

钩虾等位酶基因型对马拉硫磷致死性响应研究

张艳红¹, 肖艳琴¹, 李翠兰², 张秋华¹, 段毅豪¹

(1.山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006; 2.山西大学生命科学与技术学院, 山西 太原 030006)

摘要:钩虾的 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgm*、*Pgi Ao-1* 和 *Ao-2* 基因座位具有多态性,从平均每个基因座位的等位基因数($A=2.6\sim2.9$)、多态基因座位百分率($P=71.4\%$)、平均观察杂合度($H_o=0.226\sim0.246$)和平均期望杂合度($H_e=0.394\sim0.409$)4个参数可知,钩虾具有较高的遗传多样性,适合于农药马拉硫磷作为选择因子用于对具有不同基因型的个体的致死性差异研究。本实验以钩虾为对象,通过急性毒性实验方法,研究了钩虾等位酶基因型与马拉硫磷急性致死作用的关系。结果表明,供试钩虾用 $10^{-6}\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 马拉硫磷溶液处理 382 只,96 h 后死亡率为 68.8%。分别对存活个体和死亡个体的 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgm*、*Pgi Ao-1* 和 *Ao-2* 基因座位进行等位酶分析以确定每个个体的基因型。列联表 χ^2 检验表明:马拉硫磷对 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgm* 和 *Ao-2* 各基因型个体的选择呈现随机特征,各基因型与死亡率未见显著的相关($P>0.05$)。但在 *Gpi* 和 *Ao-1* 基因座位上,*Pgi-AC* 和 *Pgi-AD* 基因型死亡率间存在显著差异;*Ao-1-AC* 和 *Ao-1-BB*、*Ao-1-CC* 基因型死亡率之间存在显著差异。显示马拉硫磷的致死作用对 *Pgi* 和 *Ao-1* 基因座位的不同基因型呈现出非随机特征,*Pgi-AD* 和 *Ao-1-AC* 基因型很可能与钩虾对马拉硫磷的耐药性有关。

关键词:钩虾;马拉硫磷;基因型;等位酶;死亡率差异

中图分类号:X830.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2447-05

Lethal Responses Among Allozyme Genotypes of *Gammarus pulex* to Acute Exposure to Malathion

ZHANG Yan-hong¹, XIAO Yan-qing¹, LI Cui-lan², ZHANG Qiu-hua¹, DUAN Yi-hao¹

(1.College of Environmental Sciences and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: A population of Amphipods *Gammarus pulex* from Yuanping City, Shanxi Province in China were found polymorphic at the loci of *Idh-1*, *Idh-2*, *Pgm*, *Pgi*, *Ao-1* and *Ao-2*, using horizontal starch gel electrophoresis. The data of the mean number of alleles per locus ($A=2.6\sim2.9$), percentage of polymorphic loci ($P=71.4\%$), the observed mean heterozygosity ($H_o=0.226\sim0.246$) and the expected mean heterozygosity ($H_e=0.394\sim0.409$) suggest that this population possesses sufficient genetic diversity, which makes it feasible for studying the possible differential mortality among the individuals of various genotypes acutely exposed to malathion, the pesticide commonly found in agricultural runoff. A total of 382 *G. pulex* individuals were exposed to malathion at $10^{-6}\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to achieve a mortality of 68.8% after 96 hours followed by allozyme analysis to identify the genotypes of each individual. Contingency table χ^2 -tests showed that malathion displayed random lethal effects among the genotypes at *Idh-1*, *Idh-2*, *Pgm*, *Pgi* and *Ao-2*, where no correlation between the genotype and lethality was observed ($P>0.05$). However, significant differential mortalities were observed in the following genotype pairs: *Pgi-AC* (93%) *vs.* *Pgi-AD* (25%), *Ao-1-AC* (37%) *vs.* *Ao-1-BB* (69%), and *Ao-1-AC* (37%) *vs.* *Ao-1-CC* (72%). Since the sample size of *Pgi-AC* (27) and *Pgi-AD* (8) may not be sufficiently large further examination is needed. At the loci of *Ao-1*, under the assumptions of 1) the presence of uniform biological characters other than *Ao-1* genotypes, and 2) the presence of allelic interaction and heterozygotic vigor for the alleles of *Ao-1-A* and *Ao-1-C*, it is expected that *Ao-1-AC* would display lower mortality than *Ao-1-CC* when exposed to malathion. The data obtained from the study were found consistent with such reasoning, which suggests that the correlation of *Ao-1-AC* genotype to the resistance to pesticide malathion in *G. pulex*. The data imply that monitoring the dynamics of *Ao-1-AC* genotypes and perhaps *Ao-1-A* allele frequency may be useful in evaluating the resistance potential of this population against malathion exposure.

