

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2014.04.007

萘暴露对环文蛤的氧化胁迫与损伤研究

窦勇, 乔秀亭, 陈丽梅, 周文礼

(天津农学院水产学院, 天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384)

摘要: 试验条件下研究了不同质量浓度(2 mg·L⁻¹、8 mg·L⁻¹和32 mg·L⁻¹)双环芳烃——萘暴露对环文蛤(*Cyclina sinensis*)超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、碱性磷酸酶(AKP)活性和丙二醛(MDA)生成量变化的影响。结果表明, 高浓度萘(32 mg·L⁻¹)在15 d内对环文蛤有很强的致死效应; 在非致死条件下, 随暴露时间延长SOD活性持续升高, CAT活力存在低浓度促进高浓度抑制的现象, AKP活性随暴露时间延长表现出先升高后降低的趋势, 而MDA生成量则随暴露时间延长呈现低→高→低的变化。Pearson相关分析显示, 在环文蛤应对氧化胁迫的过程中SOD和CAT呈现协同作用($R=0.439$, $P<0.01$), SOD和AKP表现拮抗关系($R=-0.571$, $P<0.01$)。在保护细胞膜结构完整性方面, CAT和AKP可能较SOD发挥更大作用($R=-0.490$, $P<0.01$)。

关键词: 多环芳烃; 萘; 环文蛤; 氧化胁迫; 生化指标

中图分类号: Q 176

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2014)04-0039-06

Study on oxidative stress and damage of *Cyclina sinensis* exposed to naphthalene

DOU Yong, QIAO Xiuting, CHEN Limei, ZHOU Wenli

(Tianjin Key Lab. for Aquaculture Ecology and Cultivation, Fisheries College of Tianjin Agriculture University, Tianjin 300384, China)

Abstract: The SOD, CAT, AKP activities and MDA content were determined after *Cyclina sinensis* were exposed to different concentrations (2 mg·L⁻¹, 8 mg·L⁻¹ and 32 mg·L⁻¹) of naphthalene under experimental ecotoxicology conditions. The results indicate that *C. sinensis* had high mortality rate under 32 mg·L⁻¹ of naphthalene. Under non-lethal conditions and with increase of naphthalene exposure time, SOD activity showed a continuous increasing trend; CAT activity was promoted in low-concentration group and inhibited in high-concentration group; AKP activity was initially increasing then decreasing; MDA content fluctuated following the trend of low→high→low. According to Pearson correlation analysis, SOD and CAT showed synergistic effect ($R=0.439$, $P<0.01$), while SOD and AKP showed antagonism effect ($R=-0.571$, $P<0.01$). CAT and AKP might protect cellular membrane structure better than SOD ($R=-0.490$, $P<0.01$).

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbon; naphthalene; *Cyclina sinensis*; oxidative stress; biochemical indicators

多环芳烃(PAHs)是一类对生态环境有严重影响的持久性有机污染物, 由于其化学结构稳定、容易沿食物链富集且其中有相当一部分具有强的致癌性和遗传、免疫抑制毒性^[1-3], 因此被国际社会列

为优先监测和重点控制的污染物。海洋环境中的PAHs大多来源于近岸陆源排污和能源利用过程, 而近年来海上原油生产和沿海石化工业的发展以及各种泄漏事故造成近岸海域及沉积物中的PAHs浓

收稿日期: 2014-03-13; 修回日期: 2014-04-16

资助项目: 天津市科技兴海项目(KJXH2011-05); 天津农学院科学研究发展计划项目(2013N08)

