

# 硫丹对斑马鱼的毒性效应

胡国成<sup>①②</sup> 甘炼<sup>③</sup> 吴天送<sup>③</sup> 邱建龙<sup>③</sup> 戴家银<sup>①</sup> 曹宏<sup>①</sup> 许木启<sup>①\*</sup>

(①中国科学院动物生态与保护生物学重点实验室 中国科学院动物研究所 北京 100101;

②中国科学院研究生院 北京 100049; ③华南农业大学动物科学学院 广州 510640)

**摘要:** 硫丹是一种有机氯杀虫剂, 广泛应用于谷物、蔬菜、水果、茶叶等害虫的防治。然而, 在杀灭害虫、提高农业产量的同时, 硫丹对水生生物的生存构成威胁。为了丰富水生生物毒理学资料, 评价硫丹对水生生物健康生长的风险, 本文采用传统毒理学方法, 在室内静态环境条件下, 研究了硫丹对斑马鱼(*Danio rerio*)的毒性效应。结果显示24 h、48 h、72 h、96 h半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)分别为4.24 μg/L、2.49 μg/L、1.77 μg/L、1.62 μg/L。在亚慢性实验条件下, 硫丹对肝和脑组织中的超氧化物歧化酶及乙酰胆碱酯酶有显著影响。硫丹对斑马鱼超氧化物歧化酶活性具有促进效应, 在0.17~0.74 μg/L范围内对乙酰胆碱酯酶具有抑制效应。

**关键词:** 硫丹; 斑马鱼; 超氧化物歧化酶; 乙酰胆碱酯酶; 活性

中图分类号: Q494 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2008)04-01-06

## Toxicological Effects of Endosulfan on *Danio rerio*

HU Guo-Cheng<sup>①②</sup> GAN Lian<sup>③</sup> WU Tian-Song<sup>③</sup> QIU Jian-Long<sup>③</sup>  
DAI Jia-Yin<sup>①</sup> CAO Hong<sup>①</sup> XU Mu-Qi<sup>①\*</sup>

(① Key Laboratory of Animal Ecology and Conservation Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101;

② The Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049;

③ Animal Science College of South China Agriculture University, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Endosulfan is a kind of manufactured organochlorine pesticide. It is widely used to control insects in agriculture, including food crops such as grains, vegetables, fruits, and tea. Although endosulfan plays an important role in controlling insects and increasing crop production, it affects aquatic organism survival. The primary objective of the research provided information of aquatic toxicology and evaluated the survival risks of aquatic organism during acute and sub-chronic endosulfan exposure. The paper summarized the toxicological effects of endosulfan on Zebrafish (*Danio rerio*) in glass aquaria under static conditions. The results showed that the concentrations of endosulfan that killed 50% of the Zebrafish within 24 h, 48 h, 72 h, 96 h LC<sub>50</sub> were 4.24 μg/L, 2.49 μg/L, 1.77 μg/L, 1.62 μg/L respectively. After being exposed to sub-lethal concentrations of endosulfan for 30 d, significant effects of endosulfan on superoxide dismutase (SOD) and acetylcholinesterases (AChE) activity of Zebrafish had been found. The activity of SOD in livers and brains for experimental groups was significantly increased comparing with control groups. The activity of AChE in livers and brains was decreased in dose of endosulfan 0.17 μg/L and 0.74 μg/L.

**Key words:** Endosulfan; Zebrafish; Superoxide dismutase; Acetylcholinesterases; Activity

基金项目 国家重点基础研究发展计划项目(No. 2006CB403306), 中国科学院研究生科学与社会实践项目资助;

\* 通讯作者, E-mail: xumq@ioz.ac.cn

第一作者介绍 胡国成, 男, 博士研究生; 主要从事水生生态毒理学研究; E-mail: hugc@ioz.ac.cn

收稿日期: 2008-01-21; 修回日期: 2008-04-22

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

一些有机氯农药(organochlorine pesticides, OCPs)对人类及动物的健康构成严重威胁, 近年来受到广泛关注并成为人们研究的热点<sup>[1, 2]</sup>。硫丹为高毒有机氯杀虫剂, 主要损害中枢神经系统的运动中枢、小脑、脑干以及肝、肾、生殖系统等, 可引起惊厥, 对人有致突变和致癌作用。近年的研究表明, 硫丹具有雌激素作用, 是一种环境内分泌干扰物(endocrine disrupter chemicals, EDCs)<sup>[3, 4]</sup>, 因此被美国环保局(U. S. Environmental Protection Agency, U. S. EPA)列入环境中129种优先控制的污染物。在我国农业生产中, 硫丹被广泛用于谷物、蔬菜、水果、茶叶、棉花、烟草、林木等害虫防治。目前, 国内生产硫丹的企业至少有几十家, 年产量超过万吨。农业生产中不合理使用, 雨水冲刷、淋溶及农药厂污水的任意排放等, 使硫丹进入河流、湖泊、海洋等水生生态系统, 对水生生物的生存及人类健康构成潜在威胁。

