

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20181028002

李香, 魏海峰, 刘长发, 等. 2种烷基多环芳烃对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(1): 83-89

Li X, Wei H F, Liu C F, et al. Effects of 2 kinds of alkyl-PAHs on the expression of *CYP450* and *p53* genes of *Apostichopus japonicus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(1): 83-89 (in Chinese)

## 2种烷基多环芳烃对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响研究

李香<sup>2,3</sup>, 魏海峰<sup>1,2,3,\*</sup>, 刘长发<sup>2,3</sup>, 宋雪<sup>2,3</sup>, 赵肖依<sup>2,3</sup>, 赵雨朦<sup>2,3</sup>, 夏宁<sup>2,3</sup>, 霍玉洁<sup>2,3</sup>

1. 大连海洋大学, 农业农村部北方海水增养殖重点实验室, 大连 116023
2. 大连海洋大学, 海洋科技与环境学院, 大连 116023
3. 大连海洋大学, 近岸海洋环境科学与技术辽宁省高校重点实验室, 大连 116023

收稿日期: 2018-10-28 录用日期: 2019-01-15

**摘要:** 海洋环境中多环芳烃类(PAHs)主要来源于海洋溢油事故以及沿海石油化工企业的废水排放, 国内外大量研究发现海洋中的多环芳烃对海洋生物造成了潜在的生态风险。为了揭示不同浓度多环芳烃类污染物对海参的生态毒理效应, 将仿刺参(*Apostichopus japonicus*)分别暴露于不同浓度的2种烷基多环芳烃3-甲基菲(5、10、100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和2-甲基蒽(5、10、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )中, 检测暴露3 d、7 d和14 d后, 3-甲基菲和2-甲基蒽胁迫下仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的相对表达量。结果表明, 3-甲基菲和2-甲基蒽胁迫下, 仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的表达均对毒物产生了不同程度的响应。与对照组相比, 3-甲基菲各处理组对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的表达均产生显著的抑制作用( $P<0.05$ ); 2-甲基蒽各处理组对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的表达影响作用不同, 暴露7 d后, 2-甲基蒽各处理组对仿刺参 *CYP450* 基因的表达表现出抑制作用, 对 *p53* 基因的表达表现出诱导作用。相同浓度与时间胁迫下, 2-甲基蒽对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响比3-甲基菲的影响大。上述研究结果表明, 3-甲基菲和2-甲基蒽均可不同程度影响仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的表达, 且与3-甲基菲相比, 2-甲基蒽对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响较明显。上述结果为多环芳烃类污染物对仿刺参的生物毒性评价提供了基础数据。

**关键词:** 3-甲基菲; 2-甲基蒽; 仿刺参; *CYP450*; *p53*; 基因表达

文章编号: 1673-5897(2019)1-083-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Effects of 2 Kinds of alkyl-PAHs on the Expression of *CYP450* and *p53* Genes of *Apostichopus japonicus*

Li Xiang<sup>2,3</sup>, Wei Haifeng<sup>1,2,3,\*</sup>, Liu Changfa<sup>2,3</sup>, Song Xue<sup>2,3</sup>, Zhao Xiaoyi<sup>2,3</sup>, Zhao Yumeng<sup>2,3</sup>, Xia Ning<sup>2,3</sup>, Huo Yujie<sup>2,3</sup>

1. Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China
2. School of Marine Sciences and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China
3. Key Laboratory of Nearshore Marine Environmental Research of Liaoning Higher Education, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

**基金项目:** 辽宁省教育厅服务地方项目(No:DL201804); 国家海洋局溢油国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金(No:201309, 201809); 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室基金(No:201013); 大连海洋大学农业农村部北方海水增养殖重点实验室基金(No:2018-KF-21)

