

黄周英, 王重刚, 左正宏, 等. 三丁基锡对文蛤鳃的抗氧化酶活性及脂质过氧化的影响 [J]. 环境科学学报, 2005, 25(10): 1408- 1413

HUANG Zhouying, WANG Chonggang, ZUO Zhenghong, et al. Effects of tributyltin on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the gill of hard clam *Meretrix meretrix* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(10): 1408- 1413

# 三丁基锡对文蛤鳃的抗氧化酶活性及脂质过氧化的影响

黄周英<sup>1,2</sup>, 王重刚<sup>1</sup>, 左正宏<sup>1</sup>, 赵 扬<sup>1</sup>, 陈奕欣<sup>1,\*</sup>

11 厦门大学生命科学院细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 厦门 361005

21 泉州师范学院生物系, 泉州 362000

收稿日期: 20050218 修回日期: 20050809 录用日期: 20050816

摘要: 在实验室条件下, 观察质量浓度分别为高、中、低(0.1, 1, 10 ng#L<sup>-1</sup> (以 Sn 计)) 3 组的三丁基锡(TBT)暴露 2、8、20 d 以及恢复 7 d 和 20 d 后对文蛤鳃的谷胱甘肽硫转移酶(GST)、过氧化氢酶(CAT)活性以及丙二醛(MDA)含量、还原型谷胱甘肽(GSH)含量的影响。结果显示, 除了高浓度 TBT(10 ng#L<sup>-1</sup>) 暴露早期(2 d)对 GSH 含量、GST 和 CAT 活性产生抑制之外, TBT 暴露对 GSH 含量、GST 和 CAT 活性的作用主要为诱导效应。在暴露 8 d 后, MDA 的含量表现出显著的诱导。恢复 7 d 后除了高浓度组对 MDA 还有影响外, 其它各指标均恢复到与对照组相当的水平。结果表明, 环境水平的 TBT 暴露对文蛤产生明显的氧化胁迫, 抗氧化防御系统可以作为海洋环境有机锡污染监测的潜在的生物标志物。

关键词: 三丁基锡; 文蛤; 还原型谷胱甘肽; 谷胱甘肽硫转移酶; 过氧化氢酶; 丙二醛

文章编号: 02532468(2005)1021408206 中图分类号: R994.6 文献标识码: A

## Effects of tributyltin on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the gill of hard clam *Meretrix meretrix*

HUANG Zhouying<sup>1,2</sup>, WANG Chonggang<sup>1</sup>, ZUO Zhenghong<sup>1</sup>, ZHAO Yang<sup>1</sup>, CHEN Yixin<sup>1,\*</sup>

1. Education Ministry Key Lab. for cell Biology and Tumor Cell Engineering, Xiamen School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005

2. Department of Biology, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000

Received 18 January 2005; received in revised form 9 August 2005; accepted 16 August 2005

Abstract: The effects on catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) activities and content of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) in the gill of *Meretrix meretrix* were evaluated after it had exposed to tributyltin (TBT) at environmental levels (0.1, 1, 10 ng#L<sup>-1</sup> as Sn) for 2, 8, 20 days and recovered for 7, 20 days, in experimental condition. The results showed that the activities of GST and CAT and GSH content in *Meretrix meretrix* exposed to TBT were principally induced, except that were mainly inhibited in the clams exposed to 10 ng#L<sup>-1</sup> for 2 days. MDA content were significantly induced after exposure for 8d. After the clams had been transferred to clean recovery tanks for 7 days, the indexes were recovered to the level corresponding to the control group, except MDA content in the clams exposed to 10 ng#L<sup>-1</sup> was sequentially induced. These results in the present work showed that oxidative stress in *Meretrix meretrix* would be produced by exposure to TBT at realistic levels in the environment. The antioxidant defense systems could act as biomarkers to monitor marine contamination of organotins.

