



俞玲园, 季政权, 胡耀文, 徐风娇, 王琪玮, 魏莹, 唐斌, 王世贵. 红蜻蜓虫对浙江省不同类型水体污染的抗逆性适应表现 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (4): 922–933.

红蜻蜓虫对浙江省不同类型水体污染的 抗逆性适应表现

俞玲园, 季政权, 胡耀文, 徐风娇, 王琪玮,
魏莹, 唐斌, 王世贵*

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州市动物适应与进化重点实验室, 杭州 310036)

摘要: 在杭州、温州、宁波、台州和绍兴等地水域 5 个采样点采集到 169 头蜻蜓稚虫, 分属于 7 科。对采集地的水质进行理化指标 (水温、压强、电导率、氧化还原电位、pH、溶解氧、总氮、总磷、高锰酸盐指数、叶绿素 a、透明度) 和重金属含量 (Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr^{6+} 和总铁等) 检测, 并对采集到的红蜻蜓虫 *Crocothemis servilia* 检测其体内的 SOD 和 CAT 酶活力, 以及 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 等抗逆性相关基因的表达量。结果表明: 生活在不同水体中的红蜻蜓虫, 其体内的 SOD 和 CAT 酶活力主要与 Cr^{6+} 浓度正相关, 可在一定程度上反映出某一水体的 Cr^{6+} 污染状况; *HSP70* 的表达量与水体 TN、TP 和 Pb^{2+} 浓度间呈正相关, 同时 *HSP90* 的表达与水体 TP 和 COD_{Mn} 浓度正相关, 可反映水体富营养化的主要污染物类型。红蜻蜓虫 *CYP303a1* 的表达水平与水体中 Cr^{6+} 含量呈负相关, 而与 TP 和 Cd^{2+} 浓度呈正相关。推测在工业废水污染下, 红蜻蜓虫体内的 SOD、CAT 和 *CYP303a1* 能帮助红蜻蜓虫适应在 Cr^{6+} 浓度较高的水体中生活, 而不同片段长度的热激蛋白 HSP 可能与抵抗不同类型的富营养化污染有关系。实验结果为进一步探究蜻蜓稚虫的抗逆性适应机制提供了基础数据。

关键词: 红蜻蜓虫; 水体污染; 重金属; SOD; CAT; *HSP*; *CYP303a1*; 抗逆性表现

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 04-0922-12

Resistance and adaptation of *Crocothemis servilia* larvae to different types of water pollution in Zhejiang Province

YU Ling-Yuan, JI Zheng-Quan, HU Yao-Wen, Xu Feng-Jiao, WANG Qi-Wei, WEI Ying, TANG Bin, WANG Shi-Gui* (School of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou Key Laboratory of Animal Adaptation and Evolution, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Dragonfly larvae were collected from 5 collection sites such as Hangzhou, Wenzhou, Ningbo, Taizhou and Shaoxing, 169 dragonfly larvae were identified belonging to 7 families. Physical and chemical indexes (water temperature, pressure, conductivity, redox potential, pH, dissolved oxygen, total nitrogen, total phosphorus, permanganate index, chlorophyll a, transparency) and heavy metal content (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{6+} and total iron, etc.) were tested on the water quality of the collection sites, and the enzyme activity of SOD and CAT and the expressions of *HSP70*, *HSP90* and *CYP303a1* of the collected *Crocothemis servilia* were tested. The results showed that the enzyme activity of SOD and CAT

基金项目: 杭州市科技重大专项计划 (20190101A01); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201910346059); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划 (2018R413079)

作者简介: 俞玲园, 女, 1994 年生, 硕士研究生, 主要研究方向为昆虫生理生化, E-mail: yulingyuan@stu.hznu.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence: 王世贵, 男, 博士, 教授, 主要研究方向为昆虫生理生化, E-mail: sgwang@hznu.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-05-24; 接受日期 Accepted: 2020-08-04

in *C. servilia* larvae living in different water bodies was positively correlated with the concentration of Cr^{6+} , which could reflect the pollution status of Cr^{6+} in a certain water body to some extent. The expression of *HSP70* was positively correlated with the concentration of TN, TP and Pb^{2+} , and the expression of *HSP90* was positively related to the concentration of TP and COD_{Mn} , which can reflect the main pollutants of eutrophication in water body. The expression of *CYP303a1* was negatively correlated with Cr^{6+} , but positively correlated with concentration of TP and Cd^{2+} . It was speculated that SOD, CAT and *CYP303a1* in *C. servilia* could help them to adapt to live with high Cr^{6+} concentration under industrial water pollution, and the heat shock proteins of different fragment lengths might be related to resistance to different types of eutrophication pollution. The experimental results may provide basic data for further exploration of the stress resistance and adaptation mechanism of dragonfly larvae.

Key words: *Crocothemis servilia* larvae; water pollution; heavy metals; SOD; CAT; *HSP*; *CYP303a1*; stress resistance

水体污染一直是人们关注的焦点问题, 其中尤以重金属污染为重。重金属污染不仅加速了生态环境的破坏, 同时给生物多样性造成了巨大的不利影响 (何佳等, 2019), 水体重金属污染监测与治理值得深入研究。水生昆虫包括双翅目、蜉蝣目、襁翅目、毛翅目、蜻蜓目等种类, 它们对水体污染响应比较敏感, 被广泛用来监测和评价水质, 是水质生物监测的主要指示生物 (Briers and Biggs, 2003; Yoshimura and Maeto, 2004; 李金国等, 2007; Jeremiason *et al.*, 2016)。我国在上世纪 70-80 年代开始探索利用包括摇蚊等水生昆虫在内的底栖无脊椎动物多样性指数等来评价河湖水质状况 (刘保元等, 1981; 杞桑, 1986), 其后利用水生昆虫对多条河流的水质污染进行了评估 (杨莲芳等, 1992; 童晓立和胡慧建, 1995; 何佳等, 2019)。

除了利用水生昆虫群落结构及多样性进行水质评价外, 水生昆虫的生理响应指标也可以反映水体污染的程度, 如抗氧化酶、P450 解毒酶和热激蛋白等。抗氧化酶包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 等 (Lushchak, 2011), 在活性氧的清除及机体的保护性防御反应中发挥着重要作用。重金属离子、化学农药、石油等物质会影响或阻断呼吸链、电子传递链、酶促反应等体内正常细胞的代谢, 诱发活性氧自由基的产生 (Reactive oxygen species, ROS), 活性氧自由基包括羟自由基 ($\text{HO}\cdot$)、羟过氧自由基 ($\text{HO}_2\cdot$)、超氧阴离子 ($\text{O}_2\cdot^-$)、一氧化氮自由基 ($\text{NO}\cdot$)、过氧化氢 (H_2O_2) 和次氯酸 (HClO) 等 (Jacob, 1995), 为了减少活性氧自由基对机体造成的损害, 机体通

过增加抗氧化酶的活性以维持活性氧自由基在体内的平衡, 从而减少氧化损伤 (Slaninova *et al.*, 2009; Lushchak, 2011)。

热激蛋白 70 (Heat Shock Protein 70, *HSP70*) 和热激蛋白 90 (Heat Shock Protein 90, *HSP90*) 是热激蛋白家族中最保守、最重要的两种 (马晨曦等, 2013)。*HSP70* 和 *HSP90* 在昆虫抗逆境中的作用受到广泛关注, 不仅在热应激的条件下对细胞有保护作用, 在很多外源刺激 (环境污染、农药、重金属等) 下, 都可以诱导生物体内 *HSP70* 和 *HSP90* 的大量合成与积累, 在细胞应激后反应最明显, 在维持细胞结构的稳定和提高细胞对应激原的耐受性中发挥重要作用 (Lim *et al.*, 2005; 杨静等, 2017)。*HSP70* 和 *HSP90* 能被重金属离子诱导合成, 而且这种诱导与重金属的浓度具有相关性, 其表达量可以反映环境中的重金属含量水平 (李铸衡, 2014)。多项研究表明 *HSP70* 和 *HSP90* 表达上调可作为某些重金属污染的生物标志 (喻潇, 2013), 可作为水体污染的检测指标 (张令要, 2008)。