**作者简介:** 李香(2000-), 女, 河南省三门峡市人, 本科, 研究方向为海洋环境, E-mail: 1332503139@qq.com

\* **通讯作者** (Corresponding author), E-mail: weihai Feng@dlou.edu.cn

Received 28 October 2018      accepted 15 January 2019

**Abstract:** Marine organisms are facing a risk of exposure to a wide variety of toxic chemicals, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from oil spill incidents and discharge of petrochemical wastewater. Besides, this kind of environmental pollutants pose a threat to the sea farming. As such, *Apostichopus japonicus* was exposed to 3-methylphenanthrene (5, 10 and 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and 2-methylanthracene (5, 10 and 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) to study the toxic effects of alkyl-PAHs on the marine animals. Relative expression levels of *CYP450* and *p53* genes of *Apostichopus japonicus* under the stress of 3-methylphenanthrene and 2-methylanthracene were measured after 3 d, 7 d and 14 d. Results showed that 3-methylphenanthrene had significant inhibitory effect ( $P<0.05$ ) on the expression of both *CYP450* and *p53* genes, while 2-methylanthracene had a different effect on the expression of *CYP450* and *p53* genes. From 7<sup>th</sup> day onwards, *CYP450* gene expression was inhibited by 2-methylanthracene, but *p53* gene expression was induced. Meanwhile, *Apostichopus japonicus* were more sensitive to 2-methylanthracene than 3-methylphenanthrene within the same concentration range and exposure duration. These results indicated that 3-methylphenanthrene and 2-methylanthracene could affect the expression of *CYP450* and *p53* genes of *Apostichopus japonicus*, and compared with 3-methylphenanthrene, 2-methylanthracene has significant effect on the expression of *CYP450* and *p53* genes. These results provide the basic data for the biotoxicity evaluation of PAHs pollutants on *Apostichopus japonicus*.

**Keywords:** 3-methylphenanthrene; 2-methylanthracene; *Apostichopus japonicus*; *CYP450*; *p53*; gene expression

近年来由于突发海洋溢油事故和沿海石油化工业的发展,大量石油烃类污染物通过各种途径进入海洋中,成为潜在的危害我国海洋生态环境安全的重要因素之一。石油毒性主要来源于其中的多环芳烃(PAHs)组分,多环芳烃类约占石油组分的1%~6%,其中80%~90%为烷基化多环芳烃<sup>[1]</sup>。前国内外大量研究多关注16种优先控制的多环芳烃,而对多环芳烃的衍生物关注极少,这可能导致由多环芳烃衍生物造成的生态风险被低估<sup>[2]</sup>。菲和蒽是最具代表性的三环多环芳烃,在石油中含量较高,关于其毒性的研究报道较多<sup>[3-4]</sup>。3-甲基菲和2-甲基蒽是菲和蒽的烷基化衍生物,国内外关于这2种衍生物毒性的报道较少,有必要对其毒性效应进行研究。

细胞色素 *P450*(Cytochrome *P450*, *CYP450*)和 *p53* 基因都是常用的分子生物标志物,它们均在外源物质的代谢和解毒方面起重要作用<sup>[5-6]</sup>。*CYP450* 是生物体内含有多种超家族 *CYP450* 血红蛋白或相同结构域的酶系,对许多外源及内源化合物在生物体内的生物转化具有重要的作用<sup>[7]</sup>。环境中的有机污染物进入生物体内后,可诱导或抑制细胞色素 *P450* 酶系 *CYP* 活力显著增加或降低,利用生物代谢过程中 *CYP* 含量或活力与污染物毒性之间的响应关系,可将 *CYP450* 作为毒物毒性的生物标记物,进行环境污染的早期诊断。但由于大多数 *P450* 酶

的含量很低且不稳定,直接分离纯化 *P450* 酶非常困难,因此在克隆 *P450* 基因的基础上,研究多环芳烃类污染物对 *CYP450* 基因表达的影响<sup>[8-9]</sup>。抑癌基因 *p53* 在细胞凋亡中起着重要作用,DNA 损伤以及不正常的细胞增殖信号都会引起 *P53* 蛋白的激活<sup>[10]</sup>,由于其功能的多样性及与肿瘤发生的高度相关性,研究环境有毒化合物对 *p53* 基因的损伤对阐明化合物遗传毒作用、分子机制以及风险评价具有重要的科学意义<sup>[6]</sup>。

