

氯苯类胁迫对蚕豆幼苗超氧化物歧化物活性的影响

刘 宛, 李培军, 周启星, 孙铁珩, 台培东, 许华夏

(中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要:采用室内培养方法,研究了土壤中不同浓度氯苯(CB)、1,2,4-三氯苯(TCB)和六氯苯(HCB)胁迫对蚕豆幼苗生长、超氧化物歧化酶(SOD, EC 1.15.1.1)活性及丙二醛(MDA)含量变化的影响。结果表明,50 ~ 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理 5 d 后蚕豆幼苗生长受到抑制($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。50 ~ 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 胁迫 1 ~ 5 d 对蚕豆幼苗 SOD 活性的影响表现出明显的剂量-效应关系。TCB 处理 5 d 后的幼苗恢复培养 3 d, 50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性得到恢复,而 100 和 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性明显高于对照($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。试验亦表明,100 和 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理 3 d 和 5 d, 幼苗 MDA 含量均比对照显著增加($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 并且与 TCB 浓度之间存在明显的正相关关系。上述结果表明,蚕豆幼苗 SOD 活性及 MDA 含量可作为短期土壤 TCB 污染的生物标记物,而 50 ~ 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB 或 HCB 处理 5 d 对蚕豆幼苗没有产生明显的毒性效应。

关键词:土壤; 氯苯类污染; 蚕豆; SOD 活性; 生物标记物

中图分类号: X503.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)03-0432-05

Effect of Stress from Chlorobenzenes on SOD Activity of Broadbean Seedlings

LIU Wan, LI Pei-jun, ZHOU Qi-xing, SUN Tie-heng, TAI Pei-dong, XU Hua-xia

(Key Laboratory of Terrestrial Ecological Processes, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China)

Abstract: Root growth, changes in superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) activity, malonyldialdehyde (MDA) level of broadbean seedlings were evaluated at different concentrations of chloro-benzene (CB), 1, 2, 4-trichlorobenzene (TCB) and hexachloro-benzene (HCB) in a soil. The results showed that root growth of seedlings was interrupted after 5 d at concentrations of 50 ~ 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ with TCB treatment. The effects of TCB stress on SOD activity in seedlings displayed significant dose-effect relationship during the period of 1 ~ 5 d at concentrations of 50 ~ 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. When broadbean seedlings were released from 5 d of TCB stress to a clear tap-water for 3 d, SOD activity at 50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB recovered to the control level ($P > 0.05$) while a significant increase in SOD activity was observed at 100 and 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB, compared to control ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). The experiments also revealed that a significant increase of MDA level in seedlings occurred after 3 d and 5 d of 100 and 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB treatment ($P < 0.05$ and $P < 0.01$), and there was a positive correlation between TCB concentrations and MDA levels. All the above results indicated that SOD activity and MDA level of broadbean seedlings may be proposed as biomarkers for short-term TCB contamination in soil. Compared to TCB, the toxicity of 50 ~ 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB or HCB in soil to broadbean seedlings was not found after a 5 d exposure.

Keywords: soil; chloro-benzenes contamination; broadbean; SOD activity; Biomarkers

卤代芳烃化合物具有广泛的应用价值,是化学工业和农业生产中的重要原料和中间体,并通过某些

工业途径进入环境。由于其具有致突变、致癌、致畸效应及在环境中残留持久,美国国家环保局所列 129 种优先控制污染物中,卤代苯类化合物占 25 种^[1]。研究表明,氯苯类化合物因其疏水性、辛醇/水分配系数(K_{ow})高而易于在生物体内积累,并在代谢过程中参与机体的氧化还原循环,产生大量活性氧,从而直接或间接地对 DNA、蛋白质及膜脂等生物大分子造成