作者简介: 窦勇(1985-), 男, 讲师, 博士, 从事海洋生态学与生态毒理学研究。E-mail: douyonghero@163.com

通信作者: 乔秀亭(1965-), 男, 教授, 从事水产动物营养与养殖生态学研究。E-mail: 327528920@qq.com

度不断升高,对海岸带生物类群构成了严重威胁,有文献记录中国海域海洋贝类对石油烃的富集系数可达 1.4×10^3 ^[4],马继臻等^[5]调查了东海沿岸9个区域石油烃对6种贝类的污染情况,结果显示贝类体内石油烃质量分数为 $1.28 \sim 37.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (湿质量),平均为 $10.78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,苗晶晶等^[6]发现 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯并芘会对栉孔扇贝 (*Chlamys Farreri*) 的鳃和消化盲囊造成严重损伤,王清等^[7]发现苯并芘胁迫会显著提高文蛤 (*Meretrix meretrix*) 血细胞的死亡率,丁鉴峰等^[8]指出自然海区的石油烃污染物显著诱导了菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 体内的谷胱甘肽表达,表现了较强的免疫毒性。国外科学家发现 PAHs 的遗传毒性体现在可以共价结合并破坏水生生物体的 DNA^[9-10]。科学界一般认为,3个及以上苯环稠和形成的 PAHs 才具有较高的环境风险,对海洋生物的潜在危害较大^[11-13],因此目前的关注点大多集中于三环以上的 PAHs,而对三环以下 PAHs 的生物毒性研究较少。萘是由2个苯环构成的最简单的 PAHs,在化学工业中应用非常广泛,但其致毒作用长久以来未得到重视,特别是萘对海洋生物毒性研究至今鲜见报道,因此开展萘的生态毒理学研究具有十分重要的现实意义。

PAHs 进入生物体以后会发生代谢转化,产生一系列中间产物和活性氧自由基,对生物体施加氧化胁迫并造成损伤。组织的抗氧化酶系统构成了抵御活性氧的第一道防线^[14],超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 是保护细胞免受氧化损伤的关键酶,分别在清除 O_2^- 和 H_2O_2 方面起重要作用,二者虽然存在于细胞的不同部位,但均具有易受诱导、广谱表达的特性;碱性磷酸酶 (AKP) 是生物体内一种重要的水解酶,主要参与磷元素代谢,但近年来其在指示氧化胁迫方面的应用逐渐得到研究者认可;丙二醛 (MDA) 是膜质过氧化的主要产物,其含量高低可直接表征生物膜系统遭受氧化损伤的程度,是目前应用非常普遍的海洋污染生物监测指标^[15]。

环文蛤 (*Cyclina sinensis*) 是中国近海常见的双壳贝类,可以作为海岸带环境理想的指示生物。文章以环文蛤作为试验生物,研究了在不同浓度萘静态暴露条件下环文蛤软体部 SOD、CAT、AKP 活性和 MDA 生成量的变化,探讨萘对环文蛤的致毒机理,不仅为贝类养殖的环境毒理学研究提供理论基础,还可为实施 PAHs 生物监测提供更多的试验证据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从浙江温州沿海养殖场采集大小均匀、平均壳高为 $(4.1 \pm 0.2) \text{ cm}$ 的环文蛤作为试验材料,以小绿藻 (*Chlorella vulgaris*) 作为饵料在实验室暂养驯化 7 d,期间小球藻投喂密度约 1.0×10^6 个 mL^{-1} ,每日投喂 2 次,每次 200 ~ 250 mL。培养基为人工配方海水,盐度 34 ± 1 ,pH 7.6 ± 0.1 ,硝态氮 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 质量浓度为 $0.31 \sim 0.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、铵态氮 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 质量浓度为 $0.14 \sim 0.17 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、亚硝态氮 ($\text{NO}_2\text{-N}$) 质量浓度为 $0.008 \sim 0.010 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、活性磷 ($\text{PO}_4\text{-P}$) 质量浓度为 $0.010 \sim 0.113 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。暂养容器为 60 L 玻璃培养箱,每日换水 1/2 并用软管吸底清除贝类排泄物和沉积藻体,培养阶段采用连续曝气方式,水温控制在 $22 \sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$,采用自然光照。

1.2 目标污染物

萘,分子式 C_{10}H_8 ,是具有特殊气味的晶体,不溶于水,半数致死量 (LD_{50}) = $490 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (大鼠经口),属低毒类物质。该试验用萘购自天津市计量监督检测科学研究院 (分析纯),以丙酮 (分析纯) 作为助溶剂,配制 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的萘-丙酮溶液作为母液贮藏备用,正式试验时稀释成相应浓度的工作液使用。

1.3 萘胁迫试验

1.3.1 将驯化好的环文蛤置于预先充分曝气的 5 L 水槽中培养,并确定污染物浓度。每个水槽放置 15 个环文蛤个体,培养期间环境条件除不曝气外与 1.1 所述相同。试验液相体系每日更换,保持污染物浓度恒定。

1.3.2 根据文献调研和预试验设定该研究的污染物浓度,设置 3 个萘浓度梯度,每个浓度设 3 个平行,同时做空白对照 (control) 和最高溶剂对照 (acetone control)^[16]。萘的正式试验质量浓度分别为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,试验周期为 15 d,每隔 5 d 取样一次,测定环文蛤 SOD、CAT、AKP 活性和 MDA 质量摩尔浓度。

