

露空对红树蚬生物标志物的影响 *

The Effects of Air Exposure on Biomarkers of Mangrove Mud Clam (*Polymesoda erosa*)

武文丽^{1,2}, 杨明柳², 吴斌², 廖思明², 吴志强¹, 阎冰^{2**}

WU Wen-li^{1,2}, YANG Ming-liu², WU Bin², LIAO Si-ming², WU Zhi-qiang¹, YAN Bing²

(1. 桂林理工大学, 广西桂林 541004; 2. 广西红树林研究中心, 广西红树林保护与利用重点实验室, 广西北海 536007)

(1. Guilin University of Science and Technology, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Guangxi Mangrove Research Center, Guangxi Key Laboratory of Mangrove Conservation and Utilization, Beihai, Guangxi, 536007, China)

摘要:【目的】研究样品露空运输过程对红树蚬(*Polymesoda erosa*)生物标志物的影响。【方法】野外采集的红树蚬经8℃、26℃和35℃露空处理8h,随后在26℃海水中暂养恢复3h、6h、12h和24h,测定红树蚬血液超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、谷胱甘肽转硫酶(GST)活性,以及铁还原力(FRAP)和丙二醛(MDA)含量。【结果】8℃和35℃露空处理,SOD、CAT、AChE、GST、FRAP和MDA均显著升高。26℃露空处理,SOD、AChE和MDA显著升高,GST显著降低,CAT和FRAP有所降低但不显著。经过暂养,红树蚬各项指标均能恢复到初始水平,但24h内波动较大。【结论】露空对红树蚬的生物标志物有显著影响。26℃露空8h后,经3~6h暂养,红树蚬生物标志物与初始水平最接近。

关键词:红树蚬 露空 生物标志物

中图分类号:X8 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2014)02-0153-05

Abstract:【Objective】In this study, the effects of air exposure on responses of the biomarkers of mangrove mud clam (*Polymesoda erosa*) in transit was explored. 【Methods】The clams, after being exposed to air for 8h at 8℃, 26℃ and 35℃, were placed back in seawater of 26℃ for 3h, 6h, 12h and 24h, respectively, and then six biomarkers of the clams haemolymph were measured, including superoxide dismutase activity (SOD), catalase activity (CAT), acetylcholinesterase activity (AChE), glutathione S-transferase activity (GST), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and malodiadehyde content (MDA). 【Results】Significant increases in SOD, CAT, AChE, GST, FRAP and MDA were observed in the clams exposed to air at 8℃ or 35℃. Significant increases in SOD, AChE and MDA, great decrease in GST, and slight decreases in CAT and FRAP were found in the clams exposed to air at 26℃. All six biomarkers recovered to

their initial levels after the clams were put back in seawater for 24h, but they were found fluctuated within 24h. 【Conclusion】The effects of air exposure on biomarkers of the clam were found to be significant. In all treatments, the levels of biomarkers of the clams exposed to air for 8h at 26℃ and then placed back in seawater for 3h to 6h were closest to their initial levels.

Key words: *Polymesoda erosa*, air exposure, biomarkers

收稿日期:2013-12-19

修回日期:2014-03-10

作者简介:武文丽(1987-),女,硕士研究生,主要从事环境工程研究。

* 国家海洋公益性行业科研专项项目(201005012),广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0719005-2-2C),广西红树林保护与利用重点实验室基金课题(GKLMC-08),广西科学院基本科研业务费项目(13YJ22HS13)资助。