细胞色素 *P450* (Cytochrome *P450*, *P450*) 是一个古老的基因超家族 (Nelson *et al.*, 1993), 参与内源性物质和包括药物、毒素、环境污染在内的外源性物质的代谢, 它的一个重要特征是它的可诱导性 (Nelson *et al.*, 1993; Werck-Reichhart and Feyereisen, 2000)。细胞色素 *P450* 酶活性是一种便捷的污染物毒性评价机制和早期监测模型, 通过研究污染物对生物体的毒性伤害和生物体早期所表现出的药物对细胞水平生物标记物的诱导状况之间的关系, 并以毒性伤害为污染物的毒性评判标准, 确定污染物与酶活力之间的量效关系,

从而判断污染物在环境中的毒性及其残留量 (Forkert *et al.*, 1988; Okey, 1990)。

蜻蜓目昆虫分布十分广泛, 其生活史特征独特, 稚虫常栖息于水中砂粒、泥水或水草间, 取食水中的小动物, 是典型的水生昆虫, 被视为非常适合作为研究水生昆虫与水体质量关系的模式昆虫 (Jeremiason *et al.*, 2016), 如长叶异痣螳 *Ischnura elegans* 对水体重金属 Hg、Cd 和 Pb 有明显的富集作用 (席玉英和韩凤英, 2000; 韩凤英和席玉英, 2001; 韩凤英等, 2002)。因此, 研究蜻蜓幼虫对水体污染的生物指示作用有着重要意义。本文以浙江地区普遍存在的红蜻 *Crocothemis servilia* 作为试验对象, 分别对浙江杭州、绍兴等地不同污染类型水域中的红蜻稚虫进行调查取样, 对红蜻稚虫的 SOD、CAT 酶活力以及 *HSP70*、*HSP90* 和 *P450* 家族 *CYP303a1* 的表达水平进行比较分析, 结合水体质量各项理化指标的测定, 分析水体理化指标及重金属含量对蜻蜓稚虫的影响, 明确其响应重金属污染胁迫的抗逆性适应表现及潜在机制, 为利用蜻蜓稚虫作为水质监测的生物指示物提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 采样点布设与样品采集

采样点的布设主要考虑了浙江省内不同地区的污染状况, 如杭州、绍兴和宁波工业废水排放严重, 是浙江省工业废水排放的主要区域 (蔡临明, 1999)。皮革加工业、纺织业和塑料制品业等第二产业是温州市的支柱, 企业生产工艺落后是水体污染主要污染来源 (徐越等, 2014)。高耗能、高排放的粗放型生产企业使宁波市的河流及其他水均受到不同程度的污染, 其工业区更是使水体污染严重 (王桂林等, 2008; 周正勇, 2016)。绍兴市水污染主要为有机污染, 以印染为主 (祁华宝和鲁玉龙, 1995; 陈昕和章科锋, 2009)。台州地区是国内电子产品拆解中心的典型, 其造成的重金属污染已处于较高水平 (潘海燕等, 2015)。基于此, 本次调查分别在浙江省内的杭州市下沙高教园区杭州师范大学下沙校区鸽子湖 (N30°19'11", E120°23'17")、温州市平阳县水头镇下林村河道 (N27°38'44", E120°20'22")、台州市临海区下沙周村河道 (N28°53'32.1", E121°13'21.1")、绍兴柯桥安昌街道九鼎村河道 (N30°10'3", E120°28'19")

和宁波市镇海区骆驼街道英雄河 (N29°58'59.1", E121°33'33.8") 等 5 个地区选取一处较大的水体作为采样地点。

采样时间为 2016 年 7 月中旬和 2018 年 8 月中旬。采样时第一时间测取各采样点水体的物理指标 (水温、压强、电导率 EC、氧化还原电位 Eh、pH、溶解氧 DO), 并用 2.5 L 有机玻璃采水器采集表层水样, 每采样点各取 3 瓶水样。采样后将水样放置在冷藏箱中, 做好水样的储存和低温运输工作, 以防水质变质。蜻蜓稚虫的采集参考 Barbour 等 (1996) 的采样方法并适当改进, 使用 D 形抄网 (MY-031, 0.3 m 宽, 40 目尼龙纱网) 取样调查, 分别在堤岸、缓水区、稳水区、大型水草根部和淤泥等蜻蜓稚虫栖息的不同栖境类型, 按照栖境出现的比例分配取样数, 分别用 D 型网紧贴水底基质清扫 0.5 m 长区域, 将所有基质等抄入网内, 进一步用 40 目分样筛分离出其中的蜻蜓目稚虫。每采样点清扫 20 次, 总采样面积约 3.0 m²。将红蜻稚虫放入样品低温运输箱中保存, 尽快带回实验室后 -80℃ 保存, 其余蜻蜓稚虫用 50% 酒精保存。

1.2 实验内容与方法

1.2.1 水体理化性质、重金属含量的测定

测定分为现场和室内测定。现场测定水体的水温、压强、电导率 (EC) 和氧化还原电位 (Eh)、pH 和溶解氧 (DO), pH 值用酸式笔式酸度计 (HI 98127) 测定, 水温和溶解氧使用哈希 HQ40D 型溶氧分析仪测定。室内测定内容有总氮 (TN)、总磷 (TP)、高锰酸盐指数 (COD_{Mn})、叶绿素 a (Chl-a)、透明度 (SD) 和 6 种重金属 (Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺、Cr⁶⁺ 和总铁) 含量。TP 使用钼酸铵分光光度法 (GB 11893-89), COD_{Mn} 使用滴定法 (GB 11892-89), 叶绿素 a 采用浮游植物荧光仪 (Phyto-PAM) 法, SD 采用赛氏盘法 (顾晓光等, 2005)。

Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 采用原子吸收分光光度法 (GB 7475-87), Cr⁶⁺ 的测定依据国家标准二苯碳酰二肼分光光度法 (GB 7467-87), 总铁的测定依据其他国家标准邻菲罗啉分光光度法 (HJT 345-2007), 水质的消解处理依据其他国家标准微波消解法 (HJ 678-2013) 进行处理, TN 使用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 (HJ 636-2012), 采用 TLI 综合营养指数法运用 TP、TN 和 COD_{Mn} 等对调查区域水质状况进行评价 (陈丽华等, 2018)。

1.2.2 蜻蜓稚虫鉴定和实验物种的选择

对采集的蜻蜓稚虫进行数量统计及鉴定, 其中红蜻蜓稚虫鉴定到种, 其余稚虫均鉴定到科 (赵修复, 1995)。红蜻蜓稚虫为 5 个调查样点的共有种类, 因此选择红蜻蜓 *Crocothemis servilia* 作为本次调查的实验物种, 进一步分析其在污染胁迫下的抗逆性生理适应表现。

1.2.3 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的酶活性测定

按照重量 (g) : 体积 (mL) = 1 : 19 的比例加入 19 倍生理盐水, 首先使用超声破碎仪冰水浴破碎红蜻蜓稚虫, 离心取上清, 得到 5% 组织匀浆液。超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 活性测定采用亚硝酸盐法, 过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 活性测定采用钼酸铵法, 试剂盒购于南京建成生物工程研究所。总蛋白含量采用 BCA 蛋白试剂盒 (TaKaRa) 进行测定, 试剂盒购于宝生物工程 (大连) 有限公司。酶活性计算方法参照试剂盒配套的使用手册完成, 酶活单位用 U/mg 蛋白质表示。

1.2.4 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 的基因表达分析

各采样点选取大小龄期相似的红蜻蜓稚虫各 3 头, 分别置于 1.5 mL EP 管中, 置于冰上, 加 100 μ L Trizol (Lifetechn Scientific Corporation, USA), 电动匀浆器研磨; 补足 Trizol 至 1 mL, 用力振荡 3 min, 室温静置 5 min; 加入 200 μ L 氯仿, 混匀后静置 10 min, 于 4 $^{\circ}$ C 12 000 g 离心 15 min; 转移上清至新的 1.5 mL EP 管, 加入 500 μ L 异丙

醇, 上下颠倒混匀, 室温静置 10 min; 离心, 弃上清, 并加入 1 mL DEPC 水配制的 75% 乙醇, 将沉淀吹离管壁, 洗涤沉淀, 4 $^{\circ}$ C 7 500 r/min 离心 5 min; 倒去上清, 重复前一步骤; 离心后倒掉上清, 将离心管倒置在超净台上, 加入适量的 RNA Free H₂O 水溶解, 吹打混匀, 于 -80 $^{\circ}$ C 保存。提取后用 1% 琼脂糖检测总 RNA 的质量, 然后用微量测定分光光度计 (NanoDropTM 2000) 测定提取 RNA 的浓度及纯度。使用 Prime Script[®] RT Reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒 (TaKaRa) 配置体系, 进行 cDNA 第 1 链的合成, 于 -20 $^{\circ}$ C 保存待用。