1.4 生化标志物测定

分别在第 0、第 5、第 10 和第 15 天从各试验组中随机挑选 3 个环文蛤,解剖后取出软体部,在预冷的生理盐水环境下对软体部进行整体组织破碎 [$m(\text{软体部}) : V(\text{生理盐水}) = 1 : 9$],然后在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$

条件下 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液测定 SOD、CAT、AKP 活性和组织可溶性总蛋白、MDA 质量摩尔浓度。将每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量定义为 1 个 SOD 酶活力单位(U); 将每毫克组织蛋白每秒钟分解 $1\ \mu\text{mol}\ \text{H}_2\text{O}_2$ 的量定义为 1 个 CAT 酶活力单位(U), 将每克组织蛋白在 $37\ ^\circ\text{C}$ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚定义为 1 个 AKP 酶活力单位(U)。SOD、CAT 活性以酶活单位·毫克蛋白 $^{-1}$ ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$) 表示, AKP 活性以酶活单位·克蛋白 $^{-1}$ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$) 表示, MDA 质量摩尔浓度以纳摩尔·毫克蛋白 $^{-1}$ ($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$) 表示。所有指标测试方法均参照商品化试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)说明, 吸光度值使用 UV-1240 紫外-可见分光光度计测定。

1.5 数据处理

所有的生化指标结果均以平均值 \pm 标准误 ($\bar{X} \pm \text{SE}$) 表示 ($n = 3$)。使用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 LSD 多重比较检验 (LSD post-hoc multiple comparison tests) 判断不同浓度萘胁迫对生化指标的效应。另外, 借助双变量 Pearson 相关性分析 (bivariate Pearson correlation analysis) 研究萘胁迫与生化指标之间的相关性。

2 结果与分析

分析结果显示, 空白对照和最高溶剂对照之间的差异不显著 ($P > 0.05$), 说明以丙酮作为助溶剂合适, 不会对试验结果的有效性造成干扰, 试验效应由萘的作用产生。试验结束前, 萘质量浓度为 $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理组中环文蛤陆续全部死亡, 表明 $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的萘对环文蛤有很强的致死效应。由于死亡个体的生化标志物无实际意义, 因此缺失第 15 天时 $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的测定数据。

2.1 萘对 SOD 活性变化的影响

多数处理组的 SOD 活性显著高于对照组 (图 1-a), 表明萘胁迫对 SOD 有较强的诱导表达作用, 且胁迫时间越长 SOD 活性越强。第 5 天时各污染物处理组间的 SOD 活性差异不显著 ($P > 0.05$), 说明萘胁迫对 SOD 的诱导具有一定的时滞性; 第 10 天时 SOD 活性随萘质量浓度升高而显著增强 ($P < 0.05$), $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 SOD 活性分别是 $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 1.63 倍和 1.22 倍; 至第 15 天时 SOD 诱导率达到峰值, 但是活性却与萘的质

量浓度呈现相反变化, 此时 $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 SOD 活性仅为 $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 44%。

2.2 萘对 CAT 活性变化的影响

CAT 也是生物体内一种关键的氧化防御酶, 但在该研究中 CAT 的诱导活性远低于 SOD, 整个试验过程中 CAT 活性水平仅为 SOD 的 2% ~ 8.2%。试验中 CAT 活性随暴露时间延长表现出升高-降低-升高的变化趋势, 而且存在低浓度促进诱导高浓度抑制表达的现象 (图 1-b)。第 5 天时 CAT 活性与萘质量浓度呈显著的负向变化 ($P < 0.05$), $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组分别为是 $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 2.67 倍和 6.4 倍, 但是随着试验的继续 CAT 水平锐减; 至第 10 天时 CAT 活性降至第 5 天时的 13% ~ 60%, 此后 CAT 活性逐渐回升; 第 15 天时已恢复到接近第 5 天时的水平, 但是 $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组显著高于 $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 ($P < 0.05$)。

2.3 萘对 AKP 活性变化的影响

环文蛤 AKP 活性随萘胁迫时间延长表现出先升高后降低的趋势。第 5 天时活性水平显著高于第 10 和第 15 天 ($P < 0.05$), 其中 $8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 AKP 活性达到试验期峰值, 分别为 $2\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组和 $32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的 2.25 倍和 2.34 倍, 此后各处理组活性急剧下降且组间差异不显著 ($P > 0.05$); 第 10 天时各组 AKP 活性仅为第 5 天时的 4.1%, 从第 10 至第 15 天 AKP 一直保持低水平稳态 (图 1-c)。

