DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140715002

李磊 蒋玫 沈新强 等. Cr(VI) 对脊尾白虾(Exopalaemon carinicauda) 幼虾暴露和恢复期肝胰脏的 SOD 活性、MDA 及 MTs 含量的影响[J]. 生态毒理学报 2014,9(6): 1226-1231

Li L , Jiang M , Shen X Q , et al. Effects of Cr(VI) exposure and recovery on the SOD activities , contents of MDA and MTs in hepatopancreas tissue of juvenile Exopalaemon carinicauda [J]. Asian Journal of Ecotoxicology , 2014 , 9(6) : 1226–1231 (in Chinese)

Cr(VI) 对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*) 幼虾暴露和恢复期肝胰脏的 SOD 活性、MDA 及 MTs 含量的影响

李磊¹,蒋玫¹,沈新强^{1,*},王云龙¹,吴庆元²,牛俊翔²,许高鹏²

中国水产科学研究院东海水产研究所,上海 200090
 上海海洋大学海洋科学学院,上海 201306
 收稿日期: 2014-07-15
 录用日期: 2014-08-20

摘要:为了探索水体中 Cr(VI) 对脊尾白虾(Exopalaemon carinicauda) 的毒性效应 通过 Cr(VI) 的暴露(15 d) 和清水恢复实验(15 d) 研究了 Cr(VI) 对脊尾白虾肝胰脏的 SOD 活性、MDA 及 MTs 含量的影响。结果表明,通过15 d 的暴露 5 mg•L⁴(高浓 度)、0.5 mg•L⁴(低浓度) 实验组肝胰脏的 SOD 均显著高于对照组水平(p < 0.05),15 d 的清水恢复后,两个浓度实验组均能够恢复到对照组水平(p > 0.05)。MDA 在暴露阶段呈现持续上升的趋势,且在 15 d 后两个浓度实验组 MDA 的含量均显著高于对照组水平(p < 0.05),15 d 的清水恢复后 5 mg•L⁴ 实验组的 MDA 含量依然显著高于对照组水平(p < 0.05),0.5mg•L⁴ 实验组的 MDA 含量基本恢复到对照组水平(p > 0.05)。通过 15 d 的暴露,两个浓度实验组 MTs 的含量均显著高于对照组水平(p < 0.05),15 d 的清水恢复后,两个浓度实验组 MTs 的含量均能够恢复到对照组水平(p > 0.05)。

关键词:脊尾白虾; 六价铬; 肝胰脏; 毒理学指标

文章编号: 1673-5897(2014) 6-1226-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Cr(VI) Exposure and Recovery on the SOD Activities, Contents of MDA and MTs in Hepatopancreas Tissue of Juvenile *Exopalaemon carinicauda*

Li Lei 1 , Jiang Mei 1 , Shen Xinqiang $^{1\,,*}$, Wang Yunlong 1 , Wu Qingyuan 2 , Niu Junxiang 2 , Xu Gaopeng 2

1. East China Sea Fisheries Research Institute , Chinese Academy of Fishery Sciences , Shanghai 200090 , China

2. College of Marine Sciences , Shanghai Ocean University , Shanghai 201306 , China

Received 15 July 2014 accepted 20 August 2014

Abstract: In order to examine the effect of Cr(VI) exposure on of marine biota, the present study analyzedantioxidant enzyme (SOD) activities, contents of lipid peroxidation levels (LPO) and metallothioneins (MTs) of juvenile rigid-tail prawn Exopalaemon carinicauda in hepatopancreas tissue. The experimental juvenile prawnswerereared at low (0.5 mg•L⁴) and high Cr(VI) (5 mg•L⁴) concentrations in the first 15 d exposure experiment, respective– ly. Then, they were put in clean seawater for recovery in the next 15 d. The results show that SOD activities were

基金项目: 上海市科学技术委员会项目(12231203403); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2014A02XK01); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2014T06)

