

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20180513001

汪皓琦, 董玉瑛, 汪灵伟. 3 种新型污染物对发光菌的毒性作用研究 [J]. 生态毒理学报, 2018, 13(4): 179-184

Wang H Q, Dong Y Y, Wang L W. Study on the toxicity of three emerging pollutants to *Photobacterium phosphoreum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(4): 179-184 (in Chinese)

3 种新型污染物对发光菌的毒性作用研究

汪皓琦, 董玉瑛*, 汪灵伟

大连民族大学环境与资源学院, 大连 116605

收稿日期: 2018-05-13 录用日期: 2018-05-29

摘要: 分析了 3 种常见的代表性新型污染物对发光菌的单一毒性和等毒性比例下的联合毒性, 基于毒性单位法(TU)、相加指数法(AI)和混合毒性指数法(MTI)评价混合体系联合毒性作用类型。三氯生、五氯酚、双酚 A 对发光菌的半数效应浓度(EC_{50})分别为: 0.045、0.035、0.74 $mg \cdot L^{-1}$ 。不同的评价方法对 3 种新型污染物的联合效应评价结果具有较好的一致性, 多元混合体系呈现为不同程度的拮抗作用, 结合分子结构特征和不同取代基的相互作用, 初步分析了联合毒性机理, 进一步毒性作用机制还需要通过对生物生理生化响应等进行深入研究。新型污染物混合体系对发光菌的联合作用呈现以拮抗作用为主, 表明此类污染物环境残留可导致相关化学品功效降低, 引发微生物耐药性的产生和传播的风险。

关键词: 新型污染物; 发光菌; 毒性分析; 风险评价

文章编号: 1673-5897(2018)4-179-06 中图分类号: X503.2 文献标识码: A

Study on the Toxicity of Three Emerging Pollutants to *Photobacterium phosphoreum*

Wang Haoqi, Dong Yuying*, Wang Lingwei

College of Environment & Resources, Dalian Minzu University, Dalian 116605, China

Received 13 May 2018 accepted 29 May 2018

Abstract: The single toxicity and joint toxicity to *Photobacterium phosphoreum* under the same toxicity ratio of three emerging pollutants were studied. The action types of joint toxicity were evaluated by toxicity unit (TU), additive index (AI) and mixtures toxicity index (MTI). The acute toxicity EC_{50} of triclosan, pentachlorophenol and bisphenol A to *Photobacterium phosphoreum* were 0.045, 0.035 and 0.74 $mg \cdot L^{-1}$ respectively. A consistent action mode was obtained by different evaluating methods. Antagonism action of various extents existed among the multiple composite systems. Mechanisms of joint toxicity were preliminarily analyzed combining with characteristics of emerging pollutants molecular structure and interaction of different substituents. The further mechanisms of toxicity action need further understanding on physiological and biochemical responses of organisms. The facts that emerging pollutants mixture systems showed almost antagonism could indicate that environmental residue may reduce the efficiency of related chemicals and evolve the risk of microbe resistance and its spread.

Keywords: emerging pollutants; *Photobacterium phosphoreum*; toxicity analysis; risk assessment

基金项目: 国家自然科学基金项目(21477001); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(DCPY2018067)

作者简介: 汪皓琦(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境化学, E-mail: 787802120@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: dong_yuying@163.com