收稿日期: 2003-10-15

基金项目: 国家自然科学基金(20277040, 20377043, 20337010, 20225722); 沈阳生态实验站基金资助

作者简介: 刘 宛(1963—),女,博士,副研究员,主要从事污染生态学研究。E-mail: liuwan63@hotmail.com

氧化损伤,进而引发机体的毒害效应^[2,3]。

SOD 是生物体内重要的抗氧化酶之一,在清除超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)保护细胞免受氧化损伤方面具有重要作用^[3~5]。研究表明,抗氧化酶的活性或含量随着污染胁迫而发生改变,因此抗氧化酶不仅可作为监测污染胁迫的生物标记物,也能从一个侧面揭示污染物对生物的毒性机制,近年来已被应用于监测污染物对水生生物的毒性效应^[4~8],而陆生植物研究较少^[9,10]。本文开展了 CB、TCB 和 HCB 胁迫对蚕豆幼苗生长、SOD 活性、MDA 含量的影响研究,进而探讨将 MDA 含量及 SOD 活性作为氯苯类污染的生物标记物的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蚕豆品种选用松滋青皮豆(*Vicia faba* L.)。试验所用 TCB 纯度为 99.5%,购自 Fluka Chemie AG 公司;CB 纯度为 99.5%,购自 Sigma 公司;HCB 为化学纯,购自上海;清洁的表层土壤采自中国科学院沈阳生态试验站大豆小区(0~20 cm 耕层),有机质含量为 2.21%,全 N 含量 0.12%。

1.2 化学处理

试验所用 CB(摩尔质量 112.56)用丙酮配成浓度为 0,50,500,1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (以风干土壤计),TCB(摩尔质量 181.45)用丙酮配成浓度为 0,50,100,300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (以风干土壤计),而 HCB(摩尔质量 284.80)用苯配成浓度为 0,50,500,1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,分别投入 600 g 土壤中混匀,然后在洁净白纸上(23℃)挥发苯和丙酮 4 h。所有处理均重复 3 次。

1.3 取样

选择健康饱满的蚕豆种子,首先经 0.1% HgCl_2 表面消毒 3 min,然后用去离子水冲洗干净,并置于潮湿石英砂中(23℃)避光发芽。初生根长至 2 cm 时,将其分别播种于含有上述 CB、TCB 和 HCB 土壤的瓷杯(直径为 9.5 cm,高为 11.5 cm)中,并在相同条件下生长。分别取播种后 0,1,3,5 d 的蚕豆幼苗为材料。取样后立即切下一些幼苗的根系,用液氮冷冻后贮藏于 -80℃,其它幼苗转移至清洁水中分别进行恢复培养 1 d 和 3 d。

1.4 测定指标及方法

取 2.0 g(鲜重)蚕豆幼苗根系,加入 5 mL 62.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH7.8,含有 1.0 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ EDTA,2 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ DDT 和 0.2% Triton X-100)于冰

浴中研磨,于 13 000 g,4℃,离心 20 min,上清液用于测定 SOD、MDA 及可溶性蛋白质含量。SOD 活性采用标准的分光光度法测定^[11],可溶性蛋白质含量测定采用 Bradford 方法,以牛血清蛋白为标准^[12]。MDA 含量测定采用 Velikova 介绍的标准方法^[11]:1 mL 提取液加入 4 mL 含 0.5% (m/V) 硫代巴比妥酸的 5% (m/V) 三氯乙酸溶液,沸水浴中煮沸 30 min,冷却后离心(10 000 g,离心 20 min),测定 OD₅₃₂ 和非特异吸收值 OD₆₀₀。按 155 nmol $^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 消光系数计算 MDA 含量。

植株生长情况的观察:分别于 TCB 处理后及恢复培养后取样幼苗 20 株,分别用直尺测定其初生根的长度和直径。试验数据表示为平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD),用 *t*-检验法对试验组与对照组进行差异性显著分析。

2 结果与讨论

2.1 TCB 胁迫对蚕豆幼苗根系生长的影响

在处理前期(1 d),50 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 胁迫对蚕豆幼苗根系生长的影响甚小($P > 0.05$),而 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理的幼苗根系生长明显低于对照($P < 0.05$);随着处理浓度的增加和处理时间的延长,幼苗初生根的生长受到明显抑制,至处理第 5 d 时,50,100 和 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理的幼苗根系生长抑制率分别为 17.5% ($P < 0.05$),46.2% ($P < 0.05$) 和 65.0% ($P < 0.01$),说明 TCB 对植株影响的明显特征是抑制根系生长,与前人的工作一致^[13,14],见表 1。

