开放式空气 CO_2 浓度增加条件下水稻对土壤微污染铜胁迫响应

贾海霞[①②] 郭红岩[①②*] 尹 颖[①] 王 强[①] 孙 琴[①] 王晓蓉[①] 朱建国[②]

(① 南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093; ② 中国科学院南京土壤研究所, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008. * 联系人, E-mail:hyguo@nju.edu.cn)

摘要 在开放式空气CO_2 浓度增加(FACE)平台下, 采用盆栽试验, 初步研究了CO_2 浓度升高至 570 μmol·mol^{-1} 时, 水稻叶片对土壤二级Cu污染胁迫的响应. 结果表明: 当CO_2 浓度升高至 570 μmol·mol^{-1} 时, 水稻叶片中Cu含量与对照圈(Ambience)相比有降低的趋势, 尤其当土壤受到二级Cu污染时, 降低趋势更明显; 在FACE条件下, 二级Cu污染引起水稻叶片超氧化物歧化酶(SOD酶)活性在水稻整个生长阶段受到诱导, 而还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量没有显著变化. 在自然CO_2 浓度下, 二级Cu污染造成了SOD酶活性在水稻整个生长阶段受到抑制; 而GSH和GSSG含量受到诱导, 在拔节期诱导率最大, 后期恢复到对照水平. 随着水稻生长发育, 丙二醛(MDA)的含量不断上升, 但是在同一生长阶段FACE圈和Ambience圈各处理组之间没有显著差异. 高浓度CO_2 下, 水稻对二级Cu污染胁迫响应部分指标发生变化的机制有待于进一步的研究.

关键词 **CO_2 浓度** **水稻** **土壤污染** **铜** **SOD** **GSH** **MDA**

当前, 大气CO_2 浓度升高和农田土壤重金属污染已引起极大关注. CO_2 浓度已经由工业革命前的 280 μmol·mol^{-1} 上升到目前的 380 μmol·mol^{-1}, 政府间气候变化专门委员会(IPCC)估计到 21 世纪末大气CO_2 浓度将达到 700 μmol·mol^{-1}[1~3]. 同时大量的重金属随着化肥施用、 废水灌溉进入了农田生态系统[4,5]. 水稻作为主要的粮食作物, 高浓度的CO_2和重金属都会对其生长产生影响. 已有研究表明, 二氧化碳浓度升高会对植物的光合作用、呼吸作用、气孔与水分的利用效率、植物的化学成分(如叶绿素蛋白、光合酶蛋白)、植物的形态结构等产生影响[6~8]. 水稻受重金属污染之后, 植株会受到不同程度的伤害, 尤其是重金属能与植物体内的某些酶进行螯和, 使酶失去活性, 从而引起植物体内生理生化的变化[9,10]. Cu作为植物体内的一种微量元素, 在植物的生理代谢过程中发挥着极大的作用. 例如: Cu是构成Cu-Zn SOD酶的必需元素, Cu构成质兰素参与植物的光合作用. 但Cu在高浓度时会对植物细胞产生极大的生理毒性, 抑制植物的生长, 甚至造成死亡[11,12]. 那么, 二氧化碳浓度升高导致植物生理机能发生改变后, 其对土壤重金属污染物的富集以及适应能力是否会发生明显变化? 二氧化碳浓度升高后土壤重金属污染物对环境的胁迫作用是否会进一步加强, 对食品安全和生态安全是否会构成更大的威胁呢? 关于这一问题, 目前国内外尚未有文献报道.

本文利用中国 FACE 平台, 研究大气二氧化碳浓度升高后, 二级 Cu 污染土壤对水稻生长的胁迫作用. 重点探讨二者联合作用对水稻不同生长期体内抗氧化系统的影响以及水稻对铜的富集能力的变化.