Keywords: *Gammarus pulex*; malathion; genotype; allozyme; differential mortality

收稿日期:2008-01-07

基金项目:山西省基础研究项目(2006011015);国家自然科学基金资助项目(20177012)

作者简介:张艳红(1980—),女,硕士研究生,研究方向为环境毒理学。

通讯作者:段毅豪 E-mail:duany@sxu.edu.cn

近20年来,害虫防治采用高浓度、大剂量的杀虫剂,严重地污染了包括水生系统在内的生态环境,威胁到人畜及害虫天敌的安全。大量复杂的微量有毒有害的化合物如环境激素排入水生系统也对水生系统和人类的健康产生了更为严重的危害。监测和评价水生生态状况及控制污染物排放是当前面临的挑战之一。多种生物测试方法如具有很高的生态相关性的单物种毒性试验、微宇宙实验等已广泛应用于评价和预测有毒有害化合物对水生系统的影响,但是这些方法敏感性较低,无法对环境状况的发展以及生物在遗传水平发展方向作出指导。

应用环境生物酯酶等位酶谱带可以作为对有害有毒物质的检测方法。Maa等发现小菜蛾(*Plutella xylostella*)对马拉硫磷的抗性与酯酶等位酶有关^[1]。李暄等对抗阿维菌灭小菜蛾酯酶等位酶的研究中发现,在杀虫药剂逐代选择过程中,其酯酶基因型正从杂合型向纯合型过渡^[2]。乔传令等的研究表明小菜蛾(*Plutella xylostella*)对阿维菌素杀虫剂的抗性与酯酶基因型的变异有关^[3]。但酯酶谱带复杂,难以判读。故需要开发其他稳定的等位酶标记用于种群遗传水平的监测和评估。但有关这方面的研究尚不多见。有研究表明美洲钩虾(*Hyalella azteca*)种群的遗传结构与重金属抗性比率呈现明显的相关性^[4]。李翠兰等发现中华稻蝗 *Gpi* 基因型与有机磷农药敌百虫和阿维菌素的急性致死作用存在显著相关性^[5-6]。

马拉硫磷是一种非内吸性低毒类有机磷杀虫剂,全名为O,O-二甲基-S-(1,2-二乙氧羰基乙基)二硫代磷酸酯。钩虾(*Gammarus pulex*)是水生生态系统中的重要类群,在水生态系统能量传递和物质循环中起重要作用,对于污染物具有较高的敏感性,已被广泛地运用于毒理学试验。

本实验以钩虾为研究对象,利用钩虾种群遗传结构特点,通过了解钩虾等位酶基因型与马拉硫磷急性致死作用的关系,探索将这种关系作为钩虾对马拉硫磷的生物标记物(biomarker)的可能性,从而为环境监测方法构建模式生物提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试农药

马拉硫磷(Malathion)是一种非内吸性低毒类有机磷杀虫剂。本实验所用马拉硫磷原药(45%乳液)购自山东省德州市。

1.2 样本采集及处理

钩虾(*Gammarus pulex*)属于端足目钩虾科(Gammaridae),甲壳纲动物。供试钩虾采自山西原平云中河,运回实验室后,在去氯的自来水中饲养,隔一天饲喂不含色素的金鱼饵料(fish flake)一次。供试虫体用 $10^{-6}\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 马拉硫磷溶液处理,96 h后对活体和死亡个体分别计数,并计算其死亡率,判断死亡的标准为用镊子轻触虫体,肢体不再运动的即为死亡。虫体单独分别包装,冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用。

