

# The Effect of 0# Diesel Oil on the Activity of Three Kinds of Immune Enzymes of Clam, *Meretrix meretrix*

Jun DING, Wei SUN, Zhimin LIU, Wenting FEI, Yaqing CHANG

Dalian Ocean University, Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Agriculture, Dalian, China, 116023

Email: dingjun1119@dlou.edu.cn

**Abstract:** The effect of 0# diesel oil on SOD, CAT, GST activities of muscle and gill of the clam (*Meretrix meretrix*) has been observed in this study. The experiment has designed four concentration gradients of 0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 1.5 mg/L and 2.0 mg/L, the change of three kinds of enzymes vigor were detected after induction in different density in 4th day and 8th days separately. The results indicated that: The values of activity in clam muscle and gill displayed the rule of induction in low concentration and suppression in high concentration. In normal condition, the values of SOD of muscle and gill are  $116.23 \pm 11.18$  U/g and  $58.11 \pm 12.92$  U/g respectively; The value of CAT are  $15.25 \pm 0.35$  U/g and  $49.35 \pm 4.55$  U/g; The values of GST are  $26.99 \pm 4.63$  U/g and  $23.92 \pm 1.84$  U/g respectively. After induction, the value of SOD in muscle has shown the maximum, which is  $218.11 \pm 16.24$  U/g in the density of 1.0 mg/L under induction on the 4th day; the value of SOD in gill has shown the maximum, which is  $182.24 \pm 12.34$  U/g in the density of 2.0 mg/L under induction on the 4th day. The value of CAT in muscle has shown the maximum, which is  $28.83 \pm 4.64$  U/g in the density of 1.5 mg/L under induction in 8th day; the value of CAT in gill has shown the maximum, which is  $56.58 \pm 5.00$  U/g in the density of 0.5 mg/L under induction on the 8th day. The value of GST in muscle has shown the maximum, which is  $37.41 \pm 2.81$  U/g in the density of 2.0 mg/L under induction in 8th day; the value of GST in gill has shown the maximum, which is  $29.44 \pm 3.68$  U/g in the density of 1.0 mg/L under induction in 8th day.

**Keywords:** Meretrix meretrix; SOD; CAT; GST

## 0#柴油对文蛤三种免疫酶活性的影响

丁君, 孙巍, 刘志敏, 费文婷, 常亚青

大连水产学院 农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 大连, 中国, 116023

Email: dingjun1119@dlou.edu.cn

**摘要:** 实验研究了0#柴油对文蛤 (*Meretrix meretrix*) 肌肉和鳃超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 活性的影响。实验设计了 0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L 四个浓度梯度, 分别于第 4 天和第 8 天取样测定三种酶在不同处理浓度下酶活力的变化情况。结果表明: 文蛤肌肉和鳃的活力值均表现出低浓度诱导高浓度抑制的规律。在正常情况下, 文蛤肌肉和鳃的 SOD 活力值分别为  $116.23 \pm 11.18$  U/g,  $58.11 \pm 12.92$  U/g; CAT 活力值分别为  $15.25 \pm 0.35$  U/g,  $49.35 \pm 4.55$  U/g; GST 活力值分别为  $26.99 \pm 4.63$  U/g,  $23.92 \pm 1.84$  U/g。经 0#柴油处理后, 肌肉 SOD 活力值在处理第 4 天 1.0 mg/L 浓度出现活力最大值为  $218.11 \pm 16.24$  U/g, 鳃在处理第 4 天 2.0 mg/L 浓度出现活力最大值为  $182.24 \pm 12.34$  U/g。肌肉 CAT 活力值在处理第 8 天 1.5 mg/L 浓度出现活力最大值为  $28.83 \pm 4.64$  U/g, 鳃在处理第 8 天 0.5 mg/L 浓度出现活力最大值为  $56.58 \pm 5.00$  U/g。肌肉 GST 活力值在处理第 8 天 2.0 mg/L 浓度出现活力最大值为  $37.41 \pm 2.81$  U/g, 鳃在处理第 8 天 1.0 mg/L 浓度出现活力最大值为  $29.44 \pm 3.68$  U/g。本研究对探讨石油污染对经济贝类的污染程度检测及贝类自身的免疫能力有一定的借鉴意义。