目前, 关于硫丹在农产品和人体中分布及检测方法的研究较多<sup>[5~8]</sup>, 而硫丹对水生生物的急性毒性<sup>[9]</sup>、生理生化<sup>[10]</sup>、生殖毒性<sup>[11, 12]</sup>及代谢机制方面的研究比较少。OCPs在生物体内代谢的过程中产生大量中间产物, 参与机体的氧化还原循环, 从而对DNA、蛋白质等大分子造成损伤, 进而引发生物体的毒性效应。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是生物体内重要的抗氧化酶, 以O<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基为底物, 发生歧化反应生成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterases, AChE)在神经系统的信息传导中起重要的作用。AChE抑制水生动物呼吸作用、游泳能力、摄食能力和社会关系。AChE作为经典的毒理学指标可以表明水生生物受到农药暴露的危害程度。本文以斑马鱼(*Danio rerio*)为研究对象, 从硫丹对斑马鱼的急性毒性实验着手, 研究在不同浓度、不同时间条件下, 硫丹对斑马鱼肝和脑组织中SOD及AChE活性的影响, 为水生生物毒理学研究积累科学资料, 同时为毒理学生化指标的研究提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与试剂** 实验用斑马鱼购自广州市观赏鱼市场, 平均体长(2.84±0.10)cm, 平均体重(0.22±0.10)g。实验前经筛选并在水族箱中驯养10d以上, 正式实验开始前一天禁食。急性毒性实验的圆形水族缸直径为20cm, 高10cm, 亚慢性实验的水族缸尺寸为120cm×60cm×80cm。实验用水为充分曝气7d后除氯的自来水, 溶解氧大于5mg/L, pH=6, 温度用加热棒控制在28℃左右。

硫丹购自山东省淄博新农基农药化工有限公司, 有效浓度为35%。用蒸馏水配制1mg/L的母液, 然后再稀释成实验所需要的浓度梯度。SOD测定试剂盒、AChE测定试剂盒、考马斯亮蓝总蛋白试剂盒及标准蛋白均由南京建成生物工程研究所提供。

所用仪器为721型分光光度计、冷冻离心机、组织匀浆机、小型充氧机等。

### 1.2 实验设计

**1.2.1 急性毒性实验** 先按照急性毒性实验的方法进行预备实验, 确定斑马鱼全部死亡和全部不死亡的浓度分别为10μg/L和0.8μg/L。根据预实验的结果, 确定6个浓度梯度, 分别是1.0、1.5、2.0、4.0、5.0、6.0μg/L, 每个浓度梯度设置2个重复, 每个重复梯度组中放养10尾斑马鱼, 同时设置1个对照组。实验期间每隔24h更换药液。在24h、48h、72h、96h观察斑马鱼的反应情况并计数死亡个体数, 计算半数致死浓度(lethal concentration, LC<sub>50</sub>)、安全浓度及95%置信区间<sup>[13]</sup>。

**1.2.2 亚慢性实验** 根据急性毒性实验结果, 在0.2倍96h LC<sub>50</sub>浓度附近设置3个浓度梯度组, 分别为低(0.185μg/L)、中(0.370μg/L)、高(0.740μg/L), 并设置对照组。对照组及处理组均设置2个重复, 每个重复放养斑马鱼100尾, 实验周期为30d。实验开始后, 每隔10d、20d、30d取样, 各个重复均取鱼8尾, 分别放在冰盘中取肝和脑组织, 纸巾擦干后称重, -80℃保存。实验期间, 24h连续充氧, 保证溶氧在5

mg/L, 实验组每天更换 1/3 药液。

**1.2.3 样品前处理** 称取一定量的肝和脑组织置于 1.5 ml 离心管中, 加入 9 倍预冷的生理盐水在冰浴中匀浆, 充分转动研磨 8 min。将制备好的匀浆放入冷冻离心机, 以 3 000 r/min 离心 15 min 后, 取上清液, 进行 SOD、AChE 活性测定。