利用 Prima 5.0 设计 *Actin*、*HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 定量引物如表 1。采用实时荧光定量 PCR 法 (Real-time fluorescent quantitative PCR, qRT-PCR) 测定各水体中红蜻蜓稚虫的 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 的基因相对表达量。按以下体系进行反应: SYBR GREEN 5 μ L, primer F (10 pmol/ μ L) 0.4 μ L, primer R (10 pmol/ μ L) 0.4 μ L, 模板 cDNA 1 μ L, RNase Free ddH₂O 3.2 μ L。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 59 $^{\circ}$ C 退火延伸 25 s, 循环 40 次; 最后绘制熔解曲线。采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算 qRT-PCR 试验中的基因相对表达量, 计算公式为: 基因相对表达量 = 2^{- $\Delta\Delta$ CT}。其中, $\Delta\Delta$ CT 计算公式为: $\Delta\Delta$ CT = Δ CT (试验组) - Δ CT (对照组); 试验组或对照组的 Δ CT 计算公式为: Δ CT = CT (目的基因) - CT (内参基因)。

表 1 荧光定量 PCR 特异性引物
Table 1 Primers for qRT-PCR

引物名称 Primers	上游引物 (5'-3') Forward primer sequences	下游引物 (5'-3') Reverse primer sequences
<i>Actin</i>	TGTTCCCATCCATCGTGC	CTCGCAGCCCGTTGTAG
<i>HSP70</i>	CTTCAACCCAAGCCAGTA	TGGAATGGTGGTGTTC
<i>HSP90</i>	GATAAGGAGAACTACAAG	CACCTCAAATCCACGCT
<i>CYP303a1</i>	AAGCAGGTGCCAAAGGCGTCAAT	ACGAAGCCACGGAAAGGAGTTGATG

1.2.5 数据分析

对数据进行正态分析和方差齐性分析。实验数据统计分析通过 SPSS 20.0 完成, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 对水质理化系数、酶活力和基因表达量进行显著性差异分析, 采用 Duncan 氏检验, 其中 $P < 0.05$ 被认为有显著性差

异, $P < 0.01$ 时, 则说明差异极显著; 采用皮尔逊相关系数 (Pearson correlation coefficient) 对红蜻蜓稚虫 SOD 和 CAT 酶活力, *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 基因的表达与环境因子的关系。用 Origin 2017 进行柱状图绘制。

2 结果与分析

2.1 环境因子分析

2.1.1 水域水体的理化性状和富营养化水平

对各水域水体的理化性状进行测定并根据地表水环境质量标准 (GB 3838-2002) 进行分类, 各地水质依 DO 指标显示杭州属于 I 类水质, 温州属于 III 类, 台州属于 II 类, 绍兴属于 II 类, 宁波属于 III 类 (表 2)。

不同水域水体的营养化水平有显著的差异

(图 1-A ~ E), 其中杭州采样点的 TP 和叶绿素 a 皆为最低, SD 最高; 温州采样点 TN 和 COD_{Mn} 含量均最高; 宁波采样点 TP 含量最高, SD 最低; 台州采样点 TN 和 COD_{Mn} 低于其他 3 个地区。根据地表水环境质量标准 (GB 3838-2002), 各地水质依 TN 指标显示杭州属于 II 类水质, 温州属于 IV 类, 台州属于 II 类, 绍兴属于 II 类, 宁波属于 III 类; 依 TP 指标则杭州属于 I 类水质, 温州属于 III 类, 台州属于 IV 类, 绍兴属于 IV 类, 宁波属于 V 类; 依 COD_{Mn} 指标显示杭州属于 I 类水质, 温州属于 IV 类, 台州属于 I 类, 绍兴属于 III 类, 宁

表 2 浙江省各采样点水体的理化性状

Table 2 Physicochemical parameters of water in different areas

参数 Parameters	杭州 Hangzhou	温州 Wenzhou	台州 Taizhou	绍兴 Shaoxing	宁波 Ningbo
水温 (°C) Temperature	31.6	27.0	20.9	23.7	23.4
压强 (hPa) Pressure	995	996	998	967	998
pH	9.07	8.41	8.85	7.30	7.02
电导率 (μs/cm) Electrical conductivity	279	294	266	267	430
氧化还原电位 (mV) Oxidation-reduction potential	71.1	77.0	100.6	61.3	18.3
溶解氧 (mg/L) Dissolved Oxygen	11.21 (I)	5.39 (III)	7.13 (II)	6.36 (II)	5.88 (III)

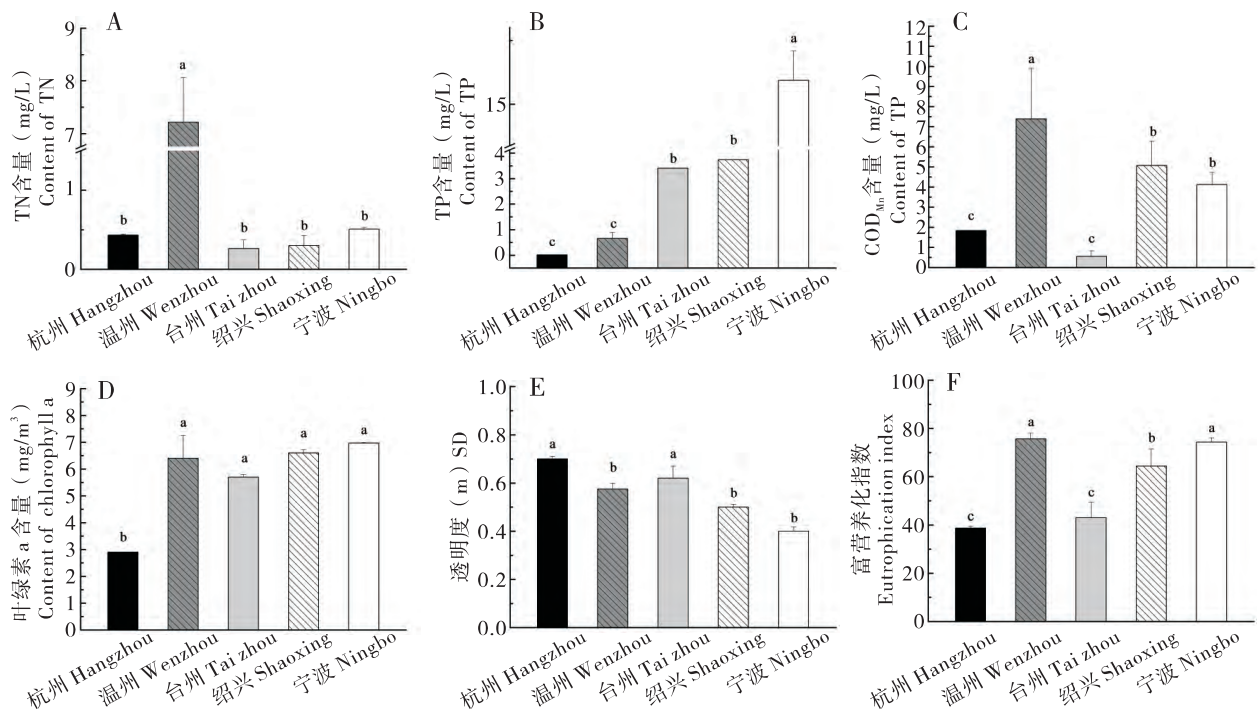


图 1 浙江省各采样点总氮、总磷、高锰酸钾指数、叶绿素 a、透明度和 TLI 富营养化指数

Fig. 1 Eutrophication index and TN, TP, COD_{Mn}, chlorophyll a, SD and TLI eutrophication indices in Zhejiang Province
 注: 图中数据为平均值 ± 标准误 (n = 3), 柱上不同字母表示经 Duncan's 检验后差异显著 (P < 0.05)。下图同。
 Note: Data in the figure are mean ± SE (n = 3), and different letters above bars indicate significant difference by Duncan's test (P < 0.05). The same for following Figures.