**关键词:** 文蛤; 超氧化物歧化酶 SOD; 过氧化氢酶 CAT; 谷胱甘肽硫转移酶 GST

## 1 引言

近年来,海洋污染日趋严重,对海洋生物构成严重威胁。过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)<sup>[1]</sup>和谷胱甘肽硫转移酶(GST)是生物体内重要的抗氧化酶。在许多生物学事件中具有重要作用,如神经存活<sup>[2]</sup>和信号传递<sup>[3]</sup>,在防御机体衰老及生物分子损伤等方面有极为重要的作用<sup>[4]</sup>,最近发现,抗氧化酶活性与水生生物的免疫水平密切相关,对于增强吞噬细胞防御能力和整个机体的免疫功能有重要作用<sup>[5]</sup>。GST可催化谷胱甘肽(GSH)与化学物质的亲电基团结合,最终形成硫醚氨酸排出体外,在体内解毒功能上起着重要作用,是鱼体内对有毒化学物质代谢的主要途径之一<sup>[6]</sup>。应用GST研究有机污染对水生生物的毒理效应已有大量报导。Hays和Pulford研究表明<sup>[7]</sup>,GST参与有机磷农药的轭合和卤化还原反应,是GST表达和催化作用的一个重要特征。当生物体接触环境当中的污染物后,GST作为一种生物标志其活性会发生改变。作为生化指标,GST对污染物的灵敏度较整体生物的毒性反应更灵敏,且具有明显的剂量效应关系,可作为水环境中有机污染物污染的生化标记<sup>[8]</sup>。在CAT,SOD和GST研究方面,大量结果表明酶活性与诱导物浓度之间存在着计量-效应关系<sup>[9-11]</sup>。

海洋双壳类软体动物不仅能很好的满足作为污染指示生物的要求,而且因其自身代谢系统的特点,对一些化合物的释放比鱼类或甲壳类缓,这些化合物可在其体内保持较高的富集程度,贾晓平等<sup>[12]</sup>在研究原油和燃油对南海重要海水增殖生物的影响时指出,在三类受试生物中,对油类的耐受顺序为:贝类>鱼类>虾类,目前有关于文蛤在海洋污染方面的报导较少,具有研究潜力。

本实验主要研究0#柴油对文蛤(clam)肌肉和鳃中过氧化氢酶(CAT),超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性的影响,本研究对探讨石油污染对经济贝类的污染程度检测及贝类自身的免疫能力有一定的借鉴意义。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

文蛤购于旅顺盐场,体重为114.41~152.05g,壳长为7.43~8.82cm,壳宽为3.63~4.29cm,壳高为6.22~6.91cm,实验前在80L过滤海水塑料箱中室温下暂养,

投饵,昼夜连续充气以保证水中溶氧充足,待文蛤适应环境后开始实验。

### 2.2 方法

0#柴油在预实验的基础上分别设了0.5mg/L、1.0mg/L、1.5mg/L、2.0mg/L四个浓度梯度,实验期间每天换水一次,投饵,同时添加相应浓度的0#柴油,并观察记录文蛤每天的死亡情况。整个诱导实验共进行8天,分别于第4天和第8天取不同诱导浓度文蛤的鳃和肌肉组织进行实验,每个浓度做3个平行实验。

#### 2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

采用邻苯三酚法测定超氧化物歧化酶(SOD)活力。SOD活力单位定义为:每毫升反应液中,每分钟抑制连苯三酚自氧化速率达50%的酶量为一个活力单位(U)<sup>[10]</sup>。

#### 2.2.2 过氧化氢酶(CAT)活性的测定

采用钼酸铵法测定过氧化氢酶(CAT)活力。CAT活力单位定义为:每分钟分解1mol的过氧化氢为1个酶活力单位(U)<sup>[11]</sup>。

#### 2.2.3 谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性的测定

以1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)为底物,用紫外分光光度法测定。GST活性一个酶单位定义为在25℃时,每分钟催化形成11μmol反应产物的酶蛋白量<sup>[9]</sup>。

## 2.3 数据处理

本实验结果均表示为平均数±标准差;采用t检验法对组间数据进行显著性分析,并用回归法分析诱导剂量与酶活力、诱导时间之间的关系,以相关系数表明相关的紧密程度。

## 3 结果

### 3.1 0#柴油对文蛤超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

0#柴油对文蛤紫贻贝超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响结果见图1、图2,由图可知未进行柴油诱导时,文蛤肌肉和鳃的SOD活力值分别为116.23±11.18 U/g、58.11±12.92 U/g,处理第4天,文蛤肌肉和鳃中SOD活力均发生了较大的变化,不同浓度0#柴油对文蛤肌肉和鳃组织中的SOD活性均表现为不同程