作者简介:李磊(1985-),男,安徽省亳州市人,助理研究员,主要从事海洋生态毒理学研究,E-mail: zheyilee@126.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author) , E-mail: xinqiang_shen@ hotmail. com

significantly higher at two exposure groups than at the control group (p < 0.05). By the end of 15 d recovery period , SOD activities in two exposure treatments were similar to that at the control (p > 0.05). The MDA concentration in hepatopancreas tissue at the low and high concentration treatments showed an increasingtrend during the exposure period , and the MDA concentration at two treatment groups were significantly higher than that at the control group (p < 0.05) at the end of 15 d exposure experiment. Through 15 d recovery , MDA concentrations at low concentration treatments showed obviously decreasing and had no differences with that at the control group(p > 0.05) . MDA concentrations at the high concentration treatments were still significantly higher than that at the control groups (p < 0.05). The MTs concentrations at two treatment groups were significantly higher than that at the control groups (p < 0.05) at the end of 15 d exposure experiment, but MTs concentrations could recover to the value at the control group (p < 0.05) at the end of 15 d exposure experiment , but MTs concentrations could recover to the value at the control group through 15 d recovery(p > 0.05).

Keywords: Exopalaemoncarinicauda; chromium; hepatopancreas; toxicology parameter

铬(chromium ,Cr) 在自然界中以多种氧化态形 式存在(-2 价至+6 价) 其中三价铬(Cr(III))和六 价铬(Cr(VI))是其存在的主要形式,两者在环境因 素的影响下可以相互转化^[1]。在水体环境中,由于 Cr(III) 化合物难溶于水而 Cr(VI) 易溶于水 因而自 然条件下水体中的可溶性铬主要为 Cr(VI)^[2]。Cr (III)和 Cr(VI)对生物体的意义也截然不同, Cr (Ⅲ) 是有益微量元素之一,对生物机体的生理调节 和生长发育都具有较大影响,而Cr(VI)为非降解型 有毒物质 其毒性是 Cr(III) 的 100 多倍 ,是国际公 认的重金属致癌物 同时 也美国环境保护局(EPA) 确认的 129 种重点污染物之一^[3]。Cr(VI) 不能被 微生物分解,其在鱼类^[4]、虾类^[5]、底栖多毛类^[6]、 贝类^[7]、浮游动物^[8]、附着生物^[9]、藻类^[10]等水生 生物体中均有富集,同时能够沿着食物链被生物吸 收、放大,最终可能在人体内累积并造成慢性中 毒[11,12]。生物体在受到重金属胁迫时,能够在分 子、细胞等水平上发生异常变化的信号指标 这种高 度敏感的生物反应称之为生物标志物(biomarker)^[13],超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)^[13]、脂质过氧化(LPO)^[14],金属硫蛋白(metallothioneins,MTs)^[15]在重金属胁迫过程中的变化 是指示重金属污染的典型指标,可以作为指示重金 属污染潜在生物毒性的"早期预警"工具。目前 Cr (VI) 对虾类的病理变化^[16] 以及急性毒性^[17]、相关 基因表达[18]方面有相关报道而 ,从生物标志物变动 角度研究 Cr(VI) 对虾类的毒性效应报道较少,脊尾 白虾(Exopalaemoncarinicauda) 是广泛分布于中国沿 岸海域的经济虾类,目前还未见Cr(VI)对其生物标 志物影响方面的报道。本研究通过脊尾白虾对 Cr (VI)的暴露与清水恢复实验,比较分析脊尾白虾肝 胰脏的 SOD 活性、MDA 和 MTs 含量的变化 探讨 Cr (VI) 对脊尾白虾肝胰脏的致毒机理及其生理响应, 为 Cr(VI) 污染的早期预警提供更多的基础资料。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

海水为自然海区海水(盐度为 22, pH 为 8. 20) 经沉淀、砂滤和充分曝气(24 h 以上)后备用, 所有水质指标均符合《渔业水质标准》^[19]的要求。 脊尾白虾为自然海域捕获 驯养 15 d 后挑选健康个 体进行实验,个体体长平均为(3.58 ±0.19) cm,体 重平均为(2.71 ±0.43) g。实验使用 150 L 的玻璃 容器。使用重铬酸钾(K_2 Cr $_2O_7$)(分析纯,国药化学试 剂集团)与蒸馏水配置成一定浓度的 Cr(VI) 母液。

