

三种持久性有机污染物对罗非鱼肝脏抗氧化系统的体外影响

王素敏¹, 王海燕¹, 韩大雄²

(1. 国家海洋局第三海洋研究所 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学 药学院 福建 厦门 361005)

摘要: 以罗非鱼 (*Mossambica tilapia*) 为研究对象, 研究了海洋环境中三种典型持久性有机污染物 [四溴双酚 A (TBBPA), 多氯联苯 (PCB126), 荧蒽 (Flu)] 体外染毒对罗非鱼肝脏抗氧化系统 (GSH, SOD, GST) 的影响。三种污染物在低浓度 (ng/L) 时显著抑制 GSH 含量, 高浓度时 GSH 含量有所回升, 浓度超过一定值时, GSH 含量迅速下降; GST 活性变化趋势与 GSH 相似, TBBPA 100 ng/L 与 Flu 50 ng/L 暴污时显著诱导 GST 活性; TBBPA 与 PCB126 仅在最高浓度 (100 μg/L) 时抑制 SOD 活性, 而 Flu 浓度大于 500 ng/L 时即显著抑制 SOD 活性。结果表明, GSH 和 GST 对污染物较为敏感, 变化趋势呈现相似性。因此, GSH 和 GST 有可能作为持久性有机污染物早期预警的生物指标。

关键词: 持久性有机污染物; 罗非鱼; 抗氧化系统; 体外

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2013)02-0216-05

In vitro effects of three persistent organic pollutants on antioxidant defense system in *Mossambica tilapia* liver

WANG Su-min¹, WANG Hai-yan¹, HAN Da-xiong²

(1. Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: In vitro effects of tetrabromobisphenol A (TBBPA), polychlorinated biphenyls (PCB126), fluoranthene (Flu) on glutathione (GSH) contents, glutathione S-transferase (GST) activity and superoxide dismutase (SOD) activity in *Mossambica tilapia* liver were examined. Under the experimental doses, GSH contents were inhibited at low level exposure of all the pollutants, then recovered with the increase of concentrations, when the concentration exceeds a certain value, GSH content decreased rapidly. The change of GST activity was similar to GSH, and GST activity was significantly induced exposed to 100 ng/L of TBBPA and 50 ng/L of Flu; SOD activity was significantly inhibited at 100 μg/L exposure of TBBPA and PCB126, when the concentration was greater than 500 ng/L. Flu exposure significantly inhibited SOD activity. The results showed that GSH and GST were sensitive to the pollutants, and their changes were similar. So GSH and GST could be used as a potential biomarker for early warning of the persistent organic pollutants.

Key words: persistent organic pollutants; *Mossambica tilapia*; antioxidant defense system; *in vitro*

在海洋环境中, 持久性有机污染物 (persistent organic pollutants, POPs) 吸附在沉积物中, 积聚在海洋生物的脂肪组织中, 并通过食物链传播, 对海洋生物及人类健康造成损害^[1]。大量研究表明: 多环芳烃、多氯联苯等 POPs 是导致生物体中过量活性氧自由基 (ROS) 产生的重要根

源^[2]。当体内 ROS 增加时, 抗氧化系统, 又称活性氧 (ROS) 清除系统会受到影响, 因此研究 POPs 对生物体的氧化胁迫作用引起了众多专家学者的重视。李康等^[3]研究了苯并(a)芘对鲫鱼抗氧化酶的影响, 结果表明: 所有暴露浓度均对 SOD 活性明显抑制; 低浓度暴露, 过氧化氢

收稿日期: 2012-03-02, 修订日期: 2012-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助基金 (40976050); 海洋公益性项目 (201105013); 福建省重大专项/专题项目 (2011YZ0001-4); 国家海洋局第三海洋研究所基本科研业务费专项基金资助项目 (201221)

作者简介: 王素敏 (1984-) 女, 河北省保定市人, 研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: astonish101@yahoo.com.cn

