

壬基酚对黑斑蛙的毒性效应

黄敏毅 苏婷婷 于道平 董佳佳

(安庆师范学院生命科学系 安庆 246011; 陕西师范大学生命科学院 西安 710062)

摘要: 通过研究壬基酚对黑斑蛙 (*Rana nigromaculata*) 血浆渗透压以及血细胞的影响, 探讨壬基酚对黑斑蛙血液的毒性效应。用 200、400 和 600 mg/kg 壬基酚分别对黑斑蛙腹部淋巴囊注射染毒, 在不同的时间间隔内利用渗透压仪测量各组血浆渗透压, 同时制作血涂片观察血细胞的异常现象。结果表明, 在相同处理时间内, 随着壬基酚浓度的增加, 黑斑蛙血浆渗透压值上升, 血细胞膨大, 血细胞核分裂以及核质不均匀现象明显; 在相同浓度处理组中, 随着处理时间的延长, 黑斑蛙血浆渗透压上升, 血细胞膨大, 细胞核损害严重。壬基酚可诱发红细胞出现微核现象, 随着壬基酚浓度的增加, 同一处理时间内黑斑蛙红细胞微核及核异常率呈现先上升后下降的变化规律; 随着处理时间的延长, 各处理组红细胞微核率及核异常率呈现下降的趋势。

关键词: 壬基酚; 黑斑蛙; 血液; 毒性效应; 微核

中图分类号: X174 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)04-129-06

Toxic Effect of Nonylphenol of *Rana nigromaculata*

HUANG Min-Yi SU Ting-Ting YU Dao-Ping DONG Jia-Jia

(Department of Life Science, Anqing Teachers College, Anqing 246011;

College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: To study the toxic effect of nonylphenol on *Rana nigromaculata* blood, osmotic pressure and blood cells were researched. 200, 400 and 600 mg/kg nonylphenol were injected in *R. nigromaculata* by the abdominal lymph capsule separately, and a vapor pressure osmometer was used to measure blood osmotic pressure in different time. At the same time, blood smears were done to observe the abnormalities of blood cells. The results showed that at the same treated time, plasma osmolality increased in *R. nigromaculata* with the increasing concentration of nonylphenol. The blood cells enlarged, blood cell nucleolus splited, the phenomenon of uneven quality were observed obviously. At the same treated group, with the increasing concentration of nonylphenol, blood osmotic pressure increased, blood cells enlarged, the nucleus damage was aggravated. Nonylphenol could induce the micronucleus (MN) and other nuclear anomalies (ONA) in erythrocytes of peripheral blood. With nonylphenol concentration increasing, the rate of MN and ONA increased first and decreased last. The rate of MN and ONA decreased with the treated time expand.

Key words: Nonylphenol; *Rana nigromaculata*; Blood; Toxic effect; Micronucleus

壬基酚 (nonylphenol, NP) 是一种多用途的非离子表面活性剂, 是烷基酚类化合物中有代表性的环境污染物, 被广泛应用于农药乳化剂、日用洗涤剂、橡胶塑料的防老剂以及防腐剂等方面。由于 NP 的高度疏水性, 使其易于在水体下的淤泥中浓集, 而在厌氧环境下相当稳定,

不易降解。NP 在不同环境的分布存在较大的

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金项目 (No. 2006kj-222B), 安徽省高校青年教师科研项目 (No. 2006jq1214);

第一作者介绍 黄敏毅, 女, 硕士研究生, 讲师; 研究方向: 环境毒理学; E-mail: huang. m. y @163. com.

