

几种化学物质对蟾蜍蝌蚪生存及生长发育的影响

何米雪, 陈沃洪, 刘木养, 江彬强, 李东风

(华南师范大学 生命科学学院, 中国广东 广州 510631)

摘要: 在室内条件下, 采用单因子急性和慢性毒性实验法, 分别研究了水环境中的 pH、洗涤剂、除草剂、重金属离子(Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+})对黑眶蟾蜍蝌蚪的毒性效应。结果表明, 这些水体污染物不但对蝌蚪的生存造成危害, 还对蝌蚪的红细胞有致畸作用; 而其慢性毒害表现为蝌蚪身体畸形, 肤色变浅, 生长发育迟缓等。据此, 可以利用黑眶蟾蜍蝌蚪对水体污染进行监测。

关键词: 化学物质; 生长发育; 蝌蚪; 黑眶蟾蜍

中图分类号: Q959.7

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)02-0156-06

Effect of Several Chemicals on Survival and Growth of Tadpole of Toad (*Bufo melanostictus* Schneider)

HE Mi-xue, CHEN Wo-hong, LIU Mu-yang, JIANG Bin-qiang, LI Dong-feng

(College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong, China)

Abstract: Under indoor condition, single-factor acute and chronic toxicity test was carried to study the toxicity effect of water pH, detergent, herbicide and heavy metal ions(Pb^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{+}) on tadpole of toad (*Bufo melanostictus* Schneider). The results showed that water pollution factors can affect survival of tadpole, induce the red blood cell abnormal. The chronic poison to tadpole can be concluded as malformation of the body, making the complexion shallow and delaying the growth. The tadpole can be used for direction species to analyze the change of the water pollution.

Key words: chemicals; growth; tadpole; *Bufo melanostictus* Schneider

(Life Science Research, 2006, 10(2): 156 ~ 161)

水体污染对水生生物造成极大的危害。消除或减轻污染, 关键问题在于对环境进行有效的监测。两栖动物具有水陆两栖独特的生活周期, 依赖水环境而生存, 所以水体的质量将会对蝌蚪的生长发育产生巨大的影响, 通过观察蝌蚪的形态行为特征, 可以对水体进行质量评价。蝌蚪是两栖动物变态前的幼体阶段, 因其细胞分裂旺盛, 对

环境的变化极为敏感^[1,2], 因此是监测环境的适宜指示物种。

国外学者较早利用蛙类及蝌蚪对农药污染进行监测。美国在 1989 年就明确提出将两栖动物作为环境质量监测的指示生物^[3]。国内此类研究起步较晚, 直到 20 世纪 90 年代初才见报道, 并且已有的研究主要是对水体中的某一重金属^[4]及除

收稿日期: 2005-11-22; 修回日期: 2006-01-05

基金项目: 广东省科技计划项目(粤科计字 2003.174); 华南师范大学学生课外科研活动资金资助(04A002)

作者简介: 何米雪(1983-), 女, 广东清远市人, 华南师范大学学生; 李东风(1958-), 男, 吉林长春市人, 华南师范大学教授, 通讯作者, 从事动物生理学研究, Tel: 020-85215208, E-mail: dfliswx@126.com.

草剂^[5]等有害物质的监测,贺维顺^[6]等用国产洗衣粉进行了对蝌蚪红细胞微核率影响的致突变研究,发现其有一定的剂量效应关系,且能诱发染色体损伤,而对水体的酸碱度的监测报道则很少。

本文报道了不同 pH 的水体、不同浓度的除草剂、洗涤剂以及重金属溶液对黑眶蟾蜍蝌蚪的存活与生长发育的情况以及对红细胞微核产生的影响,从宏观和微观不同层次上综合分析污染危害程度,为环境评价,污染预报和污染物危险性提供依据,也为保护两栖类和其它水生动物以及探寻更为有效的环境生物学监测方法提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

春季在华南师范大学生物试验场捕捉成熟的雌雄黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus* Schneider), 将其放于孵化池中产卵, 以蝌蚪作为实验材料。蝌蚪喂以混合性饲料(含面粉, 鱼粉, 大豆粉, 维生素等), 每日早晚各一次。