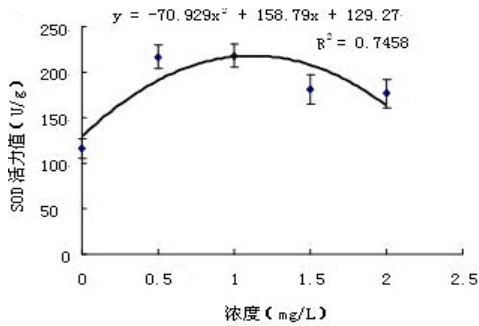


Figure 1. In the 4th day SOD activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 1. 0#柴油处理第 4 天文蛤肌肉 SOD 活力

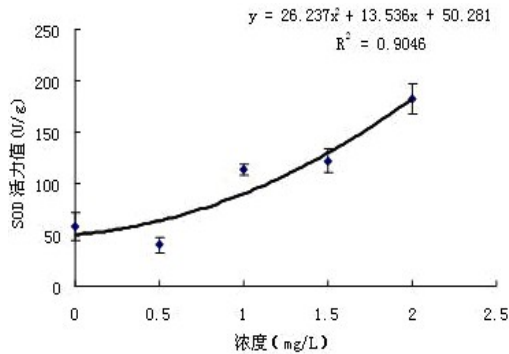


Figure 2. In the 4th day SOD activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 2 0#柴油处理第 4 天文蛤鳃 SOD 活力

度的诱导作用。随着处理浓度的升高，酶的诱导活力变化趋势呈抛物线型，肌肉的 SOD 活力表现出先诱导后抑制的规律，鳃的 SOD 活力表现出的总体趋势为随着处理浓度的升高酶活力值上升。

由图 3，图 4 可以看出，文蛤肌肉和鳃的活力值在随着时间变化都呈抛物线型，并随着处理浓度的升高活力值不断下降。文蛤肌肉 SOD 活力值在 1.0mg/L 浓度达到最大值，为 130.99±18.82 U/g，与对照组相比，差异显著升高，(P<0.05)，表现为显著诱导，而 1.5mg/L、2.0mg/L 两个浓度的活力值均低于对照值，出现了高浓度的抑制作用；处理第 8 天时文蛤鳃 SOD 活力在 0.5mg/L 浓度达到最大值，为 173.42 ±16.29 U/g，与对照组相比，差异显著升高(P<0.05)，表现为低浓度诱导。可以看出处理第 8 天文蛤肌肉和鳃的 SOD 活力值都表现出低浓度诱导高浓度抑制的现象，并随着处理浓度的升高抑制作用越显著。

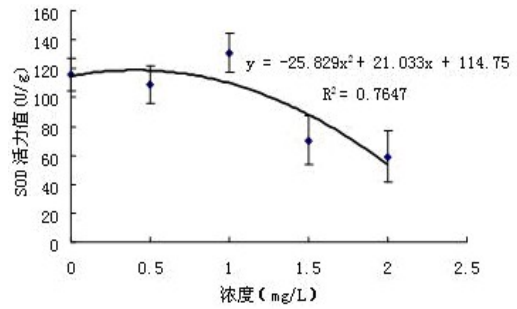


Figure 3. In the 8th day SOD activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 3. 0#柴油处理第 8 天文蛤肌肉 SOD 活力

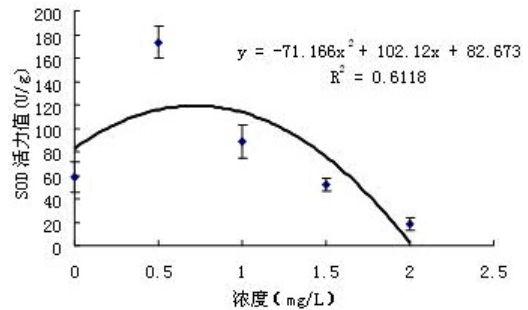


Figure 4. In the 8th day SOD activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 4. 0#柴油处理第 8 天文蛤鳃 SOD 活力