收稿日期: 2008-12-18, 修回日期: 2009-04-24

差异,如我国某河流中 NP 最高检出浓度为 8 $\mu\text{g/L}$ ^[1];瑞士和加拿大城市生活污水经两级处理后,排出的水中 NP 含量在 1~57 $\mu\text{g/L}$ 之间,部分采样点的淤泥中 NP 的含量高达 1 100 mg/kg ^[2]。NP 可经生物蓄积作用进入土壤、食品和饮用水中,对动物和人类健康造成损害,NP 已被证实可通过生物链进入动物和人体,影响动物和人类的神经、生殖、内分泌、免疫及心血管等系统的功能^[3,4]。

两栖动物的繁殖活动和幼体发育均在水中进行,水域的污染会直接影响到它们的生长、生殖、发育、内分泌的调节和血液循环等^[5]。关于 NP 对两栖动物影响的研究已有报道,如 NP 对中国林蛙 (*Rana chensinensis*) 生长发育的影响^[6],NP 对两栖动物的雌激素效应^[7],NP 对黑斑蛙 (*R. nigromaculata*) 蝌蚪甲状腺激素的影响^[8],NP 对非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 胚胎的影响^[9]等。目前,已有关于用除草剂和镉分别对两栖动物中华大蟾蜍 (*Bufo bufo gargarizans*) 及其蝌蚪和中国林蛙血细胞微核与核异常影响的研究报道^[10-12]。本文以黑斑蛙为研究对象,选取 NP 作为染毒试剂,通过检测观察 NP 对黑斑蛙血浆渗透压及血细胞的影响,探讨 NP 对黑斑蛙血液的毒性效应,以期为两栖动物的毒性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 黑斑蛙采自安徽省升金湖自然保护区 (33°16'N, 116°58'E)。适应一段时间后,选用健康且大小相似的雄性个体进行实验。

1.2 仪器和试剂 所用仪器为美国 Vapor 5520 露点渗透压仪;台式 80-2 离心机;NIKON80i 显微镜。

NP,大庆油田生产,密度:0.948 9 g/m^3 ,纯度:99.8%。用金龙鱼花生油进行稀释,配成相应浓度的试剂备用。染色剂为 BA-4017 瑞氏-姬姆萨染色液,深海贝素生物技术有限公司生产。抗凝血剂是浓度为 3.2% 的柠檬酸钠溶液。

1.3 染毒方式 将黑斑蛙随机分成 4 组,其中

3 个加药组和 1 个对照组,每组 10 只,于 53.5 $\text{cm} \times 39.0 \text{ cm} \times 29.0 \text{ cm}$ 的水族箱中自然光照下以预先去氯的自来水进行饲养。为了保持黑斑蛙生活环境的清洁,每日换水一次,早、晚用水银温度计进行测温,水温为 (17.5 \pm 0.6)。

采用腹部淋巴囊注射^[13],根据前期的预实验,设置 NP 浓度在黑斑蛙敏感浓度范围内,注射剂量分别为 200、400 和 600 mg/kg 。注射一次后,分别在染毒后 3 d 和 6 d 进行双毁髓处死,取血。实验期间禁食。另设一个对照组,注射与加药组等体积的花生油。

1.4 血浆渗透压的测量 将黑斑蛙靠近心的皮肤和肌肉剪开后,暴露其心,用注射器从心抽取血液,4 000 r/min 离心 30 min ,抽去上层血清,后用 Vapor 5520 露点渗透压仪配套的液体枪抽取 10 μl 血浆,将其滴加到仪器样品池中,关闭样品池,检测血浆渗透压,记录结果。

1.5 制片与观察 从对照组和处理组黑斑蛙中分别取少量血液制作血涂片,每只蛙做 3 张血涂片,用瑞氏-姬姆萨染色液染色。Nikon 显微镜观察,摄片。每张血涂片随机观察 3 000 个以上红细胞,统计微核和核异常的细胞率,结果以千分率 (%) 表示。

1.6 数据分析 采用 SPSS 统计软件分析数据,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 染毒蛙的活动状态 染毒 3 d 后,对照组黑斑蛙正常,状态活跃;200 mg/kg 组与对照组状态基本相似,无明显中毒症状;而 400 mg/kg 组体表出现少量血斑;600 mg/kg 组体表有大量血斑出现。染毒 6 d 后,对照组无异常现象,状态活跃;200 mg/kg 组四肢皮肤开始出现血斑;400 mg/kg 组大部分个体皮下出现血斑,且在后肢分布较明显;600 mg/kg 组大多数个体体表可见大片血斑,且明显分布在后肢的皮下和肌肉,皮肤表面黏液增多。