### 1.3 测定方法

**1.3.1 组织蛋白含量测定** 组织蛋白含量的测定采用考马斯亮兰法<sup>[14]</sup>, 测定时, 空白管、标准管、测定管分别加入蒸馏水、标准液、1% 组织匀浆各 0.05 ml, 然后各管加入显色剂(购自南京建成生物工程研究所) 3.0 ml, 混匀, 静置 10 min, 于 595 nm 处, 1 cm 光径, 空白管调零, 测定各管吸光度, 按下式计算组织蛋白含量:

$$\text{蛋白含量} (\text{mg/ml}) = \frac{\text{标准管浓度} \times (\text{测定管 OD 值} - \text{空白管 OD 值})}{(\text{标准管 OD 值} - \text{空白管 OD 值})}$$

**1.3.2 超氧化物歧化酶(SOD)活力测定** 各取斑马鱼肝、脑组织匀浆液 20 μl, 按照超氧化物歧化酶测定试剂盒的方法测定。

**1.3.3 乙酰胆碱酯酶(AChE)活力测定** 各取斑马鱼肝、脑组织匀浆液 20 μl, 按照乙酰胆碱酯酶测定试剂盒的说明测定。

**1.4 数据处理** 用 SPSS 11.0 统计软件处理。利用单因素方差(One-Way ANOVA)比较各组 SOD 及 AChE 活力差异, 用最小级差法(LSD)进行多重比较,  $P < 0.05$  为差异显著<sup>[15]</sup>。

## 2 结果

**2.1 硫丹对斑马鱼的急性毒性实验** 斑马鱼的急性中毒症状主要表现为: 焦躁不安, 鱼体失去平衡, 并且沿着水族缸壁来回游动; 有些鱼斜卧在水族缸底部, 鳃盖停止活动, 然后突然向上窜动; 急速游动撞击水族缸内壁, 并不时向上跃起; 当斑马鱼死亡时, 鱼的嘴和鳃盖张开, 腹部膨大, 尾部弯曲。用浓度为 1.0 μg/L 的硫丹暴露 24 h 后, 开始出现死鱼现象。实验数据统计分析显示(表 1), 硫丹对斑马鱼 24 h、48 h、72 h、96 h  $\text{LC}_{50}$  分别为 4.24 μg/L、2.49 μg/L、1.77 μg/L,

1.62 μg/L, 其 95% 的置信区间分别为 3.02~7.85 μg/L、1.84~3.27 μg/L、1.34~2.24 μg/L、1.20~2.06 μg/L(表 2)。安全浓度为 0.162 μg/L (96 h  $\text{LC}_{50} \times 0.1$ )。

表 1 不同浓度的硫丹和暴露时间下斑马鱼的死亡数量

Table 1 The number of death for Zebrafish at different exposed doses and durations to endosulfan

暴露剂量 (μg/L)	总样本量	死亡数量 The number of death					
		Exposure dose	Total number	24 h	48 h	72 h	96 h
1.0	10			1	1	2	2
1.5	10			1	2	3	4
2.0	10			2	4	6	7
4.0	10			5	8	9	9
5.0	10			5	8	10	10
6.0	10			7	9	10	10

表 2 硫丹对斑马鱼急性毒性实验结果

Table 2 The results of acute toxicity of endosulfan-exposed Zebrafish

暴露时间 Exposure time (h)	概率单位- 浓度对数方程 Regression equation	半数致死 浓度 (μg/L)	相关 系数 Correlations	$\text{LC}_{50}$ 95% 置信区间 95% Confidence limits (μg/L)
24	$y = -1.51 + 2.41x$	4.24	0.951	3.02~7.85
48	$y = -1.31 + 3.31x$	2.49	0.987	1.84~3.27
72	$y = -1.06 + 4.31x$	1.77	0.888	1.34~2.24
96	$y = -0.89 + 4.21x$	1.62	0.906	1.20~2.06