1 材料与方法

1.1 实验平台

实验基地位于江苏省江都市小纪镇马凌良种场中国 FACE 平台(32°35′5″N,19°42′0″E). 年均降雨量 918 mm, 年平均温度约 14～16℃ , 年日照时数大于 2000 h, 无霜期日数 220 d. 土壤类型为砂姜土, 耕作方式为水稻、冬小麦轮作, 属于长江以北地区典型的稻麦轮作生态系统. 试验地土壤基本理化性质: 有机质含量 18.39 g·kg^{-1}, 全 N 含量 1.45 g·kg^{-1}, 全 P 含量 0.63 g·kg^{-1},全 K 含量 14.02 g·kg^{-1}, pH 7.9, 黏粒 <0.002 mm 含量 13.6%, 容重 1.16 g·cm^{-3}.

平台共有 3 个FACE圈(比自然大气中CO_2 浓度增

2006-10-11 收稿, 2007-03-27 接受

国家自然科学基金重大项目(批准号: 40110817)和中国科学院创新方向项目(批准号: KZCX3-SW-440)资助

加 200 μmol·mol^{-1})和 3 个Ambience(自然大气CO_2,浓度约 370 μmol·mol^{-1}). FACE圈和FACE圈之间, FACE圈和Ambience圈之间的间隔大于 90 m, 以减少CO_2释放对其他圈的影响. FACE圈设计为正八角形, 直径 12.5 m, 通过FACE圈周围的管道向FACE圈中心喷射纯CO_2气体, 电脑控制FACE圈内CO_2的浓度, 使其全生育期FACE圈内的平均CO_2浓度保持在 570 μmol·mol^{-1}, 控制误差为 10%, Ambience圈没有安装FACE管道, 其余环境条件与自然状态完全一致[13].

1.2 实验设计

本实验以 $CuSO_4$ 作为污染物, 取当地农田土壤进行染毒. 在 FACE 圈和 Ambience 圈中各设置 2 种处理, 分别为空白组和染毒组, 每组 4 次重复. 空白组土壤 Cu 浓度为 23.3 mg·kg^{-1}, 染毒组 Cu 浓度为 105.5 mg·kg^{-1}, 达到国家二级土壤污染标准. 实验采用盆栽方式, 每盆装土 2 kg, 土壤经 Cu 污染后陈化 5 d , 然后种植水稻. 供试水稻品种为武香粳 14, 经一个月田间旱育秧, 于 2005 年 6 月 18 日移栽种植. 施肥时间和施肥量为 6 月 12 日施基肥(占 N 肥总量的 36%), 6 月 18 日施分蘖肥(占 N 肥总量的 24%), 7 月 28 日施穗肥(占 N 肥总量的 40%). 水稻全生育期施 N 肥总量为 250 kg·hm^{-2}, P 肥(70 kg·hm^{-2})作为基肥施用. 水分管理为 6 月 13 日～7 月 10 日期间保持浅水层(约 5 cm), 7 月 11 日～8 月 4 日期间进行多次轻搁田, 8 月 5 日至收割前 7 d 进行间隙灌溉. 水稻病虫害管理同大田常规管理, 尽可能地保持 FACE 圈与 Ambience 圈除 CO_2 浓度以外的环境条件一致.

1.3 测定内容与方法

水稻样品分 4 个阶段进行采集(分蘖期, 拔节期, 抽穗期, 成熟期), 采集后的样品依次用自来水、蒸馏水、去离子水洗净, 取部分水稻叶片用液氮迅速固定, 然后保存在–50℃的冰柜中, 用于水稻生理指标的测定. 取部分水稻叶片于 60～80℃烘至恒重, 粉碎后用于测定水稻叶片 Cu 含量.

(1) Cu 含量测定. 采用 HNO_3-$HClO_4$ 双酸消解法, 然后用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES, 美国 Jarrell-Ash 公司 J-A1100)测定 Cu 含量.