1.2 试剂仪器

0.1 mol/L H₂SO₄, 0.1 mol/L NaOH, 市售高效无磷洗衣粉(汰渍, 广州宝洁公司; 立白, 广州立白公司), 洗洁精(立白, 广州立白公司), 稻草隆(18% 乙·苄·甲可湿性粉剂, 有效成分: bensulfuron methyl, acetochlor, metsulfuron methyl, 浙江天丰化学有限公司), 乙酸铅, 硫酸铜, 硝酸汞, 甲醇, Alsver 液, Giemsa 染液, 磷酸缓冲液 (pH = 6.8), 50 μmol/L MgSO₄ 和 Ca(NO₃)₂ 溶液。

常规实验器皿, pH 计, 解剖镜, 显微镜, 数码相机等。

1.3 方 法

1.3.1 蝌蚪急性染毒实验

观察各水体化学物质对蝌蚪的作用, 记录各实验组中蝌蚪开始死亡和全部死亡的时间, 得出蝌蚪可存活的水体的 pH 值及洗衣粉、洗洁精、稻草隆、乙酸铅、硫酸铜、硝酸汞的浓度范围。每组放入出膜 7 d、大小相当的蝌蚪 30~50 尾, 每 24 h 换液 1 次, 各组设对照 1 个。为统计准确, 每实验组和对照组平行设置 3 个重复实验系列。所有实验组浓度梯度的设置原则依据前人实验和预实验得到的致死浓度而定。

1.3.1.1 pH 染毒实验

用 0.1 mol/L H₂SO₄ 和 0.1 mol/L NaOH 来

调节含有 50 μmol/L MgSO₄ 和 Ca(NO₃)₂ 母液水体(自来水作为溶剂)的酸碱度, 设置各组 pH 值分别为 3.0、3.5、3.8、4.0、5.0、10.0、10.5、11.0。

1.3.1.2 洗涤剂染毒实验

把洗衣粉, 洗洁精的母液(1 g/L)用自来水来进行稀释, 得到洗衣粉浓度分别为 55、50、45、40 mg/L; 洗洁精浓度分别为 70、65、55、50 mg/L。

1.3.1.3 除草剂染毒实验

设置浓度为 10、14、18、20 mg/L 的稻草隆溶液。

1.3.1.4 重金属离子染毒实验

将乙酸铅、硫酸铜、硝酸汞溶解配成 1 000 mg/L 的母液, 取母液稀释成不同的浓度组(乙酸铅 4、8、12、20、32 mg/L; 硫酸铜 0.005、0.01、0.02、0.04、0.08 mg/L; 硝酸汞 0.01、0.02、0.04、0.08、0.12 mg/L)。

1.3.2 蝌蚪慢性染毒实验

根据急性染毒实验得出蝌蚪可存活的水体 pH 值、洗涤剂、除草剂以及重金属离子浓度范围, 按浓度梯度设置不同 pH 值、不同洗涤剂、除草剂以及重金属离子浓度组别的水体, 同时各设对照组 1 个, 每实验组放入出膜 15 d、大小相当的正常蝌蚪 30~50 尾进行为期 2 个月的慢性染毒实验。观察记录各样本中蝌蚪的存活及生长情况, 并进行数码摄像, 每 7 d 测量蝌蚪的体长、体重。

1.3.3 蝌蚪红细胞检测

将待测的蝌蚪从各实验组中捞出(每实验组中取 3 尾), 转入自来水中修复 6 h 后剪断蝌蚪尾巴, 将尾部血直接均匀地涂在滴有 Alsver 液洁净的载玻片上, 自然晾干后用甲醇固定 15 min, 干燥后用 10% 的 Giem 染色 12~15 min, 后用自来水冲洗, 干燥后镜检。观察红细胞的形态与细胞核的异常, 并用数码相机进行拍照, 记录细胞异常的类型及数目。

2 结果与分析

2.1 各环境污染因子对蝌蚪存活的影响

2.1.1 极端 pH 值的毒害作用

在急性实验中, 蝌蚪在不同 pH 实验组的存活情况表现为双向剂量反应。在实验中可观察到, 蝌蚪的死亡先随 pH 升高而下降, 而后又随着 pH 的升高而增加。当 pH 值为 3.8~10.5 时, 各组蝌蚪 96 h 存活率均为 100%, 说明在此范围内, pH 对蝌蚪 96 h 存活率没有明显的影响。而 pH

低于3.8和高于10.5的各组蝌蚪至96 h时仅少量存活(<5%), pH 3.0实验组中的蝌蚪至24 h均全部死亡. 根据酸性和碱性范围96 h的零致死浓度可知, 蝌蚪生存的适应范围是 pH 值为3.8~10.5, 而蝌蚪对于 pH 的最低耐受限是 pH 3.0.

