

黄秀枝, 蔡琰安, 尚战峰, 等. 甲氨基阿维菌素胁迫下福寿螺肝脏抗氧化酶活性及显微结构的变化[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 552-557.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.03.014

甲氨基阿维菌素胁迫下福寿螺肝脏抗氧化酶活性及显微结构的变化

黄秀枝, 蔡琰安, 尚战峰, 贤振华

(广西大学农学院, 广西 南宁 530005)

摘要: 为明确甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏的损伤机制, 测定了不同浓度甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏抗氧化酶活性的影响, 并比较了正常福寿螺和用药福寿螺肝脏的组织结构。甲氨基阿维菌素胁迫下, 福寿螺肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、酚氧化酶(PO)、过氧化氢酶(CAT)活性均出现了波动, 呈先升高后降低的趋势, 暴露 48 h 时, 除低浓度组福寿螺肝脏 SOD 活性与对照组无显著差异外, 各浓度组福寿螺肝脏 SOD、CAT、PO 酶活性均显著低于空白对照组, 说明短时间甲氨基阿维菌素胁迫作用下, 福寿螺体内抗氧化酶的保护作用被激活, 但随着胁迫时间延长, 抗氧化酶活性下降。甲氨基阿维菌素作用后, 福寿螺肝脏结缔组织血管中出现少量淤血, 随着暴露时间延长和浓度增加, 结缔组织内出现弥漫性淤血甚至坏死现象, 细胞变性、畸形、坏死甚至溶解。推测甲氨基阿维菌素通过破坏福寿螺肝脏抗氧化酶功能产生氧化损伤, 发挥毒性作用, 从而损害其结构和功能。

关键词: 甲氨基阿维菌素; 福寿螺; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 酚氧化酶; 显微结构

中图分类号: S482.3⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)03-0552-06

Changes in antioxidant enzyme activities and microstructure of liver of *Pomacea canaliculata* exposed to methylamino abamectin

HUANG Xiu-zhi, CAI Ai-an, SHANG Zhan-feng, XIAN Zhen-hua

(College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: To explain the injury mechanism of methylamino abamectin exposure to the liver of *Pomacea canaliculata*, the acute toxicities of different concentrations of methylamino abamectin for *P. canaliculata* were measured, the changes of antioxidant enzyme activities were detected, and the microstructures of liver of treated and untreated *P. canaliculata* were compared. The treated *P. canaliculata* went up first in the activities of SOD, CAT, and PO in liver and then down, indicating that enzyme activities were induced by methylamino abamectin initially and were inhibited over time. A small amount of blood stasis was observed in the liver tissue of *P. canaliculata* in a short period of exposure time. However, high-concentration

and long-time stress of methylamino abamectin induced diffuse coagulation even acute necrosis of liver connective tissue, and cell degeneration, malformation, necrosis and cytolysis. The results suggested that oxidative damage might be a causal factor for methylamino abamectin toxicity to *P. canaliculata*.

Key words: methylamino abamectin; *Pomacea canaliculata*; liver; SOD; CAT; PO; microstructure

收稿日期: 2014-12-12

基金项目: NSFC-广东省联合基金(U1131006)

作者简介: 黄秀枝(1989-), 女, 壮族, 广西贵港人, 硕士生, 从事农业害虫综合治理研究。(Tel) 15578980652; (E-mail) 904792044@qq.com

通讯作者: 贤振华, (Tel) 0771-3235603; (E-mail) xianzh@ gxu. edu. cn

自1981年福寿螺引入中国以来,其作为外来入侵物种,在新的环境和气候条件下,福寿螺失去了原有天敌的制约,加上盲目引进和管理不善,福寿螺大量生长繁殖,逐步扩散到稻田,成为一种新的为害水稻的有害生物^[1-2]。随着螺源的逐年积累,福寿螺已成为为害中国水稻的恶性水生动物,严重威胁水稻生产^[3],被称为“为害最大的外来物种之一^[4]”、“世界性恶性入侵水生动物^[5]”和“为害水稻的恶性水生动物^[6]”。