波属于 III 类。从图 1 (F) 可以看出, 温州、宁波、绍兴采样点的 TLI 富营养化指数都高于 50。由此得出, 温州和宁波采样点为重度富营养化, 绍兴采样点为中度富营养化, 杭州和台州采样点为中营养, 各采样点之间水质差异较大。

2.1.2 各水域水体中重金属含量水平

各水域水体中总铁、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Cr^{6+} 含量存在地区间差异 (图 2)。比较而言温州采样点的 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 和总铁含量较高, 台州采样点的 Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 的含量偏高, 绍兴采样点含量偏高的金属离子有 Cr^{6+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} , 宁波采样点 Zn^{2+} 含量最高, 杭州采样点的 Cd^{2+} 、 Cr^{6+}

和 Pb^{2+} 显著低于其他 4 个采样点。根据地表水环境质量标准 (GB 3838-2002) 对各采样点水体的重金属含量进行分析, 温州和台州采样点 Cr^{6+} 较其他采样点高, 约为 0.003 mg/L, 但仍属于 I 类水质; 温州和绍兴采样点 Cr^{6+} 较其他采样点高, 约为 0.03 mg/L, 但仍属于 II 类水质; Cu^{2+} 含量最高的台州采样点也属于 II 类水质; Pb^{2+} 含量较高的绍兴和宁波也仍属于 III 类水质; 连 Zn^{2+} 含量最高的宁波采样点也属于 II 类水质。综合分析可得: 杭州采样点属于 I 类水质, 温州采样点属于 III 类水质, 台州采样点属于 III 类水质, 绍兴采样点属于 I 或 II 类水质, 宁波采样点属于 II 类水质。

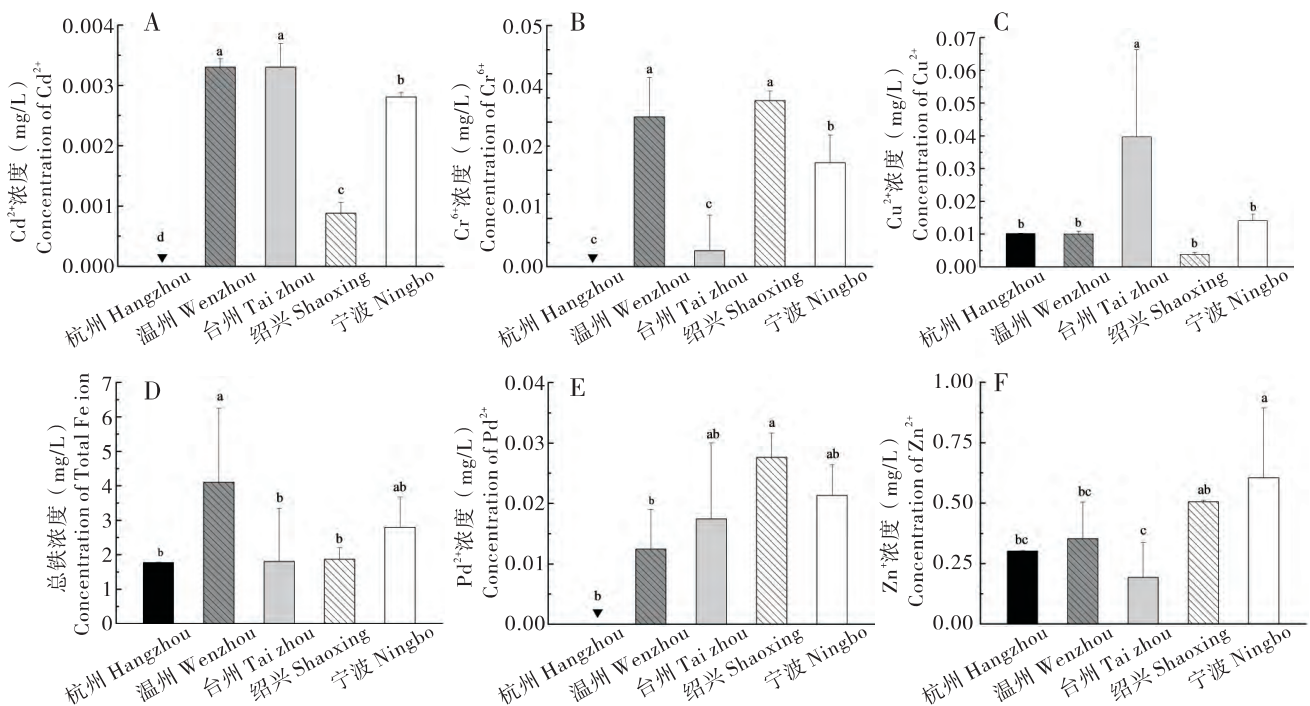


图 2 浙江省各采样点重金属离子浓度

Fig. 2 Heavy metal ion in Zhejiang Province

注: 图中“▼”表示水样中重金属未检出。Note “▼” means that heavy metal has not been detected in the samples.

2.2 各水域水体中采集的蜻蜓稚虫分科鉴定

本次调查共采集到蜻蜓稚虫 169 头, 经分类鉴定分属 7 科 (蜻科 Libellulidae、春蜓科 Gomphidae、大蜓科 Cordulegastridae、蜓科 Aeshnidae Rambur、色螳科 Calopterygidae、扇螳科 Platycnemididae 和丝螳科 Lestoidea)。其中杭州采样点采集到 4 科 31 头, 隶属于蜻科、春蜓科、大蜓科和色螳科; 温州采样点采集到 2 科 40 头, 隶属于蜻科和春蜓科, 其中采集红蜻 23 头, 为所有采样点中最多; 台州采样点采集到的蜻蜓数目最多, 共 5 科 65 头, 隶属于蜻科、春蜓科、蜓科、扇螳科和丝螳科; 绍兴和宁波都只采集到蜻科、

春蜓科和扇螳科 3 类蜻蜓。其中红蜻是 5 个采样点的共有种类。

2.3 不同水域水体中红蜻蜓稚虫超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活力

不同水域水体中红蜻蜓稚虫 SOD 和 CAT 的活力有显著差异 (图 3)。台州采样点红蜻蜓稚虫的 SOD 和 CAT 酶的活力最高, 温州采样点的红蜻蜓稚虫略低于台州采样点, 杭州采样点红蜻蜓稚虫的酶活力最低。结果表明, 在各采样点采集的红蜻蜓稚虫的 SOD 和 CAT 活性差异显著, 且 SOD 和 CAT 酶活力在各采样点所表现的趋势相同。

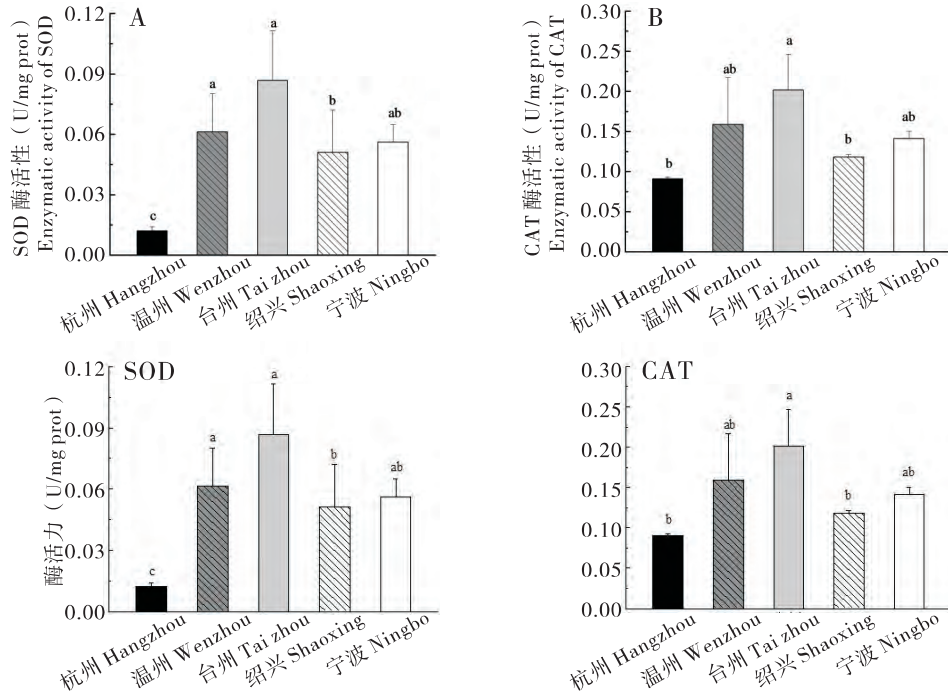


图3 浙江省各采样点红蜻蜓 SOD、CAT 活性

Fig. 3 Enzymatic activity of *Crocothemis servilia* nympho SOD and CAT in Zhejiang Province

