

洛克沙肿对鲫鱼两种生态毒理学指标的影响

王志强, 李 浩, 张 斌

(扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009)

摘要:采用静态试验法,将鲫鱼暴露于 4、16、64 mg·L⁻¹ 洛克沙肿中 48、96、144 h 后,检测了鱼鳃、肾脏和肝的 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。结果表明,在同一组织中,随着处理浓度的提高,洛克沙肿对鲫鱼各组织 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性抑制作用增强。对于不同组织,同一处理浓度的洛克沙肿对鲫鱼鳃中 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性抑制作用更为明显,其次是肝和肾($P<0.01$)。在同一浓度下,洛克沙肿对鲫鱼各组织 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性抑制率呈明显的时间-效应关系,暴露时间越长,抑制率越高($P<0.01$)。此外,单细胞凝胶电泳试验(SCGE)结果表明,鲫鱼暴露于 0.5、1、2 mg·L⁻¹ 洛克沙肿中 72 h 能引起鲫鱼肾细胞明显的 DNA 损伤,并在设定剂量范围内呈现一定的剂量-效应关系;同时,鲫鱼肾细胞于体外暴露于 1、10、100、500、1 000 mg·L⁻¹ 洛克沙肿 3、6、12 h 后,可引起严重的 DNA 损伤。

关键词:洛克沙肿;鲫鱼;Na⁺-K⁺-ATP 酶;DNA

中图分类号:X592 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)07-1374-05

Effects of Roxarsone on Na⁺-K⁺-ATPase Activity and DNA Damage in *Carassius auratus*

WANG Zhi-qiang, LI Hao, ZHANG Bin

(College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Roxarsone is a veterinary feed additive with a long history of use as a growth promoter in stock raising. Although this drug has been widely used for its low price and convenient usage, roxarsone is actually still under evaluation because of the uncertainty regarding the mechanism involved in the biochemical toxicity and genotoxicity to aquatic organisms. In this paper, experiments were conducted to study the effects of roxarsone on the Na⁺-K⁺-ATPase activity in tissue (gill, kidney and liver) and DNA damage in kidney cell of crucian carp (*Carassius auratus*). Firstly, all fish were divided into 4 testing groups and were exposed to solutions with different concentrations of roxarsone (0, 4, 16, 64 mg·L⁻¹) respectively. Gill, kidney and liver of crucian craps were collected for determination of Na⁺-K⁺-ATPase activity at 48, 96 and 144 hours after exposure. The result showed that Na⁺-K⁺-ATPase activity of three tissues were significantly inhibited by roxarsone. The degree of sensibility of Na⁺-K⁺-ATPase to roxarsone was expressed as following: gill>liver>kidney. In addition, Na⁺-K⁺-ATPase activity decreased gradually as roxarsone doses and exposure time were raised, which showed dose-effect relationship and time-effect relationship. Secondly, the single cell gel electrophoresis test (SCGE, comet assay) of crucian carp kidney cells *in vivo* and *vitro* were conducted to evaluate the toxicological effects of roxarsone on typical aquatic species. The results of the SCGE showed that roxarsone at the dose of 0.5, 1, 2 mg·L⁻¹ could induce DNA damage in crurian kidney cells *in vivo*. The damage caused by roxarsone were obvious. The extent of DNA damage increased gradually as roxarsone doses were raised, which showed dose-effect relationship. At the same time, roxarsone at the dose of 1, 10, 100, 500, 1 000 mg·L⁻¹ could induce DNA damage in crucian crap kidney cells at 3, 6 and 12 hours after exposure *in vitro*. The action of DNA damage showed a dose-effect relationship and time-effect relationship. The above results showed roxarsone might have potential biochemical toxicity and genotoxicity to aquatic organisms.

