

铜离子对中国花鲈幼鱼的毒性研究

朱友芳^{1*}, 洪万树², 林金忠¹

1. 福建莆田市水产科学研究所, 福建 莆田 351100
2. 厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005

摘要: 为给中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*)养殖提供污染生物学的理论数据, 研究了中国花鲈幼鱼的铜离子中毒症状和半致死浓度 (LC_{50}); 检测了幼鱼肝脏的谷胱甘肽 (GSH)和丙二醛 (MDA)含量及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷丙转氨酶 (GPT)和谷草转氨酶 (GOT)活力; 分析了铜离子胁迫对幼鱼的红细胞总核异率和微核率的影响。结果表明: 铜离子对幼鱼 24 48 72和 96 h的 LC_{50} 分别为 1.85 1.66 1.48和 0.86 $mg\ L^{-1}$ 。濒死的幼鱼肝脏组织溶解性坏死, 鳃部组织出现大量的血窦, 幼鱼肝脏的 GSH和 MDA含量及 SOD GPT和 GOT活力对铜离子胁迫反应敏感, 而 CAT活力则反应不敏感。在铜离子浓度为 0.42 $mg\ L^{-1}$ 的浓度组中暴露 96 h幼鱼的总核异率和微核率显著高于对照组 ($P<0.05$)。以上结果说明铜离子胁迫损害了中国花鲈幼鱼肝脏的抗氧化系统、肝脏组织和鳃部组织, 并具有一定的遗传毒性。

关键词: 中国花鲈; 铜离子; 半致死浓度; 肝脏组织; 酶活力; 微核测定

文章编号: 1673-5897(2011)6-331-06 中图分类号: S965.2 文献标识码: A

Toxicity of Cu^{2+} to Juvenile Perch *Lateolabrax maculatus*

Zhu Youfang^{*}, Hong Wanshu², Lin Jingzhong¹
1. Putian Municipal Institute of Fishery Science, Putian, Fujian 351100, China
2. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China
Received 21 December 2010 accepted 3 May 2011

Abstract: In order to provide data of pollution biology for the Perch (*Lateolabrax maculatus*) culture, the toxic symptom and LC_{50} were studied in the juvenile perch exposed to Cu^{2+} . The levels of GSH and MDA and activities of SOD, CAT, GOT and GPT were examined. The effects of Cu^{2+} stress on the total dyskaryosis and micronuclear rates of the juvenile erythrocytes were analyzed. The results showed that LC_{50} for juvenile exposed to Cu^{2+} for 24 48 72 and 96 h was 1.85 1.66 1.48 and 0.86 $mg\ L^{-1}$, respectively. The liver tissue of agonal individuals necrosed and a mass of blood sinuses occurred in the gill tissue. GSH, MDA, SOD, GPT and GOT in the liver were sensitive, while CAT was not sensitive to Cu^{2+} stress. Exposed to Cu^{2+} at concentration of 0.42 $mg\ L^{-1}$ for 96 h, total dyskaryosis and micronuclear rates of the juvenile erythrocytes in the treated groups were significantly higher ($P<0.05$) than that in the control. Cu^{2+} stress not only damaged the liver antioxidant system, liver and gill tissues, but also had definite genetic toxicity to the juvenile perch.

Keywords: *Lateolabrax maculatus*; Cu^{2+} ; LC_{50} ; liver tissue; enzyme activity; micronuclear test

铜离子是鱼类体内重要的微量元素, 参与体内多种代谢, 但过量的铜离子会对鱼体产生毒害作用。已有的研究表明, 铜离子胁迫会伤害鱼类的抗氧化系统^[1], 产生组织学方面的病理变化^[2], 并具有一定的遗传毒性^[3]。中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 隶属于鲈形目 (Perciformes)、鲈科 (Sciaenidae)。