(2) GSH和GSSG测定. 称取 0.5000 g水稻叶片, 加入适量的 0.1 mol·L^{-1} pH 8.0 的磷酸缓冲溶液(含 0.005 mol·L^{-1}EDTA)和 25%的H_3PO_3, 在冰浴上充分研磨. 研磨液于 4℃, 12000 r·min^{-1} 离心 15 min, 取上清液用于GSH和GSSG含量的测定. GSH, GSSG采用荧光分光光度法, 参照Hissin和Hilf[14]的方法测定.

GSH: 取 100 μL 酶液, 加入 2.8 mL 0.1 mol·L^{-1} 的磷酸缓冲液(pH 8.0)及 100 μL 1 mg·L^{-1} 的荧光试剂邻苯二甲醛(OPT), 混匀. 室温放置 10 min 后以 343 nm 为激发光(Ex), 在 425 nm 处测荧光强度. 单位定义为每克水稻叶片含 GSH 的毫克数.

GSSG: 500 μL 酶液与 200 μL 0.04 mol·L^{-1} N-乙酰顺丁烯二酰亚胺溶液混匀, 取 100 μL 加入 2.8 mL 0.1 mol·L^{-1} NaOH 及 100 μL OPT 荧光试剂, 充分混合. 测定同上.

(3) SOD 活性测定. 称取 0.5000 g 水稻叶片, 加入适量的 Tris-硼酸缓冲溶液(pH 7.5, 含 0.01 mol·L^{-1} Tris, 0.05 mol·L^{-1} 硼酸, 0.05 mol·L^{-1} EDTA, 0.5 ml·L^{-1} 巯基乙醇), 在冰浴中研磨. 研磨液于 4℃, 12000 r·min^{-1} 离心 15 min, 取上清液用于 SOD 的测定.

SOD活性测定参照Marklund等人[15]的方法, 反应溶液为 5 mL Tris-HCl缓冲溶液(pH 8.2)、25 μL邻苯三酚和 30 μL酶样, 反应温度为(25±1)℃, 测定波长为 325 nm, 邻苯三酚的自氧化速率控制在 0.07 (每分钟吸光度的变化值). 酶活性单位定义为每毫升反应液中,每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50%的酶量.

(4) 总蛋白测定. 蛋白质含量用Bradford方法测定[16], 小牛血清蛋白(BSA)为标准蛋白.

(5) 丙二醛测定. 采用双组分分光光度法测定MDA含量, 参照陈毓荃[17]的测定方法. 取 0.5 g水稻叶片, 用 5 mL 10%的三氯乙酸研磨, 匀浆液以 4000 r·min^{-1} 离心 15 min. 取上清液 2 mL加入 2 mL 0.6%的硫代巴比妥酸溶液, 混合物在沸水浴上反应 15 min, 迅速冷却后离心. 取上清液测定 532, 600 和 450 nm波长下的消光度值.

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 和 SPSS 12.0 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验, $P<0.05$ 表明差异显著.

2 实验结果

2.1 水稻不同生长时期叶片 Cu 含量的变化

由图 1 可以看出, FACE 圈内水稻叶片的 Cu 含量要明显低于 Ambience 圈对应组, 尤其是 F-染毒与 A-染毒相比, 叶片 Cu 含量在水稻不同生长时期分别降

低了 7.7%, 31.1%, 35.3%和 33%, 从拔节期开始叶片 Cu 含量显著降低. 未受 Cu 污染的水稻也表现了类似规律, 即 FACE 圈内水稻叶片 Cu 含量要低于 Ambience 圈的, 在水稻不同生长时期分别降低了 0.8%, 29.9%, 20.2%, 46.1%, 在拔节期和成熟期 Cu 含量显著降低. 本实验说明: CO_2 浓度升高, 会降低水稻叶片 Cu 含量; 当土壤受到 Cu 污染时, 这种降低作用更明显.

