

壬基酚对中华大蟾蜍蝌蚪的毒性效应

吕 玥, 张迎梅, 杨 峰, 司万童

(兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

摘 要:为评价水体中低浓度壬基酚(NP)对中华大蟾蜍(*Bufo bufogargarizans*)蝌蚪的毒性效应,采用室内饲养、测定方法,研究了NP在不同暴露时间(8、16、24、32 d),不同浓度(0.002、0.005、0.010 mg·L⁻¹)条件下,对蝌蚪生长发育、过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量和DNA损伤的影响。结果表明:暴露于0.010 mg·L⁻¹ NP的蝌蚪,其生长发育被极显著抑制($P<0.01$);CAT活性在两个较低浓度组(0.002、0.005 mg·L⁻¹)表现为先诱导后恢复,在0.010 mg·L⁻¹浓度组表现为诱导-恢复-诱导($P<0.05$);MDA含量在两个较低浓度组(0.002、0.005 mg·L⁻¹)持续升高($P<0.05$),呈明显的时间-效应关系;各处理组DNA损伤水平均显著高于对照组($P<0.05$),但随暴露时间的延长而有所下降,具有一定的剂量-效应关系。总之,即使水体中的NP符合灌溉标准,也可能抑制蝌蚪的生长发育,并对其造成氧化损伤和遗传损伤。

关键词:壬基酚;中华大蟾蜍;蝌蚪;毒性效应

中图分类号:X503.225 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)06-1086-05

Toxic Effects of Exposure to Nonylphenol on *Bufo bufogargarizans* Tadpoles

LV Yue, ZHANG Ying-mei, YANG Feng, SI Wan-tong

(School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: There were few reports on the toxic effects of nonylphenol(NP) on tadpoles. This research was designed to investigate the development, catalase(CAT) activity, content of malonyldialdehyde(MDA) and DNA damage of *Bufo bufogargarizans* tadpoles exposed to low concentration of NP. The tadpoles were exposed to NP concentrations of 0.002, 0.005 and 0.010 mg·L⁻¹ for a period of 8, 16, 24 and 32 d. The results were as follows: (1) The development of tadpoles was inhibited significantly during exposure to 0.010 mg·L⁻¹ NP ($P<0.01$). (2) The CAT activity was induced initially and then depressed to control level at the concentrations of 0.002 and 0.005 mg·L⁻¹, while the CAT activity was first induced, and then depressed, but induced again at the concentration of 0.010 mg·L⁻¹ ($P<0.05$). (3) The content of MDA increased gradually from 24 to 32 d after exposure to 0.002 and 0.005 mg·L⁻¹ NP ($P<0.05$), and there existed a time-effect relationship. (4) Compared with the control group, the level of DNA damage increased to the top value at 16 d ($P<0.05$), displaying a dose-effect relationship, but it decreased as the exposure time prolonging. In conclusion, even at the concentration lower than the irrigation standard, NP still inhibited the development of tadpoles, and resulted in oxidative injury and DNA damage.

Keywords: nonylphenol; *Bufo bufogargarizans*; tadpole; toxic effect

壬基酚(nonylphenol, NP)是非离子表面活性剂壬基酚聚氧乙烯醚(nonylphenol ethoxylates, NPnEO)的环境降解产物,属于酚类抗氧化剂,广泛用于农药生产、清洗剂合成、造纸及纺织等行业。其化学性质稳

定、难降解、毒性大于NPnEO,且具有生物积累作用^[1]。随着工农业生产的快速发展,大量NP随废水进入水环境中,进而对水生动物产生致毒作用。已有研究表明,NP是一种环境内分泌干扰物,对生物具有雌激素效应^[2]。如NP能降低雄性鲤鱼(*Carassius auratus*)血清中雄性激素水平,并可能进一步诱导肝脏中卵黄原蛋白的合成^[3]。NP还可降低日本青鳉(*Oryzias latipes*)胚胎成活率,阻碍第二性征发育,并且对子代产生持续影响^[4]。用NP处理产卵前的扇贝(*Cerastoderma*

收稿日期:2009-11-18

基金项目:国家基础科学人才培养基金(J0630644);国家自然科学基金(30770390)