2.2 血浆渗透压的测量 分别测量染毒 3 d 和 6 d 后不同浓度组的黑斑蛙血浆渗透压 (表

1),在相同处理时间下,血浆渗透压随各处理组 NP 浓度的增加而上升,且与对照组间的差异显著 ($P < 0.05$)。表明 NP 对血浆渗透压的影响与其处理的浓度具有相关性。在相同浓度下,

各处理组血浆渗透压随处理时间的延长而上升,且差异显著 ($P < 0.05$,表 1)。表明 NP 对血浆渗透压的影响与处理时间之间具有相关性。

表 1 NP 对黑斑蛙血浆渗透压的影响 (Mean \pm SD, $n = 10$)

Table 1 The plasma osmotic pressure in *Rana nigromaculata* by nonylphenol

时间 Time (d)	组别 Group (mg/kg)			
	对照 Control	200	400	600
3	206.1 \pm 11.2 ^a	214.7 \pm 5.3 ^{a*}	238.8 \pm 9.6 ^{a**}	249.2 \pm 8.9 ^{a**}
6	205.9 \pm 10.9 ^a	247.6 \pm 10.2 ^{b**}	251.4 \pm 7.9 ^{b**}	281.4 \pm 9.2 ^{b**}

*表示处理组与对照组之间差异显著, $P < 0.05$; **表示处理组与对照组之间差异极显著, $P < 0.01$ 。相同字母表示同一浓度不同处理时间之间差异不显著, $P > 0.05$; 不同字母表示同一浓度不同处理时间之间差异显著, $P < 0.05$ 。下表同。

*Represents significant difference, $P < 0.05$; ** Represents remarkably significant difference, $P < 0.01$. The values sharing the same letters mean different at $P > 0.05$; The values sharing the different letters mean different at $P < 0.05$. As same as the following table.

2.3 NP 对黑斑蛙红细胞微核的影响 NP 处理组黑斑蛙红细胞出现微核多为单微核,微核与主核完全脱离,直径为主核的 1/10 ~ 1/2,形态多为圆形或椭圆形,染色与主核一致或稍浅(图 1)。在相同染毒时间内,各处理组均与对照组存在极显著差异 ($P < 0.01$)。其中,当 NP 浓度为 400 mg/kg 时,其所诱发的微核细胞率最

大;随着 NP 浓度的增大,600 mg/kg 组所诱发的微核细胞率反而呈下降趋势(表 2)。可见,红细胞微核率与 NP 的浓度并不呈正相关关系。在浓度相同的情况下,随处理时间的增加,黑斑蛙的微核细胞率均呈显著下降趋势 ($P < 0.05$,表 2)。

表 2 NP 对黑斑蛙红细胞微核细胞率的影响 (Mean \pm SD, $n = 10$, %)

Table 2 The micronucleus rates of erythrocyte in *Rana nigromaculata* by nonylphenol

时间 Time (d)	组别 Group (mg/kg)			
	对照 Control	200	400	600
3	0.35 \pm 0.16 ^a	1.52 \pm 0.27 ^{a**}	2.84 \pm 0.31 ^{a**}	1.95 \pm 0.25 ^{a**}
6	0.34 \pm 0.17 ^a	1.34 \pm 0.11 ^{b**}	1.97 \pm 0.23 ^{b**}	1.67 \pm 0.26 ^{b**}

2.4 NP 对黑斑蛙红细胞核异常的影响 NP 除了诱导黑斑蛙红细胞产生微核外,也产生其他的核异常现象,表现为核内空泡、无核细胞、核固缩、核质内凹、核质外凸、双核、核碎裂、核染色质凝聚成小颗粒状等(图 1)。与对照组相比,加药组其核明显受损,核染色质凝聚成小颗粒状、核内空泡和无核等现象多见。