仿刺参(*Apostichopus japonicus*)是黄、渤海重要底栖生物类群,主要摄食底泥中细菌、底栖硅藻和有机质碎屑<sup>[11]</sup>。作为我国重要海水养殖品种之一,其生物学数据基本完备、并且取材方便,是海洋环境污染生物毒性评价的理想受试生物<sup>[12]</sup>。林芳等<sup>[13]</sup>和靳非等<sup>[2]</sup>分别进行了多环芳烃类污染物对翡翠贻贝(*Perna viridis*)胚胎和河鲀(*Takifugu rubripes*)幼鱼的毒理学研究。相比贝类、鱼类而言,国内外对于多环芳烃类污染物对海参的毒理学效应研究较少。因此,本文选择仿刺参(*A. japonicus*)为受试生物,设置3种不同浓度的3-甲基菲和2-甲基蒽处理健康仿刺参,检测其体内 *CYP450* 和 *p53* 基因的相对表达量,分析仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的表达与3-甲基菲和2-甲基蒽的剂量-效应关系和时间-毒性效应关系,为开展2种多环芳烃类污染物对海洋生物毒性评

价筛选敏感标志物。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 仪器与试剂

仪器: Nano Photometer 微量核酸蛋白分析仪(德国 Implen), CT15RE 型台式微量高速离心机(日本 Hitachi), Mx3005p™ 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Stratagene), ZHWY-200D 恒温摇床(上海世平实验设备有限公司)。

试剂: 2-甲基蒽和 3-甲基菲购自 Sigma 公司 (Sigma-Aldrich Corporation, USA), 纯度分别大于 97% 和 98%; 丙酮(分析纯, 上海国药集团化学试剂有限公司), Trizol RNA 提取试剂盒(Invitrogen 公司, 上海), PrimeScript™ RT reagent Kit(TaKaRa), SYBR PrimeScript™ RT-PCR Kit II(TaKaRa)。

### 1.2 实验材料

实验用海水取自大连黑石礁海域的砂滤海水, 仿刺参(*A. japonicus*)的幼参购自大连太平洋海珍品有限公司, 体长(水中)为(2±0.3) cm, 经清洁海水驯养 2 周后, 选取健康幼参用于后续实验。

### 1.3 多环芳烃毒性实验

用 1 L 玻璃烧杯洗净后装入海水, 加入一定浓度 3-甲基菲和 2-甲基蒽储备液, 设置 3-甲基菲浓度分别为 5 μg·L<sup>-1</sup>、10 μg·L<sup>-1</sup> 和 100 μg·L<sup>-1</sup>, 2-甲基蒽浓度分别为 5 μg·L<sup>-1</sup>、10 μg·L<sup>-1</sup> 和 50 μg·L<sup>-1</sup>, 同时设置海水对照组和丙酮对照组, 各处理组设置 3 个平行, 每个烧杯中放入 10 只幼参。试验条件: 水温 (15±2) °C, 盐度(30±1), pH (8.0±0.5), 间断性充氧, 确保溶解氧大于 4.5 mg·L<sup>-1</sup>, 避光。

### 1.4 样品采集及 RNA 提取

3-甲基菲和 2-甲基蒽处理 3 d、7 d、14 d 后, 取各处理组幼参一只放于冰上, 用移液枪抽取海参体液, 装入 tube 管中迅速投入准备好的液氮中, -80 °C

保存。Trizol 法提取上述样品的总 RNA, DNase I 进行 DNA 消化处理, 微量核酸蛋白分析仪检测总 RNA 的浓度和纯度, Agilent 2100 生物分析仪检测 RNA 完整性。

### 1.5 基因表达水平测定

分别取上述样品总 RNA 用 Prime-Script™ RT reagent Kit(TaKaRa) 进行反转录。使用 Mx3005p™ 实时荧光定量 PCR 仪, 采用 SYBR Prime-Script™ RT-PCR Kit II 进行实时定量 PCR。以 *β-Actin* 作内参, 相关基因扩增引物名称及其序列见表 1。

反应条件: 95 °C, 30 s; 95 °C, 10 s; 55 °C, 25 s; 72 °C, 25 s, 40 个循环。利用 delta-delta Ct 法, 通过仿刺参的内标基因 AB510191.1 (*Actin*) 的校正, 对仿刺参样品中 *CYP450* 和 *p53* 基因表达量进行分析。