作者简介:吕 玥(1985—),女,硕士研究生,现主要从事环境生物学方面的研究。

通讯作者:张迎梅 E-mail:ymzhang@lzu.edu.cn

glaucum),检测到其体内雌激素受体水平升高^[5]。另外, NP还可引起水生动物体内抗氧化酶活性的变化^[6]。

两栖动物因具有独特的生活史和皮肤高渗透性等生物学特征,极易受到水域环境中化学污染物的影响。全球两栖类种群数量下降,分布范围缩小甚至灭绝的现象受到越来越广泛的关注,而环境污染被认为是造成这一现象的主要原因之一^[7]。近年来环境污染对两栖类的影响研究主要集中于重金属和农药方面^[8-9],而有关 NP 的毒性效应研究尚浅,目前已知 NP 对中国林蛙(*Rana chensinensis*)蝌蚪的生长发育有抑制作用^[10],而其对两栖类蝌蚪氧化损伤以及遗传损伤的影响还未见报道。

本研究以中华大蟾蜍(*Bufo bufogargarizans*)蝌蚪为材料,用不同浓度的 NP 处理,通过检测蝌蚪的生长发育、CAT 活性、脂质过氧化水平以及 DNA 损伤程度,旨在更准确地评价水体环境中较低浓度 NP 对两栖类的影响,探讨其可能的作用机制,以期对两栖动物的生存环境保护提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

中华大蟾蜍蝌蚪于 2009 年 3 月采自甘肃省榆中县夏官营镇未受污染的池塘内,于实验室驯养一周,每日一次喂食足量煮熟的菠菜。选择健康、大小均一的 26~28 期蝌蚪进行实验。实验用水均为连续曝气 48 h 以上的自来水,水温(18.0±2)℃,pH(8.3±0.2)。

壬基酚(NP)为成都市科龙化工试剂厂生产,分子量 220.36,纯度≥99.0%,相对密度 0.940。以无水乙醇作助溶剂配置成 100 mg·L⁻¹ 的母液。

1.2 实验方法

1.2.1 染毒设计

我国《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)规定Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ类水域中挥发酚的标准限值分别为 0.002、0.005、0.010 mg·L⁻¹^[11],本实验采用以上 3 个浓度设置 NP 处理组,同时设空白对照,不设乙醇对照(经预实验测定最高浓度组中的乙醇不会对实验结果造成影响)。每处理组两个平行,每组随机放入蝌蚪 100 只,饲养于 30 cm×25 cm×15 cm 玻璃缸中,每缸水量为 3 L。每日更换 2/3 染毒液,换水后喂食。分别于 8、16、24、32 d 后取样进行生长发育、CAT 活性、MDA 含量以及 DNA 损伤的测定,并统计蝌蚪死亡率。

1.2.2 生长发育测定

每缸随机捞取 5 只蝌蚪,用毫米方格纸测量全

长、尾长和体宽。用吸水纸吸干体表水分后于电子天平(精度为 0.1 mg)称重。

1.2.3 CAT 活性及 MDA 含量测定

每缸随机取相同数目的蝌蚪,清洗,滤纸拭干,称重,按 1/10(W/V)的比例加入 4℃预冷的磷酸盐缓冲液(pH 7.0),冰浴匀浆,低温离心(12 000 r·min⁻¹, 20 min),取上清液保存于 4℃冰箱中备用。

CAT 活性测定采用直接紫外分光光度法^[12]。一个单位的 CAT 活性定义为:在 25℃,100 s 内使 H₂O₂ 分解一半时的酶量。MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定^[13]。组织蛋白含量测定采用考马斯亮蓝染色法^[14]。

1.2.4 DNA 损伤测定

采用单细胞凝胶电泳(SCGE)技术进行测定^[15]。用荧光显微镜在 549 nm 激发波长下观察,每张玻片随机记录 50 个细胞,每处理两个平行共计 100 个细胞,按照尾长、头长将损伤程度分为 0、1、2、3、4 共五级。以专用单位(Arbitrary unit AU)表示 DNA 损伤程度, $AU = \sum i \times n_i$, n_i 为第 i 级损伤细胞数^[16]。

相对 DNA 损伤程度=(处理组 DNA 损伤程度-对照组 DNA 损伤程度)/对照组 DNA 损伤程度×100%。

1.2.5 数据处理

用 SPSS 11.5 对数据进行统计分析;用 Microsoft Excel 2003 作图。对数据进行正态分布检验,不同处理组间的差异均采用单因素方差分析方法,组间多重比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 差异显著, $P < 0.01$ 差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 NP 对蝌蚪生长发育的影响