1.2 暴露、清水恢复实验

实验分为暴露、清水恢复两个阶段,各进行15 d 在急性毒性实验的基础上,实验浓度梯度设为3 组,其中2组为实验组,1组为海水对照组,每组设3 个重复,浓度梯度分别为:5 mg•L⁴、0.5 mg•L⁴。每 个容器内放入70 尾脊尾白虾 24 h 保持充氧,溶氧 量 >5 mg•L⁴,实验期间水温为21~22℃。

暴露实验阶段海水加入量为 100 L ,每 24 h 进 行 100% 换水。脊尾白虾饵料为配合饲料(青岛六 合饲料有限公司),每天定时定量喂食(8:00 和 18: 00 投喂一次,投喂量为脊尾白虾平均体质量的 2%)。分别于第0、1、5、10、15 天采集6 尾脊尾白虾样 品 剥壳取肝胰脏 置于-80℃冰箱迅速冷冻 以备分析。

暴露阶段结束后将溶液全部排出 在受控流水条件 下(流速3.6 L/h)进行清水恢复实验。喂食条件与暴露 阶段相同。分别于第18、20、25、30 天采集6 尾脊尾白 虾样品 剥壳取肝胰脏 置于-80℃冰箱迅速冷冻 以备 分析。

1.3 样品制备与毒理学指标的测定

1.3.1 SOD 活性、MDA 含量的测定

将准确称量后的肝胰脏样品按照质量体积比加

入 pH = 7.7 预冷(0~4℃)的磷酸盐缓冲液中 (Na₂HPO₄•12H₂O 0.13 mol•L⁴,KH₂PO₄0.13mol• L⁴,Na₂EDTA 0.05 mol•L⁴),冰浴条件下匀浆 3 min; 然后匀浆液在 4℃、10 000 r•min⁴下冷冻离心 20 min,取上清液分别采用黄嘌呤氧化酶法^[20]测定 SOD 活性(U•(mg•prot)⁴),硫代巴比妥法^[21]测定 MDA 含量(nmol•(mg•prot)⁴)。

1.3.2 MTs 含量的测定

将肝胰脏样品按照 1:4 的质量(g) 体积(ml) 比 加入 pH 值为 8.3 的 Tris-HCl 缓冲液,冰浴匀浆,然 后将匀浆液在 0℃、10 000 r•min⁻¹下离心 30min,取 上清液采用镉-血红蛋白饱和法^[22]测定 MTs 含量。 利用原子吸收仪(SollarM6,Thermo Fisher Scientific, USA) 分析 Cd 离子浓度,根据每个 MTs 分子含有 6 个 Cd^{2+[23]}计算 MTs 的含量(湿重,mg•g⁻¹)。

1.4 数据的处理和分析

所有数据均以3个平行组数据的平均值 ± 标准 差(Means ± SD) 表示,并采用 t 检验法统计分析实 验组与对照组间的数据差异,p < 0.05 为显著差异。

2 结果与分析(Results)

2.1 Cr(VI) 对脊尾白虾肝胰脏 SOD 活性的影响

在暴露阶段 5 mg·L⁴实验组肝胰脏的 SOD 活性 整体呈现先上升后下降的趋势 在第 1 天时肝胰脏的 SOD 活性即均显著受到诱导(p < 0.05) 随后继续增 加并在第 10 天时达到峰值 ,此时 SOD 活性为对照组 的 3.09 倍 随后下降 ,但 15 天时肝胰脏的 SOD 活性 依然显著高于对照组水平(p < 0.05)。0.5 mg·L⁴实 验组 SOD 活性整体呈现持续上升的趋势 ,在第 1 天 时肝胰脏的 SOD 活性即均显著受到诱导(p < 0.05), 随后继续增加并在第 15 天时达到峰值 ,此时 SOD 活 性为对照组的 2.56 倍 ,且显著高于对照组水平(p < 0.05)。在清水恢复阶段 ,两个实验组肝胰脏的 SOD 活性均呈持续下降的趋势 5 mg·L⁴实验组肝胰脏的 SOD 活性在第 25 天时基本能够恢复到对照组水平(p > 0.05) $\rho.5mg·L^4$ 实验组肝胰脏的 SOD 活性在第 20 天即基本能够恢复到对照组水平(p > 0.05)。