** 通讯作者:阎冰(1966-),男,研究员,主要从事红树林污染生态研究。E-mail:gxybing@tom.com。

【研究意义】随着沿海经济的高速发展,大量的工业废水和生活污水排入海,导致海洋环境日趋恶化,监测这些污染物及其对海洋生态的影响,对其进行风险评估和管理十分重要。生物标志物(Biomarker)能够敏感地反映生物体发生严重损伤之前的变化,为环境污染提供早期预警^[1]。近二十年来,生物标志物被越来越多地应用到海洋环境监测评估项目中^[2~5]。生物标志物受到诸多非污染因素(如性别、年龄、营养状况及季节变化等)的影响,认识这些因素及影响规律,对应用生物标志物评估污染状况过程中减小或排除非污染因素的干扰有重要的意义。**【前人研究进展】**Hagger JA 等^[6]的研究表明季节变化对紫贻贝(*Mytilus edulis*)生物标志物有显著影响,选择适宜的监测时间、利用多生物标志物综合分析可以降低这种影响。Pereira P 等^[7]研究了非污染因素对滨蟹(*Carcinus maenas*)生物标志物的影响,发现不同性别存在显著差异,建议在监测项目中雌雄蟹分开处理。红树蚬(*Polymesoda erosa*)是蚬科(Corbiculidae)双壳贝类,广泛分布于热带、亚热带沿海,栖息于河口潮间带滩涂,尤以红树林中数量居多,是一种具有潜力的海洋污染监测指示物种^[8~10]。**【本研究切入点】**双壳贝类是海洋污染生物监测最常用的指示生物,野外采集样品后一般采用露空低温冷藏方式运回实验室检测生物标志物,目前尚鲜有露空运输过程对样品生物标志物影响的报道。**【拟解决的关键问题】**本文研究不同温度条件下露空处理对红树蚬超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、谷胱甘肽转硫酶(GST)、铁还原力(FRAP)和丙二醛(MDA)等6项生物标志物的影响,结合不同时间的暂养恢复,探索降低样品运输过程对红树蚬生物标志物影响的措施,以期减少非污染因素的干扰提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 红树蚬

实验用红树蚬于2013年7月20日上午9:00~10:00采集于广西北海市廉州湾草头村红树林林下滩涂,30min内露空干运(26℃)回实验室,选取大小基本一致的个体用于实验。经测量,红树蚬个体鲜质量为(53.61±5.79)g/个体,壳长(65.36±4.83)mm,壳宽(29.46±3.25)mm,壳高(59.37±2.56)mm。

1.1.2 药品试剂

超氧化物歧化酶(SOD)、牛血清蛋白(BSA)、2、

2'-联喹啉-4,4'-二甲酸二钠(BCA)、谷胱甘肽(GSH)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、碘化乙酰硫代胆碱(ATCI)、三氯乙酸(TCA)、硫代巴比妥酸(TBA)、过氧化物酶(POD)、苯酚、4-乙酰氧基-3-[1-(叔丁基二甲基硅氧基)乙基]氮杂环丁酮(4-AA)为Sigma公司产品,其余均为国产分析纯(AR)试剂。

1.1.3 过滤海水

砂滤自然海水,盐度为25,pH值为7.8,水质符合渔业水质标准(GB11607-1989)。

1.2 方 法

1.2.1 红树蚬样品处理

红树蚬运回实验室后立即随机取8个个体作为露空处理前的对照组,每个个体抽血测定SOD、CAT、AChE、GST、FRAP和MDA。另取150个红树蚬随机分成3组,每组50个个体,分别放入温度调至8℃、26℃和35℃的人工气候箱中保湿露空处理8h,然后每组取8个个体抽血测定上述生物标志物;剩余红树蚬每组平均分置于2个60cm×40cm×20cm的长方形塑料水槽内,用过滤海水微充气暂养恢复,每个水槽内有过滤海水20L,用室内空调调控海水温度26℃;分别于暂养3h、6h、12h和24h后从每个水槽内随机取4个红树蚬个体抽血测定上述生物标志物。

1.2.2 红树蚬血液样品制备

用消毒的一次性21号针头和1.0mL注射器从红树蚬闭壳肌血窦内抽取血液注入到冰浴的1.5mLEPP管中,每个红树蚬抽取2.0mL血液,然后4℃、5600r/min离心5min,取上清液用于测定生物标志物。

1.2.3 生物标志物测定方法

SOD活性测定采用羟胺发色法^[11],CAT活性测定采用苯酚显色法^[12],AChE活性测定采用改进的Ellman法^[13],GST活性测定采用Habig等^[14]的方法,FRAP测定采用Benzie等^[15]的方法,MDA测定采用改进的硫代巴比妥酸比色法^[16],血液中蛋白含量测定采用BCA法^[17]。