Keywords: tributyltin; meretrix meretrix; reduced glutathione; glutathione S-transferase; catalase; malondialdehyde

有机锡(organotins), 尤其是三丁基锡(tributyltin (TBT)), 广泛应用于工业、农业、交通和卫生等部门。20 世纪 80 年代中期以来, 相继在世界各地的海水、底泥和生物体内发现了有机锡化合物的存在

(Michel and Averty, 1999)。其中, 三丁基锡由于对多种海洋污损生物具有长期有效的杀灭效果, 被大量用作船舶防污漆(Alzieu, 1998), 以防止生物在船壳上的附着和生长。我国污染海域中有机锡质量浓度

基金项目: 厦门大学细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室开放基金(No. 2004109)

作者简介: 黄周英(1965), 女, 副教授, E2mail: hzyng@publ. qz. fj. cn; \* 通讯作者(责任作者), E2mail: cheniyx@yanan. xmu. edu. cn

Foundation item: Fund of Key Laboratory of the Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, School of Life Sciences, Xiamen University, China. (No. 2004109)

Biography: HUANG Zhouying (1965), female, associate professor, E2mail: hzyng@publ. qz. fj. cn; \* Corresponding author, E2mail: cheniyx@yanan. xmu. edu. cn

从几  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  到几百  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  (Jiang et al., 2001). TBT 是一种毒性很强的物质, 它在驱除或杀灭污着生物 (Fouling organisms) 的同时, 也对非目标生物构成威胁. 近年来报道 TBT 除了具有急性毒性外, 还具有遗传毒性、免疫毒性和内分泌干扰毒性 (Jha et al., 2000; Marin et al., 2000; Morcillo and Porte, 2000).

化学物在动物体内进行生物转化时, 可形成多种中间产物, 其中许多中间产物可进入氧化还原循环, 产生大量的活性氧物质. 同时, 脂质过氧化可产生丙二醛 (malondialdehyde, MDA), 进而引发机体的氧化应激. 还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH) 是动物体内重要的水溶性抗氧化剂, 是谷胱甘肽硫转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 的辅助因子, 能直接与动物体内的亲电化合物结合使其更容易排出体外. GST 和 GPx 分别使污染代谢物及  $\text{H}_2\text{O}_2$  与 GSH 结合达到解毒的目的, 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 可有效地催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  的分解. 抗氧化防御系统的活性或含量由于污染胁迫而发生改变. 因此, 抗氧化防御系统被认为是潜在的海洋污染监测的生物标志物 (Van der Oost et al., 2003). 然而, 有关有机锡对海洋生物抗氧化防御系统的影响尚不清楚. 离体实验观察到, 三苯基锡 (triphenyltin chloride (TPT)) 强烈抑制鱼体的 GST 活性 (George and Buchanan); 有机锡化合物抑制沟篮子鱼 (*Siganus canaliculatus*) 和黄锡鲷 (*Sparus sarba*) 肝脏、肾脏的 GST 活性, 并且抑制能力的大小为  $\text{TBT} > \text{TPT} > \text{DBT}$  (二丁基锡 (dibutyltin)) (Al-Ghais and Ali, 1999). 而在体实验观察到, 暴露于低浓度 TBT (腹腔注射 916, 1913, 193  $\text{Lg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 的褐菖 (*Sebastes marmoratus*), 肝脏的 SOD、CAT 和 GST 活性出现诱导, 说明 TBT 在体内的积累和代谢过程中对生物体产生了氧化胁迫 (Wang et al., 2005). 体外实验观察到, 随着氯化三丁基锡 (tributyltin chloride (TBTCI)) 含量的增加及作用时间的延长, 牡蛎 (*Saccostrea cucullata*) SOD 的活力逐渐降低 (肖 湘等, 2002). 用 1, 10, 20, 30, 40  $\text{Lg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 TBTCI 对牡蛎作用 96 h 后, 随着 TBTCI 浓度的增加, 牡蛎的 CAT 和 SOD 活性逐渐降低 (肖 湘等, 2003). 然而有关环境真实浓度的有机锡对海洋生物抗氧化防御系统的研究报道甚少.

文蛤 (*Meretrix meretrix*) 是我国沿海常见的底栖贝类, 作为实验对象和监测的指标种类都有现实意义. 本实验在实验生态条件下观察环境水平的 TBT

暴露, 对文蛤 CAT、GST 活性及 MDA 和 GSH 含量的影响, 从而了解 TBT 对文蛤的抗氧化防御系统的影响, 并且进行了恢复实验, 更有利于探讨上述指标与 TBT 暴露的剂量-效应和时间-效应关系, 为有机锡污染的环境监测寻找有效的生物标志物.