### 1.6 数据统计与处理

试验数据用平均值±标准误差 (mean±S.D.) 表示, 使用 SPSS 22.0 统计软件对所得数据进行统计学分析, 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan 新复极差法对数据进行差异性分析。设置  $P<0.05$  时, 表示差异显著。

## 2 结果 (Results)

### 2.1 3-甲基菲、2-甲基蒽对仿刺参 *CYP450* 基因表达的影响

3-甲基菲和 2-甲基蒽对仿刺参 *CYP450* 基因表达的影响如图 1 所示。结果表明, 与对照组相比, 3-甲基菲 ( $c \geq 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和 2-甲基蒽 ( $c \geq 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 在一定浓度胁迫下, 对仿刺参 *CYP450* 基因的表达均表现出显著的抑制作用 ( $P<0.05$ )。2-甲基蒽在浓度 5 μg·L<sup>-1</sup> 胁迫 14 d 后, 对 *CYP450* 基因的表达有显著的诱导作用 ( $P<0.05$ )。随着时间增加, 海水对照组 *CYP450* 基因的相对表达量无明显变化, 丙酮对照组 *CYP450* 基因的相对表达量不断增大, 说明丙酮

表 1 相关基因扩增引物名称及其序列

Table 1 Name and sequence of the target gene amplified with primers

基因 Genes		引物序列(5' → 3') Primer sequences (5' → 3')	产物大小/bp Product size/bp
<i>Actin</i>	F	GTCACAAACTGGGATGATATGGAG	119
	R	TTGGCTTTAGGGTTGAGTGGGA	
<i>CYP450</i>	F	GCCTGCCTTTGTGTCTCTCAC	80
	R	CAGCCACCTCTGACCTACTCT	
<i>p53</i>	F	CAGATTGTGGATTTGGACAAGAAG	122
	R	CACACCCACTCCTTTTGATTTG	

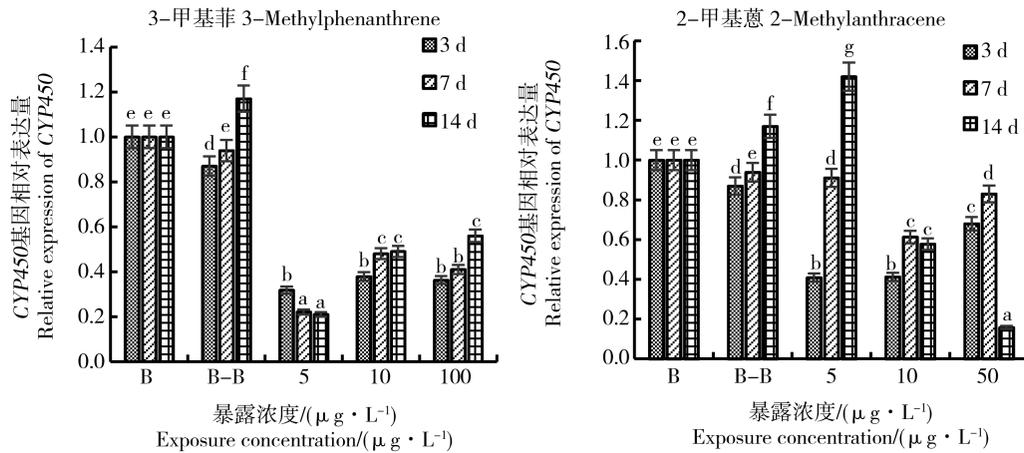


图1 3-甲基菲、2-甲基蒽对仿刺参 *CYP450* 基因表达的影响

注:标有不同小写字母者表示显著性差异( $P < 0.05$ ),标有相同小写字母者表示无显著性差异( $P > 0.05$ ),

图表横坐标中 B 表示空白对照组, B-B 表示溶剂对照组,下同。

Fig. 1 The effects of 3-methylphenanthrene, 2-methylanthracene on the *CYP450* gene expression of *Apostichopus japonicus*

Note: The different letters mean significant differences at the 0.05 probability level, and the same letters mean no significant differences; B represents the seawater control group and B-B represents the acetone control group.

