

염화니켈 (NiCl₂) 급성노출에 따른 북방전복 *Haliotis discus hannai*의 산화스트레스 반응

김수지, 김경미, 강소영, 이정식

전남대학교 수산생명의학과

Oxidative Stress Response of the Abalone *Haliotis discus hannai* Acute Exposed to Nickel Chloride (NiCl₂)

Suji Kim, Kyeong Mi Kim, So Young Kang and Jung Sick Lee

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 59626 Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of nickel chloride (NiCl₂) exposure on oxidative stress of the abalone *Haliotis discus hannai*. Experimental groups were composed of one control condition and five nickel chloride exposure conditions (5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L). Superoxide dismutase (SOD) activity was increased in the foot and hepatopancreas, but decreased in the gill. Catalase (CAT) activity was increased in all exposure groups except 20.0 mg/L and 30.0 mg/L. In the gill, CAT activity was similar to the control group for all exposure groups. In the hepatopancreas, CAT activity was increased compared with the control group. However SOD and CAT activity showed not significant differences ($P > 0.05$).

Key words: *Haliotis discus hannai*, nickel chloride (NiCl₂), oxidative stress, superoxide dismutase, catalase

서 론

북방전복 *Haliotis discus hannai*은 한국, 중국, 일본 등에서 고부가가치의 양식 대상종으로 생산량이 점차 증가하고 있는 추세이지만 생산량 증가를 위한 전복 양식시설의 증가로 어장환경의 악화와 폐사율 증가 및 생산성 저하 등의 악순환을 일으킨다 (Kim, 2014). 한국에서 전복 양식장의 대부분은 남해안 일대에 위치하고 있으며, 남해안은 반 폐쇄만의 형태로 유입된 오염원들이 외양으로 쉽게 빠져나가지 못하는 지형적 특성을 갖는다.

우리나라 연안 무척추동물의 니켈 (Ni) 함량을 조사한 연구에서 북족류는 0.254 $\mu\text{g/g}$ 으로 조사되었으며, 북족류 중에서도 전복은 0.976 $\mu\text{g/g}$ 으로 높은 수치를 나타낸다 (Mok *et*

al., 2010). 또한, 전복 양식장 저질의 미량금속 축적농도에서도 니켈의 함량이 높은 수치를 나타내고 있다. 여러 가지 경로를 통해 육상에서 연안 수역으로 유입된 금속원소는 오랜 기간 분해되지 않는 지속성과 그에 따른 독성, 생체축적의 특성 때문에 수계생물 내에 급성, 만성독성을 유발하며, 생물체내 스트레스와 감염에 대한 감수성을 증가시킨다 (Atchison *et al.*, 1987; Zhang *et al.*, 2009). 특히, 니켈은 일부 무척추동물의 항상성 유지를 위해 필요한 미량금속으로서 낮은 수준으로 동물조직에서 발견되지만 스테인리스, 도자기 색소, 니켈전지 및 동전 등의 생산, 재생 및 폐기 과정을 통해 육상 및 수서생태계로 유입되어 독성 및 발암성을 일으킨다 (Costa and Heck, 1982).

해양환경 변화에 의한 물리·화학적 스트레스에 노출된 수서생물들은 생화학 및 생리적인 역기능 발생으로 인해 세포가 죽게 된다. 니켈을 비롯한 카드뮴 (Cd), 크롬 (Cr) 및 수은 (Ag) 과 같은 금속원소는 활성산소 (ROS, reactive oxygen species) 인 superoxide, hydrogen peroxide, peroxy radical, hydroxyl radical을 발생시키는 것으로 알려져 있다 (Stohs and Bagchi, 1995; Stohs *et al.*, 2001; Firat *et al.*, 2009). 활성산소는 생체 내에서 다른 물질과 결합하려는 화학적 산화력이 강해서 세포나 기관의 막을 공격하여 세포의

Received: November 20, 2015; Revised: December 9, 2015;
Accepted: December 30, 2015

Corresponding author : Jung Sick Lee

Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: ljs@jnu.ac.kr
1225-3480/24597

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

기능을 손상시킨다 (Ferraris *et al.*, 2002). 또한 수계생물은 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 등과 같은 항산화효소를 이용하여 활성산소에 대한 세포기능 손상을 막는 것으로 알려져 있다 (Lopes *et al.*, 2001).