新型污染物是一种以低微浓度就能影响生物生存或抑制生物机能的化学物质,这类污染物来源广、排放量大,造成其在环境中长期存在。随着新型污染物的大量使用,收纳水体已检出它们的活性成分,且检出浓度有逐年增大的趋势。其环境残留可对土壤微生物、水生生物、植物生长发育等方面产生明显的危害或潜在的负面影响^[1-3]。环境中典型的新型污染物包括药品及个人护理品、内分泌干扰物、有机氯农药等,选取其代表作为研究对象(三氯生、五氯酚、双酚 A)探究其对发光菌的毒性作用。三氯生是一种广泛使用的抗菌剂和杀菌剂,主要添加于各种护理品等各类消费产品中。在各种环境介质和生物体内都检测到其存在,因其具有亲脂性、持久性、生物累积性和毒性,故对生态环境和人类健康造成了潜在危害^[4]。五氯酚是一种常见的易电离、难溶于水的氯代芳香族有机污染物。自 20 世纪 30 年代以来,五氯酚及其钠盐在全球范围内被广泛用作杀菌剂、除草剂、杀虫剂和木材防腐剂^[5]。双酚 A 会扰乱人体内的代谢过程,被认定具有雌激素活性的化学品。工业上常被用来合成聚碳酸酯、环氧树脂等材料。随着塑料制品行业的迅猛发展以及塑料制品的广泛使用,大量消耗的双酚 A 进入环境可造成严重的环境污染^[6]。

新型有机污染物在环境中存在低剂量混合以及持久性存在的特点,其产生的联合毒性对生物产生了潜在的风险。单一污染物的生物学效应显然不能满足现实中水体的特点,进行联合毒性的研究迫在眉睫。国际上关于新型污染物的研究主要集中于其在环境中的迁移转化,对其毒性作用的研究文献较少,国内的研究尚属刚刚起步。因此研究新型污染物的生态毒性机理以及其他环境污染物的联合毒性效应值得重视^[7-9]。

结合生物发光细菌应用范围广、使用简便、灵敏度高、相关性好、反应速度快等优点,本实验将发光菌(*Photobacterium phosphoreum*)作为指示物,通过测定发光菌的发光强度,计算发光抑制率,并对浓度和发光抑制率作图,确定 3 种新型污染物单独作用时的半数效应浓度(EC_{50})和混合体系中混合物的 EC_{50} 。进一步采用毒性单位法(TU)、相加指数法(AI)、混合毒性指数法(MTI)等联合毒性评价方法对联合毒性作用类型进行评价,判断其联合作用机制,并结合发光菌的发光原理,对联合毒性作用机理进行初步讨论。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与材料

DXY22 型生物毒性测试仪(中国科学院南京土壤研究所制造);8522 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂);THZ282 型气浴恒温振荡器(江苏金坛仪器厂);DHP29082 型电热恒温培养箱(上海一恒科技有限公司);LDZX240CI 型立式自动电热压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂);不同量程的精密移液器(Thermo 公司);SJH 型洁净工作台(沈阳市净化仪器厂二分厂)。

1.2 试剂材料

1.2.1 主要试剂

双酚 A、三氯生、五氯酚皆为国药集体化学有限公司提供,纯度>99%,其他实验试剂皆为国产分析纯。

1.2.2 菌种的培养

工作菌液的制备:吸取一定量培养好的摇瓶菌液于 3% NaCl 溶液中,充分搅拌,稀释程度以控制空白(由 2 mL 的 3% NaCl 溶液和 0.1 mL 的工作菌液组成)发光强度在 300~800 为宜。明亮发光杆菌(*Photobacterium phosphoreum*)冻干粉购自中国科学院南京土壤研究所微生物室。有关发光菌冻干粉的复苏、斜面菌种的培养、摇瓶菌液的培养、工作菌液的制备等操作方法见文献[10]。

1.3 急性毒性 EC_{50} 的测定

发光细菌毒性测试经毒性预试验、单一和联合毒性分析等步骤实施实验设计^[10]。

1.3.1 预实验

选定浓度梯度进行试验,观察 15 min 发光菌的发光抑制率,找出试验的正确浓度范围。

1.3.2 单一毒性 EC_{50} 的测定

在预实验的基础上,将待测化合物配成适当的 6 个浓度梯度,各取不同梯度的溶液 2 mL 加入具塞磨口比色管($\Phi 15$ cm,高 6 cm)中,以 2 mL 3% NaCl 溶液作空白对照,取 0.2 mL 工作菌液于各比色管中,加塞上下振荡均匀,去塞,暴露 15 min,测定发光强度。每个浓度梯度设 3 组平行,保证标准偏差低于 10%。