通讯作者: 王海燕, 研究员, E-mail: why@xmu.edu.cn

酶(CAT)无显著改变,高浓度时,CAT活性显著升高,随暴污时间延长,活性下降。Cheung等^[4]测定了苯并(a)芘和多氯联苯1254的混合物对绿嘴贻贝抗氧化酶的影响,监测18d的结果表明:特定的抗氧化生物标志物在评估海洋环境复杂污染物的影响程度中起重要作用。

四溴双酚A(TBBPA)是目前世界上使用范围最广的溴化阻燃剂之一,作为类似于“PCBs”的潜在环境内分泌干扰物,目前国内对其毒性作用研究相对较少。多氯联苯(PCBs)作为12种优先控制的持久性有机污染物之一,对其毒性作用研究主要以混合物为主,单体研究较少。多环芳烃(PAHs)化合物具有强烈的致癌性质,被许多国家环保组织列为优先控制的污染物。罗非鱼是中国东南沿海一种重要的经济鱼类,具有适应性强、食性广、鱼病少等特点,已有报道用罗非鱼作为材料进行毒理学研究,因此本文以罗非鱼为受试生物,通过染毒时间短,作用快的体外染毒方式,研究TBBPA、PCBs毒性较强的单体PCB126和沉积物中含量较多的PAHs单体荧蒽(Flu)对罗非鱼肝脏抗氧化系统指标[还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽硫转移酶(GST)、超氧化物歧化酶(SOD)]的影响,以期找到合适的生物标志物来快速评价有机污染物对鱼类的影响。

1 材料与方法

1.1 实验仪器和材料

本研究使用美国Molecular Devices SpectraMax M2/M5微孔板检测系统、德国IKA T18匀浆器、Mikro 220R冷冻离心机、超低温冰箱、移液枪、96孔细胞培养板(costar)。

TBBPA、PCB126、Flu、邻苯二甲醛(OPA)、还原型谷胱甘肽(GSH)购自sigma公司,邻苯三酚、1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB),及其它化学药品和试剂均为国产分析纯。

1.2 实验生物

实验用鱼罗非鱼(*Mossambica tilapia*)购于同安养殖场鱼排,体重25g左右,实验前在实验室环境中暂养7d。

1.3 取样及样品制备

上清液的制备采用Stegeman等^[5]和Forlin^[6]的方法。杀鱼取出肝脏后,用预冷的0.15%KCl溶液洗涤,滤纸吸取血渍。按1:5(W/V)的比例加入预冷的pH7.4的缓冲液中,冰浴下匀浆。匀浆液在4℃下,10000g离心30min,分装,置于-80℃冰箱保存,上清液用于抗氧化系统指标的测定。

1.4 染毒实验

三种污染物配成一定浓度的储备液,逐级稀释为系列浓度,避光保存。实验设一个对照组和14个浓度组,采用Viarengo等^[7]的方法反应进行染毒实验,分别取10μL不同浓度的污染物,10μL肝脏上清液,相应缓冲溶液在96孔板中混匀,室温下孵育30min。污染物最终浓度分别为0.05,0.1,0.5,1,5,10,50,100,500ng/L;1,5,10,

50,100μg/L。

1.5 GSH含量和酶活性的测定

1.5.1 GSH含量测定

还原型GSH含量测定参照Hissin^[8]的方法,略作修改。GSH在pH=8下,与邻苯二甲醛(OPA)反应生成具有高度荧光的化合物。取10μL上清液,加入280μL0.1mol/L的磷酸缓冲溶液(pH=8.0)和10μL邻苯二甲醛的乙醇溶液(1g/L),充分混合,室温下放置30min。以350nm为激发波长,在430nm下测定荧光强度。标准溶液和空白溶液均如上操作。通过标准曲线计算上清液GSH含量。平行测定六次。