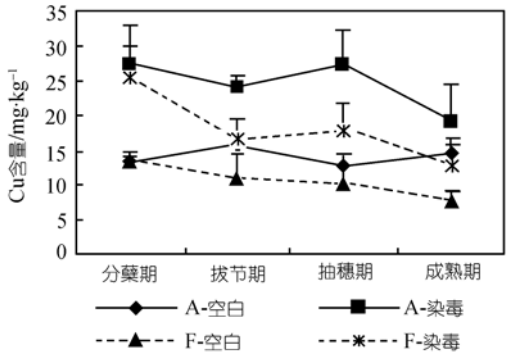


图 1 不同生长时期各处理组水稻叶片 Cu 含量

A-空白: Ambience 圈-自然大气 CO_2, 对照组; A-染毒: Ambience 圈-自然大气 CO_2, Cu 染毒组; F-空白: FACE 圈-高浓度 CO_2, 对照组; F-染毒: FACE 圈-高浓度 CO_2, Cu 染毒组

2.2 水稻不同生长阶段 SOD 酶活性变化

由图 2 可以看出, 在 Ambience 圈, Cu 污染使水稻 SOD 酶活性受到抑制, 在分蘖期抑制率最大为 17.0%, 在后面生长阶段抑制率逐渐降低, 成熟期 SOD 酶活性趋于稳定. 在 FACE 条件下, Cu 污染使 SOD 活性受到诱导, 在不同生长时期诱导率分别为 40.39%, 76.43%, 44.82%, 18.34%, 其中在分蘖期、拔节期、抽穗期 SOD 酶活性受到显著诱导(P<0.05).

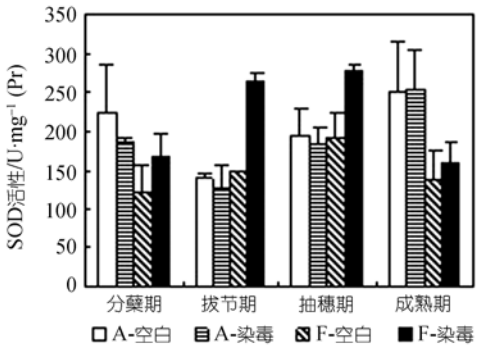


图 2 不同处理对水稻叶片 SOD 酶活性的影响

2.3 水稻不同生长阶段 GSH, GSSG 含量的变化

由图 3 可以看出, 在 Ambience 圈中, Cu 污染组水稻叶片 GSH 含量在水稻整个生长阶段均受到诱导, 在分蘖期和拔节期达到显著诱导, 诱导率分别为 22.51% 和 18.46%, 随着水稻生长, 诱导率逐渐降低, 到成熟期时 GSH 含量与空白组持平. 在 FACE 圈内这种诱导作用不明显, 只是在抽穗期和成熟期才略有显现.

由图 4 可以看出, 在 Ambience 圈中, Cu 污染组水稻叶片 GSSG 含量与 A-空白相比是增加的, 在水稻各个生长阶段, GSSG 的增加量分别为 11.0%, 21.73%, 20.09%和 7.1%, 其中在拔节期和抽穗期增加显著(P<0.05), 到了成熟期与 A-空白组 GSSG 含量趋于一致, GSSG 的变化趋势与 GSH 类似, 但存在一个时间差; 在 FACE 圈, F-染毒组与 F-空白组的 GSSG 含量没有明显差异, 只是在生长后期略有降低.