1.3 等位酶电泳

根据以前研究结果,对有多态性的异柠檬酸脱氢酶(IDH)、磷酸葡萄糖异构酶(PGI)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)和苯甲醛脱氢酶(AO)进行淀粉凝胶电泳。凝胶浓度为12.5%,采用Tris-柠檬酸缓冲液($0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH8.0),电极缓冲液与凝胶缓冲液比例9:1,凝胶模板大小为 $234\text{ mm}\times 135\text{ mm}\times 18\text{ mm}$ 。

取钩虾个体置于 $25\text{ }\mu\text{L}$ 双蒸水内冰浴匀浆,浸入 $3\text{ mm}\times 9\text{ mm}$ 滤纸芯作为上样样品。上样后在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内恒压($10\text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$)电泳4.5 h,水平切片后用特异性染色方法进行染色^[7]。酶谱判读时,同一基因座位泳动最快的带记为A,以后依次记为B、C等。

1.4 数据处理

1.4.1 基因型与死亡率之间的相关性检验

对钩虾多态基因座位的各基因型与死亡率进行 2×2 列连表 χ^2 检验,以了解基因型与马拉硫磷致死作用之间的相关性。在进行统计分析时,各多态基因座位上的每个基因型为一组,每组的个数即为重复。

1.4.2 种群遗传结构分析

应用BIOSYS-II软件^[8]计算存活组、死亡组及初始种群各基因座上的等位基因频率,对哈-温(H-W)平衡的符合度,固定指数(F),每个基因座的多态性、杂合度(H)和Roger's遗传距离。

2 结果

2.1 钩虾种群遗传结构分析

马拉硫磷急性毒性处理后钩虾存活组、死亡组和初始样本的等位基因频率、哈-温(H-W)平衡适合度、每个基因座位的杂合度(H)和固定指数(F)见表1。结果表明,钩虾种群的 *Pgm-2* 为单态基因座位(0.95标准),而 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgi*、*Pgm-1*、*Ao-1* 和 *Ao-2* 为多态基因座位。*Ao-1* 有2个等位基因, *Idh-1* 和 *Ao-2* 有3个等位基因, *Idh-2*、*Pgi* 和 *Pgm-1* 有4个等位基因。*Pgi* 的基因型频率符合哈-温平衡预期值,但 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgm-1*、*Ao-1* 和 *Ao-2* 显著偏离

哈-温平衡预期值(表 1)。其中 *Idh-1*、*Ao-1* 和 *Ao-2* 是由于杂合体缺乏($F>0$)

马拉硫磷处理后钩虾存活组、死亡组和初始样本在 7 个基因座位上的种群遗传度量值见表 2。由表 2 可知, 钩虾种群在 6 个基因座位上的多态性程度较高, 体现在较高的平均每个基因座位的等位基因数($A = 2.6\sim 2.9$)、多态基因座位百分率($P = 71.4\%$)、平

均观察杂合度($H_o = 0.226\sim 0.246$)和平均期望杂合度($H_e = 0.394\sim 0.409$),适合于马拉硫磷等农药作为选择因子用于对具有不同基因型的个体的致死性差异研究。 H_o 小于 H_e ,表明钩虾种群出现了一定程度杂合体缺乏现象, 这可能是由于非随机交配等因素引起的, 也可能存在不利于某些杂合体的自然选择。

2.2 钩虾多态基因座位的各基因型与马拉硫磷致死

表 1 马拉硫磷处理后钩虾 3 个样本在 *Gpi*、*Ldh*、*Ao* 和 *Pgm* 基因座位的等位基因频率、基因型频率对哈-温平衡预期值的卡方检验、每个基因座位的杂合度(H)和固定指数(F)