从 NP 对黑斑蛙红细胞核异常的诱变效应看,相同时间内,随着处理浓度的增高,核异常细胞率呈先上升后下降趋势,其中,在 400 mg/kg 组最高,且各处理组均与对照组间存在极显著差异 ($P < 0.01$,表 3)。在浓度相同的情况下,随处理时间的延长,黑斑蛙红细胞核异常率显著下降 ($P < 0.05$,表 3)。

表 3 NP 对黑斑蛙红细胞核异常细胞率的影响 (Mean \pm SD, $n = 10$, %)

Table 3 The abnormal nucleus rates in erythrocytes of *Rana nigromaculata* by nonylphenol

时间 Time (d)	组别 Group (mg/kg)			
	对照 Control	200	400	600
3	15.36 \pm 1.6 ^a	28.67 \pm 6.61 ^{a**}	35.41 \pm 4.71 ^{a**}	23.24 \pm 5.05 ^{a**}
6	15.46 \pm 1.5 ^a	21.24 \pm 4.76 ^{b**}	31.65 \pm 5.34 ^{b**}	20.16 \pm 5.72 ^{b**}

2.5 NP对黑斑蛙血细胞形态的影响 对照组黑斑蛙红细胞呈椭圆形,中央有一个椭圆形的细胞核,细胞核染色质密集。白细胞为圆形或椭圆形,直径比红细胞长径短,核比例较大。在白细胞中,淋巴细胞最多,其次为中性粒细胞和单核细胞,嗜酸性粒细胞少,嗜碱性粒细胞极少(图1A)。

200 mg/kg 处理组,染毒3 d后血液中血栓细胞稍微增多,血细胞形态无变化;染毒6 d后,红细胞轻微膨胀,出现胞质突出现象(图

1B)。400 mg/kg 处理组,染毒3 d后血栓细胞数量增加,少部分红细胞膨大,核质比减小,出现微核、无核或双核红细胞(图1C~E);染毒6 d后,部分红细胞膨胀程度严重,甚至破裂,白细胞出现膨大和分裂现象(图1F、G)。600 mg/kg 处理组,染毒3 d后,血栓细胞增多,部分红细胞膨大近圆形(图1H);染毒6 d后,形态近圆形的红细胞增多,有的红细胞膨大程度严重,同时有大量破裂后的红细胞核(图1I、J)。