### 3.2 0#柴油对文蛤过氧化氢酶 (CAT) 活力的影响

0#柴油对文蛤过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响结果见图 5、图 6。如图所示在处理第 4 天时表现出抑制—诱导—抑制的变化。肌肉在 0.5mg/L 浓度出现活力最小值为 8.82±0.29 U/g，与对照组 CAT 活力值相比，差异显著下降(P<0.05)，表现为低浓度抑制。而 1.5mg/L 浓度出现活力最大值为 25.44±1.62 U/g，表现为显著诱导(P<0.05)。由图 6 可知处理第 4 天时 0#柴油对文蛤鳃的 CAT 活力有明显的抑制作用，而 0.5mg/L 低浓度的抑制作用更为显著(P<0.05)。四个诱导浓度的 CAT 活力值都低于对照组活力值，在 0.5mg/L 浓度出现活力最小值为 30.57±1.45 U/g，而后随着处理浓度的升高 CAT 活力值不断上升。从处理第

4天的实验结果看出总体趋势是鳃的CAT活力值要高于肌肉的CAT活力值,但这些都只能反映处理的早期影响。

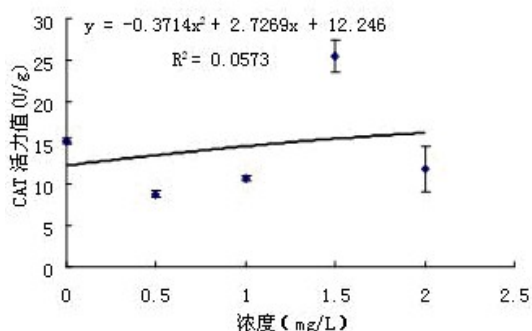


Figure 5. In the 4th day CAT activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 5. 0#柴油处理第 4 天文蛤肌肉 CAT 活力

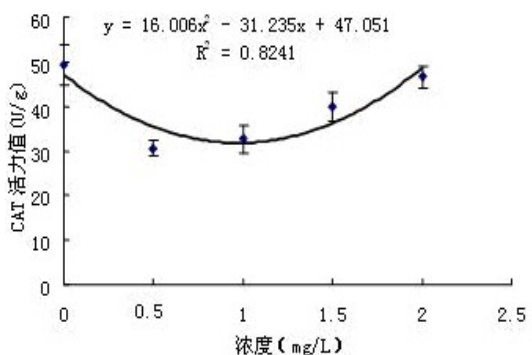


Figure 6. In the 4th day CAT activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 6. 0#柴油处理第 4 天文蛤鳃 CAT 活力

由处理第 8 天 CAT 活力变化结果可以看出,文蛤肌肉和鳃在处理第 8 天都表现出明显的诱导作用。处理第 8 天肌肉 CAT 活力值的变化呈抛物线型(图 7),在 1.5mg/L 浓度达到活力最大值,为 28.83±3.79 U/g,与对照组 CAT 活力值相比,差异显著升高(P<0.05),表现出显著诱导。处理第 8 天文蛤鳃 CAT 活力值在 0.5mg/L 浓度达到最大值,为 56.58±4.09 U/g,与对照组鳃 CAT 活力值相比,差异显著升高(P<0.05),而后随着处理浓度的升高活力值下降,从实验结果可知在处理第 8 天时总体趋势是鳃的CAT活力值高于肌肉的CAT活力值。

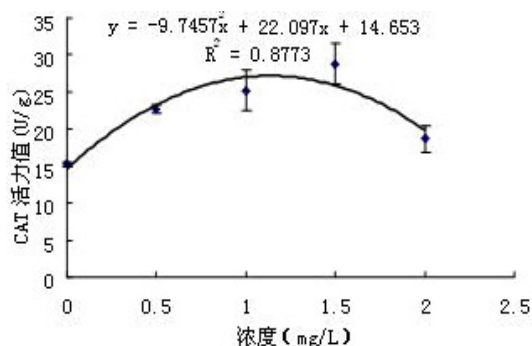


Figure 7. In the 8th day CAT activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 7. 0#柴油处理第 8 天文蛤肌肉 CAT 活力