1.5.2 GST活性的测定

GST活性采用Habig等^[9]的方法,并加以改进。一个GST活力单位定义为:扣除非酶反应,每分钟催化1μmolGSH浓度与CDNB结合所需的酶量,单位为U/mL。

室温下,于96孔板中加入上清液10μL,0.1mol/LpH6.5的磷酸缓冲溶液270μL,90mmol/L的GSH溶液10μL,最后加入10μL30mmol/L的CDNB溶液,混匀。在340nm下每30s测定一次吸光值,测定5min。非酶反应不加上清液,其它步骤同上。平行测定六次。

1.5.3 SOD活性测定

SOD活性测定采用邻苯三酚自养化法^[10-11],酶活性定义为:每毫升反应液中,每分钟抑制邻苯三酚自养化速率达50%所需的酶量,单位为U/mL。

室温下,于96孔板中加入0.1mol/L的pH8.2的Tris-HCl溶液150μL,蒸馏水140μL,最后加入10μL4.5mmol/L邻苯三酚溶液,混匀,于325nm下,每30s测定一次吸光值,测定5min。计算邻苯三酚自养化速率。

按上述步骤加入10μL上清液,使其抑制邻苯三酚自养化速率约为50%。平行测定六次。

1.6 数据分析

所有数据均以6个平行组数据的平均值±标准差(Mean±SD)表示。采用SPSS16.0统计软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并以P≤0.05(*)表示显著差异。

2 实验结果

2.1 污染物对鱼肝GSH含量影响

三种持久性有机污染物对GSH含量的体外影响如图1所示。由图1可以看出,三种污染物作用下,GSH含量基本呈现先下降再缓慢上升又下降的趋势。其中TBBPA染毒时,GSH含量先略微升高再显著降低,TBBPA浓度仅为1ng/L时,GSH含量降到最低值并与对照组有显著差异。随着暴污浓度的增加,GSH含量缓慢回升到对照组水平,之后迅速下降,与对照组呈显著差异;而PCB126、Flu作用时,随着浓度的增加,GSH含量降低,在50ng/L时降到最低。随后,GSH含量随着污染物浓度增加而缓慢回升,基本恢复到对照组水平。之后污染物浓度再增加,GSH含量迅速

降低,与对照组相比有显著差异(PCB126除外)。由实验结果看出,GSH对TBBPA更为敏感。

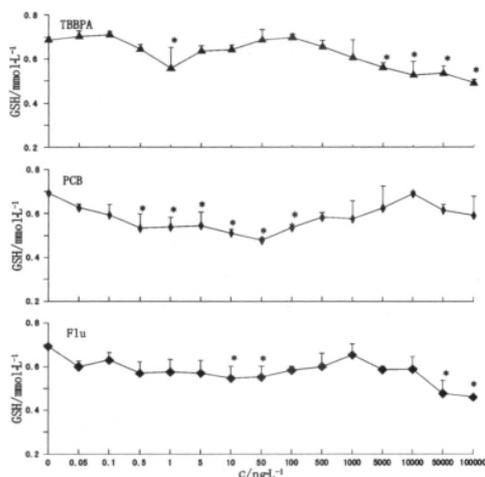


图1 三种污染物对鱼肝GSH含量的影响
(*表示与对照组相比差异显著 $P \leq 0.05$)

Fig. 1 Effect of three pollutants in different concentrations on content of GSH in liver of *M. tilapia*

(Asterisks showed significant difference between exposed group and control group $P \leq 0.05$)

2.2 污染物对鱼肝GST活性的影响

三种持久性有机污染物对GST活性的体外影响如图2所示。由图2可以看出,TBBPA、Flu染毒时,GST活性变化趋势相似:随着污染物浓度的增加,GST活性先下降,TBBPA、Flu浓度分别为1 ng/L和0.5 ng/L时,抑制达到最大,并与对照组相比有显著差异,然后GST活性开始回升,当TBBPA浓度为100 ng/L,Flu为50 ng/L时,GST活

