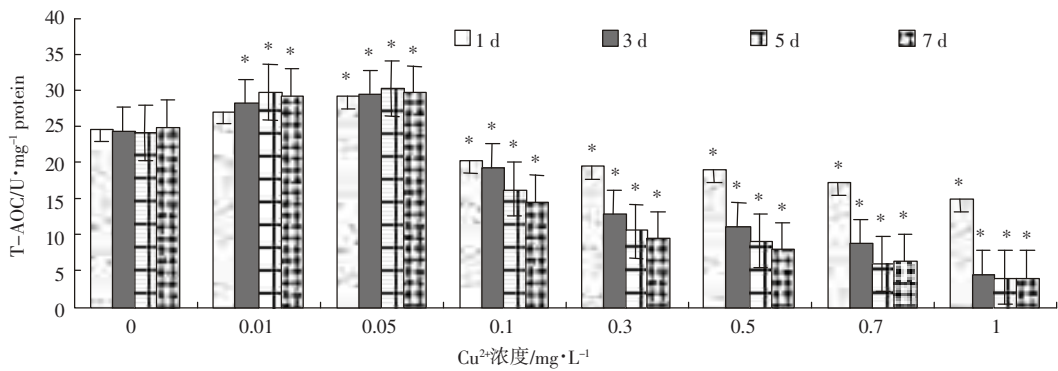


图 4 铜对黄河鲤肝胰脏 T-AOC 的影响

Figure 4 Effects of copper on T-AOC in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*

酶系统和非酶促系统功能状况的综合性指标,它的大小可代表和反映机体抗氧化酶系统和非酶系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态,其中的酶系统主要包括 SOD、CAT、GPx 等;非酶系统主要包括还原型各胱甘肽(GSH),维生素 E、C、K、A 等维生素类、尿酸、血浆铜蓝蛋白(CP)、胡萝卜素、葡萄糖等^[24, 25]。本研究中,黄河鲤暴露于低浓度 Cu²⁺溶液中,可增加 T-AOC, 这可能是因为机体抗氧化系统对 Cu²⁺刺激的代偿性反应;而高浓度长时间时,可降低黄河鲤的 T-AOC, 可能是由于 SOD、GPx 和 CAT 活性受到抑制所造成的^[26]。

3 结论

(1) 在不同浓度 Cu²⁺作用下黄河鲤肝胰脏 SOD、CAT、GPx 活性和 T-AOC 随浓度变化表现出相同的变化规律,即低浓度诱导,高浓度抑制,且在高浓度下,随着时间的延长抑制作用逐渐加强。

(2) 黄河鲤肝胰脏 SOD、CAT、GPx 活性和 T-AOC 对铜的早期污染有指示作用,其中最为灵敏的指标是 GPx 活性。

(3) 黄河鲤肝胰脏抗氧化酶和 T-AOC 对水环境中的重金属反应敏感,可以用来指示低剂量重金属的早期污染。

参考文献:

- 李毅平, 龚和. 昆虫体内抗氧化酶系统研究进展[J]. 生命科学, 1998, 10(5): 240-243.
- LI Yi-ping, GONG He. Progress in research on insect antioxidant system [J]. *Chin Bull Life Sci*, 1998, 10(5): 240-243.
- 刘家忠, 龚明. 植物抗氧化系统研究进展[J]. 云南师范大学学报, 1999, 19(6): 1-11.

- LIU Jia-zhong, GONG Ming. Advances in antioxidant systems of plants [J]. *Yunnan Normal Univ*, 1999, 9(6): 1-11.
- Palace V P, Brown S B, Baron C L, et al. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario [J]. *Aquat Toxicol*, 1998, 43(2-3): 195-208.
- Vaziri N D, Lin C Y, Farmand F, et al. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NADPH oxidase in lead-induced hypertension [J]. *Kidney Int*, 2003, 63(1): 186-194.
- Lopes P A, Pinheiro T, Santos M C, et al. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnides* complex) to inorganic pollutants exposure [J]. *Sci Total Environ*, 2001, 280(1-3): 153-163.
- 林海, 杜荣. 热应激对肉鸡组织过氧化状态的影响 [J]. 动物营养学报, 2001, 13(2): 30-32.
- LIN Hai, DU Rong. The effect of thermal environment on peroxidation of tissues in heat-stressed broilers [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2001, 13(2): 30-32.
- 王重刚, 郑微云, 余群, 等. 苯并(a)芘和芘的混合物暴露对梭鱼肝胰脏抗氧化酶活性的影响 [J]. 环境科学学报, 2002, 22(4): 529-533.
- WANG Chong-gang, ZHENG Wei-yun, YU Qun, et al. Effects of mixture of benzo (a)pyrene and pyrene exposure on hepatic antioxidant enzymes activities in *Mugil so-iuy* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(4): 529-533.
- Almeida J A, Diniz Y S, Marques S F, et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination [J]. *Environ Int*, 2002, 27(8): 673-679.
- Mendez L, Racotta I S, Acosta B, et al. Mineral level in tissue during ovarian development of white shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) [J]. *Marine Biology*, 2001, 138: 687-692.
- Brouwer M, Syring R, Brouwer T H. Role of a copper specific metallothionein of the blue crab, *Callinectes sapidus*, in copper metabolism associated with degradation and synthesis of hemocyanin [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002, 88: 228-239.
- 谭树华, 邓先余, 蒋文明, 等. 高浓度铬对克氏原螯虾抗氧化酶系