2.1.2 洗涤剂的毒害作用

随着洗衣粉、洗洁精溶液浓度的增加, 蝌蚪的死亡率亦随之增加. 在洗衣粉溶液中蝌蚪的死亡率增加得较平缓, 55 mg/L 组 72 h 死亡率可达70%. 而在洗洁精溶液中蝌蚪的死亡率在浓度超过50 mg/L时急速上升, 55 mg/L 组 16 h 死亡率达80%, 32 h即达100%.

2.1.3 除草剂的毒害作用

24 h后, 除了稻草隆溶液浓度为20 mg/L的实验组以外, 其余各实验组的蝌蚪均没有死亡; 48 h后高浓度的实验组中蝌蚪的死亡率开始增加, 随着时间的推移, 各组的死亡率逐渐上升. 168 h后蝌蚪死亡率从小到大的顺序为: 13.3% >

23.3% > 46.7% > 66.7%, 其相对应的稻草隆溶液浓度分别为: 10、14、18、20 mg/L.

2.1.4 重金属离子的毒害作用

Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+} 3种重金属离子对黑眶蟾蜍蝌蚪的毒害作用明显. 实验结果表明随着 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+} 3种重金属离子浓度的增加, 黑眶蟾蜍蝌蚪的存活率也随之下降. 存活下来的蝌蚪的体长、尾长和体重并没有明显规律性变化, 在同组蝌蚪个体则出现较大的分化. 与对照组相比, 3种重金属离子各个浓度中的蝌蚪的体长、尾长和体重都要略小一点.

2.2 各环境污染因子对蝌蚪形态的影响

据观察, 慢性染毒实验组中有形态畸变的蝌蚪, 例如脊柱弯曲, 身体萎缩变形, 鼻孔大张, 腹部膨大(图1), 这些蝌蚪游泳时身体失衡, 不能游直线, 并且很快死亡. 还发现蝌蚪的皮肤色素减少, 致使皮肤透明, 其内脏器官清晰可见, 这种情况在 pH 值实验组中最为严重(图2).

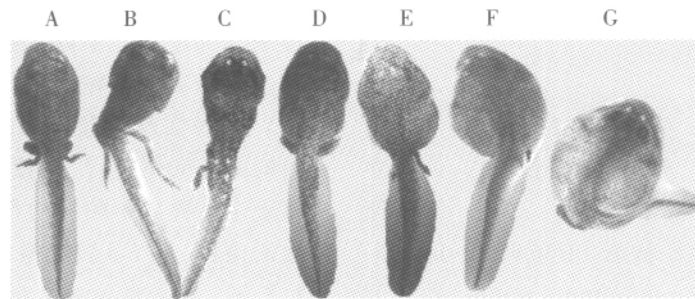


图1 pH组形态畸变的黑眶蟾蜍蝌蚪

A: 正常蝌蚪; B: 脊柱弯曲的蝌蚪; C: 鼻孔大张, 腹部萎缩的蝌蚪; D: 腹部微微膨大的蝌蚪; E: 右腹膨大的蝌蚪; F: 头部和腹部膨大的蝌蚪; G: 头部和腹部膨大呈球形的蝌蚪. (说明: 图中的标尺为2.5 mm).

Fig. 1 Morphological aberration of Tadpole of Toad (*Bufo melanostictus* Schneider) in pH group

A: Normal; B: Cyrtosis; C: Nares open and abdomen atrophy; D: Abdomen swell; E: Right abdomen swell; F: Head and abdomen swell; G: Head and abdomen swell. (Note: bar = 2.5 mm).