Table 1 Allele frequency, Chi-square tests for Hardy-Weinberg's expectation of genotype frequency, heterozygosity(H) and fixation index(F) per loci at seven loci in alive, dead and initial samples of <i>Gammarus pulex</i> acutely exposed to malathion									
基因座位 Locus	样本量(N) Sample(N)		A	B	C	D	χ^2	H	F
<i>Idh-1</i>	存活组 Alive	(101) ^a	0.188	0.569	0.243		121.766**	0.582	0.745
	死亡组 Dead	(225)	0.262	0.542	0.196		169.632**	0.599	0.622
	初始样本 Initial	(326)	0.239	0.551	0.210		284.283**	0.595	0.660
<i>Idh-2</i>	存活组 Alive	(119)	0.034	0.008	0.706	0.252	316.017**	0.066	1.000
	死亡组 Dead	(263)	0.051	0.011	0.702	0.236		0.000	
	初始样本 Initial	(382)	0.046	0.010	0.703	0.241	956.006**	0.022	1.000
<i>Pgi</i>	存活组 Alive	(119)	0.034	0.008	0.706	0.252	16.173	0.437	0.192
	死亡组 Dead	(263)	0.051	0.011	0.702	0.236	9.687	0.450	-0.091
	初始样本 Initial	(382)	0.046	0.010	0.703	0.241	4.561	0.446	-0.004
<i>Pgm-1</i>	存活组 Alive	(93)	0.091	0.253	0.398	0.258	29.798**	0.703	-0.010
	死亡组 Dead	(68)	0.118	0.228	0.478	0.176	73.490**	0.675	0.150
	初始样本 Initial	(144)	0.115	0.271	0.455	0.160	104.920**	0.681	0.011
<i>Pgm-2</i>	存活组 Alive	(98)	1.000					0.000	
	死亡组 Dead	(92)	1.000					0.000	
	初始样本 Initial	(190)	1.000					0.000	
<i>Ao-1</i>	存活组 Alive	(111)	0.180	0.820			87.566**	0.295	0.878
	死亡组 Dead	(80)	0.400	0.600			81.099**	0.480	1.000
	初始样本 Initial	(191)	0.272	0.728			172.774**	0.396	0.947
<i>Ao-2</i>	存活组 Alive	(125)	0.300	0.372	0.328		42.504**	0.664	0.289
	死亡组 Dead	(218)	0.266	0.443	0.291		133.851**	0.648	0.554
	初始样本 Initial	(351)	0.295	0.407	0.298		164.228**	0.658	0.472

注: a 为括号内的值为样本数目; χ^2 为基因型频率对哈-温平衡预测值的卡方检验值(** $P<0.01$); H 为杂合度的直接观察值。
a: Sample size in parenthesis; χ^2 : Chi-square values of H-W expectations of genotype frequencies(* $P<0.05$; ** $P<0.01$); H : Direct count of heterozygosity.

表 2 马拉硫磷处理后钩虾 3 个样本的遗传多样性
Table 2 Genetic variability at the seven loci in alive, dead and initial samples of *Gammarus pulex* acutely exposed to malathion

样本 Samples	每个基因座位平均样本大小 Mean sample size per locus	平均每个基因座位等位基因数 Mean no. of alleles per locus(A)	多态基因座位百分率 Percentage of loci polymorphic*(P)	平均杂合度 Mean heterozygosity	
				直接观察值 direct-count(H_o)	哈-温平衡预期值 Hdywbg expected**(H_e)
存活组 Alive	109.4(4.6)	2.9(0.4)	71.4	0.246(0.104)	0.394(0.107)
死亡组 Dead	169.6(32.2)	2.6(0.5)	71.4	0.226(0.091)	0.409(0.110)
初始样本 Initial	277.6(37.3)	2.9(0.4)	71.4	0.242(0.098)	0.401(0.108)

注: * 当最常见的等位基因频率小于 95% 时, 即为多态基因座位; ** 无偏差估计(Nei, 1978); 括号内的值为标准误差。
*A locus is considered polymorphic if the most common allele does not exceed 0.95 (standard errors in parenthesis); ** Unbiased estimate (see Nei, 1978); Standard errors in parenthesis.