2.2 Cr(VI) 对脊尾白虾肝胰脏 MDA 含量的影响

在暴露阶段 $5 \text{ mg} \cdot L^{4} 和 0.5 \text{ mg} \cdot L^{4} 浓度实验组$ 肝胰脏的 MDA 含量均呈现持续上升的趋势 第 1 天时 $<math>5 \text{ mg} \cdot L^{4}$ 实验组肝胰脏的 MDA 含量即均显著上升(p < 0.05) $0.5 \text{ mg} \cdot L^{4}$ 实验组则在第 5 天时显著高于对照 组水平(p < 0.05) $5 \text{ mg} \cdot L^{4}$ 实验组MDA含量高于





图 1 Cr(VI) 肝胰脏 SOD 活性的影响







 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{4}$ 实验组,且均在第 15 天时达到峰值,此时两个浓度实验组肝胰脏的 MDA 含量分别为对照组的 1.76 倍、1.30 倍。在清水恢复阶段,两个实验组 肝胰脏的 MDA 含量均呈持续下降的趋势,但 5 mg · L⁴实验组肝胰脏的 MDA 含量在第 30 天时依然显 著高于对照组水平(p < 0.05),0.5 mg · L⁴实验组 肝胰脏的 MDA 含量在第 25 天基本恢复到对照组水平(p > 0.05)。

2.3 Cr(VI) 对脊尾白虾肝胰脏 MTs 含量的影响

在暴露阶段 $5 \text{ mg} \cdot L^4$ 实验组肝胰脏的 MTs 含 量整体呈现先上升后下降的趋势,在第1天时 5 mg $\cdot L^4$ 实验组肝胰脏的 MTs 含量即显著增加(p < 0.05),随后继续增加并在第10天时达到峰值,此时 SOD 活性为对照组的 4.35 倍,随后下降,但15天时 肝胰脏的MTs含量依然显著高于对照组水平(p <



图 3 Cr(VI) 肝胰脏 MTs 含量的影响

Fig. 3 Effects of Cr(VI) on MTs content of hepatopancreas

0.05)。 $0.5 \text{mg} \cdot \text{L}^4$ 实验组的 MTs 含量整体呈现持续上升的趋势,在第1天时肝胰脏的 MTs 含量即均显著增加(p < 0.05) 随后继续增加并在第15天时达到峰值,此时 MTs 含量为对照组的 4.15 倍,且显著高于对照组水平(p < 0.05)。在清水恢复阶段 5 mg \cdot L⁴实验组肝胰脏的 MTs 含量呈现先增加后持续下降的趋势,且在第25天时基本恢复到对照组水平(p > 0.05) $0.5 \text{mg} \cdot \text{L}^4$ 实验组肝胰脏的 MTs 含量则 在第20天即基本恢复到对照组水平(p > 0.05)。

3 讨论(Discussion)

Cr(VI) 能以铬酸盐氧阴离子的形式经非专一 性的磷酸/硫酸阴离子通道快速地进入生物体组织 细胞^[2] 进入细胞后的 Cr(VI) 首先与含巯基(-SH) 基团的谷胱甘肽(glutataione ,GSH)发生氧化还原反 应产生超氧阴离子自由基 $(O_2^- \cdot)$, $O_2^- \cdot$ 再经过 SOD 作用后生成过氧化氢(H₂O₂) 随后通过芬顿式反应 (a Fenton-like redox cycling mechanism) 促进 H₂O₂转 化为高活性羟自由基(·OH),当这些不稳定的活性 氧自由基(reactive oxygen species ,ROS) 过量时,会 引发脂质过氧化作用 这种依赖自由基反应并由脂 质过氧化作用(LPO)介导的细胞功能紊乱也是包括 Cr(VI) 在内的重金属产生毒性作用的最主要的因 素^[24]。在防御机体氧化损伤中抗氧化酶 SOD 起到 了重要作用,其能够歧化 O₂·形成 H₂O₂,可以指示 暴露于 Cr(VI) 污染诱导的氧化应激响应^[25]。但 是 SOD 活性的升高并不能代表机体一定会受到氧 化损伤 丙二醛(MDA)则是反映机体脂质过氧化损