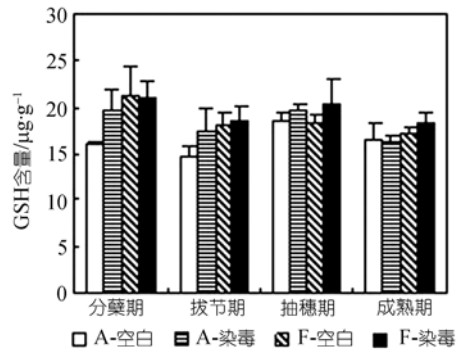


图 3 不同处理对水稻叶片 GSH 含量的影响

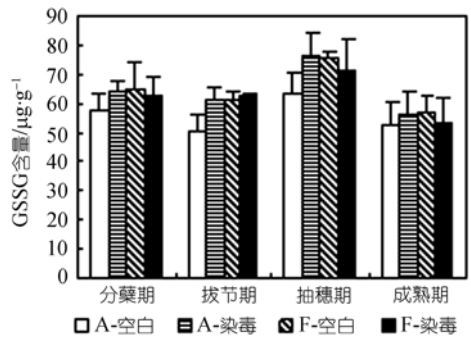


图 4 不同处理对水稻叶片 GSSG 含量的影响

2.4 水稻不同生长时期 MDA 含量的变化

由图 5 可以看出, 随着水稻生长发育, FACE 圈和 Ambience 圈水稻体内 MDA 含量总体呈上升趋势, 成熟期水稻叶片 MDA 含量约为分蘖期的 3 倍. 在抽穗期, Cu 污染造成了水稻叶片 MDA 含量显著增加,

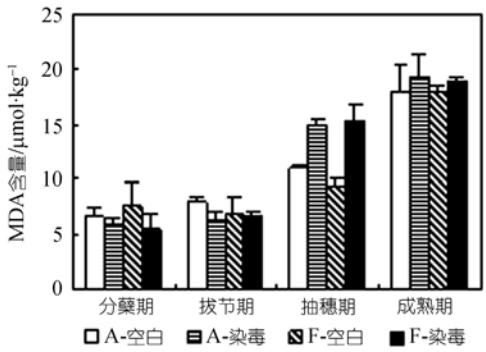


图 5 不同处理对水稻 MDA 含量影响

而在分蘖期、拔节期与成熟期，各处理组之间 MDA 含量没有显著差异.

3 讨论

本研究发现, CO_2浓度升高可以降低水稻叶片 Cu 含量，当土壤受到 Cu 污染时，这种降低作用更明显，在水稻生长的拔节期和抽穗期 Cu 含量显著降低. 其原因可能是多方面的，一方面，CO_2 浓度升高导致水稻的根系分泌物以及根际微生物的数量和功能发生改变 [18~20]，从而引起水稻根际土壤pH和氧化还原电位的改变；而根系分泌物的螯合、络合作用以及氧化还原电位的改变对污染物的生物有效性和毒害性有重要影响，例如根分泌物中有机酸对结合Fe^{3+}，Zn^{2+}有较重要的作用，而氨基酸却对Cu^{2+}的溶解性有着重要贡献. 另一方面，有些研究认为稀释作用是导致高浓度CO_2 下农作物体内某些微量元素含量降低的原因之一 [21,22]，然而何种机制起主导作用以及其影响程度分别有多大，还有待进一步研究.

SOD是生物体内唯一一种以自由基作为底物的抗氧化酶，可通过歧化反应消除危害性很大的超氧阴离子自由基$O_2^{-\cdot}$，一般来说SOD作为抗氧化系统的第一道关口，在清除体内自由基方面发挥着重要作用. 本文采用开放式空气CO_2 浓度增加试验，结果显示：在目前CO_2 浓度下，Cu污染使得水稻整个生长时期SOD酶活性都受到抑制；当CO_2 浓度升高时，受Cu污染的水稻在整个生长期SOD活性均被诱导，在拔节期和抽穗期受到显著诱导. 实验结果表明：SOD的活性与水稻叶片Cu含量有很大关系 [23,24]，F-染毒组水稻叶片Cu含量高于F-空白组，Cu含量的升高可能使水稻叶片产生的活性氧自由基增加，从而诱导了SOD酶的活性，来清除体内过多的自由基. 植物体内的抗氧化酶与活性氧是一种平衡体系，在一定范围内，外来因子会引起活性氧浓度的升高，与之相适应，抗氧化酶系的活性亦升高以维持固有的平衡. 但若外来因子的强度超过了此平衡得以维持的极限，则平衡被打破，使酶蛋白本身亦受到抑制. 在目前CO_2 浓度下，A-染毒组水稻叶片Cu含量高于F-染毒组，随着水稻叶片Cu含量的增加，产生自由基的量也增加，超出了 SOD 酶的清除能力. 所以在目前 CO_2 浓度下，Cu 污染使水稻叶片 SOD 酶活性受到抑制.