dae), 经过适当的淡化驯食后, 可在淡水水域中养殖。作为一种优良的养殖鱼类, 有关学者在化学药物对中国花鲈的毒性研究方面已进行了一些工作, 如金彩杏等^[4]进行了三唑磷对中国花鲈急性毒性实验的研究; 郑伟刚等^[5]进行了盐度与碱度对中国花鲈幼鱼毒性的研究; 刘海燕等^[6]进行了三聚氰氨对中国花鲈急性毒性实验的研究; 陈仪取等^[7]采用体外实验的方法进行了 3 种农药对中国花鲈抗氧化酶和乙酰胆碱酯酶影响的研究, 得出了在敌敌畏 (dichlorvos)、丁硫克百威 (carbosulfen) 和氯氰菊酯 (cypemethrin) 等 3 种农药胁迫下超氧化物歧化酶 (SOD) 活力无显著变化的结论; Wu 等^[8]进行了十二烷基苯磺酸钠 (SDBS) 和苯并芘 (B[a]P) 对中国花鲈生物标志物系统影响的研究, 得出了在 SDBS 胁迫下过氧化氢酶 (CAT) 活力反应敏感而谷胱甘肽 (GSH) 含量和 SOD 活力反应不敏感, 在 B[a]P 胁迫下 GSH 含量和 SOD 活力反应敏感而 CAT 活力则不敏感的结论; Wu 等^[9]进行了 SDBS 和十二烷基硫酸钠 (SDS) 对中国花鲈生物标志物系统影响的比较研究, 得出了中国花鲈的抗氧化系统对这两种污染物的胁迫具有不同响应的结论。但铜离子对中国花鲈的毒性未见研究报道, 为了给中国花鲈养殖提供污染生物学的理论数据, 促进中国花鲈养殖的健康稳定发展, 本研究进行了中国花鲈幼鱼铜离子中毒症状的观察及半致死浓度 (LC_{50}) 的测定; 检测了幼鱼肝脏的 GSH 和丙二醛 (MDA) 含量及 SOD、CAT、谷丙转氨酶 (GPT) 和谷草转氨酶 (GOT) 活力; 分析了铜离子胁迫对幼鱼的红细胞总核异率和微核率的影响。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

1.1.1 实验用水

采用经过 48 h 充分曝气的自来水, pH 值 7.2, 实验过程水温为 16—18℃。

1.1.2 实验用鱼

采用已经过淡化并适应在淡水中生活的中国花鲈幼鱼, 将幼鱼移入实验场所, 在适应实验环境并恢复正常的摄食节律后, 随机挑选健康、体表无受伤的个体用于实验研究, 实验鱼全长 (106 ± 13) mm, 体重 (12.45 ± 2.02) g。在实验期间由于各浓度组间的幼鱼摄食强度存在明显差异, 高浓度组甚至不摄食, 为了防止摄食强度不同对实验结果的影响, 采用姚志峰等^[11]的毒性实验方法, 实验期间不喂食。

1.1.3 试剂

GSH、MDA、SOD、CAT、GPT、GOT 和考马斯亮蓝总蛋白测定试剂盒由南京建成生物工程研究所生产, 姬姆氏染料由 Sigma 公司生产, 硫酸铜 ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 为分析纯, 天津市巴斯夫化工有限公司生产。

1.1.4 仪器

紫外可见分光光度计 (北京普析通用 T6 新世纪), 电热恒温水浴锅 (上海精宏 DK-S26), 电子天平 (上海越平 YP5002), 移液枪 (美国 Labnet Biopette), 玻璃组织匀浆器 (高信化玻), 冷冻高速离心机 (德国 Biofuge Stratos), 石蜡切片机 (科迪 KD-202 轮转切片机) 和显微镜 (日本 OLYMPUS BX51)。

1.2 实验方法

1.2.1 中毒症状的观察及 LC_{50} 的测定

采用 140 L 红色塑料桶作为实验容器, 每个塑料桶放养 15 尾, 充气泵增氧。硫酸铜先配制成母液, 再按比例稀释成所需的浓度, 药液现配现用。先根据鱼病防治所用的铜离子浓度经适当扩大范围后进行 48 h 预实验, 以确定正式实验时铜离子质量浓度的大致范围。正式实验时采用等对数间距法, 设置 5 个浓度组: 0.82、1.05、1.31、1.66 和 2.07 $mg \cdot L^{-1}$, 同时设置对照组, 各组均设两个平行。在实验过程中, 前 8 h 作连续观察、记录幼鱼的中毒过程和存活情况, 然后作 12、24、48、72 和 96 h 的存活记录, 实验期间不更换实验液。