50~300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理 5 d 的蚕豆幼苗转移到清洁水中恢复培养 3 d 后观察(表 1),50 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组幼苗的根尖明显恢复生长[与对照组的差异不明显($P > 0.05$)和明显($P < 0.05$)],而 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组幼苗根尖恢复生长速率较低($P < 0.01$)。说明在 50~300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 条件下幼苗体内存在脱毒机制^[16]。

2.2 TCB 胁迫下蚕豆幼苗根系 SOD 活性的变化

2.2.1 TCB 胁迫对蚕豆幼苗根系 SOD 活性的影响

100 和 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理蚕豆幼苗 1 d 和 3 d, SOD 活性明显增加。至处理第 5 d 时,50 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的幼苗 SOD 活性明显增加[为对照的 1.25 倍($P < 0.05$)]或极明显增加[为对照的 1.52 倍($P < 0.01$)],而 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性降低,略高于对照($P > 0.05$)。用回归方法分析 TCB 对蚕豆幼苗 SOD 活性影响的剂量-效应关系,

表 1 TCB 胁迫不同时间对蚕豆幼苗根系长度的影响(cm)

Table 1 Effects of TCB stress on root length of broadbean seedlings (cm)

TCB 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	1 d	3 d	5 d	5 d + 1d	5 d + 3 d
0	3.3 ± 0.23	5.8 ± 0.39	8.0 ± 0.60	$(9.1 \pm 0.46)^1$	$(11.2 \pm 0.49)^3$
50	3.0 ± 0.17	4.9 ± 0.25	6.6 ± 0.30^a	$(7.5 \pm 0.37)^{1a}$	$(9.6 \pm 0.80)^3$
100	2.5 ± 0.12	3.5 ± 0.21^a	4.3 ± 0.31^b	$(4.8 \pm 0.38)^{1b}$	$(6.3 \pm 0.51)^{3a}$
300	2.3 ± 0.20^a	2.7 ± 0.17^b	2.8 ± 0.34^b	$(2.8 \pm 0.23)^{1b}$	$(3.0 \pm 0.14)^{3b}$

注: a 表示处理组与对照组之间差异显著 ($P < 0.05$); b 表示处理组与对照组间差异极显著 ($P < 0.01$); ()¹ 和 ()³ 内的数值分别表示 TCB 处理 5 d 后, 恢复培养 1 d 和 3 d 的幼苗根系长度, 下同。

结果表明, 蚕豆幼苗 SOD 活性对 $50 \sim 300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 胁迫表现出明显的剂量 – 效应关系, 胁迫 1 d 和 3 d 时为线性关系, 第 1 d, $r^2 = 0.970$; 第 3 d, $r^2 = 0.858$; 胁迫 5 d 时则表现为抛物线型, $r^2 = 0.900$, 见表 2。

表 2 TCB 胁迫对蚕豆幼苗 SOD 活性的影响($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)

Table 2 Effect of TCB stress on SOD activities of broadbean seedlings($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)

TCB 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0	1 d	3 d	5 d	5 d + 1 d	5 d + 3 d
0	190.5 ± 16.5	189.3 ± 14.6	191.3 ± 17.0	190.8 ± 14.2	$(189.6 \pm 20.3)^1$	$(191.2 \pm 14.6)^3$
50	190.5 ± 16.5	201.5 ± 18.3	230.7 ± 15.1^a	239.1 ± 12.8^a	$(243.5 \pm 11.2)^{1a}$	$(208.5 \pm 19.5)^3$
100	190.5 ± 16.5	228.6 ± 19.7^a	261.3 ± 19.7^b	290.7 ± 20.4^b	$(301.7 \pm 20.1)^{1b}$	$(253.1 \pm 22.8)^{3a}$
300	190.5 ± 16.5	271.5 ± 19.0^b	295.7 ± 29.1^b	203.1 ± 18.3	$(210.4 \pm 17.6)^1$	$(278.7 \pm 23.7)^{3b}$