니켈은 주요 오염물질로 규정된 미량금속으로 독성효과가 알려지는데 비해 많은 연구가 이루어져 있지 않다. 따라서 본 연구는 북방전복을 대상으로 기관계의 효소활성 변화를 통하여 염화니켈의 위해성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 북방전복은 각장 33.86 ± 2.19 mm 로 외형적으로 이상이 없는 180개체를 사용하였다. 북방전복은 실험개시 전 수온 15°C, 염분 32 psu 조건의 30 L 사각 유리 수조 (28 x 50 x 30 cm) 에서 1주간 순치시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 실험조건

본 실험은 OECD test guideline No. 203 (OECD, 1992) 을 참고하여 실시하였으며, 반지수식 독성시험 방법을 이용하여 96시간 동안 진행하였다. 시험용액은 염화니켈 (NiCl₂, Sigma, U.S.A) 을 1,000 mg/L 의 표준용액 (nickel chloride stock solution) 으로 만든 다음, 실험 농도별로 희석하여 조제하였다. 실험 농도는 급성독성시험을 바탕으로 0, 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 NiCl₂ mg/L 로 설정하였다. 실험기간 동안 북방전복의 사육환경과 유사하도록 각 수조마다 암막장치를 설치하였으며, 수온, 염분농도 그리고 pH는 매일 오전 10시에 측정하였다. 사육수는 염화니켈 (NiCl₂) 의 반감기에 따라 1일 1회 매일 10시에 실험수의 1/3씩 교환하였으며, 교환시 사이펀을 이용하여 수조 바닥면의 배설물을 제거하였다.

2) 산화스트레스효소 활성 분석

염화니켈 급성노출에 따른 북방전복의 산화스트레스효소 활성을 알아보기 위해 발, 아가미, 간체장을 적출하여 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 및 단백질 함량을 분석하였다. 각 SOD와 CAT 활성 분석은 북방전복의 발, 아가미, 간체장을 해부한 후 각 조직의 무게를 측정하였으며, 조직 1 mg당 각각 200 μ l 인산완충용액 (PBS; phosphate buffered saline, pH 7.2-7.4) 과 100 μ l assay buffer를 시료와 혼합한 후 균질화 하였다. 그리고 4°C에서 10,000 g, 5분, 4°C에서 14,000 rpm, 10분 동안 각각 원심분리하여 상층액을 추출하고 분석 전까지 -80°C 초저온 냉동고

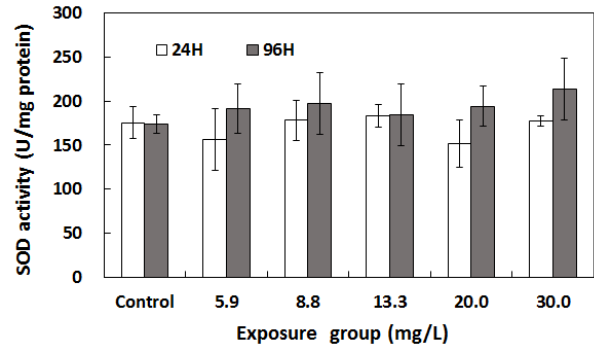


Fig. 1. Superoxide dismutase (SOD) activities in the foot of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

에 보관하였다. SOD 활성 측정은 시판 증인 키트 (SOD assay kit-WST, Dojindo, Japan) 를 이용하였으며, 시료를 단계 희석하여 450 nm 에서 inhibition curve를 작성하고, inhibition curve에 활성이 50% 억제되는 농도를 찾아 계산하였다. CAT 활성 측정은 시판용 키트 (EnzyChrom™ Catalase assay kit, BioAssay System, U.S.A) 를 이용하였으며, H₂O₂를 기질로 사용하여 240 nm 파장에서 H₂O₂가 환원되어 감소하는 흡광도로 계산하였고, 효소 활성 단위는 1 분간 단백질 1 mg 이 반응하여 환원시킨 H₂O₂를 nmol 로 나타내었다.

단백질 함량 분석은 Bradford법 (Bradford, 1976) 을 이용하여 측정하였으며, 표준단백질로는 Albumin from bovine serum (BSA; B4287, Sigma) 를 사용하였다.

3) 유의성 검증

대조구에 대한 노출구들의 유의적 차이 (P < 0.05) 를 알아보기 위하여 통계처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS 20.0, SPSS Inc., U.S.A) 을 이용하여 paired sample t-test를 실시하였다.