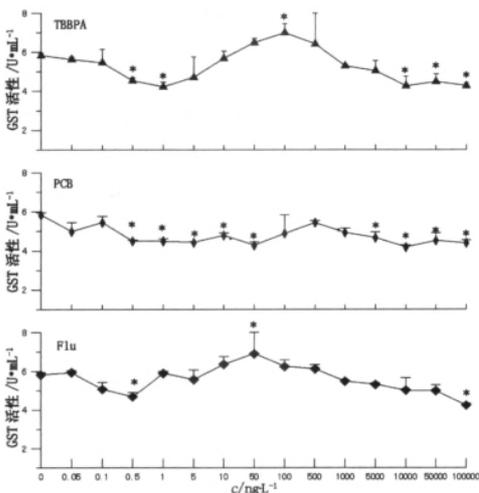


图2 三种污染物对鱼肝GST活性的影响
(*表示与对照组相比差异显著 $P \leq 0.05$)

Fig. 2 Effect of three pollutants in different concentrations on activity of GST in liver of *M. tilapia*

(Asterisks showed significant difference between exposed group and control group $P \leq 0.05$)

性被显著诱导,且达到峰值。随后,随着污染物浓度的增加,GST活性迅速下降。浓度为100 $\mu\text{g/L}$ 时,GST活性与对照组相比有显著差异。比较两种污染物对GSH和GST的作用曲线可知,作用曲线基本一致,都是先下降再上升再下降。而且,TBBPA为1 ng/L时,GSH含量和GST活性均为最低值;而对于PCB126,GST活性总体上表现为抑制。

2.3 污染物对鱼肝SOD活性的影响

三种持久性有机污染物对SOD活性的体外影响如图3所示。由图3可以看出,污染物在大部分浓度下对SOD活性影响不大,活性与对照组相比没有显著差异。TBBPA与PCB126在高浓度时(100 $\mu\text{g/L}$)对SOD活性产生显著抑制,Flu相对更敏感,浓度高于500 ng/L后就显著抑制SOD活性。

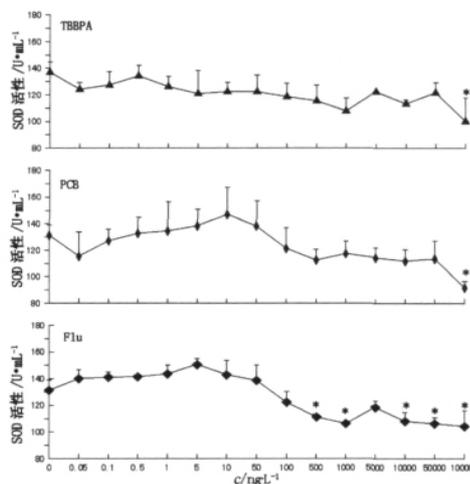


图3 三种污染物对鱼肝SOD活性的影响
(*表示与对照组相比差异显著 $P \leq 0.05$)

Fig. 3 Effect of three pollutants in different concentrations on activity of SOD in liver of *M. tilapia*

(Asterisks showed significant difference between exposed group and control group $P \leq 0.05$)

3 讨论

GSH是由谷氨酸、半胱氨酸、及甘氨酸组成的三肽,是生物体内重要的抗氧化剂,既可以作为谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)的底物,通过这两种酶起解毒作用,又可直接与生物体内的氧自由基及亲电子化合物结合起解毒作用^[12]。本文研究的三种污染物在低浓度时抑制GSH含量,随着浓度的增大,GSH含量有所回升,这与前人的研究结果^[13-15]相一致。张景飞^[13]在研究2,4-二氯苯酚对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响中发现:GSH含量被显著抑制,在一定浓度范围内随着浓度的增大,GSH含量降低。当污染物达到一定浓度后,GSH含量又开始回升。冯涛等^[14]研究苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏和卵巢还原型谷胱甘肽含量影响的比较研究时发现,暴露3 d时,随浓度的增加,GSH含量先降低后升高。低