2.4 萘对 MDA 生成量变化的影响

MDA 是细胞膜质过氧化的产物, 反映细胞氧化损伤的程度。试验前期组织生成的 MDA 极少且各处理组间无显著差异 ($P > 0.05$), 表明萘未对细胞膜结构造成严重破坏, 随着时间推移, 萘的毒害作用逐渐显现, 第 10 天时各处理组的 MDA 生成量达到峰值, 分别为第 5 天时各组的 12 ~ 15 倍, 随后组织 MDA 急剧减少; 第 15 天时下降到接近第 5 天时的水平 (图 1-d)。

3 讨论

3.1 生化指标的变化规律探讨

隋亚栋^[17]发现萘对菲律宾蛤仔的 SOD、CAT 活力影响存在一个随暴露时间延长先诱导后抑制的过程, 而该研究中 SOD 活性随暴露时间延长活性持续增强, CAT 活力表现升高-降低-升高的变化趋势, 这可能与不同物种抗氧化酶的诱导表达模式和

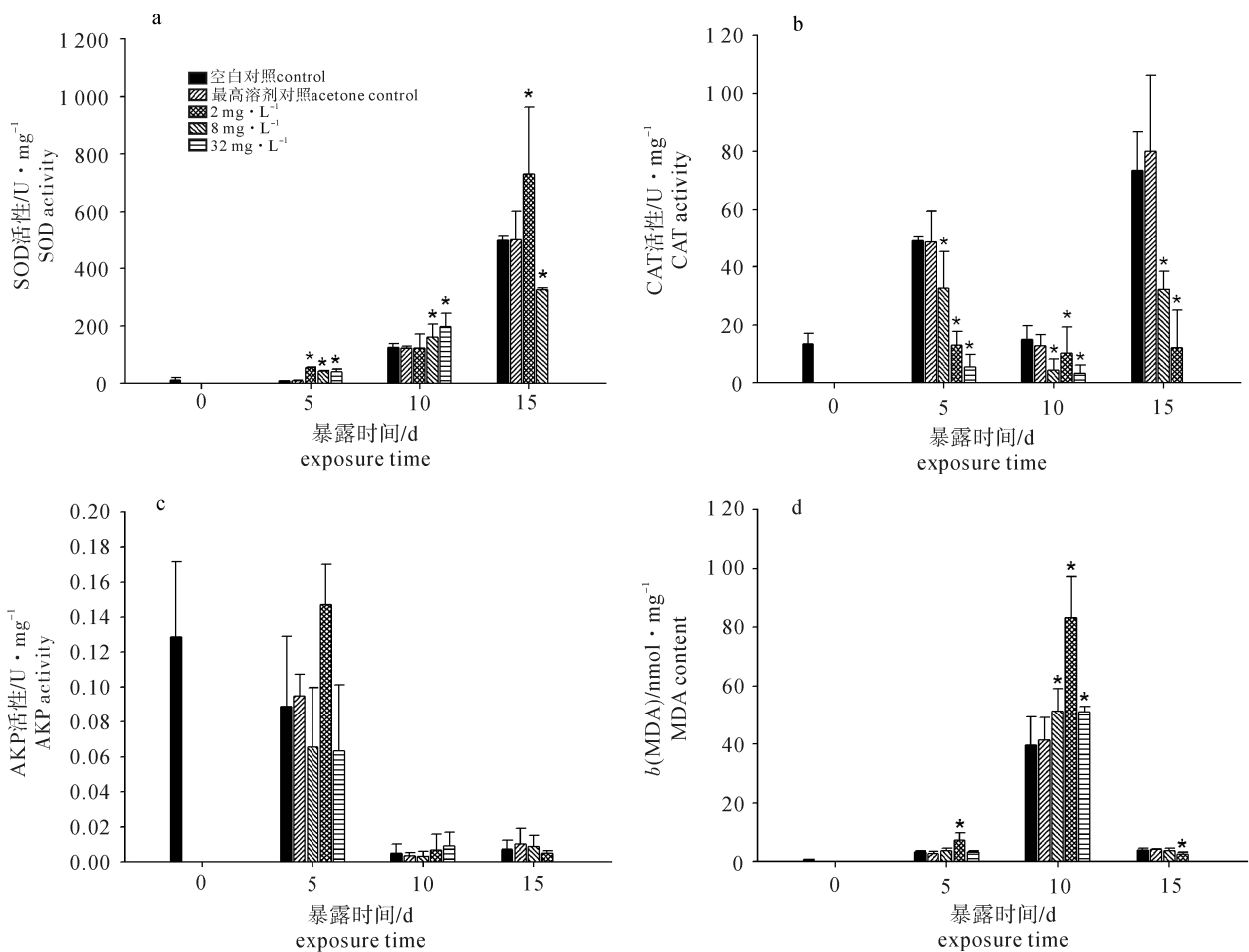


图1 萘对超氧化物歧化酶(a)、过氧化氢酶(b)、碱性磷酸酶(c)活性与丙二醛生成量(d)变化的影响
*. 差异显著($P < 0.05$)

Fig. 1 Effect of naphthalene on SOD (a), CAT(b), AKP(c) activities and MDA content (d) of *C. sinensis*
*. significant difference ($P < 0.05$)

污染物的化学结构及毒性差异有关。PAHs 刺激生物体合成 AKP 的研究报道较少, 黄周英等^[18]指出痕量($10 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)三丁基锡不影响文蛤 AKP 活性表达, 余群等^[19]发现硒(Se^{4+})浓度在高于和低于 $12.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对华贵栉孔扇贝(*Chlamys nobilis*) AKP 分别产生激活和抑制作用, 这与 Se^{4+} 和 AKP 相互作用影响酶分子空间构象有关。这些结果虽与该研究中 AKP 先诱导后抑制的变化趋势不尽相同, 但也说明了不同物种间 AKP 的诱导变化存在很大差异。该试验结果显示, 环文蛤 MDA 水平先升高后降低, 表明膜结构的受损程度先升后降, 暗示生物体抵御氧化胁迫的过程具有一定的时滞性, 这与其他学者的结论有所不同^[20-21], 可能是因为生物体的保护机制存在种间差异。

PAHs 进入生物体会转化生成一系列的中间活化产物和活性氧自由基, 对细胞、组织施加氧化胁迫,