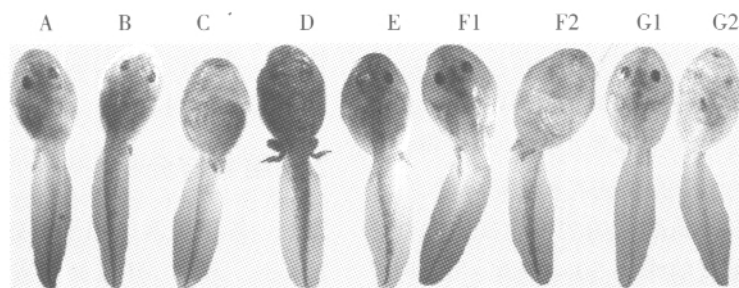


图2 不同 pH 对黑眶蟾蜍蝌蚪皮肤的影响

A: pH 3.8 皮肤透明的蝌蚪; B: pH 4.0 皮肤透明的蝌蚪; C: pH 5.0 皮肤透明的蝌蚪; D: 对照组的体色正常的蝌蚪; E: pH 10.0 皮肤透明的蝌蚪; F1: pH 10.5 皮肤透明的蝌蚪背面观; F2: pH 10.5 皮肤透明的蝌蚪腹面观; G1: pH 11.0 皮肤极度透明的蝌蚪背面观; G2: pH 11.0 皮肤极度透明的蝌蚪腹面观(说明: 图中的标尺为2.5 mm).

Fig. 2 Effect of different pH on skin of Tadpole of Toad (*Bufo melanostictus* Schneider)

A: pH 3.8 skin clarity; B: pH 4.0 skin clarity; C: pH 5.0 skin clarity; D: Normal skin; E: pH 10.0 skin clarity; F1: pH10.5 back skin clarity; F2: pH 10.5 venter skin clarity; G1: pH 11.0 back skin clarity; G2: pH 11.0 venter skin clarity (Note: bar = 2.5 mm).

2.3 各环境污染因子对蝌蚪生长发育的影响

经过慢性的染毒, 蝌蚪的生长发育出现了滞后的现象, 特别是其变态的周期相对于对照组明显延长. 而在个体的生长方面, 不同的染毒实验组的蝌蚪体型都较对照组的蝌蚪存在不同程度的变化, 主要表现在体长和体重方面.

pH 实验组结果表明, 水体的 pH 值(3.8 ~ 10.5 范围内)与蝌蚪的体重与体长存在正相关. 对照组中的水体的 pH 为 7.8, 而当水体的 pH 值低于或高于 7.8 时, 蝌蚪的体型就会相应的减小或增加.

在洗涤剂实验组中, 不同浓度溶液对于蝌蚪的体型影响不是很明显, 而且随着溶液浓度的增加, 蝌蚪的体型变化没有明显的规律性.

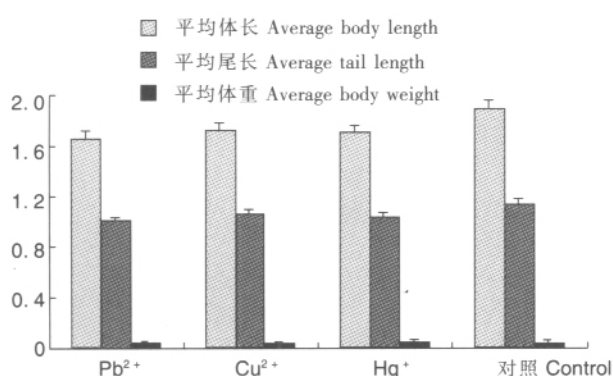


图 3 重金属离子对黑眶蟾蜍蝌蚪体长、尾长和体重的影响

各实验组的蝌蚪平均体长从左到右依次是 1.66、1.73、1.70、1.89 cm, 平均尾长是 1.01、1.06、1.04、1.15 cm, 平均体重是 0.039、0.038、0.041、0.047 g.

Fig. 3 Effect of heavy metal ions on body and tail length and body weight of tadpole of toad (*Bufo melanostictus* Schneider)

The average body length of tadpoles from left to right are 1.66, 1.73, 1.70, 1.89 cm, and the average tail length are 1.01, 1.06, 1.04, 1.15 cm, the average body weight are 0.039, 0.038, 0.041, 0.047 g.