能力, 可认为是生物对污染物的适应性反应^[15, 16]; 高剂量 TCB ($300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理 5 d) 对 SOD 活性的抑制作用是生物体产生中毒反应的前兆, 可能是因为高浓度 TCB 胁迫引起 SOD 失活速率增加, 从而导致机体失去对污染胁迫的适应能力^[8, 16]。

目前的研究表明, 生物对污染物质进行转化的结果, 可能生成危害性更大的活性中间产物, 而且往往伴有大量活性氧(如 O_2^- 、 $\text{OH}^\cdot$ 和 H_2O_2)的产生, 后者可直接或间接对机体造成氧化胁迫, 引起 DNA、蛋白质、膜脂质等氧化损伤以及干扰某些酶的活性^[3~8]。而抗氧化酶的作用是清除活性氧保护生物体, 其活性变化可间接反映环境中污染物质的存在, 是分子水平上监测污染物质的敏感生物标记物^[3~8]。余群等报道真鲷幼体内 SOD 活性与其体内石油烃含量呈现出明显的剂量 – 效应关系^[8]。其它类似的研究结果在植物幼苗中亦得到证实^[10]。本试验中, 蚕豆幼苗 SOD 活性对土壤 TCB 污染胁迫的反应敏感, 而且表现出明显的剂量 – 效应关系, 表明蚕豆幼苗 SOD 活性可以作为土壤 TCB 污染监测的生物标记物。但在其它研究工作中发现植物幼苗在逆境条件下的 SOD 活性并没有变化^[16], 说明 SOD 活性在监测 TCB 污染方面还需要进一步探索, 仍需同时参照其它生物化学参数

研究表明, 抛物线型剂量 – 效应关系是生物对污染胁迫反应的常见形式, 其顶点所对应的污染物浓度可以认为是生物对污染从适应性反应到中毒性反应的临界值^[8]。本试验中 TCB 暴露对蚕豆幼苗 SOD 的诱导作用, 以增强蚕豆消除活性氧(或衍生物)的解毒

(如蛋白质、DNA 及其它抗氧化酶活性) 的异常变化情况^[17]。

2.2.2 TCB 胁迫解除后蚕豆幼苗根系 SOD 活性变化

表 2 表明, 将 $50 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 暴露 5 d 后的蚕豆幼苗, 恢复培养 1 d 后, 其 SOD 活性均明显高于对照 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 而 $300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性略高于对照 ($P > 0.05$)。恢复培养 3 d 后, $50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性恢复到对照水平 ($P > 0.05$); 而 100 和 $300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理组的 SOD 活性均明显高于对照 (与对照相比分别增加 32.4% 和 45.8%), 后者的 SOD 活性也显著高于 $300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 暴露 5 d 时的 SOD 活性 (增加 23.9%, $P < 0.05$)。表明蚕豆幼苗可能存在 SOD 基因表达等一系列生理生化适应性机制, 从而使短期 TCB 胁迫对幼苗 SOD 的影响具有可逆性; 同时也说明恢复培养 1 ~ 3 d, 幼苗仍受到某种程度的氧化胁迫, 与盐胁迫解除后豌豆幼苗 SOD 活性的变化趋势一致^[13]。

2.3 TCB 胁迫对蚕豆幼苗根系 MDA 含量的影响

蚕豆幼苗体内 MDA 含量在 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理 1 d 后略有上升趋势 ($P > 0.05$), 在 $300 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ TCB 处理 1 d 后明显增加 ($P < 0.05$)。3 ~ 5 d 后显著

增高,与对照组的差异显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$),并且与 TCB 浓度之间分别表现为正相关 ($r^2 = 0.938 \sim 0.975$),表明 TCB 胁迫下幼苗体内发生了膜脂质过氧化作用,见表 3。