Keywords: roxarsone; crucian crap; Na⁺-K⁺-ATPase; DNA

洛克沙肿 (C₆H₆AsNO₆, 3-硝基-4-羟基苯肿酸) 作为目前在畜禽养殖中广泛使用的有机肿饲料添加剂,具有广谱抗菌和抗球虫作用,可提高饲料利用率,

具明显促生长作用,取得了较好的经济效益^[1]。但洛克沙肿进入动物体后,主要以原形随粪便排泄,随有机肥或养殖场排污系统进入环境,可能对环境生物产生影响及毒害^[2]。目前,国内已逐步开展洛克沙肿的环境行为及生态毒理学研究,并证明洛克沙肿对鲫鱼巯基酶和抗氧化功能有明显抑制作用,对鱼脑和肝脏氧化功能损伤最明显^[2],同时对蛋白核小球藻属低毒级化

收稿日期:2008-11-10

基金项目:中国博士后科学基金项目;江苏省博士后科研资助项目

作者简介:王志强(1972—),男,博士,副教授,硕士生导师,从事兽医药理与毒理学研究。E-mail:zqwang@yzu.edu.cn

合物,对大型蚤属中毒级化合物^[3]。ATP酶活性和DNA损伤已被广泛用于评价环境污染压力的参数,是具有通用性和直接性的指标,其中ATP酶是参与主动转运的离子泵的重要组成部分,在机体中起重要作用,并且多种类型污染物对ATP酶有显著的影响。而根据对DNA的损伤程度,可了解污染物的遗传毒性。鱼类在水生生态系统中处于较高的营养级,与人类生活密切相关,而且鱼类对水质的变化很敏感^[4]。因此,用鱼作为生物材料研究兽药及饲料添加剂的生态毒理效应及其对水生生态系统的影响具有重要的现实意义。本研究采用ATP酶活性和DNA损伤两项生态毒理学指标来探讨洛克沙肿对鲫鱼生化和遗传毒性,从而判断肿污染对水生生物具有的潜在影响和实际毒性,并可为评价和监测有机肿添加剂的环境生态毒性提供科学依据和手段。

1 材料与方法

1.1 试验动物

25~30 g 鲫鱼(*Carassius auratus*),雌雄兼有,购自扬州市公道镇滨湖渔场,驯养1周后用于试验,驯养过程中每3 d 饲喂1次,试验前1 d 和试验期间不饲喂,水温(23±2)℃,试验期间持续充氧。

1.2 药品与试剂

洛克沙肿标准品,含量98.5%,浙江康达动物保健有限公司提供;超微型ATP酶分型试剂盒,南京建成生物试剂公司。其他试剂包括牛血清蛋白、Triton X-100、DMSO、月桂酰基肌氨酸钠、低熔点琼脂糖、溴化乙锭等。

1.3 仪器及其他

荧光显微镜,日本NIKON公司;LEICA显微镜,BIOMED公司;DYY-100电泳仪,北京六一仪器设备有限公司。

1.4 洛克沙肿对鲫鱼组织ATP酶活性的影响

1.4.1 动物分组及染毒

采用静态试验法。容器为64 cm×35 cm×45 cm 玻璃鱼缸,试验溶液30 L,试验用水为曝气1周的自来水,分为4组,分别加入洛克沙肿。浓度经预试验确定,即在预试验中先确定洛克沙肿能明显影响ATP酶活性的最低浓度,以该浓度为中浓度,再在该值上下各设一浓度,为低浓度和高浓度,分别为4.0、16.0、64.0 mg·L⁻¹,并设一空白对照,每组30尾,分别于暴露后48、96、144 h 时取10尾处死,取肝、肾、鳃制成组织匀浆液,进行ATP酶活力测定。

1.4.2 Na⁺-K⁺-ATP酶活性的测定

取样鱼杀死后,取肝、肾、鳃,剪碎后称重,加入组织匀浆介质,充分研磨制备匀浆,3 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液测定Na⁺-K⁺-ATP酶活性及蛋白质含量。Na⁺-K⁺-ATP酶活性测定用钼铵酸显色测磷法,用福林酚法测定肝、肾、鳃中蛋白质含量^[2,5]。数据用4次重复试验的平均值和标准差表示,统计学分析采用*t*检验。