在 LC_{50} 测定实验中对濒死幼鱼的鳃部组织进行镜检, 肝脏组织块用波恩氏液固定, 经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片 (厚度 $6 \mu m$) 和 HE 染色, 在显微镜下观察和拍照。

1.2.2 GSH 和 MDA 含量及 SOD、CAT、GPT 和 GOT 活力测定

参照高蓉等^[10]的实验方法, 根据得到的 48 h LC_{50} 数据, 在保证中国花鲈幼鱼全部存活的情况下, 采用等对数间距法设置 0.12、0.24、0.46 和 0.97 $mg \cdot L^{-1}$ 的 4 个浓度组和一个对照组, 各组均设两个平行, 每 24 h 更换一次实验液, 每个平行投放 15 尾幼鱼。暴露 48 h 时, 各浓度组和对照组分别随机取 6 尾幼鱼, 快速解剖取出肝脏组织, 进行肝脏组织相关生化指标测定, 测定步骤按试剂盒说明书进行。蛋白质含量的测定采用考马斯亮兰比色法; GSH 含量的测定采用二硫代二硝基苯甲酸比色法; MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法; SOD 活力测定采用黄嘌呤氧化酶法; CAT 活力测定采用一般分光光

度法; GPT和 GOT活力测定采用赖氏法。

1.2.3 铜离子胁迫对总核异常率和微核率的影响

根据得到的 96 h- LC_{50} 数据, 设置 0.21、0.28和 0.42 $mg\ L^{-1}$ 3个浓度组及一个对照组, 各组均设两个平行, 每个平行放入 25尾幼鱼, 暴露时间 96 h 各组分别于 24、48、72和 96 h随机取 6尾幼鱼, 采血制成血涂片, 姬姆氏染色, 计算微核和核异常的红细胞数量。总核异常为微核和核异常之和, 每张涂片至少观察 3 000个红细胞。

1.2.4 数据处理

LC_{50} 测定实验中的数据采用半对数直线内插法求出 $LC_{50}^{(1)}$, 微核率(‰)=各组观察到的微核数/各组观察的红细胞总数 $\times 1\ 000\%$, 总核异常率(‰)=各组观察到的总核异常数/各组观察的红细胞总数 $\times 1\ 000\%$, GSH和 MDA含量、SOD、CAT、GOT和 GPT活力及微核测定所得数据均采用 SPSS 13.0统计软件包中的 ANVOA和 LSD分析各浓度组

与对照组之间的差异性, $P<0.05$ 为显著差异, $P<0.01$ 为极显著差异, 所得结果均以平均值 $\pm$ 标准误差来表示。

2 结果 (Results)

2.1 中毒症状观察及 LC_{50} 测定

中国花鲈幼鱼铜离子中毒过程表现为由集群变为分散、游泳失去平衡、鱼体翻转和上浮, 对外界刺激反应逐渐减弱, 最后侧卧沉底直至死亡。幼鱼在 2.07 $mg\ L^{-1}$ 浓度组中暴露 12 h死亡率 13.33% (两平行组平均), 其余各浓度组均无死亡。在 LC_{50} 测定实验中捞取濒死的幼鱼进行解剖, 肝脏组织出现白色斑块, 与对照组相比 (图 1a), 中毒幼鱼的肝脏组织显溶解性坏死 (图 1b), 镜检发现鳃部组织出现大量血窦, 可见铜离子胁迫伤害了中国花鲈幼鱼的肝脏组织和鳃部组织。由表 1算出铜离子对中国花鲈幼鱼 24、48、72和 96 h的 LC_{50} 分别为 1.85、1.66、1.48和 0.86 $mg\ L^{-1}$ 。