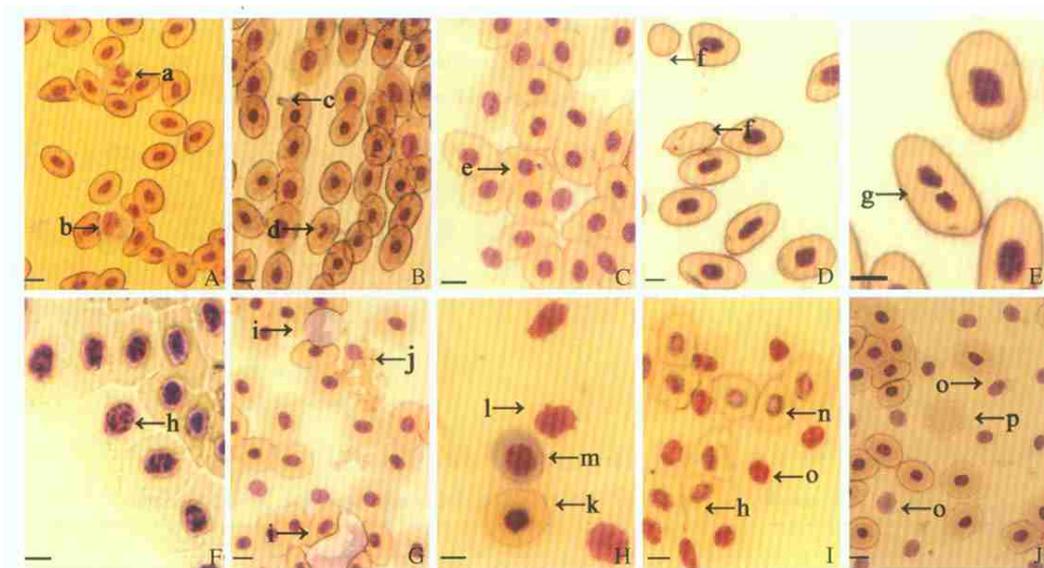


图1 NP诱导黑斑蛙血细胞的微核及核异常现象

Fig. 1 Micronuclei and nuclear anomalies induced by nonylphenol in erythrocytes in *Rana nigromaculata*

A. 对照组:a示中性粒细胞,b示单核细胞;B. 200 mg/kg 处理6 d后:c示胞质突出,d示核内凹;C. 400 mg/kg 处理3 d后:e示微核;D. 400 mg/kg 处理3 d后:f示无核细胞;E. 400 mg/kg 处理3 d后:g示双核;F. 400 mg/kg 处理6 d后:h示核染色质小颗粒;G. 400 mg/kg 处理6 d后:i示白细胞膨大、变形;j示红细胞破裂;H. 600 mg/kg 处理3 d后:k示膨大红细胞,l示血栓细胞,m示淋巴细胞;I. 600 mg/kg 处理6 d后:n示核内空泡,o示破裂后的红细胞核;J. 600 mg/kg 处理6 d后:p示无核细胞。标尺=10 μm。

A. Control group: a showed leucocytes, b showed monocyte; B. 200 mg/kg treated 6 d: c showed cytoplasm protrude, d showed nucleus endor-hollow; C. 400 mg/kg treated 3 d: e showed micronucleus; D. 400 mg/kg treated 3 d: f showed Enucleated cell; E. 400 mg/kg treated 3 d: g showed two-nucleus; F. 400 mg/kg treated 6 d: h showed nucleus chromatin grains; G. 400 mg/kg treated 6 d: i showed leukocyte enlargement, distortion, j showed erythrocyte fragmentation; H. 600 mg/kg treated 3 d: k showed leukocyte enlargement, l showed thrombocyte, m showed lymphocyte; I. 600 mg/kg treated 6 d: n showed nucleus endor-vacuole, o showed fractured erythrocyte nucleus; J. 600 mg/kg treated 6 d: p showed enucleated cell. Bar = 10 μm.

3 讨论

3.1 NP对血浆渗透压的影响 外界环境对水

生生物的血浆渗透压具有一定的影响。Carrera等^[14]用NP对性未成熟的金头鲷(*Sparus auratus*)处理10 d后,观察到高浓度处理组

Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性降低,血浆渗透压上升,推测 NP 可能影响金头鲷生理过程中某些关键步骤,从而降低了其对外源性化学物质如 NP 的代谢适应能力。本实验观察到不同浓度的 NP 可影响黑斑蛙成体血浆渗透压,随处理浓度的增大,黑斑蛙的血浆渗透压逐渐上升;随处理时间的延长,各处理组的血浆渗透压也逐渐上升。结果表明, NP 对黑斑蛙的血浆渗透压的影响呈浓度-时间-效应关系。该结果与 Carrera 等^[14]的观察结果基本一致,推测 NP 可能影响了黑斑蛙生理活动的某些关键步骤,导致其血浆渗透压发生变化。

3.2 NP 对黑斑蛙血细胞的影响 微核是由染色体断裂产生的无着丝粒断片形成的或是由于纺锤丝断裂造成的一条或一组染色体而滞留在胞质中形成。微核能快速、可靠地反映机体的染色体损伤和 DNA 复制紊乱等异常情况,在评价蓄积性毒物对遗传物质的损害程度和毒理效应方面具有很高的实用价值,而红细胞微核率是目前较为流行的致癌剂和诱变剂检测的遗传毒理学指标之一。微核测定法是遗传毒理学实验中一个较为理想的监测手段,它能简便、快速、有效的进行致突变性筛选,特别适用于研究环境污染物对动物的影响^[15-17]。