甲氨基阿维菌素(Methylamino abamectin)是一种新型的高效生物杀虫杀螨剂,具有低毒、无残留、无公害的特点,被广泛应用于农业生产中。其对菜青虫、棉铃虫、甜菜夜蛾、小菜蛾等鳞翅目害虫具有较高的杀虫活性^[7-8],对福寿螺的防治效果优于茶皂素和杀螺胺^[9]。

超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是生物体内的重要保护酶,可以清除细胞内多余的自由基,防止其毒害^[10]。杨光研究发现,5.6 $\mu\text{g/L}$ 以上的阿维菌素长时间胁迫对鲤鱼产生较强的氧化压力,使得机体抗氧化防御系统的正常功能受损,造成细胞或组织的不可逆损伤^[11]。食用蟹在亚致死量的阿维菌素(10%)中暴露24 h,其鳃与肝胰腺的SOD活性上升^[12]。杨家长等认为低浓度阿维菌素对鲤鱼SOD活性的影响较大^[13]。李世凯发现伊维菌素对斑马鱼肌肉SOD活性表现为低浓度的抑制,高浓度先诱导后抑制^[14]。

甲氨基阿维菌素尚未在软体动物中登记使用,其对福寿螺的毒性机理尚未清楚。本试验拟以福寿螺中螺为研究对象,研究甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏SOD、PO和CAT酶活性的影响,及其对福寿螺肝脏显微结构产生的病理变化,以期更系统地了解甲氨基阿维菌素在福寿螺体内的毒理。

1 材料与方法

1.1 试验螺源

试验螺为人工繁殖的第一代健康福寿螺中螺,体质量为(3.5 \pm 0.4) g,试验期间不投食。饲养水池保持水体流通,水质清新。

1.2 试验方法

1.2.1 甲氨基阿维菌素急性毒力测定 取68.3%甲氨基阿维菌素原药配制成母液,加水稀释成5个梯度浓度,分别为0.80 mg/L、0.40 mg/L、0.20

mg/L、0.10 mg/L、0.05 mg/L,设清水为对照处理,每个处理重复3次。用桶(8.75 cm \times 8.75 cm \times 16.50 cm)盛适当药液,保证福寿螺能浸泡于药液中。每桶投螺15只,加盖纱网,防止福寿螺逃逸。在(25 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温室浸泡福寿螺,每6 h观察福寿螺的行为和死亡情况,并清除死螺,48 h后统计死螺数,计算死亡率和校正死亡率。试验数据用DPS软件进行处理,计算福寿螺在48 h的急性毒力回归方程及 LC_{25} 、 LC_{50} 及 LC_{75} 的浓度值。

1.2.2 福寿螺肝脏抗氧化酶活力测定 设置 LC_{25} 、 LC_{50} 、 LC_{75} 3个质量浓度和空白对照,每个浓度设3个重复,试验开始后分别于6 h、12 h、24 h、48 h取样,每组随机选择12只活螺,用自来水冲洗表面的药液,于冰盘上快速取出福寿螺的肝脏,吸干表面水分。快速称取1 g肝脏置于研钵中,用剪刀剪碎,加入液氮后快速研磨,加入缓冲液稀释。

1.2.2.1 SOD及PO酶源及活力测定 按质量体积1:5的比例,即1 g组织中加入5 ml预冷的0.2 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液(pH 6.8)冰浴、匀浆,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置30 min,冷冻离心(4 $^{\circ}\text{C}$, 10 000 r/min)30 min,取上清液作为酶源,上清液中的蛋白含量用考马斯亮蓝法^[15]测定。邻苯三酚自氧化速率测定参考许申鸿和顾含真的方法^[16-17]并作如下改进:依次加入0.1 mol/L Tris-HCl 4.5 ml缓冲液、4.2 ml二次蒸馏水,样品管加入2.50 mmol/L 0.3 ml邻苯三酚,于325 nm波长下测定吸光值。SOD酶活力单位定义为在25 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 8.2时1 min抑制邻苯三酚自氧化速率达50%的酶量^[18]。PO酶活力测定参照Benjamin的方法^[19]稍加改进:在2.0 ml的测定体系[1.0 ml 0.10 mol/L, pH 6.8的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液和1.0 ml 8.00 mmol/L邻苯二酚]中加入200 μl 酶源上清液,28 $^{\circ}\text{C}$ 检测430 nm处的吸光值。酶活力单位定义为以1 min催化底物氧化增加吸光值0.001的酶量^[20]。