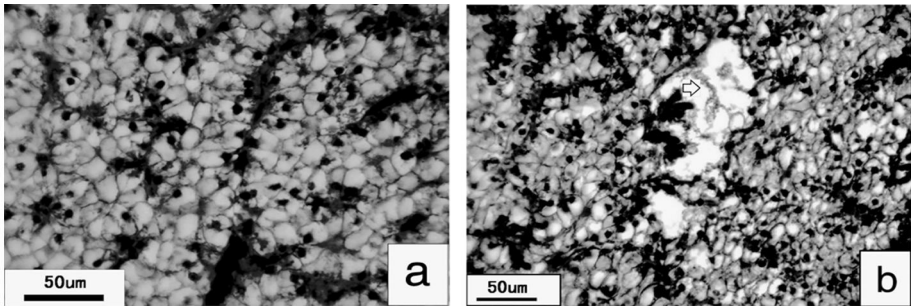


图 1 幼鱼肝组织切片, a 对照组正常的肝脏细胞; b 染毒组的肝组织溶解性坏死灶 (箭头)

Fig. 1 Histology of juvenile Perch liver. a Normal liver tissue of the control; b Lytic necrosis liver tissue exposed to Cu^{2+} (arrow)

表 1 不同铜离子浓度中国花鲈幼鱼的死亡率

Table 1 Mortality of juvenile perch exposed to different Cu^{2+} concentrations (%)

浓度 ($mg\ L^{-1}$)	死亡率			
	24 h	48 h	72 h	96 h
2.07	83.33 $\pm$ 4.72	93.33 $\pm$ 9.43	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00
1.66	16.67 $\pm$ 10.00	50.00 $\pm$ 4.71	70.00 $\pm$ 14.14	93.33 $\pm$ 0.00
1.31	0	33.33 $\pm$ 4.72	26.67 $\pm$ 0.00	83.33 $\pm$ 14.14
1.05	0	33.33 $\pm$ 4.72	23.33 $\pm$ 4.72	70.00 $\pm$ 4.71
0.82	0	0	16.67 $\pm$ 4.72	46.67 $\pm$ 9.43
0	0	0	0	0

注: n=2 平均值 $\pm$ 标准误差。

2.2 GSH、MDA含量及 SOD、CAT、GPT和 GOT活力测定

由图 2看出, 中国花鲈幼鱼在不同浓度的铜离子中暴露 48 h随着暴露浓度的提高, 幼鱼肝脏的

GSH含量先下降后略回升再下降, 各浓度组均极显著低于对照组 ($P<0.01$); MDA含量先上升后下降, 0.12 $mg\ L^{-1}$ 浓度组极显著高于对照组 ($P<0.01$), 0.24 $mg\ L^{-1}$ 浓度组显著高于对照组 ($P<0.05$); SOD活力先下降后上升再下降, 在 0.46 $mg\ L^{-1}$ 浓度组达到最高点, 与对照组差异显著 ($P<0.05$); CAT活力各浓度组与对照组差异不显著 ($P>0.05$); GPT活力先下降后恢复, 0.12和 0.24 $mg\ L^{-1}$ 浓度组极显著低于对照组 ($P<0.01$), 0.46和 0.97 $mg\ L^{-1}$ 浓度组 GPT活力恢复到与对照组相似的水平; GOT活力先下降后上升, 0.12和 0.24 $mg\ L^{-1}$ 浓度组极显著低于对照组 ($P<0.01$), 0.46和 0.97 $mg\ L^{-1}$ 浓度组极显著高于对照组 ($P<0.01$)。幼鱼肝脏 GSH和 MDA含量及 SOD、GPT和 GOT活力对铜离子胁迫反应敏感, 而 CAT