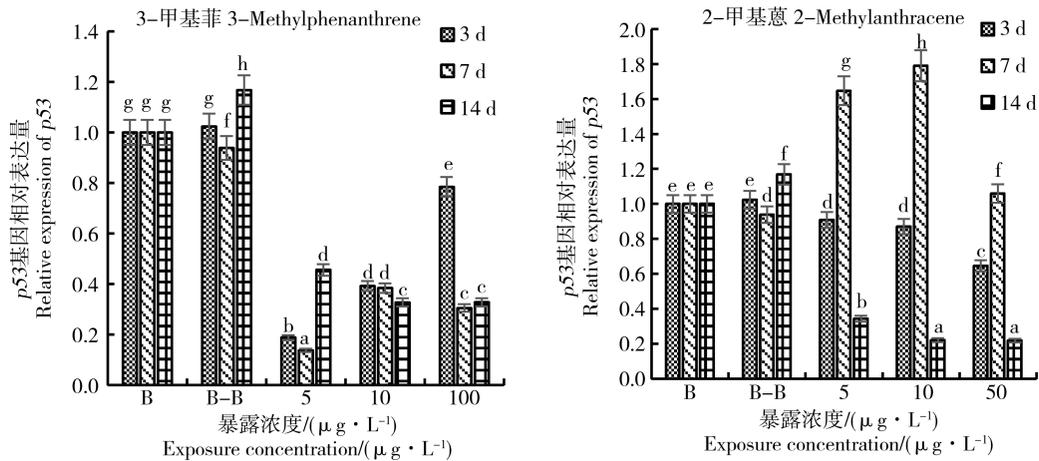


图2 3-甲基菲、2-甲基蒽对仿刺参 *p53* 基因表达的影响

Fig. 2 The effects of 3-methylphenanthrene, 2-methylanthracene on the *p53* gene expression of *Apostichopus japonicus*

促进了仿刺参 *CYP450* 基因的表达。与对照组相比,3-甲基菲暴露 14 d 后, *CYP450* 基因的整体相对表达量小于对照组,差异显著( $P < 0.05$ ),随着浓度的升高, *CYP450* 基因的相对表达量逐渐增大,  $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组与  $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  处理组相比,差异不显著( $P > 0.05$ )。用 2-甲基蒽暴露 14 d 后,随着浓度的升高 *CYP450* 基因的表达量受到明显的抑制,且存在一定的剂量-效应关系( $P < 0.05$ )。连续暴露 14 d 后,仿刺参 *CYP450* 基因相对表达量在 3-甲基菲浓度为  $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  胁迫下达到最小值 0.21,在 2-甲基蒽浓度为  $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  胁迫下达到最小值 0.16。

## 2.2 3-甲基菲、2-甲基蒽对仿刺参 *p53* 基因表达的影响

3-甲基菲和 2-甲基蒽仿刺参 *p53* 基因表达的影响如图 2 所示。3-甲基菲和 2-甲基蒽胁迫初期(3 d)对仿刺参 *p53* 基因的相对表达量表现出规律不一致的变化,与对照组相比,3-甲基菲各处理组对仿刺参 *p53* 基因的表达均表现出显著的抑制作用( $P < 0.05$ ),且随着胁迫浓度的升高,抑制作用逐渐减小,存在明显的剂量-效应关系,2-甲基蒽各处理组对仿刺参 *p53* 基因的表达也均表现出显著的抑制作用( $P < 0.05$ ),但随着胁迫浓度的升高,抑制作用逐渐增大。

3-甲基菲胁迫中期(7 d),随着胁迫浓度的升高,仿刺参 *p53* 基因的相对表达量表现出先升高后降低的规律,2-甲基蒽胁迫中期(7 d),各处理组对仿刺参 *p53* 基因的表达均表现出诱导作用,且随着胁迫浓度的升高,仿刺参 *p53* 基因的相对表达量表现出与 3-甲基菲胁迫相似的规律,也呈先升高后降低的趋势。3-甲基菲和 2-甲基蒽胁迫后期(14 d),与对照组相比,各处理组均对仿刺参 *p53* 基因的表达表现出显著的抑制作用( $P < 0.05$ ),且均在胁迫浓度为  $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时仿刺参 *p53* 基因的相对表达量达到最小值。