1.5 洛克沙肿在鲫鱼体内对肾细胞的DNA损伤

1.5.1 动物分组及染毒

采用静态试验法,40尾鲫鱼分为4组,分别暴露于洛克沙肿浓度为0、0.5、1.0、2.0 mg·L⁻¹的溶液中,该浓度经预试验确定,于暴露后72 h 各取10尾鱼处死,取其肾脏。

1.5.2 单细胞凝胶电泳试验

取染毒鲫鱼肾脏,用4℃的PBS液冲洗、剪碎、研磨,以110目不锈钢筛网过滤,收集细胞悬液,EDTA消化,分散细胞,将细胞浓度用PBS调整为10⁶~10⁷个·mL⁻¹,4℃贮存备用。用苔盼蓝染色置于显微镜下观察细胞存活率在90%以上。以上各步骤均在暗房中操作。

单细胞凝胶电泳试验参照Koncak方法^[6]。包埋有细胞的胶片在碱性电泳液中静置20 min,然后在电压25 V、电流90 mA 条件下电泳40~60 min,用0.4 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液中和和后溴化乙锭(EB)染色20 min,在荧光显微镜(×400)下读片,并获取彗星细胞照片,进行结果分析。

应用彗星图像分析软件(CASP)对彗星照片进行分析,每个平行至少分析50个细胞。CASP分析软件可同时提供超过10种参数的分析结果。根据Konca等^[6]的报道,选择Olive尾矩(Olive Tail Moment, OTM=[彗星尾部DNA含量]×[彗星头尾重心间的距离])作为评价细胞DNA损伤的主要指标,同时提供尾长(Tail Length)和彗尾DNA含量(Tail DNA%)两个参数作为参考指标,以较全面反映DNA的损伤情况。

数据的统计分析采用Excel2003。

1.5.3 洛克沙肿对离体鲫鱼肾细胞的DNA损伤

吸取未染毒鲫鱼肾细胞悬液100 μL于指形管中,加PBS溶液800 μL,然后分别加入浓度为1、10、100、500、1 000 mg·L⁻¹洛克沙肿溶液100 μL,于18℃恒温水浴中分别避光染毒3.0、6.0、12.0 h,同时设空白对照组。染毒结束后,3 000 r·min⁻¹离心3 min,弃上清,加1.0 mL冷PBS液,制成肾细胞悬液。按1.5.2方

法进行单细胞凝胶电泳试验及结果分析。

2 结果与分析

2.1 洛克沙肿对鲫鱼 ATP 酶活力的影响

各组不同浓度洛克沙肿、不同时间染毒后,肝、肾、鳃中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性见表 1,不同浓度洛克沙肿对鲫鱼各组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性抑制率见表 2。

据表 1、表 2,随着洛克沙肿浓度的增加,试验鱼肝脏、肾、鳃中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性都有下降的趋势。 $4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度以上组洛克沙肿暴露 96 h 即对肾、鳃中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性有显著影响($P<0.05$)。在同一组织中,随着处理浓度的提高,洛克沙肿对鲫鱼各组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性抑制作用更为明显,呈现出明显浓度-效应关系($P<0.05$)。对于不同组织,同一处理浓度洛克沙肿对鲫鱼鳃中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性抑制作用更为明显,其次是肝和肾($P<0.05$)。在同一浓度下,洛克沙肿对鲫鱼各组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性抑制率呈明显的时间-效应关系,暴露时间越长,抑制率越高($P<0.05$)。

2.2 洛克沙肿在体内对鲫鱼肾细胞的 DNA 损伤

洛克沙肿对鲫鱼肾细胞的单细胞凝胶电泳试验结果见表 3。据表 3,在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上浓度洛克沙肿中暴露 72 h 后,洛克沙肿即对鲫鱼肾细胞 DNA 造成明显的损伤($P<0.01$),并呈现剂量-效应关系。