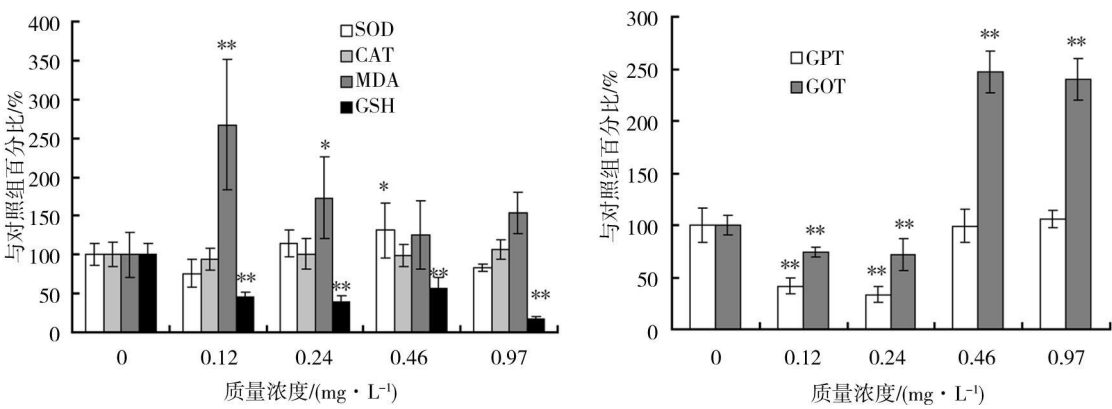


图 2 铜离子对中国花鲈肝脏 MDA 和 GSH 含量以及对 CAT、SOD、GOT 和 GPT 活力的影响

(注: *与对照组比较, $P < 0.05$; **与对照组比较, $P < 0.01$; $n=6$ 平均值 $\pm$ 标准误差)

Fig. 2 Effects of Cu²⁺ on contents of GSH and MDA and activities of CAT, SOD, GOT and GPT in juvenile Perch

活力则反应不敏感,铜离子的胁迫损害了中国花鲈幼鱼肝脏的抗氧化系统和肝脏组织。活力则反应不敏感,铜离子的胁迫损害了中国花鲈幼鱼肝脏的抗氧化系统和肝脏组织。

2.3 铜离子胁迫对总核异常率和微核率的影响

由表 2 看出,仅在 0.42 mg/L 浓度组中暴露 96 h 后,总核异率和微核率显著高于对照组 ($P < 0.05$),其余各组与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论 (Discussion)

抗氧化系统在消除污染物所产生的活性氧自由基方面起着重要作用,在受到活性氧自由基伤害时各种抗氧化酶的活力或活性物质的含量先下降,当损害到一定程度后该系统会产生诱导效应,此时各种抗氧化酶的活力或活性物质的含量升高,后随着污染物浓度的不断提高或暴露时间的延长,污染物所产生的活性氧自由基超过了抗氧化系统的清除能力则会对抗氧化系统产生毒害作用,各种抗氧化酶的活力或活性物质的含量也随之下降^[12-14]。本次实验中 GSH 含量随铜离子浓度的提高先下降后略回

升再下降,在 0.46 mg/L 浓度组,铜离子对幼鱼肝脏的 GSH 含量产生诱导效应,使得 GSH 含量略回升,后随铜离子浓度提高产生了毒害作用, GSH 含量下降。SOD 活力随铜离子浓度的提高先下降后上升再下降,在 0.12 mg/L 浓度组所产生的超氧阴离子不足以使 SOD 活力产生诱导效应, SOD 活力下降,在 0.24 和 0.46 mg/L 浓度组随着超氧阴离子不断增加产生了诱导效应, SOD 活力上升,超氧阴离子能被及时清除,在 0.97 mg/L 浓度组由于超氧阴离子超出机体的清除能力从而产生了毒害作用, SOD 活力因受抑制而降低。作为反应机体氧化损伤最具有代表性之一的 MDA 含量的变化趋势也与 SOD 活力的变化趋势相符,总体上,MDA 含量与 SOD 活力呈负相关,但在 0.46 mg/L 浓度组 MDA 含量的变化呈现出一定的滞后。实验中 CAT 活力没有发生明显变化,这说明中国花鲈幼鱼肝脏的 CAT 活力对铜离子的胁迫不敏感。

中国花鲈幼鱼肝脏的 GSH 含量和 SOD 活力对铜离子胁迫反应敏感,而 CAT 活力则反应不敏感,这与

表 2 不同铜离子浓度对中国花鲈总核异常率和微核率的影响

Table 2 Effects of Cu²⁺ on the total dyskaryosis and micronuclear rates of juvenile Perch (%)