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 仪器与试剂

Hitachi F24010 荧光分光光度计, Thermo GENESY™ 2 型可见紫外分光光度计, Beckman Coulter 冷冻离心机, 氯化三丁基锡购自 Fluka AG, Switzerland, 纯度大于 97%. 用 98% 的酒精溶解氯化三丁基锡为  $0.102 \sim 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (以 Sn 计) 的储备液. 其余试剂为国产市售分析纯.

### 1.2 实验动物和暴露条件

实验用文蛤捕捞于厦门海域, 体重为 28~48 g. 实验文蛤先在 60 L 清洁沙滤海水中暂养 7 d, 后将文蛤分别移入三丁基锡含量为  $0.11 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  的水体中, 对照组为含有  $0.105 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  乙醇的水体. 饲养水体为  $1 \text{ L}\cdot\text{只}^{-1}$ , 温度为  $13 \sim 15.5 \text{ }^\circ\text{C}$ , 盐度为  $22 \text{ j} \sim 23 \text{ j}$ , 用冲气机连续冲气, 每组设 2 个平行样. 每天更换一半相同污染浓度的海水, 并喂以小球藻 (*Chlorella* sp.), 每只文蛤投喂小球藻液 (密度  $214 \times 10^7 \text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$ )  $20 \sim 30 \text{ mL}$ .

### 1.3 取样和样品预处理

分别于暴露后的 2, 8, 20 d 及移回干净海水进行恢复 7 d 及 20 d 后取样, 每组取 6 个文蛤, 取出鳃组织保存于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  中, 粗酶液按 Livingstone (1988) 的方法进行制备.

GSH 测定采用 Hissin 和 Hilf (1976) 的方法; GST 测定采用 Habig 等 (1974) 的方法, GST 活性定义为  $1 \text{ mg}$  蛋白,  $1 \text{ min}$  使 GSH 浓度降低  $1 \text{ Lmol}\cdot\text{L}^{-1}$  为 1 个酶活力单位 ( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ ); CAT 测定采用徐静波等 (1997) 的方法, CAT 活性单位 ( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) 定义为  $1 \text{ mg}$  蛋白 ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ),  $100 \text{ s}$  内分解  $\text{H}_2\text{O}_2$  一半时的酶蛋白量; MDA 含量测定参考 Ohkawa (1979) 的方法. 上清液中的蛋白含量用考马斯亮蓝法 (郭敏亮等, 1996) 测定.

### 1.4 数据分析

实验数据用统计学方法进行处理. 结果用平均值  $\pm$  标准误差 (mean  $\pm$  SDE) 表示, 组间数据用单尾 T2 检验法进行比较,  $p < 0.05$  为显著差异;  $p < 0.01$  为极显著差异. 图中 \* 表示与对照组比较有显著差异.

## 2 结果(Results)

### 211 TBT 对文蛤鳃的 MDA 含量的影响

图 1 为 TBT 对文蛤鳃中 MDA 含量影响的测定结果. 在 TBT 暴露期间, 文蛤 MDA 含量呈现明显的诱导趋势, TBT 暴露 8 d 后, 除低浓度组外各处理组

与对照组比较都出现显著差异, 其中高浓度组在 8 d 出现极显著差异, 随着暴露时间延长, 中浓度组及高浓度组在 20 d 后呈现极显著差异. 恢复 7 d 后除了高浓度组仍然表现显著的诱导效应外, 其他组别 MDA 含量回落, 恢复 20 d 所有实验组 MDA 值与对照组相当.

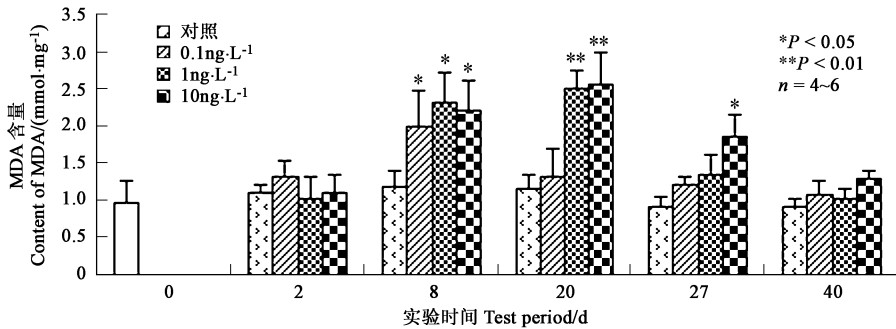


图 1 TBT 对文蛤鳃 MDA 含量的影响  
(27 d, 40 d 分别为恢复 7 d 和 20 d)