1.2.4 数据处理与分析

生物标志物测定数据用SPSS18.0软件进行统计分析,所有实验数据均以平均值±标准差表示,显著水平设置为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同露空温度对红树蚬SOD的影响

如图1所示,8℃、26℃和35℃露空处理对红树

蚬血液 SOD 均表现为诱导作用, SOD 活力分别达到处理前的 2.66、1.9 和 2.13 倍, 与露空处理前(对照组)差异极显著 ($P < 0.01$)。暂养恢复 3h 后 SOD 活力下降到与露空处理前基本一致的水平 ($P > 0.05$)。随着暂养恢复时间的延长, SOD 活性又逐步升高。

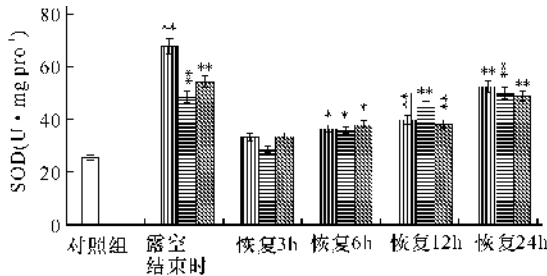


图1 不同露空温度处理的红树蚬血液 SOD 活力

Fig. 1 SOD activity in the haemolymph of *Polymesoda erosus* exposed to air at different temperature

■: 8°C 露空, ■: 26°C 露空, ■: 35°C 露空。
 ■: Exposed to air at 8 °C, ■: Exposed to air at 26 °C.
 ■: Exposed to air at 35°C.

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note:

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

2.2 不同露空温度对红树蚬血液 CAT 的影响

不同露空温度处理后红树蚬血液的 CAT 活力如图 2 所示。8°C 和 35°C 处理均表现为红树蚬血液 CAT 受到诱导, 低温处理的诱导强度更高, 与处理前相比较, 差异分别达到了极显著和显著水平; 暂养恢

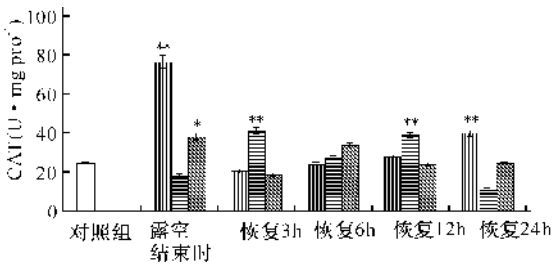


图2 不同露空温度处理的红树蚬血液 CAT 活力

Fig. 2 CAT activity in the haemolymph of *Polymesoda erosus* exposed to air at different temperature

■: 8°C 露空, ■: 26°C 露空, ■: 35°C 露空。
 ■: Exposed to air at 8 °C, ■: Exposed to air at 26 °C.
 ■: Exposed to air at 35°C.

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note:

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

复 3h 后, 均恢复至接近露空处理前的水平, 暂养恢复至 24h 没有显著变化。26°C 露空处理后, 红树蚬血液 CAT 活力没有显著变化, 但暂养恢复 3h 后 CAT 活力极显著升高, 并维持至暂养恢复 24h。

2.3 不同露空温度对红树蚬血液 AChE 的影响

从图 3 可以看出, 8°C、26°C 和 35°C 露空处理, 红树蚬血液 AChE 均受到诱导。与处理前相比较, AChE 活力的差异均达到了极显著水平。暂养恢复 3h 后, AChE 活力降至接近露空处理前的水平, 至暂养恢复 24h 基本保持在同一水平。