各处理组蝌蚪死亡率与对照组之间无显著差异($P > 0.05$),死亡率平均值为 7.67%±1.31%。说明本研究中所采用的 NP 浓度对中华大蟾蜍蝌蚪的死亡率没有影响。不同浓度的 NP 对蝌蚪的生长发育具有不同的效应(表 1)。0.002 mg·L⁻¹ NP 连续暴露下蝌蚪的生长发育没有受到明显影响。0.005 mg·L⁻¹ NP 仅在染毒 8 d 显著抑制($P < 0.05$)蝌蚪的生长,但随着时间的延长这种抑制作用逐渐减弱,24 d 后该处理组蝌蚪的各项指标均恢复至对照水平,这一方面说明蝌蚪对 NP 敏感性强,即使接触较低浓度,在初期也会产生毒性效应;另一方面说明 NP 在蝌蚪机体内可能存在降解过程^[10]。0.010 mg·L⁻¹ NP 处理组蝌蚪的生长受到明显抑制,暴露 16 d 至实验结束,除体长/体宽比值外,

各项指标与对照组之间差异极显著($P<0.01$),与其余两个处理组相比差异也达到极显著($P<0.01$)。有研究表明,NP 可能通过干扰生长激素/胰岛素生长因子轴(GH/IGF-I axis)影响鲑鱼幼体生长^[7],本实验中 NP 对蝌蚪的效应与之相似,因此推测一定浓度范围内的 NP 可能通过干扰蝌蚪的内分泌活动影响体长、体重等。

2.2 NP 对 CAT 活性及 MDA 含量的影响

两个较低浓度组(0.002、0.005 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)CAT 活性先诱导($P<0.05$)后恢复。0.010 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NP 处理组表现出诱导-恢复-诱导的变化趋势,再次被诱导后与对照组相比差异极显著($P<0.01$),32 d 后有所下降,仍然与对照组差异显著($P<0.05$)(表 2)。生物体抗氧化系统酶由多种成分组成,其中 CAT 的作用是分解清除

表 1 壬基酚对中华大蟾蜍蝌蚪生长发育指标的影响($n=10$,平均值 $\pm$ 标准差)
Table 1 Effects of NP on growth development parameters of *B. bufogargarizans* tadpoles ($n=10$, Mean $\pm$ SD)

指标	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	时间/d			
		8	16	24	32
全长/mm	0.000	21.28 $\pm$ 0.44	26.53 $\pm$ 0.53	29.07 $\pm$ 0.59	29.90 $\pm$ 0.56
	0.002	21.91 $\pm$ 0.75	26.22 $\pm$ 0.77	28.87 $\pm$ 0.69	29.52 $\pm$ 0.80
	0.005	19.48 $\pm$ 0.67 ^{ab}	26.26 $\pm$ 0.74	28.65 $\pm$ 0.92	28.66 $\pm$ 0.93
	0.010	19.53 $\pm$ 0.50 ^{ab}	22.03 $\pm$ 1.25 ^{abccc}	23.68 $\pm$ 1.45 ^{abccc}	25.08 $\pm$ 1.06 ^{abccc}
体宽/mm	0.000	5.59 $\pm$ 0.14	7.26 $\pm$ 0.21	7.96 $\pm$ 0.20	8.03 $\pm$ 0.18
	0.002	5.56 $\pm$ 0.20	6.89 $\pm$ 0.18	7.55 $\pm$ 0.21	8.13 $\pm$ 0.26
	0.005	4.80 $\pm$ 0.21 ^{ab}	6.58 $\pm$ 0.19 ^a	7.53 $\pm$ 0.30	7.80 $\pm$ 0.31
	0.010	4.74 $\pm$ 0.14 ^{ab}	5.89 $\pm$ 0.27 ^{ab}	6.35 $\pm$ 0.21 ^{abccc}	6.80 $\pm$ 0.20 ^{abccc}
尾长/mm	0.000	11.98 $\pm$ 0.30	15.00 $\pm$ 0.38	16.82 $\pm$ 0.42	17.55 $\pm$ 0.48
	0.002	12.36 $\pm$ 0.46	15.04 $\pm$ 0.50	16.62 $\pm$ 0.63	17.09 $\pm$ 0.61
	0.005	11.08 $\pm$ 0.43 ^b	15.23 $\pm$ 0.47	16.82 $\pm$ 0.58	16.88 $\pm$ 0.65
	0.010	11.49 $\pm$ 0.31	12.87 $\pm$ 0.86 ^{abccc}	13.78 $\pm$ 1.03 ^{abccc}	14.48 $\pm$ 0.72 ^{abccc}
体重/mg	0.000	0.12 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.01
	0.002	0.12 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.01
	0.005	0.08 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.16 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.02
	0.010	0.07 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.11 $\pm$ 0.02 ^{ab}	0.12 $\pm$ 0.01 ^{abccc}	0.14 $\pm$ 0.01 ^{abccc}
体长/体宽	0.000	1.67 $\pm$ 0.02	1.59 $\pm$ 0.03	1.54 $\pm$ 0.02	1.54 $\pm$ 0.04
	0.002	1.72 $\pm$ 0.02	1.62 $\pm$ 0.03	1.63 $\pm$ 0.03 ^a	1.53 $\pm$ 0.03
	0.005	1.77 $\pm$ 0.08	1.68 $\pm$ 0.02 ^a	1.58 $\pm$ 0.02	1.52 $\pm$ 0.03
	0.010	1.72 $\pm$ 0.02	1.56 $\pm$ 0.02 ^{cc}	1.55 $\pm$ 0.01 ^b	1.56 $\pm$ 0.02