统的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1356-1360.

TAN Shu-hua, DENG Xian-yu, JIANG Wen-ming, et al. Effects of high level chromium on antioxidant enzyme system in gill and hepatopancreas of *Procambarus clarkia*[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2007, 26(4): 1356-1360.

[12] 丁磊, 黄鹤忠, 吴康, 等. 镉对鲫非特异性免疫力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(1): 64-66.

DING Lei, HUANG He-zhong, WU Kang, et al. Effects of CdCl₂ on non-specific immunity activity of *Carassius Auratus*[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2004, 23(1): 64-66.

[13] 张曙光. 重金属污染对黄河鲤鱼的致突变效应[J]. 环境科学研究, 1989, 9(3): 54-57.

ZHANG Shu-guang. The mutagenicity of heavy metal pollutants on fish in the yellow river[J]. *Research of Environmental Sciences*, 1989, 9(3): 54-57.

[14] 方展强, 王春风, 卫焕荣. 汞和硒对剑尾鱼 Na⁺/K⁺-ATPase 活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(2): 220-223.

FANG Zhan-qiang, WANG Chun-feng, WEI Huan-rong. Effects of mercury and selenium on Na⁺/K⁺ ATPase activity in *Xiphophorus helleri Heckel*[J]. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(2): 220-223.

[15] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导[M]. 北京: 人民教育出版社, 1980. 151-154.

Biochemistry staff room of biological department in Peking University. Biochemistry experiment direction[M]. Beijing: People's Education Press, 1980, 151-154.

[16] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein[hemocuprein][J]. *J Biol Chem*, 1969, 244 (22): 6049-6055.

[17] Stegeman J J. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein synthesis as indicators of the minimal exposure and effects[C] // Huggett R A (eds). Biomarkers, Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Boca Raton Florida: Lewis Publishers, 1992: 235-335.

[18] Thomas J P, Maiorino M, Ursini F, et al. Protective action of phospho-

lipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265: 454-461.

[19] Lemairon P, Matthews A, Forli N, et al. Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1994, 26: 191-200.

[20] Ansaklo M, Luquet C M, Evelson P A, et al. Antioxidant levels from different antarctic fish caught around south Georgia's Island and Shag Rocks[J]. *Polar Biol*, 2000, 23(3): 160-165.

[21] Sairam R K, Singh D V, Srivastava G C. Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different age [J]. *Biol Plant*, 2003, 47(1): 61-66.

[22] 王凡, 赵元风, 刘长发. 铜对牙鲆鳃组织抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2007, 1: 27-29.

WANG Fan, ZHAO Yuan-feng, LIU Chang-fa. Effects of Cu²⁺ on the antioxidant enzyme activity in branchia of *Paralichthys olivaceus* [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2007, 1: 27-29.

[23] Saint D, Labrot F, Narbonne J F, et al. Glutathione-Related enzymes and catalase activities in the earthworm *Eisenia fetida* and *andrei* [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1998, 35: 602-614.

[24] Mukai K, Morincoto H, Okauchi Y, et al. Kinetic study of reactions between tocopheroxyl radicals and fatty acids[J]. *Lipid*, 1993, 28: 753-756.

[25] Burton G W, Traber M G. Vitamin E: antioxidant activity biokinetics and bioavailability[J]. *Annu Rev Nutr*, 1990, 120: 357-382.

[26] 张红霞, 潘鲁青, 刘静. 重金属离子对日本鳟血淋巴抗氧化酶(SOD, CAT, GPx)活力的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(Sup.): 49-53.

ZHANG Hong-xia, PAN Lu-qing, LIU Jing. Effects of heavy metal ions on the antioxidant enzymes of the haemolymph of crab *Charybdis japonica*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2006, 36(Sup.): 49-53.