Fig. 1 Effect of TBT on MDA content of the gill in *Meretrix meretrix* (27, 40 days represent recovered for 7, 20 days respectively)  
(n = 4~6 \* P < 0.05 \*\* P < 0.01)

### 212 TBT 对文蛤鳃的 GSH 含量的影响

TBT 对文蛤鳃的 GSH 含量影响的结果见图 2. 文蛤在 TBT 暴露的第 2 天, 高浓度组对鳃组织的 GSH 作用表现出抑制效应, 而低浓度组和中浓度组均呈现诱导效应, 与对照组比较均呈现显著差异. 随

着暴露时间的延长, 8 d 后检测结果包括高浓度组也出现显著的诱导. 中浓度组暴露 20 d 仍然保持诱导状态, 其它各浓度组接近对照组. 解除污染胁迫后, 鳃组织的 GSH 水平均接近对照组.

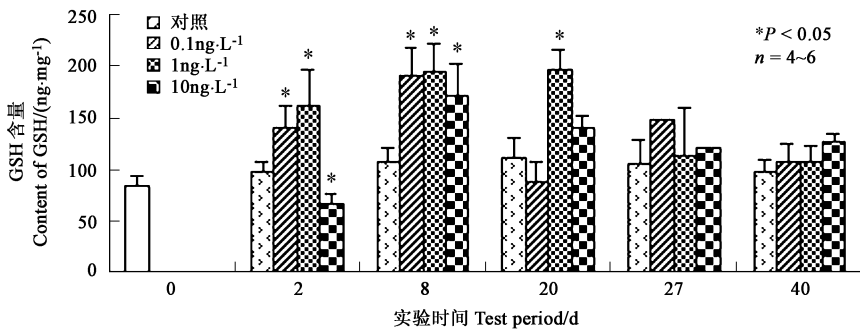


图 2 TBT 对文蛤鳃 GSH 含量的影响  
(27 d, 40 d 分别为恢复 7 d 和 20 d)

Fig. 2 The effect of TBT on reduced glutathione (GSH) content of the gill in *Meretrix meretrix* (27, 40 days represent recovered for 7, 20 days respectively)  
(n = 4~6 \*, P < 0.05)

### 213 TBT 对文蛤鳃的 GST 活性的影响

TBT 对文蛤鳃的 GST 活性的影响结果见图 3. TBT 暴露对鳃 GST 的影响表现出先抑制后诱导作用. 经 2 d 暴露, 所有的浓度组鳃组织 GST 活性均出现不同程度的抑制, 其中高浓度组显示出显著性差异. 随着暴露时间的延长高浓度组在 8 d 出现显著

诱导, 20 d 后中浓度组与高浓度组一样也表现出显著的诱导效应. 低浓度组在整个暴露试验过程 GST 变化不大. 解除污染, 鳃组织的 GST 活性回落至接近对照组.

### 214 TBT 对文蛤鳃的 CAT 活性的影响

TBT 对文蛤鳃的 CAT 活性影响结果见图 4. 用

TBT 处理文蛤 2 d, CAT 活性高浓度组与对照组之间呈现抑制效应且差异显著. 随着作用时间的延长, 8 d 后检测结果 TBT 出现诱导趋势, 但只有低浓度组

与对照组之间有显著差异, 随后, 处理组的 CAT 活性逐渐与对照组接近.

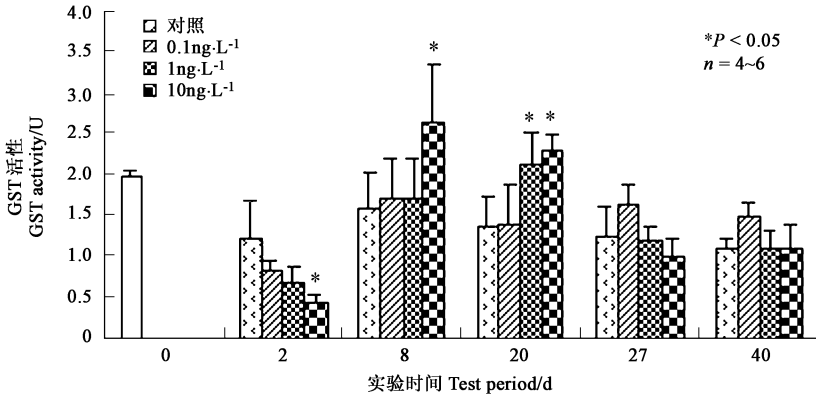


图3 TBT对文蛤鳃 GST 活性的影响  
(27 d, 40 d 分别为恢复 7 d 和 20 d)