결 과

1. Superoxide dismutase (SOD)

염화니켈에 노출된 북방전복의 발에서 측정된 SOD 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 175.6 U/mg protein, 각 노출구 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L 에서는 각각 156.3, 178.5, 183.1, 151.8, 177.4 U/mg protein으로 분석되었다. 96시간 경과 후에는 대조구에서 174.0 U/mg protein, 각 노출구에서는 191.7, 197.2, 184.4, 194.0, 213.9 U/mg protein으로 분석되었다. 대조구와 비교시 모든 노출구에서 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였지만 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 (P > 0.05) (Fig. 1).

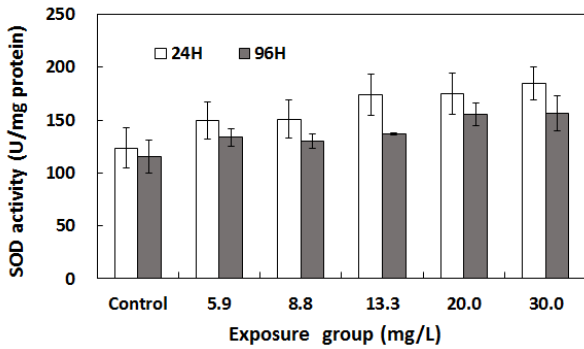


Fig. 2. Superoxide dismutase (SOD) activities in the gill of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

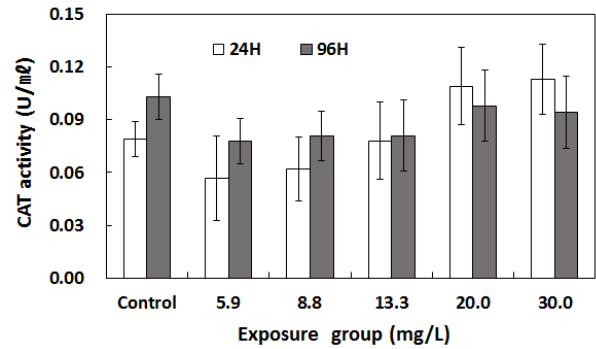


Fig. 4. Catalase (CAT) activities in the foot of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

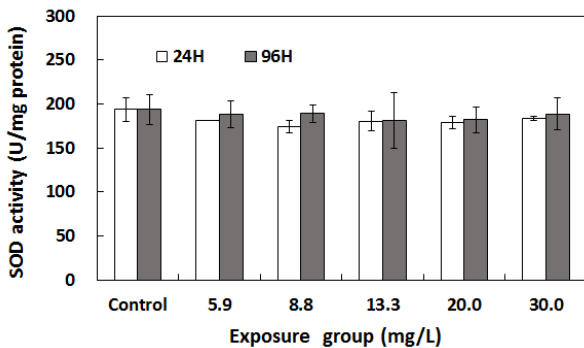


Fig. 3. Superoxide dismutase (SOD) activities in the hepatopancreas of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

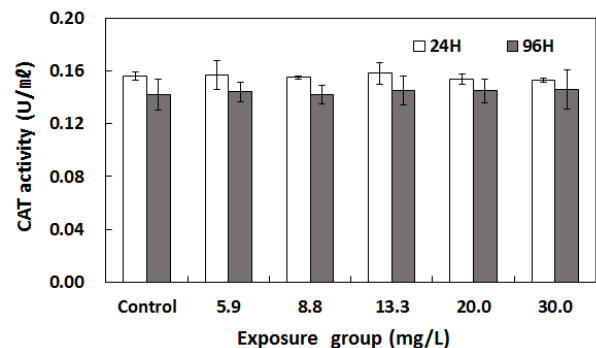


Fig. 5. Catalase (CAT) activities in the gill of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

아가미에서 측정된 SOD 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 123.8 U/mg protein, 각 노출구에서는 150.0, 151.0, 173.8, 175.1, 184.8 U/mg protein으로 분석되었다. 96시간 경과 후에는 대조구에서 115.7 U/mg protein, 각 노출구에서는 133.8, 130.3, 137.0, 155.3, 156.5 U/mg protein으로 분석되었다. 대조구에 비해 모든 노출구에서 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 보였지만 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 2).