浓度暴污时,GSH含量降低,这可能是污染物诱导自由基的生成,产生氧化胁迫,GSH发挥作用清除自由基,使其含量降低。当污染物达到一定浓度后,GSH含量又有所回升,这可能是由于污染物暴露导致谷胱甘肽还原酶(GR)活性显著诱导,而GR是一种将氧化型谷胱甘肽(GSSG)催化反应成还原型(GSH)的酶,所以GR活性上升,GSH含量上升。Ronisz等^[16]发现100 mg/kg TBBPA暴露时,谷胱甘肽还原酶(GR)活性上升。Timothy等^[17]研究PCB混合物对肝脏谷胱甘肽相关酶的影响时,GR活性显著诱导,Porte等^[18]也发现PAHs暴污时显著诱导GR活性。我们实验结果还显示:当浓度超过一定值时,GSH含量迅速下降,并呈显著差异。这可能是当污染物大于一定浓度后,超过了机体的调节能力,GSH含量迅速下降,并产生氧化损伤。所研究的三种污染物中,TBBPA对GSH的作用最明显,表现在低浓度(ng/L)暴污时,GSH含量显著降低。这与苏燕等^[15]研究TBBPA对鲫鱼血清抗氧化系统影响中发现GSH对TBBPA很敏感的结论一致。

GST具有Ⅱ相解毒酶和抗氧化酶双重作用。作为生物体内重要的Ⅱ相解毒酶,主要是催化某些内源性或外来污染物的亲电子基团与还原型谷胱甘肽的巯基结合,增加其疏水性使其易于排出;作为抗氧化酶,可以抑制脂质过氧化。本研究结果表明:浓度为ng/L水平时,TBBPA、PCB126及Flu显著抑制GST活性;而浓度为几十ng/L时,TBBPA和Flu显著诱导GST活性,随着浓度的进一步增大,TBBPA、PCB126和Flu又显著抑制GST活性。这和张景飞^[13]在研究2,4-二氯苯酚对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响结果有一定的相似性:经过40 d的暴露,GST活性在低浓度时受到抑制,但与对照组没有显著差异,随着浓度的增加,GST活性受到短暂激活,污染物到达一定程度后,GST活性重新下降。但其他研究者得出不同结论:Timothy等^[17]的研究中不同PCB化合物对GST影响不同,暴污一周时,PCB77显著诱导GST活性,而PCB38显著抑制GST活性;Jasmine等^[19]研究BaP暴露对鲤鱼生物标志物的影响时发现,暴污2 d时GST先下降后缓慢回升,而暴污7 d时GST活性显著诱导并有剂量-效应关系;Ronisz等^[16]的研究TBBPA 50 mg/kg暴露时,虹鳟鱼GST活性没有变化。这是因为不同的物种,污染物种类,暴污时间和暴污方式都会影响实验结果。本文所研究的三种污染物中,TBBPA和PCB126对GST作用最明显,表现在低浓度(ng/L)暴污时,GST活性明显改变。

SOD是体内唯一以自由基为底物的抗氧化酶,本文中三种污染物对SOD活性影响不明显。TBBPA和PCB126仅在高浓度(100 μg/L)时显著抑制SOD活性。Flu在较高浓度(大于500 ng/L)时显著抑制SOD活性。这与李康^[3]、Lei^[20]等人的研究结果一致,高浓度BaP导致SOD活性下降,这可能是当氧化胁迫程度较低时,SOD通过歧化反应消除O₂⁻将O₂⁻分解为H₂O₂和O₂,但当氧化压力超过其歧化能力时,SOD活性才受到抑制。