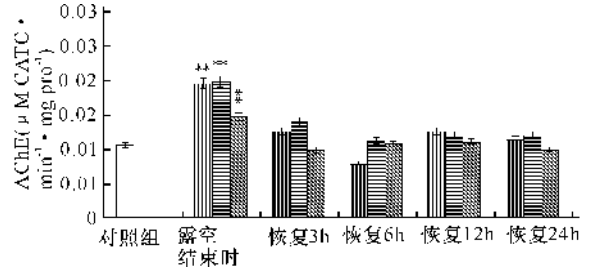


图3 不同露空温度处理的红树蚬血液 AChE 活力

Fig. 3 AChE activity in the haemolymph of *Polymesoda erosus* exposed to air at different temperature

■: 8°C 露空, ■: 26°C 露空, ■: 35°C 露空。
 ■: Exposed to air at 8 °C, ■: Exposed to air at 26 °C.
 ■: Exposed to air at 35°C.

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

2.4 不同露空温度对红树蚬血液 GST 的影响

从图 4 可以看出, 8°C 和 35°C 露空处理, 红树蚬血液 GST 均受到诱导, GST 活力分别极显著和显著升高; 暂养恢复 3h, GST 活力急剧降低, 分别极显著和显著低于露空处理前的水平; 暂养恢复 6h, GST 活力达到了最低值, 后逐步升高, 至暂养恢复 24h, 基本接近露空处理前的水平。26°C 露空处理, 红树蚬血液 GST 受到抑制, GST 活力极显著低于露空处理前的水平, 暂养恢复 3h 后, GST 活力升至接近露空处理前的水平, 随着暂养恢复时间的延长, GST 活力有较大的波动。

2.5 不同露空温度对红树蚬血液 FRAP 的影响

从图 5 可以看出, 8°C 露空处理致使红树蚬血液 FRAP 显著增强, 暂养恢复 3h, FRAP 又急剧降至极显著低于露空处理前的水平, 并维持这一低水平至暂养恢复 12h, 到暂养恢复 24h 又升至略高于露空处理前的水平。26°C 露空处理致使红树蚬血液 FRAP 略有降低, 暂养恢复 3h, FRAP 升至接近露空处理前的

水平,随着暂养恢复时间的延长,FRAP 持续降低,但差异不显著。35℃ 露空处理后,红树蚬血液 FRAP 无明显变化,暂养恢复过程中有一定的波动,但未达到显著差异的水平。

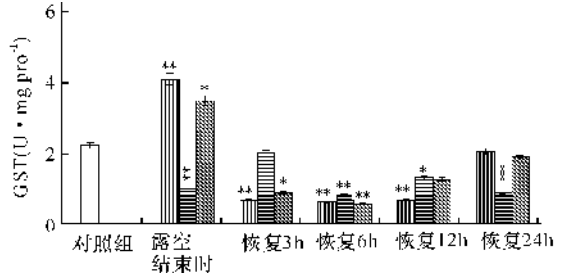


图4 不同露空温度处理的红树蚬血液 GST 活力

Fig. 4 GST activity in the haemolymph of *Polymesoda erosa* exposed to air at different temperature

▨:8℃露空, ▩:26℃露空, ▪:35℃露空。
 ■:Exposed to air at 8℃, ■:Exposed to air at 26℃。
 ▨:Exposed to air at 35℃。

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

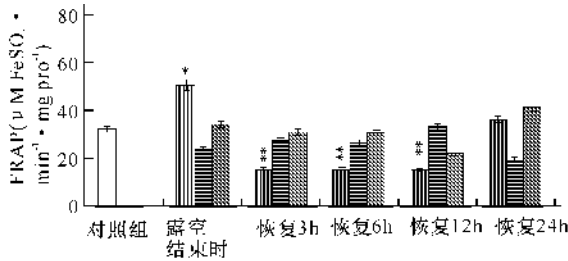


图5 不同露空温度处理的红树蚬血液 FRAP

Fig. 5 FRAP in the haemolymph of *Polymesoda erosa* exposed to air at different temperature

▨:8℃露空, ▩:26℃露空, ▪:35℃露空。
 ■:Exposed to air at 8℃, ■:Exposed to air at 26℃。
 ▨:Exposed to air at 35℃。