간체장에서 측정된 SOD 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 193.6 U/mg protein, 각 노출구에서는 181.4, 174.1, 180.4, 178.6, 183.7 U/mg protein 으로 분석되었다. 96시간 경과 후에는 대조구에서 193.6 U/mg protein, 각 노출구에서는 187.7, 188.9, 181.1, 181.9, 188.8 U/mg protein으로 분석되었다. 대조구에 비해 모든 노출구에서 낮게 나타났지만 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 하지만 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 3).

2. Catalase (CAT)

염화니켈에 노출된 북방전복의 발에서 측정된 CAT 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 0.079 U/mL, 각 노출구 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L 에서는 각각 0.057, 0.062, 0.078, 0.109, 0.113 U/mL 로 분석되었다. 96시간 경과 후 대조구에서는 0.103 U/mL, 각 노출구에서는 0.078, 0.081, 0.081, 0.098, 0.094 U/mL 로 분석되었다. 대조구와 비교시 20.0와 30.0 mg/L 를 제외한 모든 노출구에서 증가하는 경향을 보였지만 모든 노출구에서 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 4).

아가미에서 측정된 CAT 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 0.156 U/mL, 각 노출구에서는 0.157, 0.155, 0.158, 0.154, 0.153 U/mL 로 분석되었다. 96시간 경과 후에는 대조구에서 0.142 U/mL, 각 노출구에서는 0.144, 0.142, 0.145, 0.145, 0.146 U/mL 로 대조구와 유사한 경향을 보였다. 하지만 모든 노출구에서 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 5).

간체장에서 측정된 CAT 활성 농도는 24시간 경과 후 대조구에서 0.131 U/mL, 각 노출구에서는 0.156, 0.150, 0.156,

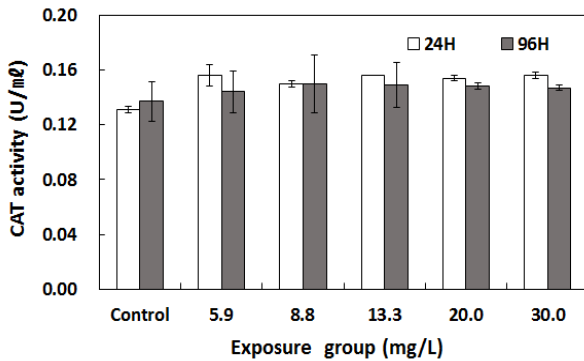


Fig. 6. Catalase (CAT) activities in the hepatopancreas of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

0.156, 0.156 U/mL 로 분석되었다. 96시간 경과 후에는 대조구에서 0.137 U/mL, 각 노출구에서는 0.144, 0.150, 0.149, 0.148, 0.147 U/mL 로 분석되었다. 대조구와 비교시 모든 노출구에서 증가하는 경향을 보였지만 대조구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 6).

고찰

토양, 하천, 지하수 및 해양으로 유입된 미량금속은 물에 분해되거나 안정한 화합물로 되지 않은 혼합 상태로 남아 수질과 토양을 오염시킨다 (Sorensen, 1991; Cui *et al.*, 1999). 또한 미량금속은 금속이온 혹은 혈장 단백질과 결합된 상태로 신경계, 간장, 신장 및 폐 등 장기에 흡수, 축적되어 생리적, 기능적 장애 및 형태적, 유전적, 생화학적 변화를 초래하여 생존을 위협한다 (WHO, 1972).

이러한 미량금속에 다량으로 노출될 경우, 방어반응으로 superoxide anion, hydrogen peroxide와 같은 활성산소 (reactive oxygen species, ROS) 를 제거하고 체외로 배설하기 위해 생체 변화를 일으킨다 (Halliwell and Gutteridge, 1995). 활성산소에 대한 방어기작으로 작용하는 항산화효소에는 SOD, CAT, gultathione peroxidase, gultation S-transferase 등이 있다. 이러한 항산화효소의 활성은 스트레스의 반응기작으로 중요하다고 알려져 있으며 (Dhawan, 2005), 이들은 세포내에 여러 소기관, 세포질 및 핵 등 다양한 곳에 존재한다 (Lopes *et al.*, 2001).