注:与对照组相比较(Compared with the control group),a: $P<0.05$;aa: $P<0.01$;与 0.002 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组相比较(Compared with 0.002 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ group),b: $P<0.05$;bb: $P<0.01$;与 0.005 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组相比较(Compared with 0.005 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ group),c: $P<0.05$;cc: $P<0.01$ 。下同。

表 2 壬基酚对中华大蟾蜍蝌蚪 CAT 活性及 MDA 含量的影响
Table 2 Effects of NP on CAT activity and MDA content of *B. bufogargarizans* tadpoles

指标	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	时间/d			
		8	16	24	32
CAT 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$	0.000	41.34 $\pm$ 1.90	106.61 $\pm$ 6.94	67.82 $\pm$ 9.31	81.28 $\pm$ 14.55
	0.002	44.17 $\pm$ 2.09	126.90 $\pm$ 8.08	126.73 $\pm$ 16.69 ^{aa}	80.87 $\pm$ 8.74
	0.005	47.14 $\pm$ 2.17	110.85 $\pm$ 6.44	113.13 $\pm$ 9.66 ^{ab}	73.66 $\pm$ 12.22
	0.010	49.23 $\pm$ 1.79 ^a	98.45 $\pm$ 11.01	153.51 $\pm$ 9.62 ^{abcc}	116.99 $\pm$ 18.69 ^{abcc}
MDA 含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	0.000	21.19 $\pm$ 2.29	27.13 $\pm$ 1.62	25.05 $\pm$ 1.03	26.94 $\pm$ 2.77
	0.002	20.93 $\pm$ 1.62	23.51 $\pm$ 1.79	29.99 $\pm$ 1.71 ^a	35.87 $\pm$ 1.39 ^{aa}
	0.005	21.03 $\pm$ 1.21	25.80 $\pm$ 1.95	31.43 $\pm$ 0.76 ^{aa}	33.75 $\pm$ 0.84 ^a
	0.010	21.05 $\pm$ 1.04	25.31 $\pm$ 0.21	33.13 $\pm$ 0.99 ^{aa}	34.62 $\pm$ 1.37 ^{aa}

细胞中所产生的 H_2O_2 。CAT 活性的诱导表明在 NP 作用下蝌蚪体内产生了大量 H_2O_2 ，机体通过增强酶活性来清除这些自由基；而酶活性的恢复可能是因为抗氧化防御系统其他成分的介入消除了部分活性氧，也可能是由于该酶代谢外源化合物的能力即将饱和，致使其浓度降低。0.010 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组由于 NP 剂量较高，对蝌蚪的刺激作用更强，因而该组 CAT 活性被诱导的时间与两个低剂量组相比更早，并且再次被诱导后酶活性更高，持续时间更长。