需要指出的是, 不同 pH 对蝌蚪红细胞变异率不存在明显的规律变化. 洗涤剂和除草剂对蝌蚪红细胞异常率的影响表现为随浓度的线性关系. 重金属离子对蝌蚪红细胞核异常的影响以微核和双核为主, 其中微核所占核异常细胞比例达到 54.6%, 双核的比例是 30.6%.

3 讨论

3.1 蝌蚪的存活

pH 对蝌蚪的存活呈双向剂量反应. 随着 pH 的升高, 蝌蚪的死亡率先降后升, 与中国林蛙急性

在除草剂稻草隆染毒实验组中, 各浓度组中的蝌蚪的平均体长和体重随着稻草隆的浓度的上升而逐渐增大.

重金属离子实验组中随着 Pb²⁺、Cu²⁺、Hg⁺ 3 种重金属离子浓度的增加, 蝌蚪的体长、尾长和体重都要略小一点.

2.4 各环境污染因子对蝌蚪红细胞形态的影响

pH、洗涤剂、除草剂和重金属离子均可使细胞产生畸变. 由于蝌蚪处于幼体阶段, 生长旺盛, 细胞分裂快, 而致畸因子通过皮肤进入蝌蚪体内, 并通过内循环系统产生毒害作用. 常见的细胞变形有长条形, 细胞膜外凸和内陷. 常见的核异常有微核, 双核, 8 字形核, 核内凹, 核碎裂, 无丝分裂时核分裂不均等(图 4).

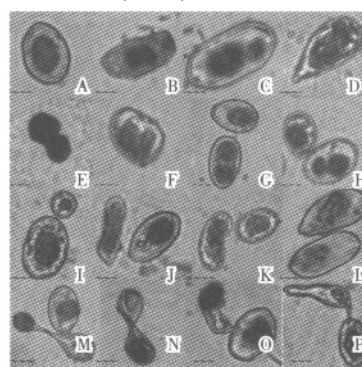


图 4 pH 组黑眶蟾蜍蝌蚪异常红细胞

A: 正常红细胞; B-C: 胞内微核; D: 细胞膜外凸; E: 8 字形核; F: 核内凹; G-H: 双核细胞; I: 胞外微核; J: 长条形细胞; K: 细胞膜内陷; L: 核碎裂; M-P: 不均等分裂(说明: A-F 的标尺为 4.5 μm; G-P 的标尺为 7.5 μm).

Fig. 4 Abnormal erythrocyte of Tadpole of Toad (*Bufo melanostictus* Schneider) in pH group

A: Normal erythrocyte; B-C: Micronucleus in cell; D: Membrane convex; E: "8" nucleus; F: Nucleus inner concave; G-H: Double micronucleus; I: Micronucleus out of cell; J: Long cell; K: Membrane trap; L: Karyorrhexis; M-P: Divide imbalance (Note: bar = 4.5 μm for A-F; G-P: bar = 7.5 μm for G-P).

中毒实验结果一致^[7]. 但黑眶蟾蜍蝌蚪对酸的耐受能力比中国林蛙强, 其对 pH 最低的耐受值是 3.0, 比中国林蛙蝌蚪低 0.6. pH 对蝌蚪造成的毒害作用主要是水体的腐蚀性. 酸性溶液不仅对蝌蚪的皮肤具有腐蚀作用, 而且能进一步腐蚀蝌蚪的内脏器官和骨骼, 使蝌蚪急性中毒死亡.

当各种化学物质浓度达到一定值时死亡率有突然升高的趋势, 可见其有一个最高耐受浓度范围, 超过此浓度后, 蝌蚪开始大量死亡. 在同一浓度下, 随着实验时间的推移, 蝌蚪的存活率下降, 这可能与蝌蚪生长发育有关. 个体越大, 新陈代

谢活动就越强, 体内积累化学物质的量亦大大增加, 从而引起死亡率增加. 在相同时间和相同浓度条件下, 日龄越大, 则死亡率越高.