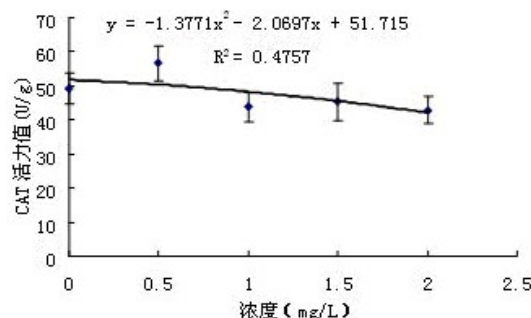


Figure 8. In the 8th day CAT activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 8. 0#柴油处理第 8 天文蛤鳃 CAT 活力

### 3.3 0#柴油对文蛤谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 活力的影响

处理第 4 天 GST 活力变化结果可以看出(图 9),在处理第 4 天文蛤肌肉 GST 活力值出现了低浓度诱导高浓度抑制的规律,处理第 4 天肌肉 GST 活力在 0.5mg/L 浓度达到最大值,为 28.21±3.13 U/g,且高于对照组 GST 活力值,而 1.0mg/L、1.5mg/L 和 2.0mg/L 三个较高浓度组 GST 活力随着浓度升高活力值下降,与对照组相比,活力差异显著升高(P<0.05)。处理第 4 天文蛤鳃 GST 活力值随着诱导浓度的升高活力值不断上升(图 10),在 0.5mg/L 低浓度 GST 活力值最低,为 14.72±1.50 U/g,与对照组活力值相比,差异显著下降(P<0.05),2.0mg/L 浓度达到最大值,为 28.21±3.13 U/g,与对照组相比,活力显著升高(P<0.05)。从实验结果可以看出在处理第 4 天时鳃和肌肉

的 GST 活力变

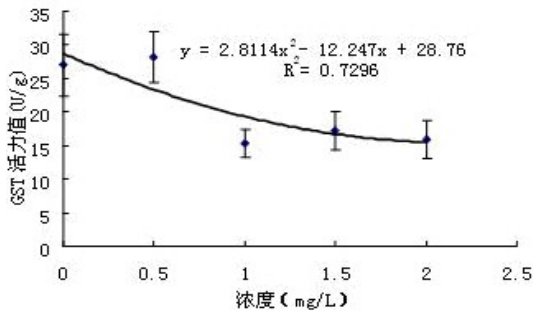


Figure 9. In the 4th day GST activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 9. 0#柴油处理第 4 天文蛤肌肉 GST 活力

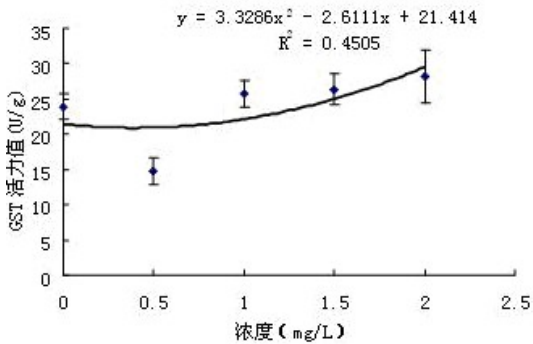


Figure 10. In the 4th day GST activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 10. 0#柴油处理第 4 天文蛤鳃 GST 活力

化是相反的,但都在 0.5mg/L 低浓度组有明显的变化, 1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L 三个较高浓度组变化较平缓。

由图 11 GST 活力变化结果可以看出,文蛤肌肉 GST 活力值呈倒抛物线型,在 1.0mg/L 浓度 GST 活力达到最小值,为 22.08±1.84 U/g,与对照组 GST 活力值相比,活力显著下降(P<0.05)。而 1.5mg/L 和 2.0mg/L 浓度的 GST 活力值均高于对照组活力值,并且随着处理浓度的升高 GST 活力值升高,2.0mg/L 浓度活力达到最大值,为 37.41±2.81 U/g,与对照组 GST 活力值相比,活力显著升高(P<0.05)。由图 12 可知处理第 8 天文蛤鳃 GST 活力在 1.0mg/L 浓度达到最大值,为 29.44±3.68 U/g,与对照组 GST 活力值相比,活力显著升高(P<0.05)。在 1.5mg/L 浓度达到活力最小值,为 22.08±1.84 U/g,与对照组 GST 活力值相比,活力显著下降(P<0.05)。从实验结果可以看出在处理