### 3 讨论 (Discussion)

*CYP450* 和 *p53* 基因的表达在 3-甲基菲和 2-甲基蒽污染物胁迫下整体上均表现出抑制作用,说明在外源污染物进入仿刺参体内时,*CYP450* 和 *p53* 基因的表达均能对毒物产生响应以维持仿刺参正常的生理活动,但二者的具体响应程度及对 2 种污染物的耐受阈值存在差异,这可能与 *CYP450* 基因和 *p53* 基因在生物体内的主要功能及作用机制不同有关。不同的外源化学物质进入生物体内后可引起氧化应激、基因毒性应激和蛋白质毒性应激等反应,从而激活生物细胞内解毒代谢系统,以维持生物体内环境的相对稳定<sup>[14]</sup>。而检测参与这些反应的各种解毒代谢酶类的响应变化可部分反映外源污染物对生物的影响。环境污染物进入生物体内后,通常会在 P450 酶系的参与下,进行氧化、还原、水解等代谢过程,使得污染物极性增加,导致污染物的毒性减弱<sup>[15]</sup>。海洋无脊椎动物在有机污染物的 I 相代谢过程中产生大量副产物——活性氧,过量的活性氧会导致生物体的氧化损伤<sup>[16-19]</sup>。*CYP450* 酶系作为生物体内的第一代谢阶段酶,它通常将分子氧拆分成原子氧,并将其加入到底物中促使底物羟基化或环氧化,为第二阶段的谷胱甘肽转移酶(GST)对外源物的转化提供基础<sup>[20]</sup>。在本实验中,仿刺参 *CYP450* 基因的表达在 3-甲基菲胁迫时受到抑制,在 2-甲基蒽胁迫 3 d 和 7 d 后均受到抑制,而胁迫 14 d 后表现出显著的诱导作用( $P < 0.05$ )。因此,仿刺参 *CYP450* 基因的表达在不同多环芳烃胁迫下表现出不一致的变化规律。这与菲和 3-甲基菲等对河鲀 (*Takifugu rubripes*) 幼鱼肝组织损伤的影响及多环芳烃类物质对 *CYP450 1A1* 的诱导表达表现出相似的规律<sup>[221]</sup>。因此,推测短时间内(7 d)2-甲基蒽诱导仿刺参 *CYP450* 基因的表达,调动相关酶来抵抗毒性物质的毒性作用,降低或减轻细胞的应激反应,但其

调节能力有限,*CYP450* 基因的表达不可能无限提高,当随着染毒时间的延长(14 d),仿刺参受到的毒性作用超出其耐受性,其 *CYP450* 的合成体系受到损伤,使得 *CYP450* 基因的相对表达量下降,表现出中毒效应。而 *CYP450* 基因对 3-甲基菲的耐受能力较强,在染毒期间持续表现为诱导作用。因此,多环芳烃类污染物 3-甲基菲对仿刺参 *CYP450* 基因表达的影响小于 2-甲基蒽。

*p53* 基因是化学诱变物的主要攻击位点,*p53* 基因突变后,失去了对细胞生长、凋亡和 DNA 修复的调控作用。*p53* 不仅本身参与机体 DNA 损伤的修复过程,它还作为多种细胞应激于细胞应答的中间环节,与其上下游的各种调控因子及其相关基因共同构成了调控细胞应激和细胞应答的复杂网络<sup>[22]</sup>。在本实验中,仿刺参 *p53* 基因的表达在 3-甲基菲胁迫时受到了抑制,在 2-甲基蒽胁迫 7 d 时表现出显著的诱导作用( $P < 0.05$ ),而后(14 d)表现出显著的抑制作用。正常组织中 *p53* 的表达水平很低,当生物受到外界胁迫时,*p53* 的表达水平明显增加<sup>[23]</sup>。有研究报道,纳米二氧化硅包被氧化锰能诱导 Hela 细胞和 L929 细胞中 *p53* 基因表达量升高<sup>[24]</sup>。因此推测,3-甲基菲在低浓度( $c \leq 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )短时间( $t \leq 14$  d)胁迫时没有对仿刺参造成较强的毒害作用,而 2-甲基蒽胁迫长时间(7 d)时对仿刺参产生严重的毒害作用,且仿刺参 *p53* 基因对 2-甲基蒽胁迫时间有一定的耐受阈值,当胁迫时间大于此阈值后,可能导致细胞损伤或死亡,致使 *p53* 基因相对表达量减少。