4 结论

(1) 本研究中,三种有机污染物的体外暴污,引起了鱼肝的氧化胁迫,导致抗氧化系统指标的变化。不同污染物,浓度不同,对三种抗氧化系统指标影响不同:低浓度(ng/L)时,GSH和GST被三种污染物显著抑制,随后随着浓度的增加,GSH含量和GST活性有所回升,在几十ng/L时,TBBPA和Flu显著诱导GST活性。高浓度(100 μg/L)时,GSH,GST和SOD均被三种污染物显著抑制。

(2) 本研究结果表明:GSH变化趋势与体内研究结果相吻合^[12-13,18],说明本文研究的体外实验体系与体内实验结果具有一定的可比性。而且体外暴污时,GSH和GST对污染物较为敏感,变化趋势呈现相似性。因此,GSH和GST有可能作为持久性有机污染物早期预警的生物指标。

(3) 由实验结果可以看出,三种污染物中,TBBPA对抗氧化系统指标影响最大,证实了这种新型污染物的潜在毒性和不可忽视性,因此,有必要进一步加强对其在环境中的监测分析和毒性研究。

参考文献:

- [1] VALLACK H W,BAKKER D J,BRANDT I,et al. Controlling persistent organic pollutant-what next? [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*,1998,6:143-175.
- [2] KAPPUS H,SIES H. Toxic drug effects associated with oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms [J]. *Experientia*,1981,37:1233-1241.
- [3] 李康,周忠良,王明山,等. 苯并(a)芘对鲫鱼肝脏抗氧化酶的影响[J]. *应用与环境生物学报*,2003,10(1):88-91.
- [4] CHEUNG C C C,SIU W H L,RICHARDSON B J,et al. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Arochlor1254 exposure in the green-lipped mussel [J]. *Environ Pollut*,2004,128:393-403.
- [5] STEGEMAN J J,BINDER R L,ORREN A. Hepatic and extrahepatic microsomal electron transport components and mixed-function oxygenases in the marine fish *stenotomus veris* [J]. *Biochem Pharmacol*,1979,25:3431-3439.
- [6] FÖRLIN L. Effects of clophen A50,β-methylcolantrene, pregelone-16α-carbonitrile and phenobarbital on the hepatic microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase system in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, of different age and sex [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*,1980,54:420-430.
- [7] ALDO V,ELISA B,RITA F. Heavy metal inhibition of EROD activity in liver microsomes from the bass *dicentrarchus labrax* exposed to heavy metal effects [J]. *Marine Environ Res*,1997,44(1):1-11.
- [8] HISSIN P J,HILIF R. A Fluorimetric method for the direct determination of oxidized and reduced glutathione in tissues [J]. *Analytical Biochemistry*,1976,74:214-226.
- [9] HABIG W H,PABST M J,JAPOBY W B. Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation

- [J]. Journal of Biological Chemistry ,1974 249: 7130-7139.
- [10] MARKLUND S ,MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase [J]. European Journal of Biochemistry ,1974 47: 469-474.
- [11] 邹国林,桂兴芬,钟晓凌,等. 一种 SOD 的测定方法-邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展,1986 4: 71-73.
- [12] STEGEMAN J J ,BINDER R L ,ORREN A. Hepatic and extra-hepatic microsomal electron transport components and mixed-function oxygenases in the marine fish stenotomus ver siolor [J]. Biochem Pharmacol ,1979 25: 3431-3439.
- [13] 张景飞. 两种典型有机污染物对水生生物抗氧化防御系统的影响[D]. 南京: 南京大学 2004: 1-130.
- [14] 冯涛,郑微云. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏和卵巢还原型谷胱甘肽含量影响的比较研究[J]. 海洋环境科学,2001 20(1): 12-15.
- [15] 苏燕,范涤敏,罗义,等. 四溴双酚 A 对鲫鱼血清抗氧化系统的影响[J]. 南京大学学报: 自然科学版,2007 43: 164-170.
- [16] RONISZ D ,FARMEN F ,KARLSSON H ,et al. Effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane (HBC-DD) and tetrabromobisphenol A (TBBPA) on hepatic enzymes and other biomarkers in juvenile rainbow trout and feral eelpout [J]. Aquatic Toxicol 2004 69: 229-245.
- [17] TIMOTHY P ,TWAROSKI M L ,et al. Effects of selected polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on hepatic glutathione, glutathione-related enzymes, and selenium status: implications for oxidative stress [J]. Biochem Pharma 2001 62: 273-281.
- [18] PORTE C ,BIOSCA X ,SOLE M ,et al. The integrated use of chemical analysis cytochrome P450 and stress proteins in mussels to assess pollution along the Galician coast (NW Spain) [J]. Environmental Pollution 2001 112: 261-268.
- [19] JASMINE N ,LIONEL C ,PATRICE G ,et al. PAH biomarker responses in polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to benzo(a)pyrene [J]. Aquatic Toxicol 2009 94: 309-319.
- [20] LEI A P ,HU Z L ,WONG Y S ,et al. Antioxidant responses of microalgal species to pyrene [J]. Appl Phycol 2006 18: 67-78.