1.2.2.2 CAT酶源及活力测定 取0.6 g肝脏于匀浆器中,加入6.0 ml已预冷的Tris-HCl缓冲液(0.01 mol/L Tris, 0.25 mol/L蔗糖, 0.10 mmol/L EDTA, pH 7.5),在冰浴下10 000 r/min匀浆,冷冻离心10 min^[21]。在恒温25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,将CAT酶提取液加入 H_2O_2 -磷酸盐缓冲液中,采用1 cm比色

皿在 250 nm 波长处每隔 10 s 测其吸光值。CAT 酶活性单位定义为 25 ℃、100 s 内分解 H_2O_2 一半时的酶量^[22]。

1.2.3 福寿螺肝脏显微结构观察 分别取清水 (CK)、 LC_{25} 、 LC_{50} 及 LC_{75} 浓度处理 6 h、12 h、24 h 及 48 h 受药严重且濒临死亡的福寿螺肝脏, 将其用盐水洗净, 经固定、脱水、包埋、切片、苏木精-伊红染色法 (HE) 染色后在光学显微镜下观察拍照。

1.3 数据统计

试验数据用平均值±标准误表示, 组间数据用 Duncan's 新复极差法进行显著性比较。

表 1 甲氨基阿维菌素对福寿螺的急性毒力试验

Table 1 Acute toxicities of methylamino abamectin to *Pomacea canaliculata*

毒力回归方程	相关系数	LC_{25} 值 (95% 置信区间)	LC_{50} 值 (95% 置信区间)	LC_{75} 值 (95% 置信区间)
$Y=2.0318x+6.4663$	0.9884*	0.088 (0.055~0.119)	0.189 (0.148~0.228)	0.408 (0.340~0.517)

Y 表示死亡机率值, x 表示浓度对数。* 表示相关性达显著水平 ($P<0.05$)。

2.2 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏 SOD 活性的影响

从时间-效应关系上, 甲氨基阿维菌素为 LC_{25} 浓度时, 福寿螺肝脏的 SOD 酶活性在 6 h 开始升高, 在 24 h 时出现峰值, 此时较对照组高 14.24%, 差异极显著, 但之后活性开始下降, 到 48 h 时降至与对照水平几乎一致; 甲氨基阿维菌素在 LC_{50} 浓度时, 福寿螺肝脏 SOD 酶活在给药 6~24 h 呈现显著的激活作用, 酶活力在 24 h 时达高峰, 约为对照组的 1.4 倍, 之后回落至低于对照组水平, 整个过程呈现出了上升-下降的过程; 甲氨基阿维菌素在 LC_{75} 浓度时, 福寿螺肝脏内 SOD 酶活性则表现出先升后降的过程, 6~12 h 内, SOD 酶活性均显著高于对照, 6 h 时达最大值, 较对照组高 28.33%, 之后酶活逐步下降, 至 48 h 时降至最低, 较对照组降低了 24.38% (图 1)。从浓度-效应关系分析, 在处理 6~12 h 时间段, 随着浓度的增大, SOD 活力呈现出增加的趋势, 24 h 时 SOD 活性则表现出 $LC_{50}>LC_{25}>CK>LC_{75}$, 此时浓度若达到 LC_{75} 时, 福寿螺肝脏的 SOD 活性已经受到抑制; 48 h 时, SOD 活性为 $LC_{25}>CK>LC_{50}>LC_{75}$ 。在甲氨基阿维菌素高浓度和长时间处理下, 福寿螺肝脏体内 SOD 酶活力受到较强抑制 (图 1)。