3.2 蝌蚪的形态变化

在不同的 pH 值、不同浓度的洗涤剂、除草剂和重金属离子的慢性毒害作用下, 蝌蚪的形态发生了一些明显的变化, 表现为尾部弯曲, 鼻孔大张, 头部和腹部膨大, 皮肤透明等. 这与分析研究得出的水体污染对两栖动物形态的危害的主要特征相似^[8,9].

在 Pb^{2+} 处理组中蝌蚪畸形现象严重, 其症状大多为尾部弯折. 这一实验现象与尤静等人研究相似^[10]. 畸形现象可能是由于蝌蚪尾部神经最早发育, 而铅对神经系统有很大毒害作用有关. 此外, 重金属离子主要通过呼吸道、消化道和皮肤三种途径进入动物的体内, 对各种组织产生毒性. 其中对神经系统和造血系统的毒害作用比较显著, 并且会影响生殖和发育.

由此提示, 不同的 pH 值、不同浓度洗涤剂、除草剂以及重金属离子不仅对蝌蚪, 还可能对其它水生动物造成一定的危害.

3.3 蝌蚪生长发育的变化

由蝌蚪的体长与体重变化可知, 随着 pH 的升高, 小型个体的比例逐渐减小, 中型和大型个体的比例则不断增加. 造成这种现象的原因可能与蝌蚪的分泌排泄物呈酸性的性质有关. 经测定, 碱性水体经过 1 d 后, pH 下降的幅度较大, 而酸性水体的 pH 则变化不大. 激素作用的强弱, 会影响到蝌蚪变态发育所需的时间. 水体 pH 的变化对激素的作用存在一定减弱效应, 使得蝌蚪变态发育的时间延长, 而酸性溶液对激素的减弱作用则较为明显.

关于除草剂对蝌蚪形态发育影响的研究报道较少. 本实验结果表明, 经除草剂处理后, 各组体长差异不大, 但体重增加. 在除草剂浓度较高时, 蝌蚪反应敏感, 活动相对频繁, 有可能增强摄食活动, 蝌蚪进食多, 发育就较快. 因此认为除草剂可能通过进食活动间接影响生长发育.

实验显示, 随着 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+} 3 种重金属离子浓度的增加, 重金属离子对蝌蚪生长的抑制作用差异性不显著. 有报道镉对花背蟾蜍蝌蚪生长发育时提出蟾蜍蝌蚪体内可能存在镉-镉拮抗作用, 使镉的毒性作用减弱^[11]. Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+} 在黑眶蟾蜍蝌蚪体内亦可能存在类似的拮抗作用, 故随染毒时间不断延长, 重金属离子在蝌蚪体内

的累积量不断增加至出现拮抗作用, 从而影响各种离子的毒性.

3.4 蝌蚪红细胞异常

3.4.1 致畸因素

不同的水体污染因子对蝌蚪红细胞的致畸机理不尽相同. 引起蝌蚪红细胞产生微核的物质主要是一些能抑制纺锤体活性的物质, 例如游离原子团, 过氧化物, 氢氧化物, $=S$, $-SH$, $-SCN$ 等^[12].

高 pH 的水体中, 含有较多的 OH^{-} 离子, 再加上自来水中的过氧化物, 细胞分裂旺盛的蝌蚪红细胞的遗传物质容易引起变异.

洗涤剂的主要成分都是一些表面活性剂, 如烷基苯磺酸钠、碱性蛋白质、荧光增白剂等. 蝌蚪通过皮肤、鳃和消化器官吸收后就会大量积累. 而表面活性剂可结合在细胞膜上, 促使其它有毒有害化合物进入细胞, 抑制纺锤体活性, 导致细胞核异常, 产生微核. 对大鼠多次口服洗涤剂的研究发现, 洗涤剂可使红细胞微核率显著上升^[13]. 但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, 还取决于细胞分裂的速度. 蝌蚪的微核率比鱼类高, 是与其红细胞的高速分裂有关. 除草剂对红细胞致畸作用机理与洗涤剂的作用机理相似.

Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{+} 3 种重金属离子随着浓度增加, 蝌蚪红细胞的核异常率也有一定程度的上升, 说明其毒性也有所增加. 这与人研究报道结果一致^[14,15]. 但这其中也存在离子间的拮抗作用, 而拮抗作用与红细胞微核的关系则有待进一步研究.