伤最具代表性的指标,与 SOD 等抗氧化酶的活性变 化可以相互验证^[14]。在本研究暴露阶段的第1天, 两个浓度实验组的 SOD 活性即开始显著增加(p < 0.05) 表明随着 Cr(VI) 在肝胰脏中的富集 ROS 的 大量产生刺激 SOD 活性发生代偿性升高以清除 ROS。高浓度实验组($5 \text{ mg} \cdot L^{-1}$)的 SOD 活性在第 15 天时开始下降,说明此时 Cr(VI) 刺激机体产生 的 ROS 水平超过了 SOD 清除自由基的能力, ROS 的大量蓄积对肝胰脏造成了一定的损伤,抑制了 SOD 的活性,而低浓度实验组 $(0.5 \text{mg} \cdot L^4)$ 的 SOD 活性则在第1天后仍然持续上升,表明在低浓度实 验条件下,15 天内 ROS 的产生并未超过 SOD 的清 除极限 但也未能再次建立 ROS 产生与清除的平衡 关系。与 SOD 活性变化相对应的,在本研究的暴露 阶段 两个浓度实验组 MDA 的含量均呈现持续增 加的趋势 但高浓度实验组的前5 d 低浓度实验组 的前 10 d 由于 SOD 活性的增加增强了对 ROS 的 清除能力 从而间接降低了 MDA 含量 MDA 含量与 对照组之间并无显著性差异(p>0.05),此后随着 Cr(VI) 暴露时间的延长,两个浓度实验组的 MDA 含量分别在第5天、10天显著高于对照组水平(p< 0.05) 此时虽然 SOD 活性仍然处于升高趋势,但 ROS 的产生已经造成了一定的氧化损伤 脂质过氧 化水平也不断升高。同时,低浓度实验组 MDA 含 量的不断增加也说明了 $0.5 \text{mg} \cdot \text{L}^4$ 实验组 SOD 的增 加并非是是由于在低浓度无毒情况刺激下的"毒物 兴奋效应"^[26] 而是确实是产生了一定程度的氧化 应激损伤。在清水恢复阶段,两个浓度实验组 SOD 活性、MDA 含量均呈现持续下降的趋势,且在清水 恢复阶段结束后,仅有高浓度实验组 MDA 含量依 然显著高于对照组水平(p<0.05),其余浓度实验 组 SOD 活性、MDA 含量均能恢复到对照组水平(p >0.05) 这是因为随着 Cr(VI) 从脊尾白虾肝胰脏 中的排出,0,,,,,的蓄积量下降,酶活性增强,肝胰脏 受到的氧化损伤压力降低,但高浓度条件下导致的 脂质过氧化在15 d内较难恢复。

金属硫蛋白是一类普遍存在于生物体内的低分 子量(6~7 kDa)、富含半胱氨酸的可诱导型非酶蛋 白 ,MTs 上 Cys 残基含有易与金属结合的巯基 ,因此 MTs 能被重金属诱导并结合大量重金属 ,而且这种 诱导与重金属浓度具有相关性 ,可以预测生物体受 重金属富集的状况和重金属的污染压力^[15 27]。作 为生物对重金属毒性快速应答和有效的反馈机制的

一部分 MTs 的合成是十分迅速的 在本研究暴露阶 段的第1天,两个浓度实验组的 MTs 含量即开始显 著增加(p<0.05),此时肝胰脏通过增加合成 MTs, 并与 Cr(VI) 结合减少肝胰腺细胞与 Cr(VI) 的非特 异性结合 最终通过溶酶体从细胞质中排出实现对 重金属离子的解毒^[28],以避免 Cr(VI) 对生物体的 潜在毒性。同时 由于 MTs 能够通过自身羟基还原 态/氧化态的转换来清除 ROS,在一定程度上可以 取代 SOD 来保护机体免受氧化损伤^[29] 因此 ,暴露 阶段第1 d MTs 含量的增加是受 Cr(VI) 的富集及 ROS 的同时诱导。在10 d 后 高浓度实验组 MTs 含 量开始下降 其原因可能是过量的 Cr(VI) 富集超过 了 MTs 的结合能力 ,使肝胰腺的细胞器解体 ,特别 是粗面内质网的片断化 ,造成机体合成 MTs 的速度 及含量下降^[30],同时,由于钙离子导体能在多种细 胞中在转录水平诱导 MTs mRNA 的表达,而过量的 Cr(VI) 富集能够阻断钙离子通道,造成肝胰腺富集 的 Cr(VI) 不能被 MTs 螯合 而是与其他的大分子物 质结合 从而对肝胰腺产生毒性作用并最终导致了 MTs 含量的下降 因此 MTs 含量的下降与细胞钙离 子通道的调节也有关系^[1]。低浓度实验组 MTs 含 量则持续增加,表明在低浓度条件下,Cr(VI)在肝 胰脏中的富集量没有未超过 MTs 的结合能力。在 清水恢复阶段,两个浓度实验组的 MTs 含量均整体 呈现持续下降的趋势,且在清水恢复的15 d 后,两 个实验浓度组的 MTs 含量均基本能恢复到对照组 水平(p>0.05) 表明在 15 d 内两个浓度条件下 Cr (VI) 基本可以被释放完全或者通过被 MTs 结合降 低毒性。