表 1 不同浓度洛克沙肿对鲫鱼各组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性影响($\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}\text{Prot}\cdot\text{h}^{-1}$)

Table 1 Effect of concentrations of ROX on ATPase activities in tissues

洛克沙肿浓度 Concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	组织 Tissue	时间 Time/h		
		48	96	144
0	肝	10.33±2.26	9.93±2.47	10.83±2.36
	肾	6.47±1.24	5.60±1.33	6.71±1.43
	鳃	11.11±1.92	12.24±2.71	14.11±2.79
4.0	肝	10.17±1.27 [*]	9.43±1.46 [*]	9.83±2.05
	肾	6.55±1.36 [*]	5.44±1.30	6.19±1.49
	鳃	11.07±2.17 [*]	11.35±2.54	12.74±1.79
16.0	肝	8.02±0.94	6.98±1.27	6.85±1.43
	肾	5.66±1.29	4.53±1.15	4.76±1.11
	鳃	8.40±1.46	9.25±2.06 [#]	8.82±1.43
64.0	肝	6.75±1.21	5.88±1.59	6.24±1.18
	肾	4.73±1.25	3.55±0.78	3.99±0.34
	鳃	7.71±2.15	7.92±1.12	7.87±2.05

注: * 与对照组相比差异不显著($P>0.05$), # 与 48 h 相比差异不显著($P>0.05$)。

表 2 不同浓度洛克沙肿对鲫鱼各组织 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性抑制率(%)

Table 2 Effect of concentration of ROX on its inhibition rate of ATPase activities in tissues

洛克沙肿浓度 Concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	组织 Tissue	时间 Time/h		
		48	96	144
4.0	肝	1.56	4.99	9.27
	肾	-1.19	2.81	7.68
	鳃	0.36	7.29	9.73
16.0	肝	22.31	29.64	36.75
	肾	12.55	19.08	28.99
	鳃	24.36	24.43	37.47
64.0	肝	34.63	40.81	42.44
	肾	26.86	36.63	40.36
	鳃	30.64	35.35	44.22

表 3 洛克沙肿对鲫鱼肾细胞 DNA 损伤

Table 3 DNA damage of kidney cells exposed to ROX *in vivo*

洛克沙肿浓度 Concentration/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	样品数 Number of samples	尾长 Tail length/ μm	尾部 DNA 含量 Tail DNA/%	OTM(Olive Tail Moment)
0	250	8.20±2.95	3.36±1.75	0.78±0.33
0.5	250	23.80±4.2 [*]	8.67±1.35 [*]	2.86±0.52 [*]
1.0	250	40.07±4.47 [*]	13.02±1.62 [*]	5.01±1.27 [*]
2.0	250	75.56±7.44 [*]	29.45±1.38 [*]	15.89±1.55 [*]

注: * 与对照组相比有极显著差异($P<0.01$)。

2.3 洛克沙肿对鲫鱼离体肾细胞的 DNA 损伤

洛克沙肿对离体鲫鱼肾细胞 DNA 损伤 SCGE 试验结果如表 4。据表 4,在 $1.0\sim 1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度洛克沙肿中暴露 3 h 以上,鲫鱼肾细胞 DNA 有明显损伤($P<0.05$),并呈现明显剂量-效应关系。同时,洛克沙肿即对鲫鱼肾细胞 DNA 造成的损伤亦呈现时间-效应关系。

3 讨论

3.1 对 ATP 酶活力的影响

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶几乎存在于所有动物的细胞中,是组成 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 泵活性的主要部分,不仅参与能量代谢、物质运送、氧化磷酸化的重要生化过程,而且它与膜上磷脂的结合状态,将影响膜的流动性,从而还会影响膜的其他功能。由于生理上处于胁迫条件时 ATP 库内 ATP 减少,因此,ATPase 活性的检测可以作为动物身体状态的指标。

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶本身的构象变化调节着 Na^+ 和 K^+ 的运输,洛克沙肿以各种途径进入鱼体后,有可能使