3.4.2 检测时间

利用蝌蚪检测水体污染实验, 一般是将蝌蚪染毒 6 至 7 d 后, 进行 6 h 的清水修复, 再检测其红细胞微核. 而陈建军等提出蝌蚪的红细胞微核产生数量随着染毒时间的延伸而增加, 在染毒的第 8 d, 红细胞微核数最多, 所以其认为利用蝌蚪作染毒急性实验时, 将蝌蚪处理 8~12 d 比较合适^[16]. 也有人认为不同除草剂诱发红细胞微核分别在一定浓度时有一个峰值, 在高峰前后均处于低水平, 而浓度与微核率之间无显著相关, 并认为这可能是剂量过高会抑制或终止细胞分裂, 从而导致微核率下降^[5]. 本实验在各种污染因子的染毒中也观察到同样的现象, 红细胞产生异常的几率随着染毒因子浓度的增加而先升后降.

3.5 生物监测

目前环境监测主要以理化监测为主, 而生物

监测具有理化监测无可比拟的综合性、真实性和灵敏性。通过生物对环境因子所做出的反应,显示出环境污染对生物的影响,特别是对于低浓度的甚至痕量的污染物,指示生物亦可迅速做出反应,显示其症状,从而使人们能掌握环境污染物是否有害及危害程度,为环境管理和保持物种的多样性提供有效的信息。

两栖动物蝌蚪的皮肤具有高渗透性,所以对水体污染特别敏感,即使在极低的浓度下,也能很快表现出受害症状。根据蝌蚪表现出来的受害症状,可以对污染进行定性和初步定量的分析。本实验不仅对黑眶蟾蜍蝌蚪进行了急性染毒实验,观察其存活情况,还对其进行了为期2个月的慢性染毒观察。从结果来看,酸或硷、洗涤剂、除草剂、重金属离子对蝌蚪的毒害作用,除了致死和使红细胞产生微核外,还可以使其形态、体色发生改变,扰乱其生长发育。由此可见,黑眶蟾蜍蝌蚪对于水体污染因子具有高度敏感性。

蟾蜍在中国分布很广,利用蟾蜍蝌蚪作为指示动物监测水环境有广阔的实用前景。通过微核试验,应用蟾蜍蝌蚪可快速检测出环境的变化,对建立环境标准的生物监测指标,实现环境的生物监测有重要意义,并为环境水体污染的防治提供正确的指导。

参考文献(References)