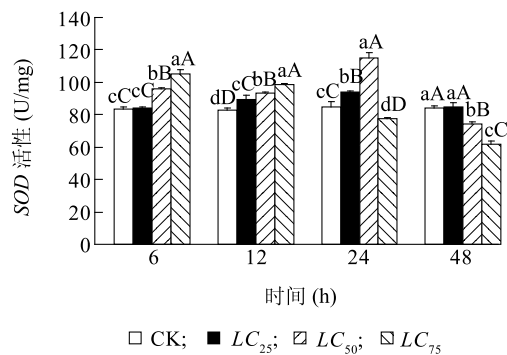
2.3 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏 PO 活性的影响

福寿螺肝脏 PO 活性在处理 6 h 内呈现上升趋势, 但随着暴露时间的延长, 各处理组 PO 的活性开始下降 (图 2)。甲氨基阿维菌素浓度为 LC_{25} 时, 福

2 结果与分析

2.1 急性毒力测定

试验期间空白对照组 (CK) 的福寿螺正常, 均无死亡。低浓度甲氨基阿维菌素给药处理后, 福寿螺出现行动稍迟钝, 爬行能力减弱等中毒症状; 随着给药浓度提高, 福寿螺呼吸管、触角及外套膜均出现中毒症状。在给药 6 h 内无死亡发生; 给药 48 h 后, 各处理出现了不同程度的死亡。给药 48 h, 甲氨基阿维菌素浓度与福寿螺死亡率呈线性相关关系 (表 1)。



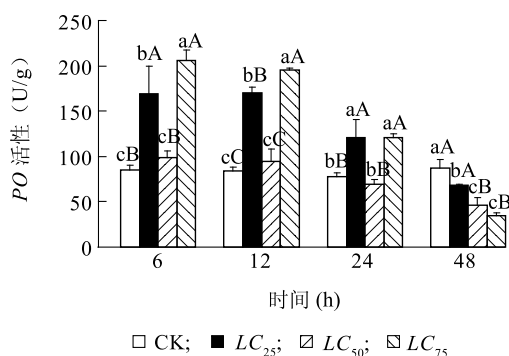
不同小、大写字母表示同一时间内处理间差异达显著 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$) 水平。

图 1 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of methylamino abamectin on the activity of SOD in the liver of *P. canaliculata*

寿螺肝脏 PO 酶活力在 6 h 急剧上升, 6~12 h 缓慢下降, 之后急剧下降, 至 48 h 时降至低于对照组水平; LC_{50} 浓度组, 6 h 时福寿螺肝脏 PO 酶活力上升趋势较 LC_{25} 浓度组小, 之后 PO 酶活力开始下降, 至 48 h 酶活极显著低于对照; LC_{75} 浓度组 PO 酶活力的变化与 LC_{25} 浓度组相似, 均在 6 h 时最高, 为对照组的 2.4 倍 ($P<0.01$), 但在 12~48 h 内急剧下降, 48 h 时 PO 酶活力极显著低于对照组水平 (图 2)。从浓度-效应关系分析, 在 12 h 内, 福寿螺肝脏 PO 活力表现出 $LC_{75}>LC_{25}>LC_{50}>CK$, 但在 48 h 时, 呈现 $CK>LC_{25}>LC_{50}>LC_{75}$ (图 2)。说明在长时间高浓度

甲氨基阿维菌素胁迫下,福寿螺抵抗甲氨基阿维菌素的能力减弱,表现出了明显的时间和剂量效应。



不同小、大写字母表示同一时间内处理间差异达显著和极显著水平。

图2 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏 PO 活性的影响

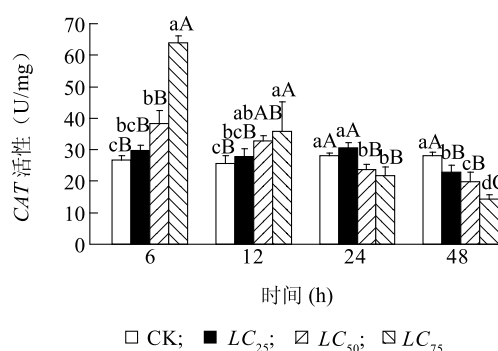
Fig. 2 Effect of methylnamino abamectin on the activity of PO in the liver of *P. canaliculata*