表 4 洛克沙肿对离体鲫鱼肾细胞 DNA 损伤

Table 4 DNA damage of kidney cells exposed to ROX *in vitro*

项目	染毒时间 Time/h	洛克沙肿浓度 Concentration/mg·L ⁻¹					
		0	1	10	100	500	1 000
尾长 Tail length/ μm	3	2.98±0.89	3.29±1.11	5.46±1.73	7.08±1.32	11.48±2.91	12.68±2.26
	6	3.12±1.10	7.77±2.33	10.22±3.75	12.77±2.62	18.35±2.43	29.64±2.38
	12	4.85±1.12	9.87±2.89	17.69±3.25	19.72±3.77	22.39±4.21	33.28±5.34
尾部 DNA 含量 Tail DNA/%	3	1.77±0.44	2.21±0.73	4.50±1.12	5.65±1.04	11.09±2.77	12.03±2.45
	6	2.65±0.98	7.33±1.67	10.11±2.99	14.23±1.47	22.40±4.07	31.11±4.71
	12	4.17±1.01	14.01±3.92	19.65±4.27	20.33±3.76	23.91±4.88	34.70±6.19
OTM (Olive Tail Moment)	3	0.22±0.09	0.30±0.09	0.56±0.12 ^a	0.80±0.21 ^a	1.44±0.58	1.63±0.45 ^a
	6	0.37±0.29	0.91±0.13 ^{ac}	1.55±0.46 ^{a,b,c}	2.65±0.42 ^{a,b,c}	6.01±1.87 ^{a,b,c}	13.63±1.77 ^{a,b,c}
	12	0.45±0.12	1.62±0.33 ^{abc}	3.78±0.81 ^{a,b}	5.85±0.88 ^{a,b,c}	8.23±1.32 ^{a,b,c}	14.83±1.63 ^{a,b}

注:a.与空白对照组相比差异显著($P<0.05$), b.与空白对照组或较低浓度组相比差异显著($P<0.05$), c.与前一暴露时间组相比差异显著($P<0.05$)。

酶的构象发生变化,从而使酶活性中心的构型和低介电区域发生变化,进而影响底物与酶的靠近及定向,底物分子中的敏感键发生变形,最终影响 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性。刘存歧等^[7]研究了海水中几种金属离子对中国对虾幼体体内 ATP 酶活性的影响,发现 ATP 酶活性的高低与对虾仔虾的生长表现出极大的一致性,认为 ATP 酶活性的高低可作为判别环境因素是否适合对虾幼体生存的指标。

从本试验研究结果来看,一定浓度洛克沙肿确实对鲫鱼组织的 ATP 酶活性有不同程度的抑制作用,表现出一定的剂量-效应关系,即 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性随着洛克沙肿浓度的增加而降低,说明洛克沙肿暴露会使鱼体多种生化过程受到干扰。王付民(2006)发现,绝大多数猪场内鱼塘水的砷含量已超过渔业水质标准 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;虽然鱼肌肉的总砷含量未超过国家规定标准 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,但是在鱼的可食性组织脂肪、脑的总砷含量却远远超标,约为肌肉组织中 3~4 倍。猪场排污口周围的土壤,砷污染范围介于 200~500 m 之间;其中在距排污口约 5、50 m 的土壤,砷的含量远超过自然界的砷含量的最高背景值 $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。长期施用猪粪作为肥料的稻田,大多数土壤砷含量已超过国家规定的标准^[8]。由此可见,随着目前通过各种途径进入环境中的有机砷的数量的增加,洛克沙肿对环境生物确实存在潜在的威胁。此外,据叶继丹报道,鲤鱼以喹乙醇混饲 60 d,亦会对其鳃组织 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性产生明显抑制作用^[9]。

目前,能够灵敏指示环境污染程度的生物种、生物组织和生物指示物的选择是环境生物监测急需解决的关键问题之一。由表 1、2 可以看出,洛克沙肿对鲫鱼组织 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性的影响程度,从大到小

