

重金属暴露引起鱼体氧化应激反应的研究进展

罗其勇^{1,2}

(1. 广西科技大学, 广西柳州 545006; 2. 西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要 综述了水体中重金属对鱼类氧化胁迫的影响, 介绍鱼类在受到重金属暴露后机体组织总抗氧化酶(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性变化以及谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量变化来反映其受到重金属毒性作用情况, 以期通过监测鱼体内抗氧化物质的变化来反应水体中重金属的污染情况, 也为鱼类养殖的水体条件监测提供参考资料。

关键词 重金属; 活性氧; 氧化胁迫; 鱼

中图分类号 S912 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)25-0032-04

Research Progress on Oxidative Stress Reaction of Fish Body Caused by Heavy Metals

LUO Qi-yong^{1,2} (1. Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou, Guangxi 545006; 2. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education; School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract Effect of heavy metals in water on oxidative stress of fish was reviewed. The antioxidants would change, such as total antioxidant enzymes (T-AOC), and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione transferase (GST), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) activity and content of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), it would reflect the toxic when fish were exposed by heavy metals. It can reflect the pollution of heavy metals in the water by monitoring the change of antioxidant in the fish, and provide reference for monitoring water condition of fish culturing.

Key words Heavy metals; Reactive oxygen species (ROS); Oxidative stress; Fish

重金属及其类似物引起的水生环境污染, 造成水生生物中毒效应及其毒性作用机制一直都是国内外水生生态环境研究领域的热点^[1-3]。重金属在流入水中会经过吸附、沉淀以及络合等作用在水环境中不断转移, 或被水生生物积累后随着食物链逐级传递后放大^[3]。鱼类是水生生态系统中重要的生物, 是水生食物链的关键载体, 从较低营养级到最高营养级水平都有分布, 在水生生态系统中发挥至关重要作用, 常被用来作为水生生态系统健康状况的指示生物^[4-5]。

鱼体内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是代谢过程中不可或缺的产物, 通常情况活性氧的产生与清除处于动态平衡, 而外来因素温度、重金属、有机污染物等影响, 会打破其平衡状态。如图1所示, 正常生理条件下, 鱼体内ROS处于产生和清除动态平衡状态, 而外来因素影响, 平衡发生改变。在鱼抗氧化胁迫能力范围, 极端氧化条件会提升其体内ROS水平, 鱼通过自身清除能力, 回到最初氧化平衡状态称为“急性氧化胁迫”; 一旦ROS含量超过鱼体的清除能力, 引起产生与清除状态失衡。鱼体抗氧化效率降低, 使其遭受一段时间氧化胁迫才逐渐恢复到最初平衡状态, 这称为“慢性氧化胁迫”; 此外, 有些条件下鱼体ROS水平未能达到最初的平衡点, 经过调节而产生新的平衡点且处于平衡状态, 这样的情况成为“ROS趋势稳定水平”^[5]。当体内ROS水平超过鱼体应对抗氧化协调能力范围, 会引起鱼体发生氧化损伤, 严重时甚至引起死亡。

鱼类对重金属污染物敏感的特异性可作为评估污染物毒性强弱的关键因素。已有研究表明鱼类对许多污染物的

敏感存在物种差异性^[1-3]。铜(Cu)和锌(Zn)是鱼类生长代谢过程中所必需元素, 在细胞生物化学反应需要一定量Cu和Zn参与^[6], 然而一旦体内Cu、Zn含量超过鱼体耐受水平会对其产生毒害影响^[5,7]。鱼鳃长期与外界环境直接接触, 是水体途径重金属暴露最初目标器官, Cu在鳃大量累积引起组织器官产生大量活性氧物质(ROS)进而造成机体的氧化损伤^[8]。在Cu水体暴露实验中, 黄鲈对Cu的耐受性远高于虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和银鲫(*Carassius auratus gibelio*), 而银鲫对Cu耐受性又强于虹鳟和鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[9-10]。鱼类的耐受性与其组织器官应抗氧化胁迫的能力存在极大关联, 组织器官会根据需要产生抗氧化物质来清除ROS来应对对抗氧化胁迫。