第 8 天文蛤鳃和肌肉的 GST 活力变化趋势是相反的,但都

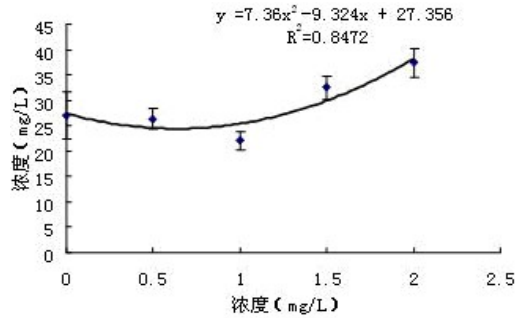


Figure 11. In the 8th day GST activity of muscle of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 11. 0#柴油处理第 8 天文蛤肌肉 GST 活力

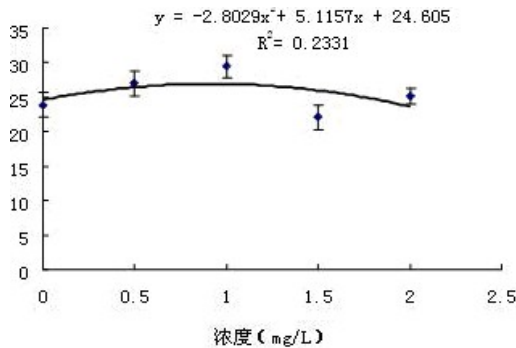


Figure 12. In the 8th day GST activity of gill of the clam after 0# diesel fuel treatment

图 12. 0#柴油处理第 8 天文蛤鳃 GST 活力

在 1.0mg/L 浓度组受到显著诱导 (p<0.05)。

## 4 讨论

### 4.1 0#柴油对 SOD 活力的影响

关于柴油对双壳类生物体内 SOD 活力的影响,国内已有很多报道。赵元凤[10]等人研究了 0#柴油对毛蚶肌肉组织 SOD 活性的影响,结果表明 SOD 活性呈现低浓度诱导高浓度抑制的规律。由本实验结果可以看出,文蛤肌肉 SOD 活力变化规律为低浓度诱导高浓度抑制,与以上研究结果一致。诱导第 4 天鳃的 SOD 活力值随着处理浓度的升高活力值不断上升,处理第八天鳃的 SOD 活力在 0.5mg/L 浓度高于对照值,其余 3 个浓度均低于对照值,并随着浓度的升高活力值不断下降。这与前面研究的结果存在差异,出现这种差

异的原因我们分析认为, 主要与物种的差异有关, 而且不同组织对 0#柴油的敏感度也不同。

文蛤肌肉和鳃 SOD 活力的变化规律均为抛物线型, 抛物线型关系是生物对污染反应的最常见形式[13], 抗氧化防御系统是需氧生物体内消除活性氧自由基、防止过氧化损伤的主要保护机制, 特征之一就在于生物体内自由基生成量增加时, 其活性成分抗氧化酶和部分抗氧化剂的合成增加, 因此抗氧化防御系统成分的改变可作为机体受到氧化胁迫的指示[14]。低浓度污染物对 SOD 活力的诱导激活作用可认为是生物对污染的适应性反应, 以增强机体消除活性氧自由基的能力; 高浓度污染物对 SOD 的抑制作用可认为是污染对生物体的作用已超过机体的适应能力, 其所导致的酶活性降低可认为是中毒反应的前兆。SOD 被认为是发挥关键性作用的抗氧化物, 同时又是高度诱导性酶。随着柴油处理浓度的增加, 文蛤体内的 O<sub>2</sub>-也随之增加。所以为了歧化更多的 O<sub>2</sub>-以防止细胞膜系统过氧化作用的发生而出现 SOD 被诱导的现象, 在 0#柴油处理浓度为 0.5mg/L 时达到最高值, 之后当 0#柴油处理浓度再增加时, SOD 产生的速度已经跟不上机体内 O<sub>2</sub>-增加的速度, 最后导致机体细胞膜系统过氧化, 因此 SOD 活性也迅速下降。

#### 4.2 0#柴油对 CAT 活力的影响

关于柴油对海洋生物体内 CAT 活力的影响, 国内已有很多报道。赵元凤<sup>[11]</sup>等人研究了 0#柴油对毛蚶肌肉组织 CAT 活性的影响, 实验设计了 5 个浓度梯度, 处理第 6 天时取样, 实验得出, 柴油对毛蚶肌肉组织 CAT 活性在 0.05 mg/dm<sup>3</sup> 处理产生显著诱导(P<0.05)、在 0.10 mg/dm<sup>3</sup> 处产生显著抑制。