卜宁等^[10]研究发现除草剂丁草胺可诱发蟾蜍红细胞出现核异常和微核,且随着丁草胺浓度的增加和作用时间的延长,蟾蜍红细胞微核和核异常率呈现先上升后下降的规律性变化,其中,核异常细胞率比微核细胞率大。耿德贵等^[11]报道,用 4 种除草剂分别对中华大蟾蜍变态期蝌蚪处理 24 h,结果是 4 种除草剂均可不同程度引起微核率及核异常细胞率等遗传指标的上升,且在一定浓度下各指标分别有高峰期。王维君等^[12]用镉处理中国林蛙,观察到 Cd^{2+} 可诱导红细胞产生微核和核异常,微核与核异常细胞率随 Cd^{2+} 浓度的增加呈现先上升后下降趋势。贺维顺等^[18]用大观河污水处理华西大蟾蜍 (*B. bufo andrewsi*) 变态前蝌蚪,观察到污水可诱发蝌蚪外周血红细胞产生微核和核异常现象。黄长江等^[19]用 NP 对奥尼罗非鱼

(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 进行实验,观察到不同的暴露时间及剂量对血细胞微核率和总核异常率具有不同程度的影响。本研究观察到 NP 可诱导黑斑蛙红细胞出现微核现象,红细胞微核率和核异常率与 NP 的浓度及作用时间有密切关系。随着 NP 处理浓度的增加,同一处理时间内黑斑蛙红细胞微核率和核异常率呈现先上升后下降的变化趋势;随着 NP 作用时间的延长,各处理组黑斑蛙红细胞微核率和核异常率呈现下降的趋势,与上述研究结果相似。从结果可见,微核率和核异常率与 NP 浓度之间无显著相关,并不呈现剂量-效应关系,且不同浓度 NP 诱发红细胞核异常率比微核率大,推测高剂量的诱变剂可能抑制或终止细胞有丝分裂活动,使细胞分裂速率减慢,从而导致微核率下降,而微核率的高低不仅取决于诱变剂或纺锤体抑制剂活性的强弱,还取决于细胞有丝分裂的速度^[11,19]。

目前,已有关于 NP 对动物细胞内遗传物质损伤的研究报道,李正炎等^[20]用单细胞凝胶电泳技术研究 NP 对牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 血淋巴细胞 DNA 的损伤作用,观察到随着 NP 浓度的增加和染毒时间的延长,血淋巴细胞的 DNA 破坏率相应增加,说明 NP 对牡蛎血淋巴细胞具有遗传毒性。此外, NP 还能引起人外周血淋巴细胞 DNA 损伤,并呈现剂量-效应关系^[21]。本实验观察到 NP 可诱导黑斑蛙红细胞出现微核和核染色质凝聚成小颗粒状等现象,说明 NP 对黑斑蛙红细胞具有遗传毒性,但其如何损伤黑斑蛙红细胞内 DNA 和染色体还需进一步的实验研究。

血浆渗透压相对稳定,这是维持细胞正常机能活动所必需的条件。通常血细胞和组织细胞的渗透压都与血浆渗透压相等,从而使细胞保持正常形态和功能。本实验中,观察到随着时间的延长和处理浓度的增大,血液中血细胞膨大,血细胞核受损程度严重,说明 NP 可损伤血细胞,呈浓度-效应性。NP 导致血浆渗透压增高,血细胞的体积反而增大,推测 NP 可同时导致血浆和血细胞的渗透压增高,而血细胞的