该研究主要介绍鱼类应对重金属诱导的氧化胁迫产生和清除机制。此外, 对重金属诱导鱼类体内氧化胁迫的原因进行分析, 以期通过监测生物体内抗氧化物质的变化情况, 反应水体中一段时间内重金属的污染情况, 为鱼类养殖的水体条件监测提供参考, 也为鱼类受外来污染物的影响体内抗氧化物质的研究提供基础资料。

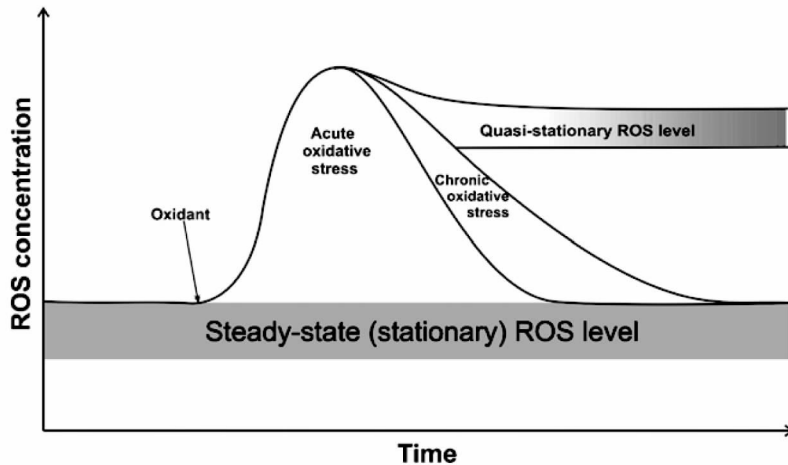
1 活性氧的种类

活性氧主要包括以下几种物质: 超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)、羟基自由基(hydroxyl radical, $\cdot OH$)、过氧化氢[hydrogen peroxide (H_2O_2)]、单线态氧(singlet oxygen, 1O_2)等^[11-12]。重金属诱发ROS的能力常被认为是其毒性的一种表现^[13], ROS是结构不稳定活性分子, 容易发生氧化反应^[14], 引起脂肪、蛋白质以及DNA的损伤^[15], 并会引起造成一系列生理功能改变以及代谢机制紊乱, 对鱼体伤害, 甚至死亡。 H_2O_2 易与还原性金属(Fe和Cu)发生芬顿反应(Fenton reactions)生成羟基自由基(hydroxyl radical, $\cdot OH$)^[16]。Pb、Cd和Hg等金属元素与抗氧化细胞合成抗氧化物, 如谷胱甘肽、含巯基的蛋白质等^[16]。此外, 重金属会诱导活性氧

基金项目 广西科技大学基金项目(校自174530); 国家自然科学基金基金项目(3130038); 重庆市自然科学基金项目(cstc2013jjB80008)。

作者简介 罗其勇(1988—), 男, 贵州都匀人, 研究实习员, 从事鱼类生理生态学研究。

收稿日期 2018-05-03

图1 生物体内 ROS 的动态平衡情况^[5]Fig. 1 Dynamic equilibrium of ROS in living creature^[5]

产生^[4,16]。需要保持 ROS 产生与清除处于平衡状态,以防止代谢紊乱或氧化胁迫的爆发。为应对氧化胁迫,机体需要合成各类抗氧化物质来清除 ROS,以降低其对机体的损伤作用^[17]。在这些抗氧化物质中,可以分为非酶促系统物质,如:抗坏血酸、维生素 E 和谷胱甘肽等^[18];抗氧化酶系统物质有超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽转移酶(GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和过氧化氢酶(CAT)等,其中抗氧化物质用来应对 ROS 氧化胁迫,保护组织免受 ROS 伤害^[2,8,17]。

2 活性氧的重要标志物

2.1 总抗氧化能力(T-AOC) T-AOC 常作为评估抗氧化酶系统功能的综合指标,其活性情况用来反映机体在应对外来刺激,非酶系统和酶系统的代偿能力和自由基的代谢状态,也可反映非酶系统和酶系统的整体抗氧化能力的强弱,是反应机体抗氧化能力的综合性指标。重金属 Hg 暴露会造成剑尾鱼(*Xiphophorus helleri* Heckel)鳃和肝组织中 T-AOC 活性分别下降 39%和 30%,表明重金属暴露会降低鱼体的总抗氧化能力^[19]。罗非鱼在投喂含有 Pb 的食物,结果发现肾脏,肝脏中的 T-AOC 活性随着食物中铅浓度升高呈逐渐降低^[20]。以上结果发现,无论是从水体还是食物途径重金属暴露都会对鱼体 T-AOC 产生影响,因此, T-AOC 活性情况常被用来作为鱼类受到重金属胁迫应答反应的重要指标。