Fig. 3 The effect of TBT on GST activity of the gill in *Meretrix meretrix* (27, 40 days represent recovered for 7, 20 days respectively) (n = 4~6 \* , P < 0.05)

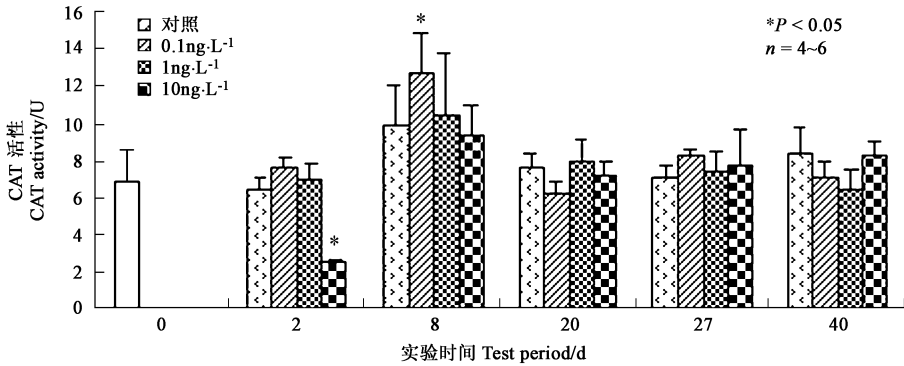


图4 TBT对文蛤鳃 CAT 活性的影响  
(27 d, 40 d 分别为恢复 7 d 和 20 d)

Fig. 4 Effect of TBT on CAT activity of the gill in *Meretrix meretrix* (27, 40 days represent recovered 7, 20 days) (n = 4~6 \* , P < 0.05)

### 3 讨论 (Discussion)

TBT 对水生生物, 特别是海洋软体动物具有很高的毒性. 低至  $1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$  的 TBT 暴露会诱导狗螺 (*Nucella lapillus*) 产生性畸变 (imposex) (Gibbs and Bryan, 1986). 然而, 有关环境真实水平的 TBT 暴露对海洋软体动物抗氧化防御系统的影响报道很少. 在本实验中, 随着染毒剂量的升高和时间的延长, 鳃组织 MDA 含量逐渐升高, 这说明环境真实水平的 TBT 暴露已经产生了明显的氧化胁迫. 污染解除后, 鳃组织的 MDA 并不是马上降低, 有可能是因为 TBT 的代谢和排出需要一定的时间. Morcillo 和 Porte

(2000) 通过十字蛤 (*Ruditapes decussata*) 的实验观察认为, TBT 在蛤类动物体内的代谢比其它生物更慢.

本研究中, 高浓度 TBT 组作用 2 d, GST 活性出现显著抑制, 随着暴露时间的延长, GST 活性呈现诱导效应, 酶活性的诱导是生物体在氧化胁迫时采取的一种应激性保护机制. 鳃是水生生物接触和吸收化学物的器官, 但不是一个主要的积累化学污染物的部位, GST 活性的诱导在暴露 2 d 后尚未出现, 而高浓度的化学物导致 GST 酶蛋白的破坏. 这与 AD Ghais 和 Ali (1999) 在体外研究中观察到的 TBT 对沟篮子鱼和黄锡鲷的肝脏与肾脏的 GST 活性产生抑制效应是一致的. GSH 既是 GST 和 GPx 的辅助因

子, 又是能够清除氧自由基的保护剂(Ross, 1988)。所以, 一方面, 生物体受到氧化胁迫会诱导 GSH 含量的升高; 另一方面, GSH 与污染物的结合导致 GSH 的消耗。Cookson 等(1998)用神经胶质细胞分别与亚急性毒性浓度三甲基锡、三乙基锡共同培养 24 h, 细胞内 GSH 显著升高。本研究中, TBT 暴露使鳃的 GSH 含量增加, 这是生物体在受到氧化胁迫时所产生的保护性反应, 而高浓度 TBT 在作用 2 d 后, GSH 含量出现显著降低, 可能是因为短时间暴露, GSH 诱导的量较少, 而高浓度的污染物大量消耗 GSH 所致。解除污染物的暴露后, GST 活性和 GSH 含量均恢复到与对照组相当的水平, 说明这两个指标对 TBT 暴露有良好的响应。在环境真实水平的 TBT 暴露下, 文蛤消化腺的 GST 活性和 GSH 含量出现显著抑制(Huang et al., 2005), 与本实验中鳃的 GST 活性和 GSH 含量总的效应是诱导相反, 主要原因是消化腺(即肝脏)是污染物主要的代谢和积累的器官, TBT 及其代谢产物在消化腺中的积累导致 GST 活性和 GSH 含量的下降。