2.4 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏 CAT 活性的影响

如图3所示,在甲氨基阿维菌素作用下福寿螺肝脏内 CAT 活性总体表现为上升-下降的趋势。甲氨基阿维菌素浓度为 LC_{25} 时,福寿螺肝脏 CAT 酶活力在给药 6 h 时缓慢增大,24 h 之后开始下降,至 48 h 时极显著低于对照组;甲氨基阿维菌素浓度为 LC_{50} 时,福寿螺肝脏 CAT 酶活力在给药 6 h 时显著升高,随后逐渐下降,至 48 h 时, CAT 酶活力较对照组少 30.06% ($P < 0.01$);甲氨基阿维菌素在 LC_{75} 浓度时,福寿螺肝脏 CAT 酶活性也表现出了先上升后下降的趋势, CAT 活性在 6 h 处出现高峰,为对照组的 2.3 倍,随后急剧下降,至 48 h 时极显著低于对照水平。从浓度-效应关系来看,6 ~ 12 h 时随着甲氨基阿维菌素浓度的增加,福寿螺体内肝脏 CAT 酶活力呈上升的趋势,而后则表现出随着浓度的增加而下降。说明短时间内(6 ~ 12 h)处理,甲氨基阿维菌素浓度越高,其对福寿螺肝脏内的 CAT 活力具有越强的激活作用,随着作用时间延长,福寿螺肝脏 CAT 酶活力受到抑制作用。

2.5 福寿螺肝脏显微结构的变化

正常福寿螺的肝脏消化小管结构完整、清晰,肝细胞未见异常(图 4-1、4-2)。低浓度(LC_{25})甲氨基阿维菌素处理 6 h 后,其结构没有发生异常(图 4-3),浓度为 LC_{50} 时,可见结缔组织中的血管有少量瘀血(图 4-4),浓度为 LC_{75} 时,瘀血面积加大(图 4-5)。甲氨基