由本实验结果得出, 对照组文蛤鳃的 CAT 活力值高于肌肉活力值, 这一点正好与 SOD 活力值相反。处理第 8 天时, 文蛤肌肉和鳃的 CAT 活力变化都表现出了低浓度诱导的现象, 鳃的诱导作用发生在 0.5mg/L 浓度, 肌肉的诱导作用发生在前 3 个浓度, 1.5mg/L 浓度诱导作用最为显著, 与前面实验相比尽管诱导物和诱导浓度不同, 但肌肉 CAT 活力的总体变化趋势是相同的。有研究表明<sup>[15-16]</sup>, 随着柴油处理浓度在一定范围内增加, 产生大量活性氧自由基, 从而诱导 SOD 催化反应使其活性增强, 之后 CAT 活性也随之升高。但是随着处理浓度的进一步上升, SOD 和 CAT 活性显著下降, 这也进一步说明了 SOD、CAT

等为内源活性氧清除剂只能在一定程度上清除体内过量的活性氧, 维持活性氧代谢的平衡, 降低脂质过氧化作用, 一旦抗氧化酶防御系统受损, 清除活性氧的功能也就丧失, 所以出现了低浓度诱导高浓度抑制的变化规律。我们的实验结论与前面实验存在着相同的机理。

前面赵元凤等人的实验中都只研究了柴油对肌肉中 SOD、CAT 活力的影响, 而本实验还对文蛤鳃进行了活性测定, 这主要是与鳃的结构和功能有关。鳃是瓣鳃类动物主要的呼吸器官, 由于鳃组织直接暴露于水体, 而且其特殊结构有利于水中离子穿过, 鳃成为文蛤直接从水中摄取柴油的主要部位, 因此对诱导物的刺激较敏感, 所以当水体受到 0#柴油污染后, 必然会对鳃的酶活产生一定的影响, 而本实验结果也证明了对文蛤鳃进行酶活测定的必要性。

#### 4.3 0#柴油对 GST 活力的影响

陈荣等人<sup>[17]</sup>研究的 0#柴油对僧帽牡蛎的污染实验中, 正常条件下鳃 GST 活性高于消化腺; 消化腺和鳃 GST 活性随污染时间的延长先被诱导后逐渐下降, 处理第 7 天, 中、高浓度组 GST 活性均极显著增加, 达到最大值, 相邻组间差异显著。污染实验后期, 中高浓度组消化腺和鳃 GST 活性都逐渐下降。GST 活性下降的原因有可能是作为底物的 GSH 被大量消耗, 同时解毒过程中产生的大量中间代谢物有可能改变 GST 亚基的组成降低 GST 活性或者在体外测定时与 GST 底物(如 cDNB) 发生竞争性抑制<sup>[18]</sup>。说明僧帽牡蛎 GST 在石油烃的解毒过程中有重要作用。但在一些实验研究中发现有机污染物对双壳类 GST 的诱导比较缓慢<sup>[19]</sup>, 农药 furadan 对贻贝(*Perna perna*)和牡蛎(*Crassostrea rhizophorae*)鳃 GST 甚至是无诱导<sup>[20]</sup>。

本实验研究结果表明: 文蛤肌肉在处理第 4 天呈锐后盾的抛物线型, 处理第 8 天肌肉 GST 活力值随着处理浓度的升高活力值上升。处理第 4 天鳃 GST 活力值随着处理浓度的升高活力值上升。处理第 8 天鳃 GST 活力值与对照组活力值相比差异不是十分显著, 在 1.5mg/L 浓度出现了抑制。肌肉 GST 活力值在处理第 8 天 2.0mg/L 浓度出现活力最大值, 鳃在处理第 8 天 1.0mg/L 浓度出现活力最大值为。本实验结果与前面陈荣等人对僧帽牡蛎的污染实验结果存在差异, 我们分析认为与实验物种差异和污染时间有关。