渗透压增高的程度相对血浆大,使血浆中的水分进入血细胞中,从而使血细胞的体积增大。其中,NP 是直接作用于血液还是通过其他方式如干扰内分泌等来间接影响血浆渗透压,有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 胡建英,杨敏. 自来水及其水源中的内分泌干扰物质. 净水技术,2001,20(3):3~6.
- [2] 范奇元,金泰,将学之等. 我国部分地区环境中壬基酚的检测. 中国公共卫生,2002,18(11):1372~1373.
- [3] Laurenzana E M, Balasubramanian G, Weis C, et al. Effect of nonylphenol on serum testosterone levels and testicular steroidogenic enzyme activity in neonatal, pubertal, and adult rats. *Chem Biol Interact*, 2002, 139(1):23~41.
- [4] 夏茵茵. 壬基酚对机体影响的研究进展. 国外医学卫生学分册,2004,31(3):135~139.
- [5] Servos M R, Maguire R J, Bennie D T, et al. An ecological risk assessment of nonylphenol and its ethoxylates in the aquatic environment. *Hum and Ecol Risk Assess*, 2003, 9(2):569~587.
- [6] 郑晓晶,张育辉. 壬基酚对中国林蛙蝌蚪生长发育的毒性效应. 生态学杂志,2008,27(8):1332~1336.
- [7] Kloas W, Lutz I, Einspanier R. Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Sci Total Environ*, 1999, 225(1):59~68.
- [8] Yang F X, Xu Y, Wen S. Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and p, p'-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2005, 75(6):1168~1175.
- [9] Sone K, Hinago M, Kitayama A, et al. Effects of 17beta-estradiol, nonylphenol, and bisphenol-A on developing *Xenopus laevis* embryos. *Gen Comp Endocrinol*, 2004, 138(3):228~236.
- [10] 卜宁,王丽文,宋海东. 除草剂丁草胺对蟾蜍红细胞微核及核异常的影响. 四川动物,2005,25(3):294~297.
- [11] 耿德贵,张大生,程伟等. 四种除草剂对中华大蟾蜍蝌蚪红细胞微核及核异常的影响. 动物学杂志,2000,35(1):12~16.
- [12] 王维君,张育辉. 镉对中国林蛙外周血细胞微核及核异常的诱导效应. 陕西师范大学学报(自然科学版),2005,33(4):95~98.
- [13] 王庭槐主编. 生理学实验教程. 北京:北京大学医学出版社,2004,88~89.
- [14] Carrera E P, Garc ía-L ópez A, Mart ín del R ó Mdel P, et al. Effects of 17-estradiol and 4-nonylphenol on osmoregulation and hepatic enzymes in gilthead sea bream (*Sparus auratus*). *Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol*, 2007, 145(2):210~217.
- [15] Zavala-Aguirre J L, Torres-Bugarin O, Zamora-Perez A L. Aquatic ecotoxicology approaches in Western Mexico. *J Environ Sci Health A: Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2007, 42(10):1503~1511.
- [16] Fernandez M L, Haridon J, Gauthier L, et al. Amphibian micronucleus test (s): a simple and reliable method for evaluating *in vivo* genotoxic effects of freshwater pollutants and radiations. Initial assessment. *Mutat Res*, 1993, 292(1):83~99.
- [17] 封少龙,孔志明,王五香等. 应用微核实验和单细胞凝胶电泳技术来检测农药对青蛙蝌蚪及成体的遗传毒性. 水生生物学报,2004,28(1):52~55.
- [18] 贺维顺,王蕊芳. 蝌蚪血细胞微核和核异常监测水质污染的研究. 动物学研究,1990,11(1):1~5.
- [19] 黄长江,董巧香,马茹飞. 壬基酚对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 的急性毒性研究. 海洋与湖沼,2006,37(4):309~315.
- [20] 李正炎,卫东. 壬基酚对牡蛎血淋巴细胞的 DNA 损伤. 癌变 畸变 突变,2006,18(6):469~471.
- [21] 张国栋,吴笛,孙立伟等. 烷基酚类化合物对人外周血淋巴细胞 DNA 损伤的研究. 南京大学学报(自然科学版),2002,38(4):539~543.