通讯作者简介:沈新强(1951—),男,研究员,主要从事渔业 环境保护研究。

参考文献:

- [1] Jeyasingh J, Philip L. Bioremediation of chromium contaminated soil: Optimization of operating parameters under laboratory conditions [J]. Journal of Hazardous Materials, 2005, 118(1): 113 – 120
- [2] Costa M. Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2003, 188(1): 1-5
- [3] Park D , Yun Y S , Park J M. Use of dead fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium: screening and kinetics [J]. Process Biochemistry , 2005 , 40(7): 2559 - 2565
- [4] Bhattacharya A K , Mandal S N , Das S K. Bioaccumu-

lation of chromium and cadmium in commercially edible fishes of Gangetic West Bengal [J]. Trends in Applied Science Research , 2006 , 1: 511 – -517

- [5] Bollinger J E , Bundy K , Anderson M B , et al. Bioaccumulation of chromium in red swamp crayfish (Procambarusclarkii) [J]. Journal of Hazardous Materials , 1997 , 54(1): 1 – 13
- [6] Oshida P S, Word L S. Bioaccumulation of chromium and its effects on reproduction in Neanthesarenaceodentata (polychaeta) [J]. Marine Environmental Research , 1982, 7(3): 167-174
- [7] Walsh A R , O'Halloran J. Accumulation of chromium by a population of mussels (Mytilus edulis (L.)) exposed to leather tannery effluent [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1998, 17(7): 1429 – 1438
- [8] Ahsanullah M, Williams A R. Sublethal effects and bioaccumulation of cadmium, chromium, copper and zinc in the marine amphipod Allorchestes compressa [J]. Marine Biology, 1991, 108(1): 59-65
- [9] Newman M C , Alberts J J , Greenhut V A. Geochemical factors complicating the use of aufwuchs to monitor bioac– cumulation of arsenic , cadmium , chromium , copper and zinc [J]. Water Research , 1985 , 19(9) : 1157 – 1165
- [10] Rai U N, Tripathi R D, Sinha S, et al. Chromium and cadmium bioaccumulation and toxicity in Hydrilla verticillata (1. f.) Royle and Chara corallina wildenow
 [J]. Journal of Environmental Science and Health. Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology, 1995, 30(3): 537 551
- [11] Nussey G , Van Vuren J H J , Preez H H D. Bioaccumulation of chromium , manganese , nickel and lead in the tissues of the moggel , Labeo umbratus (Cyprinidae) , from Witbank Dam , Mpumalanga [J]. Water Research Commission , 2000 , 26(2) : 269 – 284
- [12] Avenant-Oldewage A, Marx H M. Bioaccumulation of chromium, copper and iron in the organs and tissues of Clarias gariepinus in the Olifants River, Kruger National Park [J]. Water South Africa, 2000, 26(4): 569 – 580
- [13] Regoli F, Principato G. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, Mytilus galloprovincialis, exposed to metals under field and laboratory conditions: Implications for the use of biochemical biomarkers [J]. Aquatic Toxicology, 1995, 31 (2): 143 – 164
- [14] Farombi E O , Adelowo O A , Ajimoko Y R. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (Clarias gariepinus) from Nigeria Ogun River [J]. Internation