(上接第 210 页)

4 结 论

根据广东沿岸牡蛎体内 Cr 含量连续 14 a 的监测结果,阐述了牡蛎体内 Cr 含量近年来的变化趋势和地域分布,并对其食用风险做出了评价。

1997~2006 年期间,牡蛎体内 Cr 的年际变化呈现逐渐降低的趋势,从 2006 年后略微上升;空间分布特征表现为珠江口 > 粤东 > 粤西。

单因子指数和非致癌性风险指数评价结果均小于 1,表明广东沿岸牡蛎未受到 Cr 污染,食用不会对人体具有致癌性风险。

致谢:感谢南海水产研究所渔业环境研究室工作人员对本研究的大力协助。

参考文献:

- [1] 周文敏,傅德黔,孙宗光. 水中优先控制污染物黑名单[J]. 中国环境监测,1990 6(4): 1-3.
- [2] 李爱琴,唐宏建,王阳峰,等. 环境中铬污染的生态效应及其防治[J]. 中国环境管理干部学院学报,2006 16(1): 74-77.
- [3] 贾晓平,林钦. 广东沿岸牡蛎体 Cd 含量及时空分布特点[J]. 中国水产科学,2000 7(4): 82-86.
- [4] 贾晓平,李纯厚,林钦,等. 广东沿海牡蛎体 Cr 含量水平及时空变化趋势[J]. 水产学报,2000 24(6): 527-532.
- [5] GB 17378.6-1998 海洋监测规范 第 6 部分:生物体分析[S].
- [6] GB18406.4-2001 农产品安全质量无公害水产品安全要求[S].
- [7] 唐洪磊,郭英,孟祥周,等. 广东省沿海城市居民膳食结构及食物污染状况的调研一对持久性卤代烃和重金属的人体暴露水平评价[J]. 农业环境科学学报,2009 28(2): 329-336.
- [8] 陈海刚,贾晓平,蔡文贵,等. 1989—2010 年广东沿海牡蛎体内锌的时空分布特征与污染水平分析[J]. 水产学报,2011, 19(3): 25-31.
- [9] 谷阳光. 广东沿海沉积物中生源要素、重金属分布及其潜在生态危害评价[D]. 广州:暨南大学,2009: 33-38.
- [10] WONG C K ,CHEUNG R Y ,WONG M H. Heavy metal concentrations in green-lipped mussels collected from Tolo Harbour and markets in Hong Kong and Shenzhen [J]. Environ Pollut 2000, 109(1): 165-171.
- [11] 甘居利,贾晓平,林钦,等. 中国海洋贻贝观察: 华南沿海近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 体多氯联苯含量时空变化[J]. 海洋与湖沼,2009 40(6): 726-731.
- [13] 王增焕,林钦,王许诺. 大亚湾海洋生物体内铅的含量与风险评估[J]. 南方水产,2010 6(1): 54-58.