2.2 谷胱甘肽(GSH)含量变化情况 在鱼体内众多非酶抗氧化物中,GSH 是由(γ -glutamate-cysteine-glycine(γ -Glu-Cys-Gly))三种氨基酸通过肽键缩合而成的化合物,在鱼体内有广泛的分布,尤其肝脏组织中含量最高,具有解毒和抗氧化功能是细胞应对 ROS 胁迫的最重要物质,能够降低 ROS 引起的氧化损伤^[21]。GSH 有活跃的巯基(-SH)与重金属有强烈的亲和能力,形成水溶性共价化合物,通过硫酸尿酸的形式排出体外,保护细胞免受毒性伤害。牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)仔鱼和幼鱼在 Cd 暴露会引起 GSH 含量的升高^[22],作者认为是机体代偿性机制应对重金属引起的氧化胁迫;罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)在受到 5 种重金属(Cd、Cu、Cr、Pb、Zn)暴露,肝脏组织中 GSH 含量显著降低,表明重金属暴

露会消耗体内 GSH 来缓解重金属引起的氧化胁迫^[23]。因此,重金属暴露引起 GSH 发生改变,表明 GSH 能对重金属暴露做出很好的应答反应,因此,常常被用来作为水生生物受重金属暴露胁迫的标志物。

2.3 谷胱甘肽转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性变化情况 在谷胱甘肽(GSH)参与的氧化还原反应过程中,涉及到许多相关酶如谷胱甘肽转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)等。谷胱甘肽还原酶(GR)是在氧化型谷胱甘肽(GSSH)还原成还原型谷胱甘肽(GSH)过程中,以 NADPH 为氢供体、氧化型谷胱甘肽为氢受体的还原酶,反应生成 NADP⁺和还原型谷胱甘肽。GR 活性的强弱会直接影响 GSSH 还原成 GSH 的结果。研究表明细胞中高浓度的金属会抑制 GR 活性,同时使 GSH 含量的降低,结果导致组织细胞受到氧化伤害^[24]。GR 受重金属的影响会表现出时间和浓度效应,此外,鱼类和重金属种类的差异会引起其应答反应有不同表现。Hg 累积会降低 GSH 水平和抑制 GR 活性,使抗氧化防御系统改变,引起组织氧化损伤^[24-25]。Eroglu 等^[23]研究了罗非鱼在 5 种重金属(Cd、Cu、Cr、Pb、Zn)暴露下,肝组织中 GR 活性随着暴露时间表现出先升高后降低的趋势。研究者认为 GR 活性降低会引起 GSSG 水平升高^[24],GSH 应对 ROS 清除是一个完整的系统,如果鱼体酶系统和非酶系统的调节平衡被打破,机体清除自由基和蛋白质亲和重金属的能力就会降低,使机体清除 ROS 下降,造成机体氧化损伤。

GPx 是由硒半胱氨酸构成其活性中心的一种过氧化物酶,在机体内有广泛的分布,由 GSH 提供 H⁺,以 H₂O₂ 为底物,把具有氧化能力的过氧化物(有机氢过氧化物(ROOH))还原成为无毒的羟基化合物(醇(ROH)),是防止生物膜脂质过氧化重要反应,并使 H₂O₂ 分解成 H₂O, GSH 还原成 GSSH,从而对细胞膜的结构和功能起到保护作用,免受过氧化物的伤害。众所周知, CAT 也具有清除 H₂O₂ 的能力,那么, GPx 与 CAT 作用条件有何区别呢? 有研究表明:只有当