	对照组		0.21 mg/L ⁻¹		0.28 mg/L ⁻¹		0.42 mg/L ⁻¹	
	总核异率	微核率	总核异率	微核率	总核异率	微核率	总核异率	微核率
24 h	2.70±0.50	0.09±0.02	3.77±1.29	0.28±0.26	3.33±1.55	0.06±0.13	3.06±0.64	0.08±0.17
48 h	2.70±0.50	0.09±0.02	4.14±2.25	0.23±0.35	4.12±1.44	0.52±0.45	3.09±1.29	0.51±0.44
72 h	2.70±0.50	0.09±0.02	4.04±2.75	0.27±0.44	3.33±0.31	0.68±0.69	3.60±1.56	0.33±0.33
96 h	2.70±0.50	0.09±0.02	3.97±2.06	0.40±0.96	3.79±0.55	0.34±0.21	7.18±2.38*	0.75±0.56*

注: *与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$), $n=6$ 平均值 $\pm$ 标准误差。

暴露胁迫下肝脏的 GSH 含量和 SOD 活力反应敏感而 CAT 活力反应不敏感相似^[8], 但与敌敌畏、丁硫克百威和氯氰菊酯等 3 种农药胁迫下 SOD 活力无显著变化不同^[7], 可见中国花鲈的抗氧化系统对不同污染物的胁迫响应存在一定的差异^[9], 在中国花鲈养殖生产中可以利用这些差异来初步区分污染物种类, 具有良好的应用前景。

GPT 和 GOT 是广泛存在于动物线粒体的重要氨基酸转氨酶, 金鱼 (*Carassius auratus*) 肝脏的 GPT 和 GOT 活力随着久效磷浓度的升高逐渐降低^[15], 鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 在 Cd^{2+} 1.6 mg L^{-1} 中暴露 1—14 d 肝脏的 GPT 和 GOT 活力显著升高^[16], 莫桑比克罗非鱼 (*Sarotherodon mossambicus*) 在胺甲萘 (3 和 25 mg L^{-1}) 中暴露 5—15 d 肝脏的 GPT 和 GOT 活力显著升高^[17], 锦鲤 (*Cyprinus carpio*) 在低浓度联苯胺胁迫下肝脏的 GPT 和 GOT 活力上升, 而在高浓度时 GPT 和 GOT 活力下降^[18]。本实验中随着铜离子浓度的提高, 中国花鲈幼鱼肝脏的 GPT 活力先下降后恢复, GOT 活力先下降后上升。可见不同研究者在不同污染物对鱼类肝脏的 GPT 和 GOT 活力影响研究中得出的结果存在很大的差异。我们认为鱼类肝脏 GPT 和 GOT 活力对污染物胁迫的整个响应过程为: 响应过程与抗氧化系统对污染物响应过程相似, 随着污染物浓度的升高或胁迫时间的延长其活力先下降后上升再下降。各研究者研究的结果可能是肝脏 GPT 和 GOT 活力对污染物响应的整个过程中的一部分, 因此得出的结论不同。在本次实验中, 低浓度 (0.12 和 0.24 mg L^{-1}) 铜离子虽对中国花鲈幼鱼肝脏的 GPT 和 GOT 活力产生伤害, 但不足以产生诱导效应, GPT 和 GOT 活力下降, 随着铜离子浓度的提高, 产生了诱导效应, 肝脏 GPT 和 GOT 活力上升, 但在本次实验浓度范围内没有观察到诱导效应后的毒害作用。

微核及核异常是真核类生物细胞的一种核异常结构, 微核测试法是在 20 世纪 70 年代建立起来的一种较为方便的方法。目前已广泛应用于检测各种理化因子的遗传毒性^[3, 19]。中国花鲈幼鱼在浓度 0.42 mg L^{-1} 的铜离子中持续暴露 96 h 其微核率和总核异常率与对照组产生显著差异, 这说明铜离子对中国花鲈幼鱼有一定的遗传毒性。微核实验检测到的损伤至少经历了一个有丝分裂周期, 是从染色体水平上进行的检测^[20], 铜离子是否会对中国花鲈幼鱼红细胞造成 DNA 的可修复损伤、碱基不稳定点