2.4 不同水域水体中红蜻蜓 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 的基因表达分析

以杭州地区采集的红蜻蜓作为参照，通过计算得出各采样点红蜻蜓 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 3 个基因的相对表达量 (图 4)。绍兴采样点 *CYP303a1* 和 *HSP90* 基因的相对表达量明显高于其它 3 个采样点，而 *HSP70* 基因的相对表达量

在温州采样点红蜻蜓体内表达量最高。水质最好的杭州地区采样点红蜻蜓 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 3 个基因的表达量都是各组间最低值。通过统计分析得出，各地区采集的红蜻蜓体内 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 3 个基因的表达量存在地区间显著性差异。

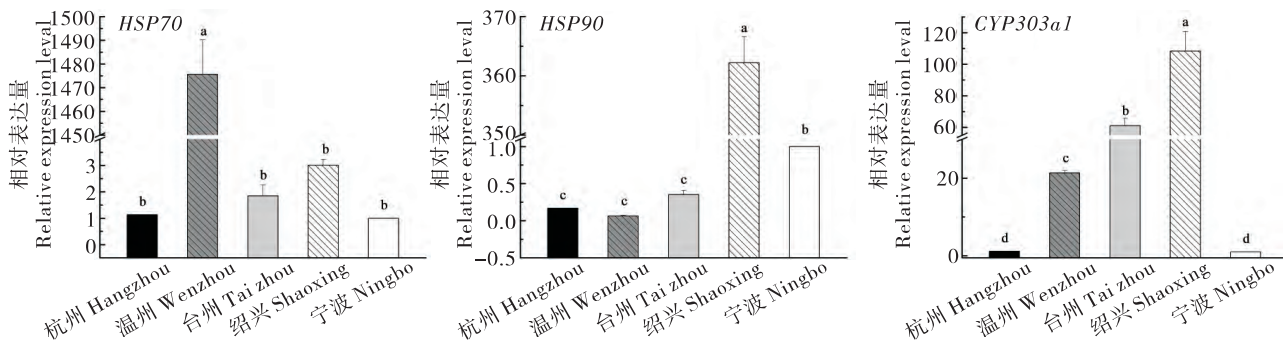


图4 浙江省各采样点红蜻蜓 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 相对表达量

Fig. 4 Relative expression level of *Crocothemis servilia* nympho *HSP70*、*HSP90* and *CYP303a1* in Zhejiang Province

3 结论与讨论

3.1 不同水域水体污染状况及其与蜻蜓稚虫之间的关系

根据浙江省环境厅于 2019 年 11 月公开的浙江

省地表水环境质量月报所示: 全省地表水总体水质为良。221 个省控断面中, I 类占 12.2%, II 类占 38.9%, III 类占 33.0%, IV 类占 12.2%, V 类占 3.2%, 劣 V 类占 0.5%; 满足水环境功能区目标水质要求断面占 86.9%。水体的主要污染指标为总磷、氨氮、五日生化需氧量和化学需氧量,

而造成浙江省农村河道工业污染源的类型因各地的经济支柱产业结构不同而有差异, 主要污染源来自采矿业、纺织业和皮革毛皮及制品业、食品饮料制造加工业等; 农业污染源则以农业种植为主, 其它有农村生活污水及固体废弃物、分散式畜禽养殖等 (卢卫和应聪慧, 2009)。

就本研究采样点实地考察发现: 宁波镇海采样点则位于镇海石油炼化企业污染辐射区内, 而温州市平阳水头镇以皮革产业出名, 推测温州和宁波采样点的富营养化主要与当地的工业污水、农业污水和生活污水有关 (张松达等, 2010; 金矛, 2015)。绍兴柯桥采样点附近有绍兴第一印染厂、绍兴萧绍印染厂、大和集团印染三厂等多家纺织印染企业, 水体中度富营养化程度与纺织业的有机污染有关 (祁华宝和鲁玉龙, 1995; 陈昕和章科锋, 2009; 吴绩新等, 2018)

本次实验对各地区采样点的 6 种重金属含量进行了测定。绍兴采样点含量偏高的重金属离子有 Cr^{6+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} , 应该与当地发达的纺织印染产业有关 (李萍等, 2012); 温州平阳水头镇采样点的 Cr^{6+} 浓度比其他地区较高, 应该与当地发达附近的皮革制造业有关 (杨斌等, 2016), 同时 Cr^{6+} 在台州和宁波两个地区都较高, 这与 Cr^{6+} 被广泛应用于电镀工业、化工业、电子业、冶炼和印染等行业有关。台州采样点 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 含量要高于其它几个地区, 这可能和该地区的电子回收产业有关 (潘海燕等, 2015)。宁波镇海地区水体中 Zn^{2+} 含量最高, 当地发展电镀企业, 而锌是主要的原材料之一 (王宗雄, 2012; 杨斌等, 2016)。

水质的差异直接或间接影响水生昆虫的群落结构, 比如氮浓度、磷浓度、生化需氧量与水生昆虫密度呈极显著正相关, 与水生昆虫的种数呈极显著负相关 (罗清荣, 2012), TN 和 Cd^{2+} 等环境因子也会影响物种的分布 (刘祥等, 2016), 而底层氧含量往往直接决定了水生昆虫的分布和密度 (陈含墨等, 2019)。本次调查在水质较好的杭州和台州采集到的蜻蜓种类最多, 而温州、宁波和绍兴等地采集到的蜻蜓种类较单一, 也支持这一观点。张激波等 (2013) 在研究浙江省钱塘江中游流域水生昆虫功能多样性对土地利用变化的响应时, 发现人类对土地的利用会导致溪流生态质量退化, 水体中营养盐浓度和电导率明显上升, 溶氧含量明显下降, 一些生物学性状的改变, 进而影响到水生昆虫群落及其功能多样性, 这些研究都说明人类活动所产生的水体污染已经严重影

响了水生昆虫的群落结构和多样性。

本次调查在 5 个地区采样点都采集到了红蜻稚虫, 其中温州样点采集的红蜻稚虫最多, 而水质分析显示该采样点水体中 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 、TN 和 COD_{Mn} 都较高, 且水体富营养程度为重度富营养, 推测红蜻稚虫对不同水体均有较强的抗逆性适应能力, 即使在富营养化程度较高的水体中也能较好的生存。

3.2 红蜻稚虫 SOD、CAT 酶活力与环境因子的关系

当生物体受到污染物刺激时, 会产生大量的活性氧, 如果不及时去除, 会对生物体造成损伤。当昆虫暴露在污染物下时, 机体内的 SOD 和 CAT 会同时发挥用来消除过多的自由基从而达到让自己能够生存下去的目的 (Subala *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2017)。如果长期在含较低浓度污染物的环境下暴露, 生物体内的 SOD 和 CAT 酶活力将会被诱导 (宋志慧和王庆伟, 2011)。吴国星等 (2008) 研究了棕尾别麻蝇 *Boettcherisca peregrina* 幼虫的脂质过氧化作用与重金属镉和铜存在着浓度依赖, 其体内的 SOD 和 CAT 酶活力随重金属浓度升高而明显被抑制。王慧等 (2006) 研究几种蝇类在镉和铜胁迫下的抗氧化酶活性变化发现: 镉和铜明显抑制蝇类幼虫的 SOD 和 CAT 酶活性, 且随着重金属的浓度升高其抑制作用增强。在对各个采样点红蜻稚虫体内 SOD 和 CAT 进行测定时, 发现不同采样点的红蜻稚虫其体内抗氧化酶活力存在显著差异, 可能与红蜻稚虫对各自水体环境的胁迫响应有关。当外界 Cr^{6+} 浓度较高时, 红蜻稚虫体内的 SOD 和 CAT 酶活力上升 ($P < 0.05$), SOD 和 CAT 酶活力和 Cr^{6+} 呈正相关 ($r > 0$); 当 Cu^{2+} 含量较高时, CAT 酶活力上升 ($P < 0.05$), CAT 酶活力和 Cu^{2+} 呈正相关 ($r > 0$)。本研究还发现尽管不同水体内红蜻稚虫体内 SOD 和 CAT 的酶活力不同, 但是它们在各地有相似的表现, 都呈现出台州 > 温州 > 宁波 > 绍兴 > 杭州的趋势, 进一步证明红蜻稚虫体内的 SOD 和 CAT 酶活力与其生活的水体环境具有一定的联系。结合各地环境因子污染情况, 本研究发现 SOD 与 CAT 酶活力最高的两个地区所对应的最突出的环境污染因子是 Cr^{6+} , 而对其它重金属的反应并不强烈, 由此可以推测红蜻体内的 SOD 和 CAT 酶活力在一定程度上能反应出某一水体的 Cr^{6+} 污染情况。