的排列顺序依次为:鳃>肝>肾脏。洛克沙肿对鲫鱼鳃组织 ATP 酶抑制最为明显,可能是因为鳃是鱼类的呼吸器官,物质交换最为频繁,并与 Na^+ 的主动吸收以及 Cl^- 对泌尿盐的损失补偿相关联,因此对环境中污染物也较为敏感。贾秀英等亦发现,铜对鲫鱼组织 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性的影响程度依次为:脑>鳃>肝胰脏>肾脏,而鳃为肾脏>脑>肝胰脏>鳃^[10]。

至于洛克沙肿如何对 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶产生抑制效应,是直接抑制酶活性还是中毒后引起异常生理变化,而间接引起酶活性降低,尚有待进一步研究。

3.2 对鲫鱼肾细胞的 DNA 损伤

单细胞凝胶电泳(SCGE),又称慧星试验,是一种检测单细胞水平 DNA 损伤的技术。该技术需样品量少,快速简便,对 DNA 损伤检出灵敏性高,无需同位素标记,将更加广泛的应用于环境污染物的基因毒性研究、生物监测及污染治理效果的生物评价。

洛克沙肿作为环境污染物,其不仅影响生物代谢、诱导生物细胞毒性,而且还可能诱导生物的遗传损伤。本研究中以鲫鱼肾细胞来做单细胞凝胶电泳试验,结果表明,无论体内染毒还是体外染毒,洛克沙肿均可致鲫鱼肾细胞 DNA 明显的断裂和迁移,对肾细胞 DNA 造成了损伤,具有潜在的基因毒性。但本试验中的体外染毒剂量相对于体内染毒剂量较高。之所以选用较高剂量进行体外试验,是由于在体内试验的染毒剂量下,体外试验造成的 DNA 损伤极小,也就是说鲫鱼在活体条件下对洛克沙肿要比在离体条件下敏感。生物活体对毒物的反应远远比离体的情况复杂,活体条件下,鱼体对毒物的代谢可能造成了不同器官中毒物浓度的差异,这是导致体内外肾细胞 DNA 损伤情况差异明显的一个可能原因。洛克沙肿进入鲫鱼

体内究竟如何受代谢活动的影响尚待研究。袁锦芳等亦发现,鲤鱼不同组织 Na^+/K^+ -ATP 酶受氯化三丁基锡毒物影响的不如在活体条件下显著^[11]。而李兆利以 125、250、500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 阿散酸染毒 72 h,进行鲤鱼肾细胞单细胞凝胶电泳试验,发现阿散酸不会引起鲤鱼肾细胞 DNA 显著损伤,但喹乙醇和土霉素均能引起鲤鱼肾细胞 DNA 的明显损伤,并呈现剂量-效应关系^[12]。徐韵亦报道,喹乙醇能引起鲤鱼肾细胞 DNA 较大损伤,并具剂量-效应关系^[13]。

综上所述,洛克沙肿可明显抑制鲫鱼各组织的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性,并对鲫鱼肾细胞 DNA 产生损伤作用,对水生生物及水生生态系统具有潜在危害,有必要对其加强管理、合理控制其在养殖业中的使用剂量和期限。

参考文献:

- [1] 廖巧霞. 洛克沙肿在养殖业中的应用[J]. 广东畜牧兽医科技, 2005, 30(4):9-10.
LIAO Qiao-xia. Use of roxarsone in graziery[J]. *Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science*, 2005, 30(4):9-10.
- [2] 孙永学, 陈杖榴, 陈展飞, 等. 洛克沙肿对鲫鱼暴露胁迫的毒性效应[J]. 华南农业大学学报(自然科学版), 2004, 25(3):101-104.
SUN Yong-xue, CHEN Zhang-liu, CHEN Zhan-fei, et al. Toxic effects of roxarsone on *Carassias auratus*[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2004, 25(3):101-104.
- [3] 王付民, 张璐, 陈杖榴. 有机肿添加剂对蛋白核小球藻及大型蚤的急性毒性研究[J]. 华南农业大学学报, 2007, 28(2):103-107.
WANG Fu-min, ZHANG Lu, CHEN Zhang-liu. Studies on acute toxicity of organoarsenics to *Chlorella pyrenoidosa* and *Deaphnia magna*[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2007, 28(2):103-107.
- [4] 吴强, 王爱平, 董兆君. 用鱼类研究化学物质生殖毒性的方法[J]. 癌变·畸变·突变, 2001, 13(1):58-61.
WU Qiang, WANG Ai-ping, DONG Zhao-jun. Methodology for reproductive toxicity of chemical substances in fish[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis*, 2001, 13(1):58-61.
- [5] Lowry O H. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. *J Biol Chem*, 1955, 193:265.
- [6] Koncak, Lankoff A, Banasik A, et al. A cross-platform public domain PC Image2 analysis program for the comet assay [J]. *Mutation Research*, 2003, 534(1/2):15-20.
- [7] 刘存歧, 王安利, 王维娜. 海水中几种重金属对中国对虾幼体体内碱性磷酸酶和 ATPase 的影响[J]. 水产学报, 2001, 25(4):298-303.
LIU Cun-qi, WANG An-li, WANG Wei-na. Influences of metal ions in seawater on activities of alkaline phosphatase (AKP) and ATPase in mysis and postlarvae of *Penaeus chinensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25(4):298-303.
- [8] 王付民. 有机肿对水生生物毒性及生物富集的研究[D]. 广州: 华南农业大学博士论文, 2003.
WANG Fu-min. Studies on Toxicity of Organoarsenics to Aquatic Organisms and bioconcentration[D]. Doctoral dissertation of South China Agricultural University, 2003.
- [9] 叶继丹, 刘红柏, 赵吉伟, 等. 喹乙醇对鲤组织 Na^+/K^+ -ATP 酶活性及血浆生化指标的影响[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(2):197-202.
YE Ji-dan, LIU Hong-bai, ZHAO Ji-wei, et al. Changes of body composition, plasma biochemical indices and Na^+/K^+ -ATPase activity in Gill after feeding diets with different doses of olaquinox to *Cyprinus carpio* L[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2005, 24(2):197-202.
- [10] 贾秀英, 陈志伟. 铜、镉对鲫鱼组织 Na^+/K^+ -ATPase 酶活性的影响[J]. 科技通报, 2003, 19(1):50-53.
JIA Xiu-ying, CHEN Zhi-wei. Effects of copper and cadmium on Na^+/K^+ -ATPase activity in tissues of *Carassius auratus*[J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2003, 19(1):50-53.
- [11] 袁锦芳, 王忠, 陈叙龙, 等. 氯化三丁基锡对鲤鱼组织 Na^+/K^+ -ATPase 的毒性研究[J]. 南开大学学报(自然科学), 2001, 34(2):104-109.
YUAN Jin-fang, WANG Zhong, CHEN Xu-long, et al. A study on toxic effects of TBTCI on Na^+/K^+ -ATPase in different tissues of *Cyprinus Carpio Linnaeus*[J]. *Journal of Nankai University*, 2001, 34(2):104-109.
- [12] 李兆利, 陈海刚, 徐韵, 等. 3种兽药及饲料添加剂对鱼类的毒理效应[J]. 生态与农村环境学报, 2006, 22(1):84-86.
LI Zhao-li, CHEN Hai-gang, XU Yun, et al. Toxicological effects of three veterinary drugs and feed additives on fish[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22(1):84-86.
- [13] 徐韵, 李兆利, 陈海刚, 等. 兽药添加剂喹乙醇对水生生物的毒理学研究[J]. 南京大学学报(自然科学), 2004, 40(6):728-734.
XU Yun, LI Zhao-li, CHEN Hai-gang, et al. Toxicological studies of the veterinary additive olaquinox on aquatic species[J]. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 2004, 40(6):728-734.