表 3 TCB 胁迫对蚕豆幼苗 MDA 含量的影响($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)
Table 3 Effect of TCB stress on MDA content of broadbean seedlings
($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)

TCB 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0 d	1 d	3 d	5 d
0	7.6±0.3	7.6±0.4	8.6±0.5	8.0±0.4
50	7.6±0.3	7.7±0.5	8.9±0.4	10.7±0.3
100	7.6±0.3	7.8±0.5	13.5±0.8 ^a	18.9±1.6 ^a
300	7.6±0.3	12.4±0.7 ^a	18.7±1.3 ^b	32.5±2.5 ^b

注:各符号同表 1。

研究表明,逆境条件下生物体内活性氧的累积进而引发膜脂过氧化作用,MDA 是膜脂质过氧化作用的产物,其含量高低可反映植物膜系统遭受氧化胁迫的程度^[3, 18]。本试验中,蚕豆幼苗体内 MDA 含量与 TCB 浓度之间存在明显的剂量-效应关系。因此 MDA 含量可作为 TCB 污染胁迫下的生物标记物,与 Merendino et al^[19]和 Requena et al^[20]的报道一致。

本试验中,在 TCB 胁迫下,蚕豆幼苗体内 SOD 活性显著升高(表 2),MDA 含量亦同时增加(表 3),表明 TCB 胁迫诱导了植物幼苗的氧化胁迫。比较表 1 和表 3 可以看出,TCB 胁迫 3~5 d 后,MDA 积累与幼苗生长量呈负相关,两者相关系数 (r^2) 为 0.899~0.917。说明 TCB 污染对蚕豆幼苗的毒害作用很可能是通过激发活性氧而造成氧化胁迫产生的。

2.4 CB 和 HCB 胁迫对蚕豆幼苗生长、SOD 活性、MDA 含量的影响

表 4 表明,50~1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB 处理 5 d 对蚕豆幼苗生长、SOD 活性及 MDA 含量无产生明显的抑制作用 ($P > 0.05$),类似的研究结果在 HCB 胁迫的蚕豆幼苗中亦得到证实。表明 501~000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB 或 HCB 处理 5 d 对蚕豆幼苗没有产生明显的毒性效应,见表 4。

Kong 等^[2]报道,CB、TCB 和 HCB 处理 48 h 对绿藻产生明显的毒性效应,其毒性顺序为 HCB> TCB> CB。小于 200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB 可以刺激土壤呼吸作用、尿酶和脱氢酶活性,增加细菌及真菌数量,但抑制氨化细菌、硝化细菌及脱硝化细菌^[21]。本试验中,50~1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ CB 或 HCB 处理 5 d 对蚕豆幼苗生长、SOD 活性及丙二醛含量均没有产生明显影响,表明 CB 或 HCB 处理 5 d 对蚕豆幼苗无产生明显的毒性效

表 4 CB 和 HCB 污染暴露 5d 后对蚕豆幼苗根系生长、SOD 活性和 MDA 含量的影响

Table 4 Effect of CB and HCB pollution on root growth, SOD activity and MDA content of broadbean seedlings after 5 d exposure

污染物	浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	根系长度 /cm	SOD 活性 / $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	MDA 含量 / $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$
CB	0	8.1±0.34	188.3±25.5	8.1±0.57
	50	8.0±0.50	191.7±13.5	7.4±0.54
	500	8.3±0.54	190.6±15.3	7.9±0.67
	1 000	8.7±0.26	189.28±13.4	7.8±0.35
HCB	0	8.4±0.43	189.1±13.8	8.3±0.45
	50	8.2±0.29	190.7±13.1	7.3±0.54
	500	8.6±0.51	185.3±16.3	8.0±0.58
	1 000	8.1±0.65	189.7±13.7	7.9±0.49

应。其原因可能是 CB 或 HCB 未被蚕豆幼苗吸收,或者是土壤和植物中的 CB 和 HCB 以结合态存在。上述结果亦可能与绿藻、蚕豆细胞对 TCB、CB 和 HCB 的反应性能及敏感性不同有关,有待于进一步研究。

参考文献:

[1] US EPA, Ambient water quality criteria for chlorinated benzenes, EPA 440 - /5 - 80/028. Department of commerce national technical information service VA 22151. 1980.