不同小、大写字母表示同一时间内处理间差异达显著和极显著水平。

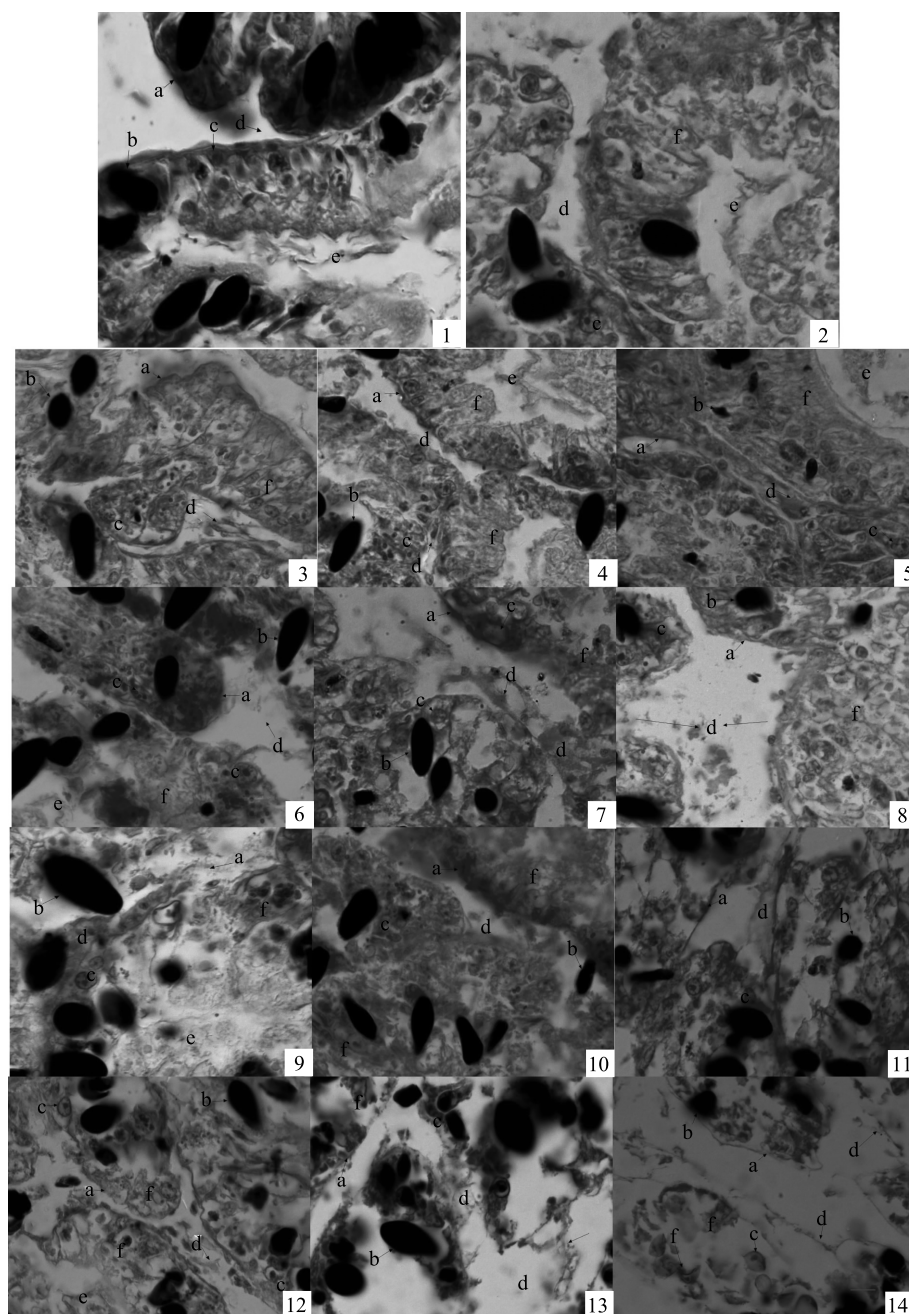
图3 甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏过氧化氢酶活性的影响

Fig. 3 Effect of methylnamino abamectin on the activity of CAT in the liver of *P. canaliculata*

阿维菌素处理 12 h 时,福寿螺肝脏消化小管的结缔组织明显扩张,血管瘀血加重;消化小管的基膜变薄(图 4-6)。甲氨基阿维菌素处理 24 h 时, LC_{25} 浓度组福寿螺肝脏整个结构出现弥漫性瘀血(图 4-9); LC_{50} 处理组福寿螺肝脏消化小管的基膜大部分溶解坏死,细胞开始变形(图 4-10)。甲氨基阿维菌素处理 48 h 时,福寿螺中毒严重,在低浓度下方可见消化小管基膜,但结构不完整(图 4-12); LC_{75} 组福寿螺肝脏上皮组织出现溶解坏死,结缔组织高度扩张,其间可见大量絮状坏死物,嗜碱性细胞和消化细胞变性,细胞畸形(图 4-14)。

3 讨论

本研究发现各浓度组的福寿螺在不同的暴露时间下,其肝脏内 SOD 酶活力的变化趋势不同。甲氨基阿维菌素低浓度(LC_{25})组的福寿螺肝脏 SOD 酶活力变化不大,长时间(48 h)暴露后,与对照组无显著差异;中浓度(LC_{50})组福寿螺肝脏内 SOD 酶活力在 24 h 达到最大值,48 h 其酶活力才被显著抑制;而高浓度(LC_{75})组的 SOD 酶活性比低、中浓度组在更快的时间(6 h)达到高峰后开始持续下降并在 24 h 时被极显著抑制。福寿螺中毒后,体内原有的自由基代谢受到了破坏,发生氧化损伤,在较轻的损伤程度下,福寿螺靠自身的抵抗防御作用, SOD 发挥自身功能,清除掉多余的自由基,此时诱导的作用表现为适应性反应,但福寿螺在 48 h 高剂量的药剂下, SOD 无法在较短的时间抵抗过多的自由基,防御系统遭到了破坏, SOD 活性受到了抑制,解毒功