比较 2 种多环芳烃类污染物对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因的相对表达量发现,在相同浓度和时间胁迫下,2 种物质对仿刺参 *CYP450* 和 *p53* 基因表达的影响作用总体趋势为 3-甲基菲 < 2-甲基蒽,这可能意味着由于二者结构和性质的差异导致其作用机制不同。除浓度和时间外,化合物的结构可能对其毒性有重要影响,需进一步进行相关研究。

**致谢:**感谢大连海洋大学徐光景博士在文章修改中给予的帮助。

**通讯作者简介:**魏海峰(1978-),男,河北省保定市人,硕士,副教授,主要研究方向为生态修复。

### 参考文献 (References):

- [1] Mu J L, Wang J Y, Jin F, et al. Comparative embryotoxicity of phenanthrene and alkyl-phenanthrene to marine

- medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 85(2): 505-515
- [2] 靳非, 穆景利, 王冬婉, 等. 菲、3-甲基菲和菲醌对河鲀 (*Takifugu rubripes*) 幼鱼肝组织损伤的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 248-253  
Jin F, Mu J L, Wang D W, et al. The comparative research of phenanthrene, 3-methyl phenanthrene and phenanthraquinone on the liver tissue injury of pufferfish (*Takifugu rubripes*) larvae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(1): 248-253 (in Chinese)
- [3] 关晓燕, 王摆, 董颖, 等. 二甲苯、蒽、苯并[ $\alpha$ ]芘对虾夷扇贝幼贝血清 SOD、CAT 活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 289-294  
Guan X Y, Wang B, Dong Y, et al. Effects of xylene, anthracene, and benzo[ $\alpha$ ]pyrene on enzymatic activities of SOD and CAT in the Japanese scallop (*Mizuhopecten yessoensis*) serums [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(1): 289-294 (in Chinese)
- [4] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩. 多环芳烃菲污染土壤的蚯蚓细胞色素 P450 生物标记诊断[J]. 毒理学杂志, 2005(S1): 311-312  
Zhang W, Song Y F, Sun T H. Diagnosis of sputum cytochrome P450 biomarkers in polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene contaminated soil [J]. Journal of Toxicology, 2005(S1): 311-312 (in Chinese)
- [5] 张倩倩, 乔敏. 五氯酚对土壤跳虫代谢转化酶基因和蜕皮相关基因表达的影响[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(5): 72-78  
Zhang Q Q, Qiao M. Effects of pentachlorophenol on expression of metabolic enzyme genes and molt-related genes of soil Collembolan [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(5): 72-78 (in Chinese)
- [6] 顾颖, 李延, 陈蔚丰, 等. 斑马鱼 p53 基因结构比对分析及其在生态毒理学中的应用[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(1): 45-51  
Gu Y, Li Y, Chen W F, et al. Structure alignments of zebrafish p53 gene and its application in ecotoxicology [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2006, 1(1): 45-51 (in Chinese)
- [7] 李春杰, 赵建, 张世勇, 等. 细胞色素 P450 CYP3A65 斑马鱼模型建立及对环境污染物的生物响应[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(6): 870-877  
Li C J, Zhao J, Zhang S Y, et al. Generation of cytochrome P-450 CYP3A65 labeled fluorescence transgenic zebrafish and its biological response to environmental pollutants [J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2014, 28(6): 870-877 (in Chinese)
- [8] 赵春, 蒋美琳, 周新初, 等. 蚯蚓细胞色素 P450 基因的克隆及序列分析[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2015, 33(4): 33-37  
Zhao C, Jiang M L, Zhou X C, et al. Clone and sequence analysis of cytochrome P450 Gene in earthworm [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science, 2015, 33(4): 33-37 (in Chinese)
- [9] Rasmussen K, Klausen L, Ekstrand B. Regulation of cytochrome P450 mRNA expression in primary porcine hepatocytes by selected secondary plant metabolites from chicory (*Cichorium intybus* L) [J]. Food Chemistry, 2014, 146: 255-263
- [10] 刘超, 吴富村, 林思恒, 等. 高温刺激导致虾夷扇贝死亡因素的探究[J]. 海洋科学, 2016, 40(11): 91-98  
Liu C, Wu F C, Lin S H, et al. Pilot study on reasons for yesso scallop's (*Patinopecten yessoensis*) survival after heat shock [J]. Marine Sciences, 2016, 40(11): 91-98 (in Chinese)
- [11] 刘晓威, 姜森颢, 周一兵, 等. 大连地区仿刺参养殖池塘底栖硅藻生产状况的周年变化研究[J]. 水产科学, 2012, 31(11): 679-682  
Liu X W, Jiang S H, Zhou Y B, et al. Annual changes in production of benthic diatoms in sea cucumber *Apostichopus japonicus* culture ponds in Dalian [J]. Fisheries Science, 2012, 31(11): 679-682 (in Chinese)
- [12] 高士博, 王摆, 董颖, 等. 苯系物对仿刺参 catalase 基因表达及酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(2): 297-305  
Gao S B, Wang B, Dong Y, et al. The effects of BTEXs on the catalase gene expression and catalase activities in respiratory tree and intestine of sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(2): 297-305 (in Chinese)
- [13] 林芳, 毛楷林, 江秀, 等. BaP 和 DDT 暴露对翡翠贻贝胚胎重要酶活性影响的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 129-137  
Lin F, Mao K L, Jiang X, et al. Comparative studies of the critical enzymes activity of *Perna viridis* embryo exposed to BaP and DDT [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 129-137 (in Chinese)
- [14] Jennings P, Limonciel A, Felice L, et al. An overview of transcriptional regulation in response to toxicological insult [J]. Archives of Toxicology, 2012, 87(1): 49-72
- [15] 欧瑞康, 武小燕, 库培佳, 等. 食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) cat、gapdh 和 gst 基因的克隆及其在生态毒理学中的应用[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(3): 83-92  
Ou R K, Wu X Y, Ku P J, et al. Cloning of cat, gapdh and gst genes of *Gambusia affinis* and its application in ecotoxicology [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10