- [1] 王蕊芳,贺维顺,吴世芳,等.昆明水源水和自来水水质致突变性及化学背景值II.蝌蚪红细胞微核和CHO细胞染色体畸变及SCE试验[J].动物学研究(WANG Rui-fang, HE Wei-shun, WU Shi-fang, et al. Mutagenicity and background content chemicals of water quality of source water and tap water in Kunming[J]. Zoological Research), 1996, 17(4): 469-475.
- [2] 刘清华,袁志刚,胡文庆.南宁朝阳溪、邕江和南湖水对沼蛙蝌蚪红细胞微核率影响的研究[J].广西预防医学(LIU Qing-hua, YUAN Zhi-gang, HU Wen-qing. Study on the effect of the water from the Chao Yang Brook, the Yong Jiang River and the Nan Hu Lake in Nanning on frequency of micronuclei of tadpole erythrocytes of *Rana Guentheri*[J]. Guangxi Preventive Medicine), 1995, 1(6): 340-341.
- [3] 徐士霞,李旭东,王跃招.两栖动物在水体污染生物监测中作为指示生物的研究概况[J].动物学杂志(XU Shi-xia, LI Xu-dong, WANG Yue-zhao. Study on amphibian as bioindicator on biomonitoring water pollution[J]. Chinese Journal of Zoology), 2003, 38(6): 110-114.
- [4] 汪学英,卢祥云,李春梅,等.重金属离子对黑斑蛙胚胎及蝌蚪的毒性影响[J].四川动物(WANG Xue-ying, LU Xi-ang-yun, LI Chun-mei, et al. Toxicity of heavy metal ions to embryos and larvae of *Rana Nigromaculata*[J]. Sichuan Journal of Zoology), 2001, 20(2): 59-61.
- [5] 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[J].动物学杂志(GENG De-gui, ZHANG Da-sheng, CHENG Wei, et al. Effects of four herbicides on micronuclei and nuclear anomalies in tadpole erythrocytes of *Bufo bufo gargarizans*[J]. Chinese Journal of Zoology), 2000, 35(1): 12-16.
- [6] 贺维顺,王蕊芳,张春芳,等.国产十种合成洗衣粉诱发华西大蟾蜍(*Bufo bufo andrewsi*)蝌蚪红细胞微核的研究[J].环境科学学报(HE Wei-shun, WANG Rui-fang, ZHANG Chun-fang, et al. Erythrocyte micronucleus of tadpole by synthetic detergent powder[J]. Acta Scientiae Circumstantiae), 1991, 11(3): 351-357.
- [7] 杨富亿,邵庆春,李景林,等.中国林蛙蝌蚪对盐度的适应性[J].水利渔业(YANG Fu-yi, SHAO Qing-chun, LI Jing-lin, et al. Adaptability of abnormal tadpole (*Rana chensinensis*) to salinity[J]. Water Conservancy and Fishery), 2004, 24(2): 36-38.
- [8] van BUSKIEK J, MCCOLLUM S A. Influence of tail shape on tadpole swimming performance[J]. The Journal of Experimental Biology, 2000, 203: 2149-2158.
- [9] OSANO O, OLADIMEJI A A, KRAAK M H S, et al. Teratogenic effect of amitraz, 2, 4-Dimethylaniline, and paraquat on developing frog(*Xenopus*) embryos[J]. Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 43: 42-49.
- [10] 尤静,张迎梅,赵东芹,等.铅对花背蟾蜍受精卵出膜及蝌蚪生长的影响[J].甘肃科学学报(YOU Jing, ZHANG Ying-mei, ZHAO Dong-qin, et al. Effect of lead on the hatching of spawns and Growth of tadpoles of *Bufo Raddei* Strauch[J]. Journal of Gansu Sciences), 2004, 16(2): 47-49.
- [11] 黄德军,张迎梅,赵东芹,等.重金属镉对花背蟾蜍蝌蚪生长发育的影响[J].兰州大学学报(自然科学版)(HUANG De-jun, ZHANG Ying-mei, ZHAO Dong-qin, et al. Effect of cadmium on the development of tadpole of the *Bufo raddei*[J]. Journal of Lanzhou University(Natural Sciences)), 2004, 40(2): 81-83.
- [12] 苏济芬.合成洗涤剂潜在危害的研究II[J].山东医学院学报(SU Ji-fen. Latency harm of synthetic detergent powder II[J]. Journal of Shandong Medical College), 1982, (2): 13-15.
- [13] 叶亚新,胡建秋,刘作绍,等.利用蝌蚪红细胞微核和核异常法监测苏州城区生活污水[J].铁道师院学报(自然科学版)(YE Ya-xin, HU Jian-qiu, LIU Zuoshao, et al. Detection of urban domestic wastewater Pollution of Suzhou by micronuclei and other nuclear anomalies of erythrocytes of tadpoles[J]. Journal of Railway Normal College, 1995, 12(4): 25-29.
- [14] 王爱民.四种重金属对绿蟾蜍蝌蚪的急性毒性研究[J].新疆大学学报(WANG Ai-min. Acute toxicity of 4 heavy metals on the tadpoles of *Bufo viridis Laurenti*[J]. Journal of Xinjiang University), 1990, 7(1): 60-64.
- [15] 杨再福.铜(Cu²⁺)对中华大蟾蜍蝌蚪的毒性试验[J].环境保护科学(YANG Zai-fu. Study on toxicity of copper to tadpoles of toad[J]. Environmental Conservation Sciences), 2000, 26: 37-38.
- [16] 陈建军,夏宜琤.城镇污水诱发青蛙蝌蚪红细胞微核及其在环境监测中的应用[J].水生生物学报(CHEN Jian-jun, XIA Yi-jing. Induction of micronuclei in erythrocytes of frog tadpoles by city sewage, with reference to environmental monitoring[J]. Acta Hydrobiologica Sinica), 1992, 16(4): 305-313.