1、2 为对照;3、4、5 分别为处理 6 h 时 LC_{25} 、 LC_{50} 、 LC_{75} 组;6、7、8 分别为处理 12 h 时 LC_{25} 、 LC_{50} 、 LC_{75} 组;9、10、11 分别为处理 24 h 时 LC_{25} 、 LC_{50} 、 LC_{75} 组;12、13、14 分别为处理 48 h 时 LC_{25} 、 LC_{50} 、 LC_{75} 组。a: 基膜; b: 黑色颗粒; c: 嗜碱性细胞; d: 结缔组织; e: 血管; f: 消化细胞。

图 4 福寿螺肝脏显微结构 ($\times 100$)

Fig. 4 The microstructure of livers of normal (1 and 2) and methylnamino abamectin treated *P. canaliculatus* (3 to 14)

能下降,表现出严重的中毒现象。表明甲氨基阿维菌素对福寿螺肝脏内 SOD 酶活性具有激活作用,但随着暴露时间的延长和暴露浓度的增加,激活能力下降,最终其肝脏 SOD 酶活力受到抑制。试验中观察到的 SOD 酶活性与其他相关研究中酶活性的变

化类似,均呈先上升后下降的趋势^[23-24]。

PO 以 PPO 的形式存在于血液淋巴中,是黑色素合成的关键酶,同时也是昆虫体内的重要免疫蛋白。 PPO 一经活化成 PO ,则参与机体代谢过程的细胞吞噬、黑化作用和伤口愈合等过程,起防御作用^[25]。本研

究中暴露于甲氨基阿维菌素 12 h 的福寿螺,其肝脏 *PO* 酶活性波动大,以低浓度(LC_{25})、高浓度(LC_{75})组的福寿螺肝脏 *PO* 酶活性被显著激活,而中浓度(LC_{50})对福寿螺肝脏内 *PO* 酶活性无显著影响。短时间内,福寿螺肝脏内的 *PO* 先被激活,这与松油烯-4-醇对家蝇酚氧化酶具有激活作用^[26]一致。而高浓度长时间(48 h)的暴露,则会使福寿螺体内 *PO* 酶活性受到抑制,这可能与破坏了黑色素的形成从而损坏了免疫系统有关。