谷胱甘肽有两种形式硫醇还原型(GSH)和双硫氧化型(GSSG)，活性氧清除剂GSH在抗氧化系统中占有非常重要的地位. 作为一种自由基清除剂，GSH能调节生物体内自由基浓度的平衡，消除自由基对生物造成的生理损伤. 实验表明：在目前CO_2 浓度下，Cu污染诱导GSH含量增加；当CO_2 浓度升高时，Cu污染对GSH含量没有显著影响. Cu胁迫能导致植物体内产生大量活性氧自由基，在一定范围内，植物机体可通过抗氧化酶系和抗氧化物质来共同清除体内过多的活性氧 [25]. 目前CO_2 浓度下，Cu污染造成水稻叶片Cu含量增加，产生的活性氧自由基也增多，为了消除这些活性氧自由基对细胞的损伤，水稻体内必然会通过增加GSH的含量，来消除体内过多的自由基. 在高浓度CO_2 下，Cu污染产生的活性氧自由基，通过诱导SOD活性就可以缓解自由基对细胞的损伤，没有必要再通过GSH来解毒，因而水稻体内GSH含量没有显著变化. GSSG作为谷胱甘肽的氧化形态，可在GPx酶的作用下，由GSH氧化而来. 在目前CO_2浓度下，Cu污染组GSSG的含量增加，而当CO_2 浓度升高时，F-染毒组GSSG含量没有显著变化，这与上面GSH的变化趋势一致. 这正好解释了GSSG是由GSH氧化而来的，当GSH的含量高时，水稻为消除体内过多的自由基，氧化成GSSG的含量也必然增多.

植物器官衰老或逆境下遭受伤害，往往发生膜脂质过氧化作用，MDA是膜脂质过氧化的最终分解产物，其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度. 研究表明：叶片衰老与活性氧代谢呈正相关，同时脂质过氧化作用也会随着叶片衰老而不断加强 [9,10]. 本实验表明，在水稻整个生长期MDA含量是不断上升的，可能是由于叶片逐渐衰老，叶片内自由基含量增加，导致膜脂过氧化作用加强. 各处理组之间不存在显

著性差异主要是由于MDA是活性氧自由基对细胞损伤的最终表现，而微量Cu污染引起的自由基含量增加已被抗氧化系统酶和活性氧清除剂所清除，因而各处理组之间SOD活性和GSH含量有差异，但MDA不存在显著性差异.

4 结论

(1) 当 CO_2 浓度升高至 570 μmol·mol^{-1} 时，水稻叶片中 Cu 含量与 Ambience 圈相比有降低趋势，尤其当土壤受到二级 Cu 污染时，降低趋势更明显.

(2) 高浓度 CO_2 可以影响水稻叶片部分抗氧化指标对铜污染的响应，当 CO_2 浓度升高至 570 μmol·mol^{-1} 时，二级 Cu 污染引起水稻叶片 SOD 酶活性在水稻整个生长阶段受到诱导，而 GSH 和 GSSG 含量没有显著变化. 在自然 CO_2 浓度下，二级 Cu 污染造成了 SOD 酶活性在水稻整个生长阶段受到抑制; 而 GSH 和 GSSG 含量受到诱导，在拔节期诱导率最大. 随着水稻生长发育, MDA 的含量不断上升，但是在同一生长阶段 FACE 圈和 Ambience 圈各处理组之间没有显著差异.

(3) 在高浓度 CO_2 条件下降低水稻吸收铜的机制，以及污染更为严重的情况下对水稻体内 Cu 含量和生理生化指标的影响机理尚需进一步的研究.

致谢 感谢日本农业环境研究所和日本东北农业研究中心对 FACE 系统建设和维持运行的支持.