细胞中 H_2O_2 变化程度较小的情况 GPx 优先参与保护反应。GPx 活性变化情况与鱼类、重金属的种类以及暴露浓度及时间密切相关。矛尾复鰕虎鱼 (*Synechogobius hasta*) 受到水体中 Cd 暴露,肝、鳃、肾组织中的 GPx 活性随着暴露浓度呈逐渐降低趋势,在 0.17 和 0.29 mg/L 两个暴露暴露组 GPx 活性均显著低于对照组^[26]。食物铅暴露也降低了罗非鱼肾脏中 GPx 的活性^[20]。而 Eroglu 等^[23] 发现罗非鱼在 Cd 在 1 mg/L 水体暴露 1、7、14 d 肝组织中 GPx 活性被诱导;水体中 Zn 暴露 30 d 鲫鱼 (*Carassius auratus*) 肝脏中的 GPx 活性也表现出诱导升高的趋势。

谷胱甘肽转移酶 (GST) 是一种主要在肝脏中分布的酶,具有清除过氧化物和解毒双重功能,可以使外源或内源的毒性分子失去活性转变为水溶性化合物,完成解毒作用,因此是多种生物内主要的 II 相代谢反应重要转移酶。鱼体组织器官 GST 活性变化有多种方式^[2,27]。淡水鳢 (*C. punctatus*) 受 $CdCl_2$ 暴露 96 h,肝、鳃和肾组织中的 GST 活性都显著高于对照组^[27]。青鳉 (*Japanese flounder*) 胚胎和仔鱼受到 48.1 和 99.4 $\mu g/L$ $HgCl_2$ 短时间暴露,GST 活性显著低于对照组,GST 活性的降低,认为是由于 Hg 的浓度过高产生的不利影响已经超过了自身的调节范围^[28]。而尼罗罗非鱼 3 mg/L Cd 暴露在 1、5、10、20 和 40 d 肝脏中 GST 活性先升高后降低,作者认为在短期内鱼体肝组织先表现出应激机制,能够对 Cd 暴露作出快速应答反应,而长期的暴露是由应激反应转化为解毒机制^[29]。

2.4 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性变化情况 超氧化物歧化酶 (SOD) 是清除 ROS 的主要酶类,在动物、植物、微生物体内都有广泛的存在,能够催化超氧阴离子与氢离子反应,生成 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 在 CAT 或 GPx 的作用下进一步的分解为无毒害作用的 O_2 和 H_2O ^[2]。但重金属等外源因子导致生物体内的超氧阴离子升高时,SOD 活性常常被诱导,以保持细胞内 ROS 清除与产生之间的动态平衡^[11]。但是外源因子作用已超过机体的极限水平,ROS 就会在细胞内累积,会对机体产生不可逆转的氧化应激。金鱼在低浓度短期暴露时,SOD 活性被诱导,当暴露浓度 ≥ 0.4 mg/L, SOD 活性被抑制^[30]。

2.5 过氧化氢酶 (CAT) 活性变化情况 CAT 是抗氧化防御系统关键酶之一,能够把超氧化物歧化酶 (SOD) 歧化产生超氧阴离子的产物 H_2O_2 催化反应生成 H_2O 和 O_2 ,所以通常认为 CAT 与 SOD 一起构成了生物体抗氧化防御系统的第一道防线^[25,31]。机体在遭受重金属暴露引起 CAT 活性变化的情况时常与 SOD 活性变化情况一致。水体 Cd 暴露矛尾复鰕虎鱼肝、鳃和肾组织中 CAT 活性随着暴露浓度逐渐降低,其变化趋势与 SOD 的变化趋势相同^[26]。而虹鳟、鲤鱼和银鲫受铜暴露后鳃组织中 CAT 和 SOD 活性分别在 3 d、12 h 和 24 h 均表现出诱导升高的趋势^[32]。

2.6 脂质过氧化 (LPO) 脂质过氧化是生物体细胞受到氧化胁迫和损伤的标志,在抗氧化防御系统中的抗氧化物质不能够中和 ROS 而引起脂膜发生过氧化^[33]。活性氧 (羟基自