短时间(6 h)胁迫下,福寿螺肝脏 *CAT* 酶活性均表现出激活作用,其中以高浓度(LC_{75})组福寿螺肝脏 *CAT* 酶活力激活效应显著,但在长时间胁迫下,肝脏内产生大量的 H_2O_2 ,超出 *CAT* 的清除能力,机体受损。国内外也有大量研究表明,*CAT* 酶活力受毒物剂量的影响,当浓度较低时,毒物对代谢有一定的促进作用^[27-28]。各浓度组福寿螺肝脏 *CAT* 酶活力均呈现先上升后下降的变化趋势,这与阿维菌素胁迫下黄河鲤鱼鳃组织中 *CAT* 酶活力的变化趋势一致^[12]。因此,*CAT* 酶活性状况变化能够很好地反应机体受甲氨基阿维菌素的损害程度。*CAT* 酶活性与其他两种酶活性是否具有相关性或与其他抗氧化酶酶活性及脂质过氧化酶酶活性是否有关联,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘雨芳,李 菲,李玉峰,等. 福寿螺在湖南的分布现状、危害与扩散风险预警[J]. 水生生物学报,2011,35(6):1067-1071.
- [2] 王志高,谭济才,刘 军,等. 福寿螺综合防治研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(12):201-205.
- [3] 李小慧,胡隐昌,宋红梅,等. 中国福寿螺的入侵现状及防治方法研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(14):229-232.
- [4] CARLSSON N O L, BRÖNNMARK C, HANSSON L A. Invading herbivory: The golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands[J]. Ecology, 2004, 85(6): 1575-1580.
- [5] JOSHI R. Managing invasive alien mollusc species in rice[J]. International Rice Research Notes,2005,30(2):5-12.
- [6] YUSA Y, Wada T. Impact of the introduction of apple snails and their control in Japan[J]. The ICLARM Quarterly,1999,22(3):9-13.
- [7] 葛 红,韩 娟,徐 莉,等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐应用研究概况[J]. 金陵科技学院学报,2010,26(1):90-95.
- [8] 毕富春,徐风波. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐研究概述[J]. 农药科学与管理,2002,23(2):31-33.
- [9] 贾道田. 三种药剂对福寿螺生长发育繁殖影响的研究[D]. 桂林:广西大学,2012.
- [10] 田春美,钟秋平. 超氧化物歧化酶的现状研究进展[J]. 中国热带医学,2005,5(8):1730-1732.
- [11] 杨 光. 阿维菌素对鲤鱼毒理效应的研究[D]. 南京:南京农业大学,2011.
- [12] 李燮阳. 阿维菌素对黄河鲤抗氧化系统和 $Na^+-K^+-ATPase$ 活性影响的研究[D]. 郑州:河南农业大学,2010.
- [13] 杨家长,杨 光,马晓燕,等. 低浓度阿维菌素对鲤鱼超氧化物歧化酶(*SOD*)的影响[J]. 生态毒理学报,2009,4(6):823-826.
- [14] 李世凯. 伊维菌素在斑马鱼(*Danio rerio*)和吉富罗非鱼(*GIFT, Oreochromis niloticus*)体内的毒理学研究[D]. 上海:上海海洋大学,2014.
- [15] BRADFORD M. A rapid and sensitive assay of protein utilizing the principle of dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [16] 许中鸿,杭 瑚,李运平. 超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法的研究及改进[J]. 化学通报,2001,8(12):516-519.
- [17] 顾含真,袁勤生,赵 健,等. 肾上腺素 *SOD* 测活法改进及影响因素研究[J]. 食品与药品,2006,8(8A):46-49.
- [18] 史竞艳,罗辛茹,鲍江鸿,等. 超氧化物歧化酶活性的测定[J]. 湖北大学学报:自然科学版,2012,34(4):373-377.
- [19] BENJAMIN N D, MONTGOMERY M W. Polyphenoloxidase of Royal Ann cherries: purification and characterization[J]. J Food Sci,1973, 38: 799-806.
- [20] 杨进孙,唐小牛,周书林,等. EDTA 与金属离子对钉螺酚氧化酶活性的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2007,2(6):457-459.
- [21] 李红艳,张 喆,陈海刚,等. 三唑磷对斑节对虾肝胰腺和鳃的氧化胁迫效应[J]. 农业环境科学学报,2013,32(12):2345-2351.
- [22] 徐镜波,袁晓凡,郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度测定[J]. 环境化学,1997,16(1):73-76.
- [23] MATER-MIHAICH E, RICHARD T, DI GIULIO R T. Antioxidant enzyme activities and malonaldehyde, glutathione and methemoglobin concentrations in channel fish exposed to DEF and N-butylmercaptan[J]. Chem And Physiol,1986,85C:427-432.
- [24] 柯佳颖,肖良豪,黄周英,等. 六价铬(Cr^{6+})对福寿螺肝胰腺抗氧化酶活性和脂质过氧化的影响[J]. 南方农业学报,2013,44(9):1471-1476.
- [25] 徐亚玲,李文楚. 昆虫酚氧化酶作用机制的研究进展[J]. 安徽农业科学,2010,38(27):14844-14846.
- [26] 马志卿,冯俊涛,郭志波,等. 松油烯-4-醇对家蝇几种代谢酶及酚氧化酶的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2008,34(5):509-515.
- [27] MACNAIR M. The genetics of metal tolerance in vascular plants[J]. New Phytophysiology,1993,124:541-559.
- [28] CUMMING J R, TOMSETT A B. Metal tolerance in plants: signal transduction and accumulation mechanisms[C]//ADRIANO D D. Biogeochemistry of trace metals. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992:329-364.

(责任编辑:孙 宁)