有关 TBT 对水生生物 CAT 活性研究报道很少。肖湘等(2003)报道, 用浓度  $1 \sim 40 \text{ Lg}\#\text{L}^{-1}$  氯化三丁基锡(TBTCl)对牡蛎(*Saccostrea cucullata*)进行体内暴露实验, 结果表明, 随着 TBTCl 浓度的增加, 牡蛎的 CAT 活性逐渐降低。暴露于低浓度 TBT(腹腔注射  $916, 1913, 193 \text{ Lg}\#\text{kg}^{-1}$ )的褐菖蒲(*Sebastiscus marmoratus*), 肝脏的 CAT 活性出现诱导(Wang et al., 2005)。本试验中, TBT 处理文蛤 2 d 后, 在高浓度组与对照组之间 CAT 活性表现出显著抑制效应, 随着暴露时间的延长, 除中浓度组的 CAT 活性于作用 8 d 有诱导作用外, 其它组逐渐与对照组接近, 出现这种效应可能是短时间的污染物暴露使酶蛋白的失活所致, 随后机体的应激性恢复了 CAT 的代偿性机能。CAT 与其它抗氧化酶指标没有同步性, 可能是影响模式不完全相同, 因为  $\text{O}_2^-$  的歧化反应并不是  $\text{H}_2\text{O}_2$  的唯一来源,  $\text{H}_2\text{O}_2$  还可从氨基酸或细胞色素 P450 氧化酶所催化的反应中产生(Peters et al., 1994)。

#### 4 结论(Conclusions)

1) 在 TBT 暴露下, 鳃 GSH 和 MDA 含量、GST、CAT 活性均出现显著诱导, 这说明环境水平的 TBT 已经对文蛤产生明显的氧化胁迫, 低浓度的 TBT 除了具有内分泌干扰等毒性之外, 其对生物体所产生

的氧化胁迫也应引起我们的重视。

2) MDA 含量和 GSH、GST 活性在 TBT 暴露的情况下出现诱导, 在解除了 TBT 的胁迫后, 这些指标都恢复到与对照组相当的水平, 说明这些指标能较好的反映 TBT 暴露导致的氧化胁迫的情况, 其最低可观察效应(如在  $0.11 \text{ ng}\#\text{L}^{-1}$ (以 Sn 计)组与对照组 MDA 和 GSH 含量存在显著差异)低于标准检测限( $> 1 \text{ ng}\#\text{L}^{-1}$ 的 TBT, 相当于  $0.136 \text{ ng}\#\text{L}^{-1}$ (以 Sn 计)), 更低于欧共体允许的水体污染水平( $2 \text{ ng}\#\text{L}^{-1}$ 的 TBT)(Environmental Agency, 1998), 可以作为潜在的监测海洋有机锡污染的生物标志物。

通讯作者简介: 陈奕欣(1949), 女, 福建厦门人, 教授, 从事分子生物学研究。Tel: 059222187353 Email: cheniyix@yanan.xmu.edu.cn