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

2.6 不同露空温度对红树蚬血液 MDA 含量的影响

从图6可以看出,8℃露空处理致使红树蚬血液 MDA 含量极显著增加,暂养恢复期间先降后升,12h 达到显著低于露空处理前的水平,24h 又升至极显著高于露空处理前的水平。26℃和 35℃露空处理,红树蚬血液 MDA 含量显著增加。暂养恢复期间,26℃处理组 3h 降至接近露空处理前的水平并维持至

12h,后急剧增加,至 24h 极显著高于露空处理前的水平;35℃处理组,3h 降至略高于露空处理前的水平,随后逐步升高。

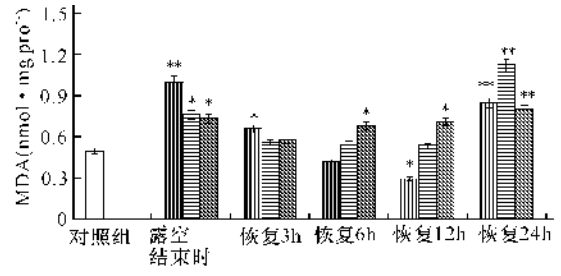


图6 不同露空温度处理的红树蚬血液 MDA 含量

Fig. 6 MDA content in the haemolymph of *Polymesoda erosa* exposed to air at different temperature

▨:8℃露空, ▩:26℃露空, ▪:35℃露空。
 ■:Exposed to air at 8℃, ■:Exposed to air at 26℃。
 ▨:Exposed to air at 35℃。

注: * 表示与对照组的差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与对照组的差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: * and ** indicate statistical difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, compared with the control group.

3 讨论

众多类型的污染物(如多环芳烃、多氯联苯、有机氯和有机磷杀虫剂、醌类、重金属等)能导致水生生物的氧化胁迫。抗氧化酶系常被用作生物标志物,用来监测评估污染物对水环境的影响。文献中野外采集双壳贝类样品,一般采用露空低温冷藏方式运回实验室检测生物标志物。双壳贝类在露空时,贝壳关闭,随着露空时间的持续,外套腔内含水减少,组织含氧量降低,产生低氧或缺氧环境^[18],可能改变贝体内的氧化还原状况,进而对抗氧化酶系产生影响,所以本研究选择了抗氧化酶及与抗氧化密切相关的生物标志物进行分析。

栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 血液中 SOD 在 25℃露空 2h 显著升高,而在 5℃和 17℃露空 2h 无明显变化^[19]。在高潮位(每天露空时间大于 12h)采集的贻贝 (*Mytilus eduli*),其鳃和消化腺中 SOD、CAT 和 GPx 显著高于低潮位的贻贝(每天露空时间小于 4h),而 GST 无明显差异^[20]。在高潮位采集的紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*),其鳃中 GST 显著高于低潮位的紫贻贝,而 GPx、CAT 和 AChE 无明显差异^[21]。在本研究中,8℃和 35℃露空处理 8h,红树蚬血液中 SOD、CAT、AChE、GST、FRAP 和 MDA 均显著升高;26℃露空处理 8h,SOD、AChE 和 MDA 显著升高,GST 显著降低,CAT 和 FRAP 有所

降低但不显著。露空能影响双壳贝类的生物标志物,不同的物种和组织器官间存在一定的差异,不同露空温度也有显著影响。

露空 1d 可导致鸡帘蛤 (*Chamelea gallina*) 血细胞吞噬能力降低,血细胞组成改变,通过 1d 海水暂养可以恢复到初始水平^[22]。本研究中,露空处理后的红树蚬,在海水暂养 24h 周期内的某一时段,所测 6 项生物标志物均能恢复到初始水平,但不稳定。在海水暂养恢复期间,不同温度下的露空处理组间红树蚬生物标志物变化情况有明显差异。由此推断,选择合适的露空运输温度,控制露空时间,经过一定时长的海水暂养恢复后,检测红树蚬生物标志物可以获得与未经露空较一致的结果。26℃ 露空 8h 后,经 3~6h 暂养,红树蚬生物标志物与初始水平最接近,本研究采样时红树蚬栖息微环境(表层沉积物)的温度是 29℃,露空运输温度保持与采样时样品栖息微环境一致的温度可能是较好的选择。