与对照组相比，3 个处理组 MDA 含量均有显著提高 ($P<0.05$)，组间差异不显著 ($P>0.05$)，且两个较低浓度组 (0.002、0.005 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) MDA 含量随处理时间的延长而升高，呈明显的时间-效应关系 (表 2)。说明低浓度的 NP 即可引起蝌蚪的脂质过氧化水平增高，产生氧化性损伤。本实验中 MDA 含量升高与 CAT 活性变化具有一定的同步性，两个较低浓度组 CAT 活性在 32 d 时恢复至对照水平，此时机体清除自由基的能力下降，自由基大量蓄积，促使 MDA 含量在这一时期进一步明显升高；而 0.010 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组 CAT 活性在 32 d 仍处于诱导状态，MDA 含量相应保持在稳定水平。从而说明，NP 对两栖动物产生影响的原因之一是随着体内 NP 的增加，自由基积累，加剧了膜脂过氧化，使膜的结构和功能遭到破坏，因而引起一系列生理生化代谢紊乱，最终造成毒害。

2.3 NP 对 DNA 损伤的影响

由图 1 可以看出，本研究所采用的 3 个浓度均对 DNA 造成了一定程度的损伤。NP 分别连续暴露 16 及 24 d 后，损伤程度随着 NP 浓度的升高而增加，组间差异显著 ($P<0.05$)，呈剂量-效应关系。然而各组损伤程度在达到最大值后随暴露时间的延长有所下降，

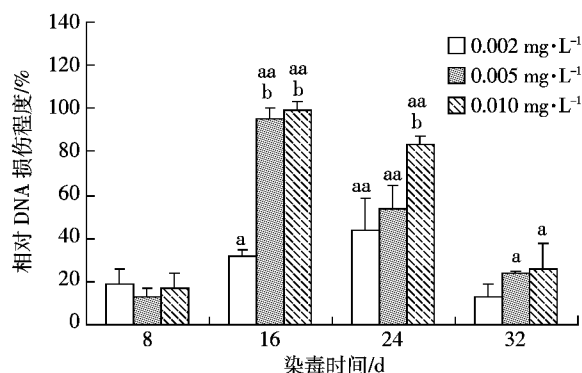


图 1 NP 对中华大蟾蜍蝌蚪 DNA 损伤的影响

Figure 1 Effects of NP on the DNA damage of *B. bufo gargarizans* tadpoles

暴露 32 d 时 0.002 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NP 处理组恢复至对照水平；0.005、0.010 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NP 处理组仍与对照组差异显著 ($P<0.05$)。分析损伤程度下降的原因，可能与蝌蚪对 NP 的敏感性有关，处于变态阶段的蝌蚪敏感性较低，本实验中蝌蚪在暴露 24 d 后进入变态期，因此对 NP 的敏感性下降，这与耿宝荣等^[18]对斑腿树蛙 (*Rhacophorus megacephalus*) 蝌蚪的研究结果相似。同时也可能是由于细胞自身的修复作用，DNA 损伤的修复是生物体保持遗传结构相对稳定的重要因素。本研究中 0.002 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NP 暴露 32 d 对 DNA 造成的损伤可通过自身的修复机制得以恢复，而两个较高浓度组在整个实验过程中对 DNA 造成的损伤不能完全修复，可能导致突变的固定。

有研究者发现，活性氧自由基可以直接攻击 DNA 分子，引起单链或双链的断裂^[19]，而且脂质过氧化过程中产生的脂质自由基、MDA 等可进一步攻击 DNA^[20]。因此推测 NP 在代谢过程中产生的自由基以及脂质过氧化产物对 DNA 的破坏是其造成蝌蚪遗传损伤的一条途径。

3 结论

本实验中 NP 的最高浓度符合我国《地表水环境质量标准》对 IV 类水域的规定，适于农业灌溉，在此浓度下的 NP 不仅能够显著抑制蝌蚪的生长发育，而且对其产生氧化胁迫，造成 DNA 损伤，揭示水环境中低浓度的 NP 对两栖类蝌蚪具有毒性作用。因此，建议严格控制水环境中 NP 浓度，保护两栖类等水生动物的生存环境。

参考文献：

- [1] 王平, 徐建, 郭玮峰, 等. 黄河(兰州段)水生生态系统中壬基酚的分布研究[J]. 城市环境与城市生态, 2006, 19(2): 20–22.
WANG Ping, XU Jian, GUO Wei-feng, et al. Distribution of nonylphenol in the aquatic ecosystem of Lanzhou reach of Yellow River[J]. *Urban Environment and Urban Ecology*, 2006, 19(2): 20–22.
- [2] Soares A, Guieysse B, Jefferson B, et al. Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters[J]. *Environment International*, 2008, 34: 1033–1049.
- [3] Yang Li-hua, Lin Li, Weng Shao-ping, et al. Sexually disrupting effects of nonylphenol and diethylstilbestrol on male silver carp (*Carassius auratus*) in aquatic microcosms[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71: 400–411.
- [4] Yokota H, Seki M, Maeda M, et al. Life-cycle toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, 20: 2552–2560.