由基·OH) 很容易攻击生物膜上的磷脂、膜受体和酶相关多不饱和脂肪酸等大分子物质,从而引起脂质发生过氧化生成脂质过氧化物,如丙二醛 (Malonaldehyde, MDA),影响细胞膜的通透性和流动性,结果导致细胞结构和功能发生改变^[33]。由于 MDA 是脂质过氧化的终产物,因此 MDA 含量水平常被用来反映 ROS 引起机体脂质过氧化程度的指标^[26]。多数研究表明重金属暴露会引起鱼类 MDA 含量的升高。水体中 0.75 mg/L 的铅暴露会金头鲷 (*Sparus aurata*) 肝组织中的 MDA 含量,表明 Pb 暴露会使其脂质过氧化程度加剧^[34];牙鲆在 2、4、8 mg/L 镉暴露会引起机体 MDA 含量升高趋势^[22]。然而在牙鲆仔鱼 (*Paralichthys olivaceus*) 和幼鱼受到 $HgCl_2$ 暴露,其变态仔鱼期和底栖仔鱼时期 MDA 含量与对照组无明显差异,只是在幼鱼时期升高^[28]。

3 结语

生物体的有氧活动中自由基的产生是必不可少的,处于产生和清除是一个持续动态平衡状态。水生生物的多样性和其生理状态可直接反应水体质量情况,而水体质量是决定鱼体生长发育的关键因素。由于重金属在鱼体含量发生改变,会引起鱼体 ROS 的产生提高,或降低了 ROS 的清除能力,或对这些过程都影响,对鱼体代谢的关键点和关键过程发生改变,扰乱鱼体最初活性氧自由基的动态平衡状态,对其造成氧化胁迫。因此活性氧自由基的活性情况通常用来作为环境变化的标志物,也可以用于实验室条件下模拟自然条件,来评估和预测自然水体受重金属暴露而引起的水体变化情况。在本综述中,通过概述鱼体在收到重金属暴露而引起各种组织器官的变化情况可以选作为重金属暴露鱼体变化的标志物。其实在关于重金属暴露引起氧化胁迫的标志物这方面还有很多新的设想,可以从分子结构来阐述重金属暴露会引起活性的变化情况,更深层次的了解重金属暴露引起鱼体氧化胁迫的原因。

参考文献

- [1] ALVARADO N E, BUXENS A, MAZÓN L I, et al. Cellular biomarkers of exposure and biological effect in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus*) exposed to Cd, Cu and Zn and after depuration [J]. Aquatic toxicology, 2005, 74(2): 110-125.
- [2] ATLI G, CANLI M. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* [J]. Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology & pharmacology, 2007, 145(2): 282-287.
- [3] YI Y J, WANG Z Y, ZHANG K, et al. Sediment pollution and its effect on fish through food chain in the Yangtze River [J]. International journal of sediment research, 2008, 23(4): 338-347.
- [4] MONTEIRO D A, RANTIN F T, KALININ A L. Inorganic mercury exposure: Toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish *matrinxã*, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829) [J]. Ecotoxicology, 2010, 19(1): 105-123.
- [5] LUSHCHAK V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals [J]. Aquatic toxicology, 2011, 101(1): 13-30.
- [6] BURKE J, HANDY R D. Sodium-sensitive and-insensitive copper accumulation by isolated intestinal cells of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Journal of experimental biology, 2005, 208(Pt2): 391-407.
- [7] DESHMUKH S S, MARATHE V B. Size related toxicity of copper & mercury to *Lebistes reticulatus* (Peter), *Labo rohita* (Ham.) & *Cyprinus carpio* Linn. [J]. Indian journal of experimental biology, 1980, 18(4): 421-423.
- [8] PANDEY S, PARVEZ S, SAYEED I, et al. Biomarkers of oxidative stress: A comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.) [J]. Science of the total environment, 2003, 309(1/2/3): 105-115.