[2] Kong F X, Hu W, Liu Y. Molecular structure and biochemical toxicity of four halogeno - benzenes on the unicellular green alga Selenastrum capricornutum[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1998, 40: 105 - 111.

[3] 夏世钧,吴中亮. 分子毒理学基础[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社. 2001.

[4] Ferrat L, Pergent - Martini C, Romeo M. Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses[J]. *Aquat Toxicol*, 2003, 65(2): 187 - 204.

[5] Pandey S, Parvez S, Sayeed I et al. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.) [J]. *Sci Total Environ*, 2003, 309(1 - 3): 105 - 115.

[6] Leita M A, Cardozo K H, Pinto E et al. PCB - induced oxidative stress in the unicellular marine dinoflagellate Lingulodinium polyedrum[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2003, 45(1): 59 - 65.

[7] Nasci C, Nesto N, Monteduro RA. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, Mytilus galloprovincialis: transplantation and biomonitoring studies in the lagoon of Venice (NE Italy) [J]. *Mar Environ Res*, 2002, 54(3 - 5): 811 - 816.

[8] 余 群,郑微云,翁 妍,等. 石油污染对真鲷幼体中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的毒理效应[J]. 厦门大学学报, 1999, 38(3): 429 - 434.

[9] Schulz H, Hartling S. Biochemical parameters as biomarkers for the early recognition of environmental pollution on Scots pine trees. II. The antioxidant metabolites ascorbic acid, glutathione, alpha - tocopherol and the enzymes superoxide dismutase and glutathione reductase[J]. *Z*

Naturforsch., 2001, 56(9 – 10): 767 – 780.

- [10] Zaka R, Vandecasteele C M, Misset M T. Effects of low chronic doses of ionizing radiation on antioxidant enzymes and G6PDH activities in *Stipa capillata* (Poaceae) [J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(376): 1979 – 1987.
- [11] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain – treated bean – plants – Protective role of exogenous polyamines[J]. *Plant Sci*, 2000, 151: 59 – 66.
- [12] Bradford A. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of prtein utilizing the principle of protein dye – binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 – 254.
- [13] Hermandwz J A, Almansa M S. Short – term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves[J]. *Physiol Plant*, 2002, 115(2): 251 – 257.
- [14] Sandalio L M, Dalurzo H C, et al. Cadmium – induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants[J]. *J Exp Bot*, 2001, 364(52): 2115 – 2126.
- [15] Stegeman J J, Brouwer M, et al. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein synthesis as indicators of chemical exposure and effects. Huggett R A, Kimerle P M(eds), *Biomarkers*, Biochemical Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress[M]. Boca Raton Florida: Lewis Publishers. 1992. 235 – 335.
- [16] Jita Patra, Brahma B. Panda. A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedlings of barley, *Hordeum vulgare* L [J]. *Environtal Pollution*, 1998, 101: 99 – 105.
- [17] Williams T D, Gensberg K, Minchin S D. A DNA expression array to detect toxic stress response in European flounder (*Platichthys flesus*) [J]. *Aquat Toxicol*, 2003, 65(2): 141 – 157.
- [18] Dong B, Sang W L, Jiang X, et al. Effects of aluminum on physiological metabolism and antioxidant system of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Chemosphere*, 2002, 47(1): 87 – 92.
- [19] Merendino R A, Salvo F, Saija A. Malondialdehyde in benign prostate hypertrophy: a useful marker[J]. *Mediators Inflamm*, 2003, 12 (2): 127 – 128.
- [20] Requena J R, Fu M X, Ahmed M U et al. Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1996, Suppl 5: 48 – 53.
- [21] 沈 标. 氯苯和硝基酚对土壤生物活性的影响[J]. *土壤学报*, 1997, 34(3): 309 – 314.