SOD는 두 가지의 이성질효소 (isoenzyme) 를 가지는 항산화효소로서 free radical을 H_2O_2 와 O_2 로 아세틸화시킨다. 또한 다른 항산화효소와 함께 작용하여 radical의 직접적인 독성과 이들이 금속이온과 상호작용하여 유독성의 hydroxy radical이 증가하는 것을 방지하는 역할을 하며, 이러한 과정

에서 체내의 농도가 증가할 수 있다 (Winston and Di Giulio, 1991; Parihar *et al.*, 1996). CAT는 $2H_2O_2$ 를 $2H_2O$ 와 O_2 로 환원하는 효소로서 과산화물이 세포막의 활성이나 효소활성을 억제하는 것을 막는 역할을 한다 (Chance *et al.*, 1979; Wendel and Feuerstein, 1981).

Agnieszka *et al.* (2010) 는 300와 900 mg/L 농도의 니켈 (Ni) 에 4주 동안 노출된 *Helix aspersa*의 GST 수치는 증가하였으나 CAT 수치는 2주 경과 후 모든 노출구에서 감소한다고 보고하였다. 또한, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/L}$ 농도의 구리 (Cu) 에 4주간 노출된 전복에서 SOD 활성은 농도의존적으로 증가하였으며, CAT 활성은 40 $\mu\text{g/L}$ 농도에서 2주와 4주째에 유의적으로 증가하였다고 보고하였다 (Park and Kang, 2012). 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/L}$ 농도의 카드뮴 (Cd) 에 4주간 노출된 북방전복 *Haliotis discus hannai* 역시 SOD 활성은 증가하였으나 CAT 활성은 가장 고농도 구간인 40 $\mu\text{g/L}$ 에서만 유의적으로 증가하였다고 보고하였다 (Min *et al.*, 2014). 4, 7, 1 $^{\circ}\text{C}$ 구간에서 9일 동안 노출된 북방전복의 SOD 활성은 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 3시간 경과 후 상승하였으나 12시간 경과 후 대조구와 유사한 수치로 감소하였다고 보고하였다 (Park *et al.*, 2011).

본 실험에서의 SOD 활성은 발과 간체장의 경우, 모든 니켈 노출구에서 대조구에 비해 증가하는 경향을 나타냈다. 하지만 아가미의 경우, 모든 니켈 노출구에서 대조구 보다 높은 활성을 나타내었으나 96시간 경과 후 오히려 활성이 감소하는 경향을 나타내었다. CAT 활성은 아가미의 경우, 대조구와 유사한 결과를 보였으나 96시간 경과 후 감소하는 경향을 보였다. 간체장의 경우, 대조구에 비해 높은 활성을 나타내었으나 SOD 활성과는 달리 감소하는 경향을 나타내었다. 발의 경우, SOD 활성과 유사하게 증가하는 경향을 보였으나 20.0 mg/L 와 30.0 mg/L 에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로 보아 높은 니켈 노출구에서는 SOD가 superoxide radical을 H_2O_2 와 O_2 로 전환시키기는 하지만 이 전환된 H_2O_2 를 CAT가 O_2 와 H_2O 로 분해하는 능력이 떨어져 생체 내 유해한 활성산소를 제거하지 못할 것이라 생각된다 (Kim *et al.*, 2006).

요약

본 연구는 염화니켈 급성노출에 따른 북방전복의 산화스트레스 효소 활성에 대한 변화를 알아보려고 하였다. 실험은 1개의 대조구와 5개의 농도구 (5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L) 에서 4일간 진행되었다. superoxide dismutase (SOD) 활성은 발과 간체장의 경우 모든 니켈 노출구에서 증가하였으나 아가미에서는 감소하는 결과를 보였다. catalase (CAT) 활성은 발의 경우 20.0 mg/L 와 30.0 mg/L 니켈 노출구를 제외하고

증가하였으나 아가미에서는 대조구와 유사한 결과를 보였다. 간췌장에서는 모든 니켈 노출구에서 대조구에 비해 증가하는 결과를 보였다. 하지만 SOD와 CAT 활성 모두 대조구에 비해 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$).