4 结论

本研究结果显示,露空 8h 对红树蚬的生物标志物有显著影响,通过海水暂养可以基本得到恢复,露空温度能影响暂养过程中生物标志物的变化。双壳贝类样品采集露空运输过程对生物标志物是一种非污染影响因素,在实验设计中应该考虑。

参考文献:

[1] Knap A, Dewailly E, Furgal C, et al. Indicators of ocean health and human health: developing a research and monitoring framework[J]. *Environ Health Perspect*, 2002, 110: 839-845.

[2] Cajaraville M P, Bebianno M J, Blasco J, et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach[J]. *The Science of the Total Environment*, 2000, 247: 295-311.

[3] Hagger J A, Galloway T S, Langston W J, et al. Application of biomarkers to assess the condition of European Marine Sites [J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157 (7): 2003-2010.

[4] Marigómez I, Garmendia L, Soto M, et al. Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarker indices: a comparative study after the Prestige oil spill "Mussel Watch" [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22 (3): 486-505.

[5] 邢永泽, 周浩郎, 吴斌, 等. 基于综合生物标志物响应指数法评估近岸海洋环境压力——以广西西部沿海为例[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(12): 3581-3587.

Xing Y Z, Zhou H L, Wu B, et al. The application of ma-

rine environmental risk assessment based on the integrated biomarker response index: a case study in the west coast of Guangxi [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(12): 3581-3587.

[6] Hagger J A, Lowe D, Dissanayake A, et al. The influence of seasonality on biomarker responses in *Mytilus edulis* [J]. *Ecotoxicology*, 2010, 19(5): 953-962.

[7] Pereira P, de Pablo H, Subida M D, et al. Bioaccumulation and biochemical markers in feral crab (*Carcinus maenas*) exposed to moderate environmental contamination—The impact of non-contamination-related variables [J]. *Environ Toxicol*, 2011, 26(5): 524-540.

[8] 蔡英亚, 董翔鹤, 吴洞科. 红树蚬的生态观察[J]. *热带海洋*, 1995, 14(1): 94-98.

Cai Y Y, Huang X H, Wu D K. Studies on the ecology of *Polymesoda erosa* (Solander) [J]. *Tropic Oceanology*, 1995, 14(1): 94-98.

[9] Yap C K, Azri M A. Heavy metal concentration (Cd, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn) in clam, *Polymesoda erosa* collected from intertidal area of Tok Bali and Kuala Kemasin, Kelantan [J]. *Malaysian Applied Biology*, 2009, 38 (1): 81-84.

[10] 赖廷和, 何斌源, 范航清, 等. 重金属 Cd 胁迫对红树蚬的抗氧化酶、消化酶活性和 MDA 含量的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(11): 3044-3053.

Lai T H, He B Y, Fan H Q, et al. Effects of cadmium stress on the activities of antioxidant enzymes, digestive enzymes and the membrane lipid peroxidation of the mangrove mud clam *Geloina coaxans* (Gmelin) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(11): 3044-3053.

[11] 任立英, 陈小刚, 张慧, 等. 羟胺发色法测定超氧化物歧化酶[J]. *临床检验杂志*, 1993, 11(4): 185-186.

Ren L Y, Chen X G, Zhang H, et al. Determination of SOD activity by chromogenic hydroxylamine method [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 1993, 11(4): 185-186.

[12] 刘砚韬, 王振伟, 张伶俐. 过氧化氢酶活性测定的新方法[J]. *华西药学杂志*, 2013, 28(4): 403-405.

Liu Y T, Wang Z W, Zhang L L. A novel method for assaying catalase activity [J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, 28(4): 403-405.

[13] Gorun V, Proinov I, Baltescu V, et al. Modified Ellman procedure for assay of cholinesterases in crude enzymatic preparations [J]. *Analytical Biochemistry*, 1978, 86(1): 324-326.