## References (参考文献)

- [1] Marta Monari , Valerio Matozzo , Jurgen Foschi ,Maria Gabriella Marin , Otello Cattani. Exposure to anoxia of the clam, *Chamelelea gallina* II: Modulation of superoxide dismutase activity and expression in haemocytes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* ,2005, 325:175~188.
- [2] Nakano N., Frodl E.M., Widner H., Carlson E., Eggerding F.A., Epstein C.J., Brundin P. Overexpressing Cu/Zn superoxide dismutase enhances survival of transplanted neurons in a rat model of Parkinson's disease *Nat Med* 1995,1:226~231.
- [3] Wang X., Culotta V.C., Klee C.B. Superoxide dismutase protects calcineurin from inactivation *Nature*, 1996, 338:434~437.
- [4] Mu Haijin, Jiang Xiaolu , Liu Shuqing, *et al.* Effects of immunopolysaccharide on the activities of acid phosphatase , Alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri*[J]. *Journal of ocean university of Qing Dao*.1999, 29(3):463-468.
- [5] Cabelli Diane E., Riley Dennis, Rodriguez Jorge A., *et al.* Models of superoxide dismutase. *Biomimetic Oxid. Catal. Transition Met. Complex*. Imperial College Press: London,UK, 2000,461~508.
- [6] George S G *Enzymology and molecular biology of PHase: II Xenobiotic — conjugating enzymes in fish//MALINS D C. OSTRANDER G K, eds. Aquatic Toxicology; Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*[C]. Washington D C: Lewis Publishers,CRC Press, 1994, 37~85.
- [7] Hayes J D, Puiford D J The glutathione S-transferase super-genefamily, regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance[J]*Critical Reviews in Biochemistry & Molecular Biology*,1995, 30: 445~600.
- [8] Ron van der oost,Beyer J, Vermeulen N P E, *et al.* Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review[J] . *Environmental Toxicology and PHarmacology*,2003,13: 57~149.
- [9] Jiang Tianjiu, Niu Tao. Effects of heavy metals on superoxide dismutase(SOD) of *Crassostrea rivularis*[J]. *Ecology and Environment*. 2006, 15(2):289-294.
- [10] Zhao Yuanfeng, Lu Jingcai, Li Dantong, *et al.* Effects of marine pollution on the activity of superoxide dismutase in *Scapharca subcrenata*[J]. *Acta oceanologica sinica*. 2003, 25(3): 63-69.
- [11] Zhao Yuanfeng, Lu Jingcai, Song Xiaoyang, *et al.* Effects of marine pollution on the activity of catalase in *Scapharca subcrenata*[J]. *Acta oceanologica sinica*. 2002,22(4): 54~59.
- [12] Jia Xiaoping, Lin Qin, Cai Wengui, *et al.* Toxicity of crude oil and fuel oils to important mariculture and multiplication organisms of South China Sea[J]. *Journal of fisheries of China*. 2000, 24(1): 32~36.
- [13] Yu Qun, Zheng Weiyun, Weng Yan, *et al.* Response of antioxidant in viscera tissue of *Pagrosomus major* larvae to water-soluble fraction in No. 0 diesel oil[J]. *Acta scientiae circumstantiae*. 2000,20:171-175.
- [14] Stegement J J, Brouwer M, Diulio R T, *et al.* Molecular responses to environmental contamination enzyme and protein synthesis as indicators of chemical exposure and effects . *M. Biomarkers, Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1992, 235~335.
- [15] Li Dantong, Yuan Meiyun, Lin Chunjiang, *et al.* The induction immunity substance in *Cyprinus carpio* by different Marine Algae Lectins[J]. *Journal of Liaoning Normal university*. 2006, 29(3): 348-351.
- [16] Gui Daming. Aquatic animals function experiment [M]1985,124~126.
- [17] Chen Rong, Zheng Weiyun , Yu Ang. Effect of water-soluble fraction of No. 0 oil Glutathione S-transferase in *Ostrea cucullata*[J]. *Journal of Xiamen University* . 2005,44: 87-92.
- [18] Egaas E. Sandvik M. Fjeld E. *et al.* Some effects of the fungicide propiconazole on cytochrome P450 and glutathione S-transferase in brown trout(*Salmo trutta*).*Comp. Biochem. Physiol*, 1999, 122C: 337~344.
- [19] Bainy A CD, Almeida E A, Muller I C. *et al.* Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island. SC. Brazil .*Mar. Environ. Res*, 2000, 50: 411~416.
- [20] Sandra R C Alves, Patricia C Severino, Dominique P Ibbotson, *et al.* Effects of furadan in the mussel *Perma perma* and in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae*. *Mar. Environ. Res*, 2002, 54: 241~245.