**2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性** 用单因素方差(ANOVA)分析各组数据, 结果显示硫丹对斑马鱼肝和脑组织中 SOD 活力都有显著影响( $P < 0.05$ , 表 3、4)。经过 30 d 不同浓度硫丹暴露实验, 斑马鱼肝和脑组织中 SOD 活力与对照组相比明显升高。斑马鱼在高浓度组暴露 30 d 后, 肝和脑组织中 SOD 活力分别是对照组的酶活性的 18 倍和 14 倍。对肝而言, 当暴露 20 d 和 30 d 时, 低浓度组 SOD 活力变化幅度较小, 而中、高浓度组 SOD 活力变化幅度比较大, 中、高浓度组暴露 30 d 后 SOD 活力分别是 20 d 后 SOD 活力的 2 倍和 4 倍。对于脑组织而言, 实验前期, 低浓度组和中浓度组 SOD 活力变化幅度较小; 高浓度组暴露 30 d SOD 活力是暴露

20 d SOD 活性的 2 倍。从整个实验周期来看, 硫丹对斑马鱼 SOD 活性具有明显的促进效应。

**2.3 乙酰胆碱酯酶(AChE)活性** 不同浓度处理组之间, 硫丹对斑马鱼脑组织中的 AChE 具有明显的抑制作用, 但是对肝中 AChE 的抑制作用并不明显。斑马鱼在高浓度组暴露 30 d 后, 肝和脑组织中的 AChE 活性分别是低浓度组的 66%、21%。硫丹对斑马鱼脑组织中 AChE 活性的抑制程度要强于肝。实验前期(前 20 d), 实验组斑马鱼肝和脑组织中 AChE 活性的变化幅度都比较小; 而实验后期(30 d)这种变化幅度却比较大, 尤其是低浓度组暴露的斑马

鱼脑组织中, 30 d 时 AChE 的活性比 10 d 时高了 39 倍。表 3 和表 4 的实验结果显示, 低、中、高三个处理组与对照组相比, 随暴露时间的延长, 肝和脑组织中的 SOD 和 AChE 的活性都有升高的趋势。

硫丹暴露 30 d 后, 对照组与处理组实验鱼肝重和肝体比(肝重/体重 × 100)没有显著性差异( $P > 0.05$ ), 但是处理组的肝重和肝体比低于对照组, 其中高浓度组(0.740 μg/L)最低, 这说明硫丹对斑马鱼肝具有一定程度的损害作用。

表 3 硫丹对斑马鱼肝中 SOD 和 AChE 活性的影响 (Mean±SD, n= 8)

Table 3 The effects of exposure to endosulfan on SOD and AChE activity in livers of Zebrafish

指标 Index	时间 (d) Time	对照组 Control group	硫丹浓度 Endosulfan concentration (μg/L)		
			0.185	0.370	0.740
SOD (U/mg Pr)	10	9.80±0.010	31.0±0.70*	26.7±0.30*	22.4±0.30*
	20	9.80±0.010	56.8±0.30*	53.6±0.40*	40.5±1.60*
	30	9.80±0.010	59.0±0.40*	106.7±0.30*	178.3±0.40*
AChE (U/ml)	10	0.41±0.003	0.16±0.07	0.51±0.07	0.87±1.01
	20	0.41±0.003	0.99±0.18	0.22±0.28	0.56±0.47
	30	0.41±0.003	13.5±17.70*	11.6±6.50*	8.92±0.34*

\* 表示与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )。

\* Indicating significant difference compared with control group ( $P < 0.05$ ).

表 4 硫丹对斑马鱼脑组织中 SOD 和 AChE 活性的影响 (Mean±SD, n= 8)

Table 4 The effects of exposure to endosulfan on SOD and AChE activity in brains of Zebrafish

指标 Index	时间 (d) Time	对照组 Control group	硫丹浓度 Endosulfan concentration (μg/L)		
			0.185	0.370	0.740
SOD (U/mg Pr)	10	14.30±0.020	22.5±0.4*	26.5±0.4*	34.7±0.3*
	20	14.30±0.020	54.3±0.3*	77.5±0.6*	84.7±0.7*
	30	14.30±0.020	75.5±0.4*	94.5±0.4*	206.2±0.1*
AChE (U/ml)	10	0.17±0.002	2.3±1.9	1.8±0.1	1.6±0.0
	20	0.17±0.002	9.0±0.7*	4.6±0.4*	5.3±0.7*
	30	0.17±0.002	92.5±28.0*	37.8±7.0*	19.1±6.0*

\* 表示与对照组相比差异显著( $P < 0.05$ )。

\* Indicating significant difference compared with control group ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨 论