사 사

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Agnieszka, Z.R., Dolezych, B., Dolezych, B., Migula, P. and Maciej, L. (2010) Effect of nickel exposure and acute pesticide intoxication on acetylcholinesterase, catalase and glutathione S-transferase activity and glucose absorption in the digestive tract of *Helix aspersa* (Pulmonata, Helicidae). *International Journal of Environment and Pollution*, **40**: 380-390.
- Atchison, G.J., Henry, M.G. and Sandheinrich, M.B. (1987) Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of Fishes*, **18**: 11-25.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
- Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, **59**: 427-605.
- Costa, M. and Heck, J.D. (1982) Specific nickel compounds as carcinogens. *Trends in Pharmacological Sciences*, **3**: 408-410.
- Cui, L., Takagi, Y., Wasa, M., Sando, K., Khan, J. and Okada, A. (1999) Nitric oxide synthase inhibitor attenuates intestinal damage induced by zinc deficiency in rats. *The Journal of Nutrition*, **129**: 792-798.
- Dhawan, V. (2005) Garlic supplementation prevents oxidative DNA damage in essential hypertension. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **275**: 85-94.
- Ferraris, M., Radice, S., Catalani, P., Francolini, M., Marabini, L. and Chiesara, E. (2002) Early oxidative damage in primary cultured trout hepatocytes: a time course study. *Aquatic Toxicology*, **59**: 283-296.
- Firat, O., Cogun, H.Y., Aslanyavrusu, S. and Kargin, F. (2009) Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of nile tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd, Zn+Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology*, **29**: 295-301.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. (1995) The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*, **18**: 125-126.
- Kim, D.W. (2014) Effect on benthic foraminifera of organic pollution in the abalone aquaculture. Master Thesis of Chonnam National University. pp. 66.
- Kim, T.H., Kim, K.J., Choe, M.K. and Yeo, I.K. (2006) Physiological changes of juvenile abalone, *Haliotis sieboldii* exposed to acute water-temperature stress. *Journal of Aquaculture*, **19**: 77-83.
- Lopes, P.A., Pinheiro, T., Santos, M.C., da Luz Mathias, M., Collares-Pereira, M.J. and Viegas-Crespo, A.M. (2001) Response of antioxidant enzymes in freshwater fish population (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *Science of the Total Environment*, **280**: 153-163.
- Min, E.Y., Lee, J.S., Kwak, I.S., Kim, J.W. and Kang, J.C. (2014) Changes of enzyme activity in the hemolymph and hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953) exposed to cadmium. *The Korean Journal of Malacology*, **30**: 41-49.
- Mok, J.S., Lee, K.J., Shim, K.B., Lee, T.S., Song, K.C. and Kim, J.H. (2010) Contents of heavy metals in marine invertebrates from the Korean coast. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **39**: 894-901.
- OECD. (1992) Test No. 203: Fish, acute toxicity test. *In*: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. (ed. by OECD). pp. 1-9. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Parihar, M.S., Dubey, A.K., Javeri, T. and Prakash, P. (1996) Changes in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, ascorbic acid and phospholipid content in liver of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to elevated temperature. *Journal of Thermal Biology*, **21**: 323-330.
- Park, C.J., Min, B.H., Kim, K.S., Lee, J.W., Lee, J.H., Noh, J.K., Kim, H.C., Park, J.W. and Myeong, J.I. (2011) Physiological responses on low water-temperature stress of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *The Korean Journal of Malacology*, **27**: 317-322.
- Park, H.J. and Kang, J.C. (2012) Biochemical changes in the hemolymph and hepatopancreas of abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to copper. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **45**: 154-160.
- Sorensen, E.M.B. (1991) Cadmium. *In*: Metal Poisoning in Fish. (ed. by Sorensen, E.M.B.). pp. 175-234. CRC Press, Boston.
- Stohs, S.J. and Bagchi, D. (1995) Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free radical Biology and Medicine*, **18**: 321-336.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., Hassoun, E. and Bagchi, M. (2001) Oxidative mechanism in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, **20**: 201-213.
- Wendel, A. and Feuerstein, S. (1981) Drug-induced lipid peroxidation in mice-I modulation by monoxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochemical Pharmacology*, **30**: 2513-2520.

WHO. (1972) The community environment. *In*: Health Hazards of the Human Environment. (ed. by WHO.). pp. 35-37. World Health Organization, Geneva.

Winston, G.W. and Di Giulio, R.T. (1991) Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms.

Aquatic Toxicology, **19**: 137-161.

Zhang, L., Pan, L.Q. and Liu, J. (2009) Immunotoxicity effect of benzo(a)pyrene on scallop, *Chlamys farreri*. *Journal of Ocean University of China*, **8**: 89-94.