Journal of Environmental Research and Public Health , 2007, 4(2): 158 - 165

- [15] Thirumoorthy N , Manisenthil K K , Shyam S A , et al. Metallothionein: An overview [J]. World Journal Gastroenterology , 2007 , 13(7): 993 - 996
- [16] Rayburn J R , Aladdin R K. Developmental toxicity of copper , chromium , and aluminum using the shrimp embryo teratogenesis assay: Palaemonid with artificial seawater [J]. Bulletin Environmental Contamination and Toxicology , 2003 , 71(3): 481 - 488
- [17] 张彩明 陈应华. Cr⁶⁺、Mn⁷⁺和 Zn²⁺ 对脊尾白虾幼虾 的单一毒性和联合毒性[J]. 海洋环境科学, 2013, 32(2): 235-238
 - Zhang C M , Chen Y H. Acute toxicity and joint toxicity of Cr⁶⁺ Mn⁷⁺ and Zn²⁺ on Palaemon carincauda juvenile
 [J]. Marine Environmental Science , 2013 , 32 (2): 235 238 (in Chinese)
- [18] Zhang J Q , Wang J , Xiang J H. A cadmium metallothionein gene of ridgetail white prawn Exopalaemoncarinicauda (Holthuis ,1950) and its expression [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology , 2013 , 31 (6): 1204 – 1209
- [19] 国家环境保护局. 渔业水质标准[S]. 北京: 中国标 准出版社,1989

State Environmental Protection Administration. Sea Water Quality Standard [S]. Beijing: Standards Press of China, 1989 (in Chinese)

- [20] 李康,周忠良,陈立侨,等.苯并[a]芘对鲫鱼生物 标志物的影响研究[J].环境科学研究,2006,19 (1):91-95
 - Li K , Zhou Z L , Chen L Q. Assessment of various biomarkers in Carassius auratus exposed to benzo [a]pyrene [J]. Research of Environmental Sciences , 2006 , 19 (1): 91-95 (in Chinese)
- [21] 任加云,潘鲁青,苗晶晶,等.苯并(a) 花和苯并
 (k) 荧葱混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响[J].
 环境科学学报,2006,26(7):1180-1186
 - Ren J Y , Pan L Q , Miao J J. Effects of benzo(a) pyrene and benzo(k) fluoranthene mixture on the toxicology parameter of scallop Chlamysfarreri [J]. Acta Scientiae

Circumstantiae, 26(7): 1180 – 1186 (in Chinese)

- [22] Onosaka S, Cherian M G. Comparison of metallothionein determination by polarographic and cadmium-saturation methods [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1982, 63(2): 270 – 274
- [23] Narula S S , Brouwer M , Hua Y , et al. Three-dimensional solution structure of Callinectes sapidus metallothionein-1 determined by homonuclear and heteronuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Biochemistry , 1995 , 34(2): 620 - 631
- [24] Ding M , Shi X. Molecular mechanisms of Cr (VI) -induced carcinogenesis [J]. Molecular and Cellular Biochemistry , 2002 , 234-235(1-2): 293 – 300
- [25] Pandey V , Dixit V , Shyam R. Antioxidative responses in relation to growth of mustard (Brassica juncea cv. Pusa Jaikisan) plants exposed to hexavalent chromium
 [J]. Chemosphere , 2005 , 61(1): 40 - 47
- [26] Stebbing A R. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors [J]. Science of The Total Environment, 1982, 22(3): 213-234
- [27] Ridlington J W, Fowler B A. Isolation and partial characterization of a cadmium-binding protein from the American oyster (Crassostrea virginica) [J]. Chemico-Biological Interactions, 1979, 25(2-3): 127 - 138
- [28] Isani G , Andreani G , Kindt M , et al. Metallothioneins (MTs) in marine molluscs [J]. Cellular and Molecular Biology , 2000 , 46(2): 311 – 330
- [29] Coyle P , Philcox J C , Carey L C , et al. Metallothionein: the multipurpose protein [J]. Cellular and Molecular Life Sciences , 2002 , 59(4): 627 - 647
- [30] Usha R A , Ramamurthi R. Histopathological alterations in the liver of freshwater teleost Tilapia mossambica in response to cadmium toxicity [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety , 1989 , 17(2): 221 – 226
- [31] 张红霞. 重金属离子对日本蟳毒理学效应的研究 [D]. 中国海洋大学,2006
 - Zhang H X. Effects of heavy metal ions on toxicity of Charybdis japonica [D]. Ocean University of China , 2006 (in Chinese)