表 3 钩虾 6 个基因座位各基因型对马拉硫磷致死率的影响

Table 3 Genotype effects on the probability of death for six polymorphic loci in <i>Gammarus pulex</i> exposed to malathion											
等位酶基因型	Allozyme genotype	AA	AB	AC	AD	BB	BC	BD	CC	CD	DD
6个多态基因座位各基因型的死亡率	<i>Idh-1</i>	0.74 (46/62)	0.68 (13/19)	1.00 (13/13)		0.67 (103/153)	0.74 (25/34)		0.56 (25/45)		
	<i>Idh-2</i>	0.00 (0/2)				0.68 (241/355)			0.00 (0/2)		
	<i>Pgi</i>			0.93a (25/27)	0.25b (2/8)**		0.75ab (6/8)		0.65ab (121/187)	0.75ab (96/128)	0.54ab (13/24)
	<i>Pgm-1</i>	1.00 (4/4)	1.00 (2/2)	0.24 (4/17)**	0.33 (2/6)**	0.00 (0/2)**	0.28 (9/32)	0.50 (20/40)	0.61 (25/41)	0.25 (2/8)**	0.31 (4/13)**
	<i>Ao-1</i>	0.62ab (39/63)	0.67ab (18/27)	0.37a (20/54)		0.69b (75/109)	0.61ab (25/41)		0.72b (41/57)		
	<i>Ao-2</i>	0.64 (32/50)	0.00 (0/4)			0.35 (48/137)					

注:括号内的值为样本大小;** 观察值小于 5,不进行统计分析;标有不同字母的死亡率之间有显著差异,如 a 和 b 之间有显著差异($P<0.05$)。
*Sample size in parenthesis. The probabilities of death among genotypes not sharing the same letter are significantly different. For example, a v.s. b is significantly different($P<0.05$).

作用的关系

用马拉硫磷处理钩虾成虫共 382,平均死亡率为 68.8%。6 个多态基因座位上各基因型个体的死亡率及各基因型与死亡率的 2×2 列联表 χ^2 检验结果见表 3。 χ^2 检验结果表明,*Pgi-ac* 和 *Pgi-ad* 基因型死亡率间存在显著差异;*Ao-1-ac* 和 *Ao-1-bb*、*Ao-1-cc* 基因型死亡率之间存在显著差异。

3 讨论

农药面源污染在一定程度上改变了自然地理环境,使得生物种群面临一个受胁迫环境。污染胁迫最显著的效应就是污染物使敏感个体逐渐减少或消失,因而改变了生物种群的遗传结构^[4]。利用水生生物种群遗传结构动态变化作为水环境污染的监测指标是反映水环境污染程度的一条新的思路。以无脊椎动物和鱼类为实验动物的研究表明,环境污染物作为环境选择因子与等位酶基因型频率的改变有显著的相关关系^[4,9-11]。本文使用急性暴露浓度处于以下考虑:①动物对 LD₅₀ 附近的剂量反应变化较为敏感;②急性暴露结果往往可以给长期暴露结果提供研究线索。

本实验结果表明:(1)原平钩虾种群在 4 种等位酶(IDH、PGI、PGM、AO)上具有很高的多态性(表 2),且 6 个多态基因型座位 (*Idh-1*、*Idh-2*、*Pgi*、*Pgm-1*、*Ao-1* 和 *Ao-2*)的稳定性高、活性强,酶谱分辨率高,使其成为研究酶多态性与环境因子关系的理想生物物种。(2)本钩虾种群的 6 个多态基因型座位(*Idh-1*、*Idh-2*、*Pgi*、*Pgm-1*、*Ao-1* 和 *Ao-2*)上的基因型对马拉硫磷的致死作用具有不同响应(response),表现为马