3.3 红蜻蜓虫 *HSP70*、*HSP90*、*CYP303a1* 基因的表达与环境因子的关系

HSP 家族是生物体中重要的伴侣蛋白, 炎症、热应激、缺血、重金属胁迫等一系列的因素都会导致其 mRNA 的表达 (计红等, 2005), *HSP70* 在被诱导后表达水平甚至可增加 10 ~ 100 倍 (陈兰英等, 2004; 彭乔烽等, 2019)。有研究表明在 pH 和重金属的暴露下, 凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 的 *HSP60*、*HSP70*、*HSP90* 基因会进行不同程度的特异性表达 (Qian *et al.*, 2012)。本研究发现, 红蜻蜓虫在富营养化水体中, 通过不同片段长度的 *HSPs* 的表达对环境变化作出相应反应, 当污染物主要为氮素时, 红蜻蜓虫的 *HSP70* 表达能力上升; 当污染物主要为磷元素时, 红蜻蜓虫的 *HSP70* 表达能力下降, *HSP90* 表达能力上升; 当污染物为还原性物质时, 红蜻蜓虫的 *HSP90* 表达能力下降。通过测定不同片段长度的 *HSPs* 的表达量, 可以了解到当前水体的主要污染物质。Mahmoud 等研究发现, 在无机磷暴露下, 鸡体内的 *HSP90* 基因有明显的升高, 这与本实验的结果相一致 (Mahmoud *et al.*, 2004)。通过相关性分析得出, *HSP90* 表达量随 TP 和 COD_{Mn} 浓度呈正相关关系 ($r > 0$), 随着水体中 TP、 COD_{Mn} 浓度的上升, *HSP90* 基因的表达量随之上调 ($P < 0.05$); *HSP70* 的表达量随 Pb^{2+} 浓度上升而上调 ($P < 0.05$), 且与 Pb^{2+} 浓度间呈正相关 ($r > 0$), 这与邓茗苓关于秀丽影杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 的研究结果也是一致的 (邓茗苓, 2014)。

细胞色素 *P450* 酶系 (*CYP450*) 是一类重要的多功能氧化酶 (Guengerich *et al.*, 2016), 参与生物体内各种内源和外源性物质的氧化代谢, 大部分药物和外源污染物的代谢都与 *P450* 酶系有关 (Vacarro *et al.*, 2002; Laville *et al.*, 2004)。通过分析, 红蜻蜓虫 *CYP303a1* 基因的表达水平与水体中 Cr^{6+} 含量呈负相关关系 ($r < 0$), 在长期 Cr^{6+} 胁迫的作用下, 会抑制红蜻蜓虫 *CYP303a1* 基因的表达 ($P < 0.05$); *CYP303a1* 的表达量与 TP 和 Cd^{2+} 呈正相关 ($r > 0$), 随着这两种环境因子的浓度上升, 会促进红蜻蜓虫体内 *CYP303a1* 基因表达上调 ($P < 0.05$)。

3.4 不同类型水体污染下蜻蜓稚虫的抗逆性表现

通过对水体理化指标的测定, 以及红蜻蜓虫酶活性和基因表达的测定等, 在皮革废水污染下, 红蜻蜓虫体内的 SOD、CAT 和 *P450* 能帮助红蜻蜓虫适应 Cr^{6+} 浓度较高的水体中。Loumbourdis 等

(2006) 认为 Cr^{6+} 进入机体后可被体内的抗氧化剂 (如谷胱甘肽、甘氨酸等) 迅速还原为低毒的 Cr^{3+} , 而微量 Cr^{3+} 对于机体的代谢活动是必不可少的, 因此推测低浓度 Cr^{6+} 不会对蜻蜓稚虫的生长发育产生抑制作用。在高浓度时, 进入体内的 Cr^{6+} 含量长期偏高, 会抑制 SOD、CAT 活性和 *CYP303a1* 的基因表达能力。在富营养化水体中, 红蜻蜓虫通过表达不同片段长度的 *HSPs*, 来应对不同类型的富营养化因素, 从而更好地适应生活环境的变化。

本研究在通过对红蜻蜓幼虫生存的水体环境和体内的抗氧化酶 SOD 和 CAT 以及 *HSP70*、*HSP90* 和 *CYP303a1* 分析可得以下结论:

1) 红蜻蜓虫体内的 SOD 和 CAT 酶活力与水体中的重金属 Cr^{6+} 离子浓度密切相关, 可在一定程度上反映出水体的 Cr^{6+} 污染状况;

2) 红蜻蜓虫 *HSP70* 的表达量与水体 TN、TP 和 Pb^{2+} 浓度间呈正相关, 同时 *HSP90* 的表达与水体 TP 和 COD_{Mn} 浓度正相关, 可反映水体富营养化的主要污染物类型; 红蜻蜓虫 *CYP303a1* 的表达水平与水体中 Cr^{6+} 含量呈负相关, 而与 TP 和 Cd^{2+} 呈正相关。推测 *HSPs* 和 *CYP* 可能与稚虫抵抗不同类型的重金属或富营养化污染有关系。

参考文献 (References)

- Barbour MT, Gerritsen J, Griffith GE, *et al.* A framework for biological criteria for florida streams using benthic macroinvertebrates [J]. *Journal of the North American Benthological Society*, 1996, 15 (2): 185-211.
- Briers RA, Biggs J. Indicator taxa for the conservation of pond invertebrate diversity [J]. *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 2003, 13 (4): 323-330.
- Cai LM. Water environment assessment and pollution prevention in Zhejiang Province [J]. *Zhejiang Hydrotechnics*, 1999, S1: 87-89. [蔡黎明. 浙江省水环境评价及水污染防治对策 [J]. 浙江水利科技, 1999, S1: 87-89]
- Chen HM, Qu XD, Wang F. Research progress of river dynamic influences on the distribution of macroinvertebrates [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019, 32 (5): 758-765. [陈含墨, 渠晓东, 王芳. 河流水力条件对大型底栖动物分布影响研究进展 [J]. 环境科学研究, 2019, 32 (5): 758-765]
- Chen LY, Zhu PM, Li BB, *et al.* Research progress of structure, features and function of *HSP70* [J]. *Henan Institute of Urban Construction Journal*, 2004, 13 (2): 41-43. [陈兰英, 朱洋民, 李冰冰, 等. *HSP70* 的结构、特性和功能研究进展 [J]. 河南城建学院学报, 2004, 13 (2): 41-43]
- Chen LH, Yu JX, Li L, *et al.* Water quality assessment of Caohai Lake in Guizhou based on trophic state index and principal component analysis [J]. *Journal of Yangtze River Scientific Research Institute*,