- (3): 83-92 (in Chinese)
- [16] Livingstone D R. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture [J]. *Revue de Médecine Veterinaire*, 2003, 154(6): 427-430
- [17] Richardson B J, Mak E, De Luca-Abbott S B, et al. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): Do mussels “integrate” biomarker responses? [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 57(6): 503-514
- [18] Gravato C, Almeida J R, Silva C, et al. Using a multibiomarker approach and behavioural responses to assess the effects of anthracene in *Palaemon serratus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 149(8): 94-102
- [19] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 55(1): 728-749
- [20] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1,2,4-三氯苯对蚯蚓的急性毒性效应[J]. *农村生态环境*, 2003(1): 36-39  
Song Y F, Zhou Q X, Xu H X, et al. Effect of acute toxicity of phenanthrene, pyrene and 1,2,4-trichlorobenzene on earthworms in soils [J]. *Rural Eco-Environment*, 2003(1): 36-39 (in Chinese)
- [21] 谢丹君, 徐晶莹, 诸葛淳淳, 等. 多环芳烃类物质对细胞色素 P450 1A1 的诱导表达[J]. *同济大学学报: 医学版*, 2013, 34(2): 1-5  
Xie D J, Xu J Y, Zhuge C C, et al. Induction of cytochrome P450 1A1 expression in A549 cells by polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Journal of Tongji University: Medical Science*, 2013, 34(2): 1-5 (in Chinese)
- [22] Eggen R I L, Behra R, Burkhardt-holm P, et al. Challenges in ecotoxicology [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(3): 58A-64A
- [23] 刘林, 赵群芬, 朱帅旗, 等. 纳米氧化锌对斑马鱼肠组织的氧化损伤[J]. *水产学报*, 2015, 39(11): 1702-1711  
Liu L, Zhao Q F, Zhu S Q, et al. Oxidative damage of zinc oxide nanoparticles to zebrafish intestine[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(11): 1702-1711 (in Chinese)
- [24] Yu C, Zhou Z, Wang J, et al. In depth analysis of apoptosis induced by silica coated manganese oxide nanoparticles *in vitro* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 283: 519-528 ◆