**3.1 急性毒性实验** 毒性实验是水体污染的生物检测类型之一, 由受试生物的中毒反应可确定或评价毒物的毒性。硫丹是有机氯农药中

的一种, 其对鱼类具有较强的急性毒性。已有研究资料显示, 硫丹对淡水鱼类和海水鱼类 96 h LC<sub>50</sub> 的范围分别为 0.17~4.40 μg/L 和 0.09~3.45 μg/L, 本实验中 96 h LC<sub>50</sub> 为 1.62 μg/L, 也在上述范围之内。另外, 暴露条件不同可能也

会导致  $LC_{50}$  有差异。有资料显示, 在玻璃水族箱静态环境条件下, 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 幼鱼 24 h  $LC_{50}$ 、48 h  $LC_{50}$ 、72 h  $LC_{50}$  和 96 h  $LC_{50}$  分别为 19.8  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、8.9  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、5.3  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1.8  $\mu\text{g}/\text{L}$ <sup>[16]</sup>; 在流水动态环境条件下, 翠鳢 (*Channa punctatus*) 幼鱼 24 h  $LC_{50}$ 、48 h  $LC_{50}$ 、72 h  $LC_{50}$  和 96 h  $LC_{50}$  分别为 19.7  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、13.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、10.2  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、7.8  $\mu\text{g}/\text{L}$ <sup>[17]</sup>。本实验中, 24 h  $LC_{50}$ 、48 h  $LC_{50}$ 、72 h  $LC_{50}$  和 96 h  $LC_{50}$  分别为 4.24  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、2.49  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1.77  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1.62  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 低于虹鳟和翠鳢, 这很可能说明硫丹对斑马鱼的毒性比对虹鳟和翠鳢幼鱼的毒性更强。

### 3.2 硫丹对 SOD 的影响

生物体内一定的自由基水平是维持正常生命活动所必需的。自由基与细胞的增殖、分化、凋亡和坏死等多种生理及病理现象密切相关。正常情况下, 机体内自由基的产生与清除保持着动态平衡, 但由于各种原因如某些外源性化合物, 可使机体的自由基水平明显增高, 机体的氧化与抗氧化失衡, 导致机体的氧化应激。SOD 是生物体内一种以自由基为底物的酶, 是动物体内重要的抗氧化酶。SOD 作为动物体内抗氧化防御系统中一种重要的物质, 在不同组织中, 其活性或含量的不同及受应激后变化程度的不同反映了不同组织在机体水平解毒功能的强弱。在特定组织中, 其活性或含量的变化则反映了该组织是否受胁迫以及受胁迫的程度。SOD 作为清除自由基的重要抗氧化物质, 其受应激后的变化则可以间接反映这种危害的强弱。

在正常的养殖条件下, 斑马鱼体内 SOD 和  $O_2^-$  的含量达到动态平衡。当受到硫丹环境胁迫时, 鱼体内产生过量的  $O_2^-$ , 诱导 SOD 活性提高, 从而达到新的动态平衡, 主要表现为 SOD 活性升高, 这与报道的其他有机氯农药(OCPs) 诱导 SOD 活性的结果一致<sup>[18]</sup>。

### 3.3 硫丹对 AChE 的影响

AChE 是生物神经传导中的一种关键酶, 主要位于突触后膜, 邻近胆碱受体, 能降解乙酰胆碱, 终止神经递质对后膜的刺激作用, 保证神经冲动在突触间正常传

导。AChE 活性受到抑制, 导致乙酰胆碱(ACh) 在突触内迅速积累, 兴奋毒蕈碱受体(M 受体) 和烟碱能受体(N 受体), 产生毒蕈碱样和烟碱样作用及中枢神经系统症状, 甚至可引起机体死亡。目前, 关于农药对 AChE 活性的抑制效应及其机制研究得比较深入<sup>[19, 20]</sup>。Dutta 的研究结果显示: 蓝鳃太阳鱼 (*Lepomis macrochirus*) 暴露在硫丹浓度为 1.0  $\mu\text{g}/\text{L}$  的条件下, 脑组织中 AChE 活性被抑制 3.6% ~ 23.0%<sup>[10]</sup>。本实验的研究结果显示, 在不同处理组之间, 高浓度组与低浓度组相比, AChE 活性被抑制了 34% ~ 79%, 高于已经报道的结果, 导致这种差异的原因可能是水族缸中实验鱼品系、放养密度及管理条件不同而致。