[14] Habig W H, Pabst M J, Jakoby W B. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation [J]. *J Biol Chem*, 1974, 249(22): 7130-7139.

[15] Benzie I F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. *Anal Biochem*, 1996, 239(1): 70-76.

(下转第 163 页 Continue on page 163)

- Xu M Z, Zhang Q, Tong T, et al. Optimization of water extraction for polysaccharide from *Sipunculus nudus* Linnaeus[J]. Guangxi Sciences, 2013, 20(4): 285-288.
- [20] 常林瑞, 黄清荣, 孙振兴, 等. 中国蛤蚧多糖提取物抑制蚕豆根尖细胞微核形成的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(28): 12155-12156.
- Chang L R, Huang Q R, Sun Z X, et al. Study on *Mactra chinensis* polysaccharide extracts inhibiting micronucleus formation of *Vicia faba* root tip cells[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(28): 12155-12156.
- [21] 郑艾初, 陈健, 彭超英. 糙海参酸性粘多糖的提取纯化工艺探讨[J]. 现代食品科技, 2007, 23(5): 65-67.
- Zheng A C, Chen J, Peng C Y. Extraction and purification of acidic mucopolysaccharide from *Holothuria scabra* Jaeger[J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(5): 65-67.
- [22] 殷红玲, 杨静峰, 李冬梅, 等. 酶法提取鲍鱼多糖的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 158-160, 170.
- Yin H L, Yang J F, Li D M, et al. Optimum condition for extraction of polysaccharide from abalone[J]. Food and Fermentation Industries, 2006, 32(12): 158-160, 170.
- [23] 张慧玲, 任秀莲, 魏琦峰, 等. 酶法提取纯化海带多糖的工艺[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(10): 101-104.
- Zhang H L, Ren X L, Wei Q F, et al. Extraction and purification process of polysaccharides from *Laminaria japonica* Aresch by enzyme test[J]. Food Research and Development, 2007, 28(10): 101-104.
- [24] 肖凯军, 蔡妙颜, 郭祀远, 等. 鲨软骨粘多糖的酶法提取及组分分析[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2005, 33(5): 74-77.
- Xiao K J, Cai M Y, Guo S Y, et al. Extraction of shark cartilage mucopolysaccharides by enzymolysis and their composition analysis[J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2005, 33(5): 74-77.

(责任编辑: 陈小玲)

(上接第 157 页 Continue from page 157)

- [16] 黄虹. 血清脂质过氧化代谢产物丙二醛测定方法的改进[J]. 镇江医学院学报, 1999, 9(3): 457-458.
- Huang H. The improved determination method for lipid peroxidation product, malondialdehyde in the blood serum[J]. Journal of Zhenjiang Medical College, 1999, 9(3): 457-458.
- [17] Smith P K, Krohn R I, Hermanson G T, et al. Measurement of protein using bichinchoninic acid [J]. Analytical biochemistry, 1985, 150(1): 76-85.
- [18] Letendre J, Chouquet B, Rocher B, et al. Differential pattern of Cu/Zn superoxide dismutase isoforms in relation to tidal spatio-temporal changes in the blue mussel *Mytilus edulis* [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2008, 148: 211-216.
- [19] Chen M Y, Yang H S, Delaporte M, et al. Immune response of the scallop *Chlamys farreri* after air exposure to different temperatures [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2007, 345: 52-60.
- [20] Letendre J, Chouquet B, Manduzio H, et al. Tidal height influences the levels of enzymatic antioxidant defences in *Mytilus edulis* [J]. Marine Environmental Research, 2009, 67: 69-74.
- [21] Vidal-Liñán L, Bellas J. Practical procedures for selected biomarkers in mussels, *Mytilus galloprovincialis* —Implications for marine pollution monitoring [J]. Science of the Total Environment, 2013, 461-462: 56-64.
- [22] Pampanin D M, Ballarin L, Carotenuto L, et al. Air exposure and functionality of *Chamelea gallina* haemocytes: effects on haematocrit, adhesion, phagocytosis and enzyme contents [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2002, 131(3): 605-614.

(责任编辑: 陈小玲)