- [5] Maria G M, Stefano R, Francesco R, et al. Lethal and estrogenic effects of 4-nonylphenol in the cockle *Cerastoderma glaucum*[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 57:552-558.
- [6] 高永刚, 李正炎. 壬基酚对栉孔扇贝组织抗氧化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36:135-138.
GAO Yong-gang, LI Zheng-yan. Effect of nonylphenol on anti-oxidant enzymes of *Chlamys farreri*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2006, 36:135-138.
- [7] Blaustein A R, Romansic J M, Kiesecker J M, et al. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines[J]. *Diversity and Distributions*, 2003, 9:123-140.
- [8] 贾秀英, 施蔡雷. 水体二价铜离子致蟾蜍蝌蚪 DNA 损伤和氧化损伤[J]. 环境科学学报, 2008, 28(10):2095-2100.
JIA Xiu-ying, SHI Cai-lei. Exposure of *Bufo gargarizans* tadpoles to water-borne copper(II) leading to DNA damage and oxidative damage[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(10):2095-2100.
- [9] 钟碧瑾, 黄增财, 林 玲, 等. 杀虫剂三唑磷对沼水蛙 (*Hylarana guentheri*) 蝌蚪的遗传毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(2):244-250.
ZHONG Bi-jin, HUANG Zeng-cai, LIN Ling, et al. Genotoxicity of the pesticide triazophos to *Hylarana guentheri* tadpoles[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(2):244-250.
- [10] 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[J]. 生态学杂志, 2008, 27(8):1332-1336.
ZHENG Xiao-jing, ZHANG Yu-hui. Toxicity effects of nonylphenol on tadpoles *Rana chensinensis* growth and development[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27(8):1332-1336.
- [11] GB 3838—2002 地表水环境质量标准[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
GB 3838—2002 Environmental quality standard for surface water[S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [12] 徐镜波, 袁小凡, 郎佩贞. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度测定[J]. 环境化学, 1997, 16(1):73-76.
XU Jing-bo, YUAN Xiao-fan, LANG Pei-zhen. The determination of enzymic activity and its inhibition on catalase by ultraviolet spectrophotometry[J]. *Environmental Chemistry*, 1997, 16(1):73-76.
- [13] Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51:939-941.
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye Binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.
- [15] Singh N P, McCoy M T, Tice R R, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells[J]. *Experimental Cell Research*, 1988, 175:184-191.
- [16] Goethem F V, lison D, Kirsch-Volders M. Comparative evaluation of in vitro micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis assay for the detection of DNA damaging agents: Genotoxic effects of cobalt prouder, tungsten carbide and cobalt-tungsten carbide[J]. *Mutation Research*, 1997, 392:31-34.
- [17] Arsenault J T, Fairchild W L, MacLachv D L, et al. Effects of water-borne 4-nonylphenol and 17beta-estradiol exposures during parr-smolt transformation on growth and plasma IGF-I of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, 66:255-265.
- [18] 耿宝荣, 薛清清, 连 迎, 等. 不同发育阶段的斑腿树蛙蝌蚪对敌敌畏遗传毒性的敏感性[J]. 动物学报, 2006, 52(5):892-898.
GENG Bao-rong, XUE Qing-qing, LIAN Ying, et al. Comparison of sensitivity to Dichlorvos of *Rhacophorus megacephalus* tadpoles at different development stages[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2006, 52(5):892-898.
- [19] Mamett L J. Oxyradicals and DNA damage[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21(3):361-370.
- [20] Pan Jing-xuan, She Miao-rong, Xu Zhi-xiang, et al. Farnesyltransferase inhibitors induce DNA damage via reactive oxygen species in human cancer cells[J]. *Cancer Research*, 2005, 65(9):3671-3681.