## 4 结 论

本文通过急慢性毒性实验, 分析硫丹对斑马鱼的毒性, 结果显示硫丹对斑马鱼 24 h、48 h、72 h 和 96 h  $LC_{50}$  分别为 4.24  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、2.49  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1.77  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、1.62  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 安全浓度为 0.162  $\mu\text{g}/\text{L}$ 。硫丹对斑马鱼肝和脑组织中 SOD 具有明显的诱导作用; 在 0.185 ~ 0.740  $\mu\text{g}/\text{L}$  范围内, 对 AChE 具有抑制作用。

## 参 考 文 献

- [1] Nakata H, Nasu T, Abe S I, et al. Organochlorine contaminants in human adipose tissues from China: mass balance approach for estimating historical Chinese exposure to DDTs. *Environmental Science and Technology*, 2005, **39**: 4 714 ~ 4 720.
- [2] Zala S, Penn D. Abnormal behaviors induced by chemical pollution: a review of the evidence and new challenges. *Animal Behaviour*, 2004, **68**: 649 ~ 664.
- [3] Bisson M, Hontela A. Cytotoxic and endocrine disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed *in vitro*. *Toxicol Appl Pharmacology*, 2002, **180**: 110 ~ 117.
- [4] Sinha N, Adhikari N, Saxena D K. Effect of endosulfan during fetal gonadal differentiation spermatogenesis in rats. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 2002, **10**: 29 ~ 32.
- [5] Alberio B, Sanchez-brunete C, Tadeo J L. Determination of endosulfan isomers and endosulfan sulfate in tomato juice by matrix solid phase dispersion and gas chromatography. *J*

- Chromatography A, 2003, **1007**: 137~ 143.
- [ 6 ] Arebolaf J, Martinez vidal J L, Fernandez-gutierrez A. Analysis of Endosulfan and its metabolites in human serum using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatography Science*, 2001, **39**( 5 ): 177~ 182.
- [ 7 ] 明九雪, 钱传范, 申继忠. 硫丹在苹果和土壤中的残留动态研究. 中国农业大学学报, 1998, **3**(3) : 95~ 100.
- [ 8 ] 张林田, 罗惠明. 气相色谱法检测茶叶中硫丹、多种拟除虫菊酯类农药残留. 中国卫生检验杂志, 2003, **13** (2) : 190~ 192.
- [ 9 ] Bhavan P S, Zayaprakash Z, Geraldine P. Acute toxicity tests of endosulfan and carbaryl for the freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii* ( H. Milne Edwards ). *Pollutant Research*, 1997, **16**(5) : 5~ 7.
- [ 10 ] Dutta H M, Arends D A. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. *Environmental Research*, 2003, **91**: 157~ 162.
- [ 11 ] 朱心强, 郑一凡, 张群卫等. 硫丹对成年大鼠生精功能的影响和氧化损伤. 中国药理学与毒理学杂志, 2002, **16** (5) : 391~ 395.
- [ 12 ] 张晓丹, 周广红, 陈少军. 硫丹对小鼠睾丸生精细胞毒作用及其机制研究. 环境与职业医学, 2006, **23**(1) : 34~ 37.
- [ 13 ] 刘毓谷. 卫生毒理学基础( 第 2 版). 北京: 人民卫生出版社, 1999, 66~ 76.
- [ 14 ] 宋晓伟, 康健. 改良的考马斯亮兰 G-250 染色法简便快速测定微量蛋白浓度. 洛阳医专学报, 1997, **16**( 3 ): 150~ 152.
- [ 15 ] 明道绪. 生物统计附试验设计. 北京: 中国农业出版社, 2001, 94~ 95.
- [ 16 ] Capkin E, Altinok I, Karahan S. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, 2006, **64**: 1 793~ 1 800.
- [ 17 ] Pandey S, Nagpure N S, Kumar R, et al. Genotoxicity evaluation of acute doses of endosulfan to freshwater teleost *Channa punctatus* ( Bloch ) by alkaline single-cell gel electrophoresis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, **65**: 56~ 61.
- [ 18 ] 谢文平, 马广智. 氯氰菊酯对草鱼鳃和肝组织超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响. 水产科学, 2003, **22**( 6 ): 5~ 7.
- [ 19 ] Guilhermino L, Celeste M, Carvalho A P, et al. Inhibition of acetylcholinesterase activity as effect criterion in acute tests with juvenile *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 1996, **32**: 727~ 738.
- [ 20 ] McHeney J G, Saward D, Seaton D D. Lethal and sub-lethal effects of the salmon dehooking agent dichlorvos on the larvae of the lobster (*Homarus gammarus*) and herring (*Clupea harengus*). *Aquaculture*, 1991, **98**: 331~ 347.