#### 参考文献(References):

- Al-Ghais S M, Ali B. 1999. Inhibition of glutathione S-transferase catalyzed xenobiotic detoxication by organotin compounds in tropical marine fish tissues[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 62: 207) 213
- Alzieu C. 1998. Tributyltin: case study of a chronic contaminant in the coastal environment[J]. *Ocean and Coastal Management*, 40: 23) 36
- Cookson MR, Slamon ND. 1998. Pentreath V W. Glutathione modifies the toxicity of triethyltin and trimethyltin in C6 glioma cells [J]. *Arch Toxicol*, 72: 197) 202
- George S G, Buchanan G. 1990. Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione S-transferases[J]. *Fish Physiol Biochem*, 8: 437) 449
- Gibbs P E, Bryan G W. 1986. Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints[J]. *J Mar Biol Assoc (UK)*, 66: 767) 780
- Guo Minliang, Jiang Yongming. 1996. Effect of ingredients of coomassie brilliant blue color-developing reagent on protein assay [J]. *Prog Biochem Biophys*, 23(6): 558) 561(in Chinese)
- Habig W H, Pabst M J, Jokoby W B. 1974. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation [J]. *J Biol Chem*, 249: 7130) 7139
- Hissin P J, Hilf R A. 1976. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues [J]. *Anal Biochem*, 74(1): 214) 226
- Huang Z Y, Chen Y X, Zhao Y, et al. 2005. Antioxidant responses in *Meretrix meretrix* exposed to environmentally relevant doses of tributyltin [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20: 107) 111
- Jha A N, Hagger J A, Hill P J, et al. 2000. Genotoxic, cytotoxic and developmental effects of tributyltin oxide (TBT-O): an integrative approach to the valuation of the relative sensitivities of two marine species[J]. *Mar Environ Res*, 50: 565) 573
- Jiang G B, Zhou Q F, Liu J Y, et al. 2001. Occurrence of butyltin compounds in the waters of selected lakes, rivers and coastal

- environments from China[J]. *Environ Pollut*, 115: 81) 87
- Livingstone D R. 1988. Responses of microsomal NADPH2cytochrome c reductase activity and cytochrom P2450 in digestive glands of *Mytilus edulis* and *Littorea* to environmental and experimental exposure to pollutants[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 46: 37) 43
- Marin M G, Moschino V, Cima F, et al. 2000. Embryo toxicity of butyltin compounds to the sea urchin *Paracentrotus livius*[J]. *Mar Environ*, 50: 231) 235
- Michel P, Averty B. 1999. Contamination of french coastal waters by organotin compounds: 1997 update[J]. *Mar Pollut Bull*, 38: 268) 275
- Morcillo Y, Porte C. 2000. Evidence of endocrinosis tribution in clams *Ruditapes de cussata* transplanted to a tributyltin polluted environment [J]. *Environ Pollut*, 107: 47) 52
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animals and tissues by thiobarbituric acid reaction [J]. *Ana Biochem*, 95: 351) 358
- Ross D. 1988. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Mechanisms of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection[J]. *Pharmacol Therapeut*, 37: 231) 249
- Thomas K V, Walkom M J, Readman J, et al. 1999. Monitoring of antifouling paint booster biocides and tributyltin in UK marinas, estuaries and coastal waters [M]. A report for the Department of Environment, Transport and the Regions and the Environment Agency (EPG), IP90 & P2) 118
- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N P E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 13: 137) 149
- Wang C G, Chen Y X, Li Y, et al. 2005. Effects of low dose tributyltin on activities of hepatic antioxidant and phase II enzymes in *Sebastes marmoratus* [J]. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 74 (1): 114) 119
- Xiao Xiang, Hang Yali, Li Xingnuan, et al. 2002. Effect of tributyltin on superoxidizedismustase from *Saccostrea cucullata* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 21(4): 339) 343 (in Chinese)
- Xiao Xiang, Hang Yali, Xu S N, et al. 2003. Effect of tributyltin chloride on antioxidant of *Saccostrea cucullata* [J]. *Food Science*, 24(5): 137) 139 (in Chinese)
- Xu J B, Yuan X F, Lang P Z. 1997. Determination of catalase activity and catalase inhibition by ultraviolet spectrophotometry [J]. *Chinese Environ Chem*, 16: 73) 76
- Peters L D, Porte C, Albaiges J, et al. 1994. 2-Ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and antioxidant enzyme activities in larvae of sardine (*Sardina Pilchardus*) from the North coast of Spain [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 28(5): 299) 304
- 中文参考文献:
- 郭敏亮, 姜涌明. 1996. 考马斯亮蓝显色液组分对蛋白质测定的影响 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 23(6): 558) 561
- 肖湘, 韩雅莉, 李兴暖, 等. 2002. 三丁基锡对牡蛎超氧化物歧化酶的影响 [J]. *台湾海峡*, 21(4): 339) 343
- 肖湘, 韩雅莉, 徐淑暖, 等. 2003. 氯化三丁基锡对牡蛎抗氧化作用的影响 [J]. *食品科学*, 24(5): 137) 139