参 考 文 献

1 Broecker W S. 全球变暖：行动还是等待？科学通报，2006, 51(13): 1489—1499

2 王庚辰，温玉璞，孔琴心，等. 中国大陆上空 CO_2 的本底浓度及其变化. 科学通报, 2002, 47(10): 780—783

3 Keeling C D, Whorf T P, Wahlen M. Interannual extremes in the rate of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980. Nature, 1995, 375: 666—670[DOI]

4 Lu J J, He W S, Zhou K Y, et al. Behavior of Zn, Cu, Pb and Cd in biota of Yangtze Estuary. Sci China Ser B-Chem, 2001, 44(Suppl 1): 165—172

5 Wong S C, Li X D, Zhang G, et al. Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. Environ Pollut, 2000, 119: 33—44[DOI]

6 Kimball B A, 朱建国，程磊，等. 开放系统中农作物对空气 CO_2 浓度增加的响应. 应用生态学报, 2002, 13(10): 1323—1338

7 Jasoni R, Kane C, Green C, et al. Altered leaf and root emissions from onion (*Allium cepa* L.)grown under elevated CO_2 conditions. Environ Exp Bot, 2004, 51: 273—280[DOI]

8 Li C R, Liang Y H, Hew C S, et al. Responses of Rubisco and sucrose-metabolizing enzymes to different CO_2 in a C3 tropical epiphytic orchid *Oncidium Goldiana*. Plant Sci, 2002,163: 313—320[DOI]

9 Verma S, Dubey R S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Sci, 2003, 164: 645—655[DOI]

10 Shah K, Kumar R G, Verma S, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Sci, 2001, 161: 1135—1144[DOI]

11 Xu J K, Yang L X, Wang Z Q, et al. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain in copper contaminated soil. Chemosphere, 2006, 62: 602—607[DOI]

12 Cao Z H, Hu Z Y. Copper contamination in paddy soils irrigated with wastewater. Chemosphere, 2000, 41: 3—6[DOI]

13 刘钢，韩勇，朱建国，等. 稻麦轮作 FACE 系统平台 I. 系统结构与控制. 应用生态学报, 2002, 13(10): 1253—1258

14 Hissin P J, Hilf R. A fluorometric method for the direct determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. Anal Biochem, 1976, 74: 214—226

15 Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion-radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem, 1974, 47: 469—474

16 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254

17 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术. 北京：科学出版社，2002. 197—199

18 Rønn R, Gavito M, Larsen J, et al, Response of free-living soil protozoa and microorganisms to elevated atmospheric CO_2 and presence of mycorrhiza. Soil Biol Biochem, 2002, 34: 923—932[DOI]

19 胡君利，林先贵，褚海燕，等. 土壤微生物对大气 CO_2 浓度升高的响应研究. 土壤通报, 2006, 37(3): 601—605

20 Idso S B, Idso K E. Effects of atmospheric CO_2 enrichment on plant constituents related to animal and human health. Environ Exp Bot, 2001, 45: 179—199[DOI]

21 Loladze I. Rising atmospheric CO_2 and human nutrition: towards globally imbalanced plant stoichiometry. Trends Ecol Evol, 2002, 17: 457—461[DOI]

22 Lieffering M, Kim H Y, Kobayashi K, et al. The impact of elevated CO_2 on the elemental concentrations of field-grown rice grains. Field Crop Res, 2004, 88: 279—286[DOI]

23 Monnet F, Bordas F, Deluchat V, et al. Toxicity of copper excess on the lichen *Dermatocarpon luridum*: Antioxidant enzyme activities. Chemosphere, 2006, 65: 1806—1813[DOI]

24 Tanyolac D, Ekmekci Y, Ünalan S, et al. Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (Zea mays L.) leaves exposed to excess copper. Chemosphere, 2007, 67: 89—98[DOI]

25 Zhang J F, Liu H, Sun Y Y, et al. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol. Environ Toxicol Phar, 2005, 19: 185—190[DOI]