然后诱导体内的防御酶类特别是抗氧化酶表达, 此过程虽然存在普遍性, 但不同污染物对不同物种抗氧化酶的诱导效应却千差万别, 同时污染物发挥毒性作用取决于暴露的强度和时间的, 也取决于生物种类的敏感性^[22], 这暗示存在着目标生物-污染物-生化指标的映射路径。

3.2 生化指标间的相关性分析

为探究生化指标间的变化规律, 进行了双变量的 Pearson 相关分析, 结果见表 1。

SOD 和 CAT 是保护细胞免受氧化损伤并获得组织抗性的关键酶, 分别在清除氧离子(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)方面起重要作用。在该研究中 SOD 和 CAT 在受到萘诱导后活性激增, 而且在整个试验周期内都维持了高水平, 虽然表达规律和表达量不尽一致但是却呈现协同作用($R = 0.439$, $P < 0.01$), 说明 2 种酶在环文蛤应对氧化胁迫的过程

表1 生化指标之间的 Pearson 相关系数矩阵

Tab. 1 Pearson correlation coefficient matrix among biochemical indicators

	SOD 活性 SOD activity	CAT 活性 CAT activity	AKP 活性 AKP activity	MDA 生成量 MDA content
超氧化物歧化酶活性 SOD activity	1	0.439 **	-0.571 **	-0.141
过氧化氢酶活性 CAT activity		1	-0.018	-0.490 **
碱性磷酸酶活性 AKP activity			1	-0.490 **
丙二醛生成量 MDA content				1

注: ** . 差异极显著

Note: ** . very significant difference

中发挥了基本一致的功能; AKP 主要在生物体磷酸基团转移和代谢过程中发挥作用, 是细胞免疫系统的重要组分, 试验中 AKP 在 5 d 内呈高活性状态, 起到了重要的免疫功能, 而 5 d 后活性锐减至较低水平且与 SOD 的诱导活性表现拮抗关系 ($R = -0.571$, $P < 0.01$), 表明 AKP 与 SOD 之间存在着作用时间和功能效应的差异, 暗示环文蛤的组织抗性相较于免疫活性可能在抵御氧化胁迫的过程中发挥更为重要的作用; MDA 是脂质过氧化的产物, 表征了细胞膜系统氧化损伤的程度, 该研究中 AKP 和 CAT 活性均与 MDA 生成量负相关 ($R = -0.490$, $P < 0.01$), 说明这 2 种酶能有效中和活性氧, 降低细胞 MDA 生成, 保护细胞膜结构的完整性, 同时暗示两者在抑制膜质过氧化方面可能有相近的作用位点和作用机制。