- 2018, 35 (8): 40–45, 50. [陈丽华, 喻记新, 李丽, 等. 基于 TLI 和 PCA 的贵州草海水质状况评价 [J]. 长江科学院院报, 2018, 35 (8): 40–45, 50]
- Chen X, Zhang KF. On water pollution and management in Shaoxing [J]. *Journal of Zhejiang Water Conservancy and Hydropower College*, 2009, 21 (1): 63–64, 67. [陈昕, 章科锋. 绍兴市水资源污染状况及综合治理对策 [J]. 浙江水利水电专科学校学报, 2009, 21 (1): 63–64, 67]
- Deng MQ. Pollution Stress and HSPs Response of Lead and Cadmium Combined With Glyphosate on *Caenorhabditis elegans* [D]. Changchun: Northeast Normal University Master Thesis, 2014. [邓茗芬. 铅、镉与草甘膦复合对秀丽隐杆线虫的污染胁迫及 HSPs 响应 [D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2014]
- Forkert PG, Mirehouse – Brown P, Park SS, et al. Distribution and induction sites of phenobarbital – and 3 – methylcholanthrene – inducible cytochromes P450 in murine liver: Immunohistochemical localization with monoclonal antibodies [J]. *Molecular Pharmacology*, 1988, 34 (6): 736–743.
- Gu XG, Bai YL, Cheng J. Determination of water quality transparency by Serge's Disk method [J]. *Environmental Protection and Circular Economy*, 2005, 25 (5): 21–22. [顾晓光, 白艳丽, 程锦. 塞氏盘法对水质透明度的测定 [J]. 环境保护与循环经济, 2005, 25 (5): 21–22]
- Guengerich FP, Waterman MR, Egli M. Recent structural insights into cytochrome P450 function [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2016, 37 (8): 625–640.
- Han FY, Xi YY. *Ischnura elegans* as an indicator of pollution of cadmium on water system [J]. *Journal of Agro – Environment Science*, 2001, 20 (4): 229–230. [韩凤英, 席玉英. 长叶异痣蟌对水体镉污染的指示作用的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2001, 20 (4): 229–230]
- Han FY, Xi YY, Bi H. Indicating function of *Ischnura elegans* in lead-polluted water [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2002, 21 (2): 169–170. [韩凤英, 席玉英, 毕浩. 长叶异痣蟌对水体铅污染的指示作用 [J]. 农业环境科学学报, 2002, 21 (2): 169–170]
- He J, Shi D, Wang BB, et al. Ecological risk assessment and water quality standard evaluation of 10 typical metals in eight basins in China [J]. *China Environmental Science*, 2019, 39 (7): 2970–2982. [何佳, 时迪, 王贝贝, 等. 10 种典型重金属在八大流域的生态风险及水质标准评价 [J]. 中国环境科学, 2019, 39 (7): 2970–2982]
- Jacob RA. The integrated antioxidant system [J]. *Nutrition Research*, 1995, 15 (5): 755–766.
- Jeremiason JD, Reiser TK, Weitz RA, et al. Aeshnid dragonfly larvae as bioindicators of methylmercury contamination in aquatic systems impacted by elevated sulfate loading [J]. *Ecotoxicology*, 2016, 25 (3): 456–468.
- Ji H, Yang HM, Wu YK. Advances and application prospects of HSP [J]. *Journal of Biology*, 2005, 22 (4): 1–3. [计红, 杨焕民, 吴永魁. 热应激蛋白研究进展及其应用前景 [J]. 生物学杂志, 2005, 22 (4): 1–3]
- Jin M. Study on the Change of the Eutrophication at Wenzhou Oujiang River Estuary [D]. Hanzhous: Zhejiang University Master Thesis, 2015. [金矛. 温州瓯江口海域水体富营养化的变化研究 [D]. 杭州: 浙江大学硕士论文, 2015]
- Laville, Ait-Aïssa S, Gomez E, et al. Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes [J]. *Toxicology*, 2004, 196 (1–2): 41–55.
- Li JG, Wang QC, Yan SC, et al. Community characteristics of aquatic insects and bioassessment for water quality in lower order streams in Liangshui and Maershan watersheds, Heilongjiang [J]. *China Acta Ecologica Sinica*, 2007, 12: 5008–5018. [李金国, 王庆成, 严善春, 等. 凉水、帽儿山低级溪流中水生昆虫的群落特征及水质生物评价 [J]. 生态学报, 2007, 12: 5008–5018]
- Li P, Fan JH, Liu R, et al. A study on pollution characteristics and removal performance of heavy metals in a tenney and textile dyeing industrial park wastewater treatment plant [J]. *Environmental Engineering*, 2012, 30 (S2): 101–104, 108. [李萍, 范举红, 刘锐, 等. 制革印染工业园区污水厂重金属污染特性及去除效果研究 [J]. 环境工程, 2012, 30 (S2): 101–104, 108]
- Li ZH. Study on Toxicity of Arsenic *In Vivo* and *In Vitro* Based on Hsp Response in *Caenorhabditis elegans* [D]. Changchun: Northeast Normal University Master Thesis, 2014. [李铸衡. 基于线虫 Hsp 响应的 As 毒理机制的体内与体外研究 [D]. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 2014.]
- Liu BY, Wang SD, Wang YM, et al. Study on evaluation of pollution of Tumen River by using benthic animals [J]. *Journal of Environmental Science*, 1981, 1 (4): 337–348. [刘保元, 王士达, 王永明, 等. 利用底栖动物评价图们江污染的研究 [J]. 环境科学学报, 1981, 1 (4): 337–348]
- Lim SO, Park SG, Yoo JH, et al. Expression of heat shock proteins (HSP27, HSP60, HSP70, HSP90, GRP78, GRP94) in hepatitis B virus – related hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, 11 (14): 2072–2079.
- Liu X, Chen K, Chen QW, et al. The community structure of macroinvertebrate and its relationship to the environmental factors in summer and autumn within typical reaches of Huai River Basin [J]. *Journal of Environmental Science*, 2016, 36 (6): 1928–1938. [刘祥, 陈凯, 陈求稳, 等. 淮河流域典型河流夏秋季底栖动物群落特征及其与环境因子的关系 [J]. 环境科学学报, 2016, 36 (6): 1928–1938]
- Loumbourdis NS, Iason K, Basiliki T, et al. Heavy metal accumulation and metallothionein concentration in the frog *Rana ridibunda* after exposure to chromium or a mixture of chromium and cadmium [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 145 (3): 787–792.
- Lu W, Ying CH. Evaluation of rural river water environment in Zhejiang Province and countermeasures of water conservancy protection [J]. *Yangtze River*, 2009, 40 (15): 16–17, 38, 105. [卢卫, 应聪慧. 浙江省农村河道水环境评价及水利保护对策 [J]. 人民长江, 2009, 40 (15): 16–17, 38, 105]
- Luo QR. The distribution characteristics of aquatic insects community in Qijiang River and the correlation with environmental factors [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40 (1): 323–325. [罗清荣. 岐江河水生昆虫群落分布特征及与环境因子的相关性 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40 (1): 323–325]
- Lushchak VI. Environmentally induced oxidative stress in aquatic