和双链断裂等有待于今后在分子水平上进行进一步研究。

硫酸铜对中华鲢、车轮虫、斜管虫和舌杯虫等具有毒杀作用, 水产养殖中常用浓度为 0.5 mg L^{-1} (折合成铜离子浓度为 0.13 mg L^{-1})^[21]。从 LC_{50} 测定的结果分析, 幼鱼在 0.82 mg L^{-1} 铜离子中浸泡 48 h 成活率为 100%。根据微核测定的结果, 在 0.21 mg L^{-1} 的铜离子中暴露 96 h 幼鱼红细胞的微核率和总核异常率与对照组比较没有统计学上的差异, 但 0.12 mg L^{-1} 的铜离子浸泡 48 h 对幼鱼肝脏的抗氧化系统及肝脏组织有一定损害, 因此硫酸铜消毒时间以 24 h 为宜, 消毒后可在饲料中添加抗氧化及保肝药物以促进鱼体的恢复。

总之, 铜离子的胁迫损害了中国花鲈幼鱼肝脏的抗氧化系统、肝脏组织和鳃部组织, 在 0.97 mg L^{-1} 浓度组中持续暴露 96 h 其微核率与总核异常率与对照组比较有显著差异。但铜离子胁迫解除后抗氧化系统、肝脏组织、鳃组织、微核率和总核异常率能否恢复到对照组水平有待于今后进一步研究。

通讯作者简介: 朱友芳 (1964—) 男, 硕士研究生, 副研究员, 从事水产养殖及病害防治研究。

参考文献:

- [1] 姚志峰, 章龙珍, 庄平, 等. 铜对中华鲢幼鱼的急性毒性及对肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2010 17(4): 731—738
Yao Z F, Zhang L Z, Zhuang P, et al. Effects of antioxidant enzyme in liver and acute toxicity of Cu^{2+} on juvenile Chinese surgeon[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010 17(4): 731—738 (in Chinese)
- [2] 王利, 汪开毓. 鲤鱼亚急性铜中毒的病理组织学观察[J]. 中国兽医科学, 2008 38(12): 1089—1092
Wang L, Wang K Y. Histopathological observation of *Cyprinus carpio* poisoned subacutely with copper[J]. Chinese Veterinary Science, 2008 38(12): 1089—1092 (in Chinese)
- [3] 王利, 汪开毓. 硫酸铜诱发鲤鱼红细胞微核和核异常的研究[J]. 湖北农业科学, 2008 47(11): 1336—1337
Wang L, Wang K Y. Effects of CuSO_4 on micronuclei and nuclear anomalies in *Cyprinus carpio*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2008 47(11): 1336—1337 (in Chinese)
- [4] 金彩杏, 丁跃平, 刘士忠, 等. 三唑磷农药对鲈鱼等鱼类的急性毒性试验[J]. 水产科技情报, 2002 29(4): 156—158
- [5] 郑伟刚, 张兆琪, 张美昭, 等. 盐度与碱度对花鲈幼鱼的毒性研究[J]. 中国生态农业学报, 2005 13