3.3 PAHs 的生态风险和对人体健康的影响

该研究发现一定质量浓度的萘 ($32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对环文蛤有强致死效应, 说明萘在环境中具有较高的潜在风险, 而目前有研究表明食用海产品是人体摄入 PAHs 的主要途径之一^[23], 因此开展海洋生物体 PAHs 残留的人体暴露风险评价具有十分重要的现实意义。目前该领域的研究成果较为分散, 主要原因就是尚未建立 PAHs 污染物的标准分析方法和健康风险的普适评价体系, 使已有工作有较大的异质化差别, 很难进行纵向和横向比较。因此针对以上问题, 有必要继续深入探索以健全生物体 PAHs 监测和人体暴露风险评价体系, 并在毒性试验基础上开展医学范畴的临床研究和流行病学调查, 以便更合理、有效地评估 PAHs 对环境、生物和人体健康的影响。

4 展望

化学物质对生物的毒性作用具有高度复杂性,

要想全面、深入地阐释污染物的毒性效应和生物体的响应机理, 分子水平的研究不可或缺, 因此十分有必要在测定生化指标基础上开展污染物的分子生态毒理学研究。目前已有不少学者从事这方面的工作, 国外有人尝试使用单细胞凝胶电泳技术(彗星试验)检测多环芳烃和多氯联苯对生活在英吉利海峡的比目鱼遗传物质的损伤效应^[24], 也有专家使用放射性³²P(磷)后标记技术研究苯并芘对紫贻贝(*Mytilus edulis*)细胞 DNA 加合物形成的影响^[25], MCCLAIN 等^[26]研究了苯并芘暴露 24 h 后虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) CYP1A1 基因的诱导表达, 还有学者发现苯并芘、多氯联苯 1254 和二氧芑能够诱发欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)体内红细胞的 DNA 双链断裂和细胞程序化死亡(programmed cell death)^[27]。靳永轩等^[28]借助实时定量 PCR 技术研究了石油烃暴露对栉孔扇贝 CYP4 基因表达的作用, 畅悦等^[29]利用基因芯片技术研究了嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)在 3 种环境激素类污染物(二氯二苯三氯乙烷、三丁基锡、2,3,7,8-四氯二苯并二噁英)胁迫下的基因组表达谱和功能网络, 这些成果也为该试验的后续研究提供了借鉴。

参考文献:

- [1] 孙闰霞, 林钦, 柯常亮, 等. 海洋生物体多环芳烃污染残留及其健康风险评价研究[J]. 南方水产科学, 2012, 8(3): 71-78.
- [2] 孟范平, 程风莲, 王建春, 等. 基于氧化逆境标志物的北部湾潮间带沉积物有机污染程度综合评价[J]. 海洋学报, 2013, 35(3): 155-165.
- [3] 高萍, 夏斌, 崔毅, 等. 菲律宾蛤仔对石油烃的富集与释放特征[J]. 海洋环境科学, 2013, 32(1): 63-66.
- [4] 贾晓平, 林钦, 蔡文贵, 等. 海洋动物体石油烃污染评价标准参考值的探讨[J]. 湛江海洋大学学报, 1999, 19(3): 33-37.