- animals [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 101 (1): 13–30.
- Ma CX, Wang L, Zhu BJ, et al. Effects of heavy metal on expression of Heat Shock Protein 70 (HSP70) in HeLa cells [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2013, 22 (2): 136–141. [马晨曦, 王磊, 朱保健, 等. 重金属对 HeLa 细胞中热激蛋白 70 (HSP70) 表达的影响 [J]. *激光生物学报*, 2013, 22 (2): 136–141]
- Mahmoud KZ, Edens FW, Havenstein GB, et al. The effect of dietary phosphorus on heat shock protein mRNAs during acute heat stress in male broiler chickens (*Gallus gallus*) [J]. *Toxicology and Pharmacology*, 2004, 137 (1): 11–18.
- Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, et al. The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature [J]. *DNA and Cell Biology*, 1993, 12 (1): 1–51.
- Okey AB. Enzyme induction in the cytochrome P450 system [J]. *Pharmacol Ther*, 1990, 45 (2): 241–298.
- Pan HY, Jiang YM, Yang YL, et al. Research progress in WEEE dismantling and the contamination of heavy metals in Taizhou, China [J]. *Sichuan Environment*, 2015, 34 (1): 127–132. [潘海燕, 蒋友明, 杨幼林, 等. 台州地区电子垃圾拆解回收与重金属污染研究进展 [J]. *四川环境*, 2015, 34 (1): 127–132]
- Peng QF, Chen L, Ma XM, et al. Research progress on HSP70 function [J]. *Gansu Animal Husbandry Veterinary*, 2019, 49 (5): 18–20. [彭乔烽, 陈朗, 马小梅, 等. 热休克蛋白 HSP70 家族功能研究进展 [J]. *甘肃畜牧兽医*, 2019, 49 (5): 18–20]
- Qi HB, Lu YL. Research on regional water pollution prevention and control in Shaoxing plain [J]. *China Water and Wastewater*, 1995, 5: 43–44. [祁华宝, 鲁玉龙. 绍兴平原区域水污染防治总体规划研究 [J]. *中国给水排水*, 1995, 5: 43–44]
- Qi S, Lin M, Li KH. Evaluation of pollution in Guangzhou reach of pearl river by macrobenthos [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 1982, 2 (3): 181–189. [杞桑. 从珠江广州河段大型底栖无脊椎动物的群落特征看水质生态学评价的问题 [J]. *中国环境科学*, 1982, 2 (3): 181–189]
- Qian Z, Liu X, Wang L, et al. Gene expression profiles of four heat shock proteins in response to different acute stresses in shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Toxicology and Pharmacology*, 2012, 156 (3–4): 211–220.
- Slaninova A, Smutna M, Modra H, et al. A review: Oxidative stress in fish induced by pesticides [J]. *Neuro Endocrinology Letters*, 2009, 30 (S1): 2–12.
- Song ZH, Wang QW. Effect of Cu^{2+} , Cd^{2+} and Cr^{6+} stress on the anti-oxidative enzyme activities in *Danio rerio* [J]. *Anhui Agricultural Science*, 2011, 39 (8): 4739–4741. [宋志慧, 王庆伟. Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cr^{6+} 胁迫对斑马鱼抗氧化酶活性的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 39 (8): 4739–4741]
- Subala SP, Zubero EE, Alatorre-Jimenez MA, et al. Pre-treatment with melatonin decreases abamectin induced toxicity in a nocturnal insect *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2017, 56: 76–85.
- Tong XL, Hu HJ. Evaluation of water quality in Nankun Mountain stream by using aquatic insects [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 1995, 16 (3): 6–10. [童晓立, 胡慧建. 利用水生昆虫评价南昆山溪流的水质 [J]. *华南农业大学学报*, 1995, 16 (3): 6–10]
- Vaccaro E, Giorgi M, Longo V, et al. Inhibition of cytochrome p450 enzymes by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 62 (1): 27–33.
- Wang GL, Wu YY, Xu LL. Analyzing on the water pollutions and the pollution-resistance of tree species in the industrial area in Ningbo city [J]. *Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology*, 2008, 35 (6): 23–30. [王桂林, 吴月燕, 许丽莉. 宁波市工业集中区水污染状况与树种耐污染能力的调查分析 [J]. *江苏林业科技*, 2008, 35 (6): 23–30]
- Wang H, Wu GX, Ye GY, et al. Accumulation of cuprum and cadmium and their effects on the antioxidant enzymes in *Boettcherisca peregrina* exposed to cuprum and cadmium [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2006, 32 (1): 77–81. [王慧, 吴国星, 叶恭银, 等. 铜和镉在棕尾别麻蝇体内的累积及其对三种抗氧化酶活性的影响 [J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2006, 32 (1): 77–81]
- Wang ZX. Discussion on the reasons and solutions of Zinc cyanide plating – A case study of Ningbo [J]. *Surface Engineering and Remanufacturing*, 2012, 12 (2): 22–22. [王宗雄. 浅谈氰化镀锌存在的原因及其解决办法 – 以宁波市为例 [J]. *表面工程与再制造*, 2012, 12 (2): 22–22]
- Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: A success story [J]. *Genome Biology*, 2000, 1 (6): 1–9.
- Wu GX, Gao X, Ye GY, et al. Analysis on dynamic change of malondialdehyde induced by Cd^{2+} and Cu^{2+} in *Boettcherisca peregrina* larvae [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2008, 30 (2): 115–119. [吴国星, 高熹, 叶恭银, 等. 镉和铜离子诱导棕尾别麻蝇幼虫脂质过氧化丙二醛动态变化分析 [J]. *环境昆虫学报*, 2008, 30 (2): 115–119]
- Wu JX, Wang J, Jin CQ. Environmental regulation and performance evaluation of water pollution control in textile industry [J]. *Journal of Shaoxing College of Arts and Sciences (Humanities and Social Sciences)*, 2018, 38 (6): 110–115. [吴绩新, 王瑾, 金超奇. 纺织行业水污染治理的环境规制及其绩效测评 [J]. *绍兴文理学院学报 (人文社会科学版)*, 2018, 38 (6): 110–115]
- Xi YY, Han FY. A indicating function of *Ischnura elegans* in mercury-polluting water [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2000, 19 (6): 345–346. [席玉英, 韩凤英. 长叶异痣蟌对水体汞污染的指示作用 [J]. *农业环境科学学报*, 2000, 19 (6): 345–346]
- Xu Y, Si YW, Xiao YJ, et al. Countryside point source water pollution reason and its governance reason – take Wenzhou city Pingyang county as example [J]. *Special Zone Economy*, 2014, 4: 158–161. [徐越, 司言武, 肖也佳, 等. 农村点源水污染成因及其治理研究 – 以温州市平阳县鳌江为例 [J]. *特区经济*, 2014, 4: 158–161]
- Yang B, Zhang G, Li YR, et al. Investigation on chromium pollution situation and control countermeasures in leather and electroplating industry of Zhejiang Province [J]. *China Water and Wastewater*, 2016, 8: 22–28. [杨斌, 张刚, 李欲如, 等. 浙江省制革和电镀行业铬污染现状调研及治理对策 [J]. *中国给水排水*, 2016,

- 8: 22 - 28]
- Yang J, Baloch NA, Fan D. cDNA cloning and induction of Heat Shock Protein HSP90 from *Mythimna separata* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2017, 33 (5): 623 - 630. [杨静, Baloch NA, 樊东. 黏虫热休克蛋白 HSP90 基因的克隆及不同温度对其诱导反应 [J]. 中国生物防治学报, 2017, 33 (5): 623 - 630]
- Yang LF, Li YW, Qi DG, et al. Structure of aquatic insect community and biomass evaluation of water quality in Jiuhua River [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1992, 12 (1): 8 - 15. [杨莲芳, 李佑文, 戚道光, 等. 九华河水生昆虫群落结构和水质生物评价 [J]. 生态学报, 1992, 12 (1): 8 - 15]
- Yoshimura M, Maeto K. Comparison of sampling methods for aquatic insect indicators of forest condition in terms of collection efficiency [J]. *Bulletin of FFPRI*, 2004, 3 (392): 213 - 219.
- Yu X. A Comparative Study on the Tolerance of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* to Temperature Photoperiod [D]. Beijing: Chinese Center For Disease Control And Prevention, 2013. [喻潇. 白纹伊蚊和埃及伊蚊对温度、光周期耐受范围的比较研究 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心硕士学位论文, 2013]
- Zhang FQ, Wang YS, Lou ZP, et al. Effect of heavy metal stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings (*Kandelia candel* and *Bruguiera gymnorhiza*) [J]. *Chemosphere*, 2007, 67 (1): 44 - 50.
- Zhang LB, Liu DX, Liu SR, et al. Responses of functional diversity of aquatic insect community to land use change in middle reach of Qiantang River, East China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24 (10): 2947 - 2954. [张淑波, 刘东晓, 刘朔孺, 等. 钱塘江中游水生昆虫群落功能多样性对土地利用变化的响应 [J]. 应用生态学报, 2013, 24 (10): 2947 - 2954]
- Zhang LY. Study on the New Technology of Surveillance and Control of *Aedes albopictus* [D]. Beijing: Huazhong Agricultural University Master Thesis, 2008. [张令要. 白纹伊蚊种群监测与控制新技术研究 [D]. 北京: 华中农业大学硕士学位论文, 2008]
- Zhang N, Zhang QJ, Jia CX, et al. Effects of heavy metal Zinc on SOD and CAT activities and GSH content of *Daphnia magna* [J]. *Journal of Southwest University*, 2017, 39 (1): 69 - 75.
- Zhang SD, Wang WC, Hao HL. Trends and control of nitrogen and phosphorus change in water in the main drinking water source of Ningbo City [J]. *Journal of Hohai University*, 2010, 38 (S2): 36 - 41. [张松达, 王文成, 郝虎林. 宁波市主要饮用水源地水体氮磷变化趋势及控制 [J]. 河海大学学报, 2010, 38 (S2): 36 - 41]
- Zhao XF. Fujian dragonfly larvae belong to the search (Odonata) [J]. *Wuyi Science*, 1995, 12: 51 - 79. [赵修复. 福建省蜻蜓幼虫分属检索 (蜻蜓目) [J]. 武夷科学, 1995, 51 - 79]
- Zhou ZY. Research on Water pollution control in Ningbo city based on PPP model [J]. *Operations and Management*, 2016, 6: 144 - 146. [周正勇. 基于 PPP 模式的宁波市水污染治理问题研究 [J]. 经营与管理, 2016, 6: 144 - 146]