- (3): 116—118
- Zheng W G, Zhang Z Q, Zhang M Z et al. Toxicity of salinity and alkalinity to *Lateolabrax japonicus* fingerlings [J]. Chinese Journal of EcoAgriculture, 2005, 13(3): 116—118 (in Chinese)
- [6] 刘海燕, 张伟, 薛敏, 等. 三聚氰氨对花鲈的急性毒性实验研究 [J]. 水生生物学学报, 2009, 33(2): 157—163
- Liu H Y, Zhang W, Xue M et al. Acute toxicity study of melamine on Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(2): 157—163 (in Chinese)
- [7] 陈仪取, 冯涛, 郭祥群. 3种农药对花鲈抗氧化酶和乙酰胆碱酯酶影响的研究 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(6): 828—832
- Chen Y Q, Feng T, Guo X Q. Effects of three kinds of pesticides on antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activities of *Lateolabrax japonicus* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2004, 43(6): 828—832 (in Chinese)
- [8] Wu J F, Yu Z M, Song X X et al. Comparative research on effects of sodium dodecylbenzene sulfonate and sodium dodecyl sulfate upon *Lateolabrax japonicus* biomarker system [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005, 20(3): 465—470
- [9] Wu J F, Yu Z M, Song X X et al. Response of integrated biomarkers of fish (*Lateolabrax japonicus*) exposed to benz(a)pyrene and sodium dodecylbenzene sulfonate [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 65(2): 230—236
- [10] 高蓉, 张守刚, 肖杭. 脱氧鬼臼毒素对斑马鱼 (*Danio rerio*) 代谢酶和抗氧化酶的活性影响 [J]. 生态毒理学报, 2009, 4(5): 700—704
- Gao R, Zhang S H, Xiao H. Effects of deoxy podophyllotoxin on activities of metabolic enzymes and antioxidant enzymes of *Danio rerio* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(5): 700—704 (in Chinese)
- [11] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1989
- [12] 王重刚, 余群, 郁昂, 等. 苯并(a)芘和芘暴露对梭鱼肝脏超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. 海洋环境科学, 2002, 21(4): 10—13
- Wang C G, Yu Q, Yu A et al. Effect of benz(a)pyrene and pyrene exposure on hepatic superoxide dismutase in *Mugilsoiluy* [J]. Marine Environmental Science, 2002, 21(4): 10—13 (in Chinese)
- [13] 赵元凤, 吕景才, 宋晓阳, 等. 镉污染对鲢鱼超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的影响 [J]. 农业生物技术学报, 2002, 10(10): 267—271
- Zhao Y F, Lu J C, Song X Y et al. Effect of cadmium on activities of superoxide dismutase and catalase in *Aristichthys nobilis* [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2002, 10(10): 267—271 (in Chinese)
- [14] 简乐, 胡迪生. 二硫化碳接触者血清超氧化物歧化酶与丙二醛水平观察 [J]. 工业卫生与职业病, 1999, 25(3): 142—144
- Jian L, Hu D S. Serum cuprozinic superoxide dismutase and malonyldialdehyde levels in carbon disulfide exposed workers [J]. Industrial Health and Occupational Diseases, 1999, 25(3): 142—144 (in Chinese)
- [15] 李赞, 汝少国. 久效磷对金鱼肝脏和血浆谷丙、谷草转氨酶活性的影响 [J]. 安全与环境学报, 2008, 8(5): 9—13
- Li Y, Ru S G. Effects of monocrotophos on GPT and GOT activities in the goldfish (*Carassius auratus*) livers and serum [J]. Journal of Safety and Environment, 2008, 8(5): 9—13 (in Chinese)
- [16] De la Torre F R, Salbhan A, Fenari L. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus capio* exposed to water borne cadmium [J]. Environmental Pollution, 2000, 109(2): 277—282
- [17] Ramaswamy M, Thangavel P, Selvan N P. Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) enzyme activities in different tissues of *Sarotherodon mossambicus* (Peters) exposed to a carbamate pesticide carbaryl [J]. Pesticide Science, 1999, 55(12): 1217—1221
- [18] 刘红玲, 于红霞, 许铁莲, 等. 联苯胺类化合物对锦鲤肝脏转氨酶影响的初探 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1069—1074
- Liu H L, Yu H X, Xu T L et al. Effects of benzidine congeners on two aminopherases in goldfish liver [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24(6): 1069—1074 (in Chinese)
- [19] Schmid W. The micronucleus test [J]. Mutation Research, 1975, 31(1): 9—15
- [20] 龙静, 张迎梅, 朱丽娜, 等. 利用微核试验和彗星电泳试验评价黄河兰州段水质致遗传毒性作用 [J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(1): 59—63
- Long J, Zhang Y M, Zhu L N et al. Evaluating genotoxicity of water quality in Lanzhou section of the Yellow river using micronucleus test and comet assay [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2006, 12(1): 59—63 (in Chinese)
- [21] 谢炎福, 祖恩普. 硫酸铜引起鱼类中毒原因的分析及对策 [J]. 水利渔业, 2005, 25(6): 98—99