拉硫磷对 *Idh-1*、*Idh-2*、*Pgm-1* 和 *Ao-2* 4 个多态基因座位各基因型个体的致死作用呈现随机性特征,但对 *Pgi* 和 *Ao-1* 基因座位各基因型的致死作用却呈现非随机效应,在 *Pgi* 基因座位上,具有 *Pgi-AC* 基因型个体的死亡率(93%)显著高于具有 *Pgi-AD* 基因型个体的死亡率(25%, $P<0.05$,表 3)。考虑到这两个基因型的个体数量不是太大(分别为 27 和 8 个),需要进一步增加样本量进行确认。本研究同时发现,在 *Ao-1* 基因座位上,具有 *Ao-1-AC* 基因型个体的死亡率(37%)显著低于具有 *Ao-1-BB* 的死亡率(69%)和 *Ao-1-CC* 基因型个体的死亡率(72%, $P<0.05$,表 3)。进一步分析,假设①除 *Ao-1* 基因型外,本钩虾种群的其他生物学性状相同;②*Ao-1-A* 和 *Ao-1-C* 等为基因存在相互作用,并表现杂种优势,则具有 *Ao-1-AC* 基因型的个体死亡率应该显著低于 *Ao-1-CC* 基因型的死亡率。以上推论与本研究数据相吻合,表明本钩虾种群中,*Ao-1-AC* 基因型很可能与钩虾对马拉硫磷的抗性有关。当然,这种相关关系不能等同为因果关系。等位酶基因型的动态有可能成为潜在的环境因子标记^[9-11],进一步工作应该结合其他遗传标记结果和种群生态特征,探讨种群遗传结构和抗性进化之间的关系。

参考文献:

[1] Maa W C, Liao S C. Culture-dependent variation in esterase isozymes and malathion susceptibility of Diamondback moth, *Plutella xylostella* L[J]. *Zoological Studies*, 2000, 39(4):375-386.
[2] 李 暄,乔传令. 抗阿维菌灭小菜蛾酯酶等位酶的研究 [C]//走向 21 世纪的中国昆虫学. 北京:中国科学技术出版社,2000. 379-381.

- LI Xuan, QIAO Chuan -ling. Studies on the esterase allozyme of abamectin resistant diamondback moth(*Plutellaxylostella* L.)from Yun-nan [A]. //Chinese Entomology to the 21th century [C]. Beijing:China science and technology press, 2000.379-381.
- [3] 乔传令,王 靖,邢建民. 不同地区小菜蛾种群的抗药性及酯酶同工酶的研究[J]. 农药学报, 2000, 2(4):33-39.
- QIAO Chuan-ling, WANG Jing, XING Jian-min. Studies on the insecticide-restant and esterase isozymes in diamondback moth *Plutella xylostella*(L.)from three populations in China[J]. *Chinese journal of pesticide science*, 2000, 2(4):33-39.
- [4] Duan Y H, Guttman S I, Oris J T, et al. Differential survivorship among allozyme genotypes of *Hyalabella azteca* exposed to cadmium, zinc or low pH[J]. *Aquatic Toxicology*, 2001, 54: 15-28.
- [5] 李翠兰,段毅豪,卢芙萍,等. 中华稻蝗等位酶基因型与阿维菌素急性死亡率差异研究[J]. 遗传学报, 2004, 31(11):1241-1247.
- LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential acute mortality among the allozyme genotypes of *Oxya chinensis* by pesticide avermectin[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(11):1241-1247.
- [6] 李翠兰,段毅豪,卢芙萍,等. 敌百虫对中华稻蝗磷酸葡萄糖异构酶基因型的致死性差异研究 [J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 381-383.
- LI Cui-lan, DUAN Yi-hao, LU Fu-ping, et al. Differential mortality among the *Oxya chinensis* genotypes at glucose-6-phosphate isomerase by trichlorphon[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(2): 381-383.
- [7] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京:科学出版社, 1998. 74-163.
- WANG Zhong-ren. Plant Allozyme Analysis[M]. Beijing:Science Press, 1998. 74-163.
- [8] Swofford D L, Selander R B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics[J]. *Journal of Heredity*, 1981, 72:419-426.
- [9] Schlueter M A, Guttman S I, Oris J T, et al. Survival of copper-expose juvenile fathead minnows(*Pimephales promelas*)differs among allozyme genotypes[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 1995, 14(10):1727-1734.
- [10] Duan Y, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyalabella azteca*: I . Acute exposure to metals or low pH[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5):1414-1421.
- [11] Duan Y, Guttman S I, Oris J T, et al. Genotype and toxicity relationships among *Hyalabella azteca*: II . Acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 2000, 19(5):1422-1426.