- [9] PYLE G, WOOD C. Radiotracer studies on waterborne copper uptake, distribution, and toxicity in rainbow trout and yellow perch: A comparative analysis[J]. Human and ecological risk assessment, 2008, 14(2): 243-265.
- [10] DE BOECK G, MEEUS W, DE COEN W, et al. Tissue-specific Cu bioaccumulation patterns and differences in sensitivity to waterborne Cu in three freshwater fish: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), common carp (*Cyprinus carpio*), and gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Aquatic toxicology, 2004, 70(3): 179-188.
- [11] LIVINGSTONE D R. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms[J]. Marine pollution bulletin, 2001, 42(8): 656-666.
- [12] RUAS C B G, DOS SANTOS CARVALHO C, DE ARAÚJO H S S, et al. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river [J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2008, 71(1): 86-93.
- [13] ERCAL N, GURER-ORHAN H, AYKIN-BURNS N. Toxic metals and oxidative stress part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage[J]. Current topics in medicinal chemistry, 2001, 1(6): 529-539.
- [14] DOWLING D K, SIMMONS L W. Reactive oxygen species as universal constraints in life-history evolution [J]. Proceedings biological sciences, 2009, 276(1663): 1737-1745.
- [15] ROTILIO G, ROSSI L, DE MARTINO A, et al. Free radicals, metal ions and oxidative stress: Chemical mechanisms of damage and protection in living systems[J]. J Braz Chem Soc, 1995, 6(3): 221-227.
- [16] STOHS S J, BAGCHI D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions[J]. Free radical biology and medicine, 1995, 18(2): 321-336.
- [17] SEVCIKOVA M, MODRA H, SLANINOVA A, et al. Metals as a cause of oxidative stress in fish: A review[J]. Vet Med, 2011, 56(11): 537-546.
- [18] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M C. Oxidative stress and antioxidant protection: Some special cases [M]// HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M C. Free radicals in biology and medicine. Oxford, UK: Clarendon Press, 1999: 485-543.
- [19] 方展强, 王春风. 硒对汞致剑尾鱼鳃和肝组织总抗氧化能力变化的拮抗作用[J]. 实验动物与比较医学, 2005, 25(3): 136-139.
- [20] DAI W, LIU S X, FU L L, et al. Lead (Pb) accumulation, oxidative stress and DNA damage induced by dietary Pb in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture research, 2012, 43(2): 208-214.
- [21] SRIKANTH K, PEREIRA E, DUARTE A C, et al. Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish: A review[J]. Environmental science and pollution research, 2013, 20(4): 2133-2149.
- [22] CAO L, HUANG W, LIU J H, et al. Accumulation and oxidative stress biomarkers in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic cadmium exposure[J]. Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology & pharmacology, 2010, 151(3): 386-392.
- [23] EROGLU A, DOGAN Z, KANAK E G, et al. Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism[J]. Environmental science and pollution research, 2015, 22(5): 3229-3237.
- [24] FLORA S J S, MITTAL M, MEHTA A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy[J]. Indian journal of medical research, 2008, 128(4): 501-523.
- [25] VERLECAR X N, JENA K B, CHAINY G B N. Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* exposed to mercury and temperature[J]. Chemo-biological interactions, 2007, 167(3): 219-226.
- [26] LIU X J, LUO Z, LI C H, et al. Antioxidant responses, hepatic intermediary metabolism, histology and ultrastructure in *Synechogobius hasta* exposed to waterborne cadmium[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2011, 74(5): 1156-1163.
- [27] DABAS A, NAGPURE N S, KUMAR R, et al. Assessment of tissue-specific effect of cadmium on antioxidant defense system and lipid peroxidation in freshwater murrel, *Channa punctatus* [J]. Fish physiology and biochemistry, 2012, 38(2): 469-482.
- [28] HUANG W, CAO L, LIU J H, et al. Short-term mercury exposure affecting the development and antioxidant biomarkers of Japanese flounder embryos and larvae [J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2010, 73(8): 1875-1883.
- [29] PRETTO A, LORO V L, BALDISSEROTTO B, et al. Effects of water cadmium concentrations on bioaccumulation and various oxidative stress parameters in *Rhamdia quelen* [J]. Archives of environmental contamination and toxicology, 2011, 60(2): 309-318.
- [30] KONG X H, JIANG H X, WANG S P, et al. Effects of copper exposure on the hatching status and antioxidant defense at different developmental stages of embryos and larvae of goldfish *Carassius auratus* [J]. Chemosphere, 2013, 92(11): 1458-1464.
- [31] DI GIULIO R T, WASHBURN P C, WENNING R J, et al. Biochemical responses in aquatic animals: A review of determinants of oxidative stress [J]. Environmental toxicology and chemistry, 1989, 8(12): 1103-1123.
- [32] EYCKMANS M, CELIS N, HOREMANS N, et al. Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater fish species [J]. Aquatic toxicology, 2011, 103(1): 112-120.
- [33] GRAVATO C, TELES M, OLIVEIRA M, et al. Oxidative stress, liver biotransformation and genotoxic effects induced by copper in *Anguilla Anguilla* the influence of pre-exposure to b-naphthoflavone [J]. Chemosphere, 2006, 65(10): 1821-1830.
- [34] SOUID G, SOUAYED N, YAKTITI F, et al. Lead accumulation pattern and molecular biomarkers of oxidative stress in seabream (*Sparus aurata*) under short-term metal treatment [J]. Drug and chemical toxicology, 2015, 38(1): 98-105.