- [5] 马继臻, 袁骥, 蒋玫, 等. 东海沿岸不同区域贝类体内石油烃含量的分布特征及其评价[J]. 海洋通报, 2008, 27(2): 73-78.
- [6] 苗晶晶, 潘鲁青, 王静. 苯并[a]芘对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)组织显微和超微结构的影响[J]. 环境科学学报, 2007, 27(9): 1497-1503.
- [7] 王清, 杨红生, 王晓宇. 镉和苯并芘胁迫对文蛤血细胞功能的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(9): 82-86.
- [8] 丁鉴锋, 闫喜武, 赵力强, 等. 海洋污染物对菲律宾蛤仔的免疫毒性[J]. 生态学报, 2013, 33(17): 5419-5425.
- [9] UMBUZEIRO G, ALEXANDRE F, MARTINS M, et al. Mutagenicity and DNA adduct formation of PAH, nitro-PAH, and oxy-PAH fractions of atmospheric particulate matter from Sao Paulo, Brazil[J]. Mutat Res, 2008, 652(1): 72-80.
- [10] PISONI M, COGOTZI L, FRIGERI A, et al. DNA adducts, benzo(a)pyrene monoxygenase activity, and lysosomal membrane stability in *Mytilus galloprovincialis* from different areas in Taranto coastal waters (Italy)[J]. Environ Res, 2004, 96(2): 163-175.
- [11] AAS E, BAUSSANT T, BALK L, et al. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod[J]. Aquat Toxicol, 2000, 51(2): 241-258.
- [12] ØSTBYA L, GABRIELSEN G, KRØKJE A. Cytochrome P4501A induction and DNA adduct formation in glaucous gulls (*Larus hyperboreus*), fed with environmentally contaminated gull eggs[J]. Ecotox Environ Safe, 2005, 62(3): 363-375.
- [13] TAIOLI E, RADIM S, BLANKA B, et al. Biomarkers of exposure to carcinogenic PAHs and their relationship with environmental factors[J]. Mutat Res, 2007, 620(1/2): 16-21.
- [14] 王丽平, 郑丙辉, 孟伟. 环境污染对水生生物产生氧化压力的分子生物标志物[J]. 生态学报, 2007, 27(1): 380-388.
- [15] 杨涛, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 菲和苯并(b)荧蒽暴露对翡翠贻贝外套膜的氧化胁迫及损伤[J]. 南方水产科学, 2011, 7(4): 24-29.
- [16] 李学峰, 周启星, 罗义. 甲苯、乙苯和二甲苯对中华新米虾的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2013, 33(3): 530-537.
- [17] 隋亚栋. 阴离子表面活性剂 SDS 和多环芳烃对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)的毒性效应研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [18] 黄周英, 陈奕欣, 赵扬, 等. 三丁基锡对文蛤鳃酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的影响[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(3): 56-59.
- [19] 余群, 王重刚, 陈荣, 等. 硒对华贵栉孔扇贝碱性磷酸酶的酶动力学及理化性质研究[J]. 海洋科学, 2008, 32(10): 56-61.
- [20] 陈荣, 潘文扬. 厦门海域僧帽牡蛎生化指标与有机污染物的相关性[J]. 中国环境科学, 2006, 26(4): 418-421.
- [21] 王丽平, 郑丙辉, 孟伟. 多环芳烃对卤虫无节幼体的光诱导毒性[J]. 环境科学学报, 2008, 28(4): 748-754.
- [22] 王悠, 姜爽, 赵晓玮, 等. 2种有机污染物对鲈鱼生化标志物系统的影响及作用评价[J]. 环境科学, 2010, 31(3): 801-807.
- [23] BINELLI A, PROVINI A. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk[J]. Mar Pollut Bull, 2003, 46(7): 879-886.
- [24] AKCHA F, HUBERT F, LESZKOWICZ A. Potential value of the comet assay and DNA adduct measurement in dab (*Limanda limanda*) for assessment of in situ exposure to genotoxic compounds[J]. Mutat Res, 2003, 534(1/2): 21-32.
- [25] BINKOVA B, IRENA C, ZDENA L, et al. PAH-DNA adducts in environmentally exposed population in relation to metabolic and DNA repair gene polymorphisms[J]. Mutat Res, 2007, 620(1/2): 49-61.
- [26] MCCLAIN J S, ORIS J T, BURTON G A, et al. Laboratory and field validation of multiple molecular biomarkers of contaminant exposure in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Environ Toxicol Chem, 2003, 22(2): 361-370.
- [27] REGOLI F, WINSTON G W, GORBI S, et al. Integrating enzymatic response to organicchemical exposure with total oxyradical absorbing capacity and DNA damage in the European eel *Anguilla Anguilla*[J]. Environ Toxicol Chem, 2003, 22(9): 2120-2129.
- [28] 靳永轩, 刘晨临, 丛柏林, 等. 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)细胞色素 CYP4 基因表达对石油烃污染的响应特征[J]. 海洋环境科学, 2013, 32(2): 257-261.
- [29] 畅悦, 冯立芳, 缪炜. 有机污染物二氯二苯三氯乙烷、三丁基锡和 2,3,7,8-四氯二苯并二噁英暴露下的四膜虫毒理基因组学研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(6): 502-511.