(上接第 28 页)

- [22] 贾小平, 谭贤杰, 李永祥, 等. 用 SSR 标记研究谷子品种的遗传多样性 [J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(4): 633-638.
- [23] 王姗姗, 张宁, 王凯玺, 等. 中国辽西地区谷子品种遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 分子植物育种, 2015, 13(5): 1091-1097.
- [24] 杨天育, 牟平, 孙万仓, 等. 中国北部高原地区谷子品种遗传差异的 SSR 分析 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(9): 1786-1791.
- [25] 孙加梅, 王雪梅, 王东建, 等. 谷子 SSR 标记研究进展 [J]. 生物技术, 2012, 22(5): 86-89.
- [26] 李国营. 谷子初级核心种质的品质性状及其遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [27] 朱学海. 谷子耐旱资源筛选及其遗传多样性分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [28] WANG Z M, DEVOS K M, LIU C J, et al. Construction of RFLP-based maps of foxtail millet, *Setaria italica* (L.) P. Beauv. [J]. Theoretical and applied genetics, 1998, 96(1): 31-36.
- [29] 杨坤. 谷子 SSR 标记连锁图谱构建及几个主要性状 QTL 分析 [D]. 石家庄: 河北师范大学, 2008.
- [30] 王智兰, 王军, 袁峰, 等. 基于 PCR 技术的谷子分子标记遗传图谱构建 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(17): 3492-3500.
- [31] 王晓宇, 刁现民, 王节之, 等. 谷子 SSR 分子图谱构建及主要农艺性状 QTL 定位 [J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 871-878.
- [32] 张浩, 汤沙, 李迎涛, 等. 谷子窄颖花突变体 *sins1* 的表型分析和突变基因定位 [J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 538-545.
- [33] 李雯, 智慧, 张硕, 等. 谷子 *Si-SP1* 小穗突变基因的遗传分析和定位 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(3): 581-587.
- [34] SATO K, MUKAINARI Y, NAITO K, et al. Construction of a foxtail millet linkage map and mapping of *spikelet-tipped bristles 1 (stb1)* by using transposon display markers and simple sequence repeat markers with genome sequence information [J]. Molecular breeding, 2013, 31(3): 675-684.
- [35] GUPTA S, KUMARI K, MUTHAMILARASAN M, et al. Population structure and association mapping of yield contributing agronomic traits in foxtail millet [J]. Plant cell reports, 2014, 33(6): 881-893.
- [36] 郝晓芬, 王志民, 王根全, 等. SSR 方法标记谷子光敏雄性不育基因 [J]. 华北农学报, 2011, 26(5): 112-116.
- [37] WANG J, WANG Z L, YANG H Q, et al. Genetic analysis and preliminary mapping of a highly male-sterile gene in foxtail millet (*Setaria italica* L. Beauv.) using SSR markers [J]. Journal of integrative agriculture, 2013, 12(12): 2143-2148.
- [38] 李志江, 李延东, 马金丰, 等. 谷子抗“拿捕净”基因的 SSR 标记 [J]. 黑龙江农业科学, 2013(7): 5-7.
- [39] 王永芳, 李海权, 李伟, 等. 用于谷子分子标记辅助选择的 SSR 标记筛选 [J]. 河北农业科学, 2012, 16(3): 1-4.
- [40] 秦冰清. EMS 诱变“晋谷 21 号”叶色突变体生理特征的研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2015.
- [41] 李涛, 任芹勇, 李强, 等. 谷子 $F_{1,2}$ 代植株真实性的 SSR 分子标记鉴定 [J]. 分子植物育种, 2018(10): 3213-3218.