1.3.3 联合毒性 EC_{50} 的测定

根据单一毒性的测试结果,绘制每种医药品对发光菌作用的效应-剂量曲线,以获得单一毒性 EC_{50} ,并将待测物三氯生、双酚 A、五氯酚按等毒性比例配制二元及多元混合体系,每组浓度设置 3 个

平行,以 3% NaCl 为空白对照,根据预实验结果设 6 个浓度梯度(半数抑制率附近),测定混合体系对发光菌的联合毒性 EC_{50} 值。确保 3 组平行实验的标准偏差低于 10%。

1.4 数据处理

鉴于污染物浓度与其对应发光抑制率的关系在 EC_{50} 附近呈良好的线性分布,故本实验采用 Excel 绘图,将化合物浓度(x)和发光抑制率(y)进行回归分析,求得回归方程: $y(\text{发光抑制率})=ax(\text{化合物浓度})+b$ 。根据线性方程求出发光抑制率为 50% 时所对应的化合物浓度,即为化合物单独作用时 EC_{50} 。化合物浓度和死亡率之间的相关系数 r ,经显著水平检验,置信区间范围大于 95%。

发光抑制率=
$$\frac{\text{对照发光强度}-\text{样品发光强度}}{\text{对照发光强度}}\times 100\%$$

1.5 联合毒性评价方法

多种污染物与生物体的联合毒性作用,可以分为独立、相加、协同和拮抗 4 种作用类型,采用毒性单位法(TU)、相加指数法(AI)、混合毒性指数法(MTI)等方法可对这些类型进行定量判别和分析^[11-12]。表 1 为联合毒性作用类型量化评价依据。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 单一毒性作用测试分析

综合分析 3 种新型污染物(三氯生、双酚 A、五氯酚)对发光细菌的急性毒性测试结果可以看出(表

2),随着新型污染物浓度的升高,发光菌的发光强度呈下降趋势,且污染物浓度和死亡率之间的相关系数 r 均大于 0.95。相对发光强度与 3 种新型污染物在一定的浓度范围内具有良好的线性关系。

3 种新型污染物对发光菌有不同程度的抑制作用,对发光菌的半数效应浓度(EC_{50})值分别为:0.045、0.74、0.037 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其毒性作用强弱为:五氯酚>三氯生>双酚 A,即五氯酚的生物毒性最大,以下依次是三氯生、双酚 A。3 种新型污染物的分子结构如图 1,从结构上看,3 种污染物母环相同,各自的取代基的种类和数量皆不同,即母体相同的化合物,不同的取代官能团对其毒性效应影响较显著。翟丽华^[13]选取 17 个部分取代苯化合物对发光菌进行急性毒性研究,得到取代基对发光菌的毒性贡献大小顺序为: $-\text{NO}_2>-\text{Cl}>-\text{CH}_3>-\text{NH}_2>-\text{OH}$ 。这与本研究结果一致,可推断 3 种新型污染物抑制发光菌的差别,来源于不同取代基影响作用于微生物靶点的效应程度。若获得各取代基对发光菌的毒性贡献,则需要进一步分子相互作用机制的相关理论和研究支持。

2.2 二元及三元混合体系的联合毒性评价

二元及三元混合体系的 EC_{50} 值和联合毒性评价结果见表 2。混合体系中多个 EC_{50} 值,分别与表格左侧污染物顺序相对应。等毒性比例混合下,三氯生+双酚 A、三氯生+五氯酚、双酚 A+五氯酚 3 组

表 1 不同评价指数的联合作用类型判断标准

Table 1 The joint toxicity types and standards of different evaluating methods

	协同作用 Synergistic	简单相加作用 Simple additive	独立作用 Independent	拮抗作用 Antagonism	部分相加作用 Partial additive
TU	$M<1$	$M=1$	$M=M_0$	$M>M_0$	$M_0>M>1$
AI	$AI>1$	$AI=1$		$AI<0$	
MIT	$MIT>1$	$MIT=1$	$MIT=0$	$MIT<0$	$0<MIT<1$

表 2 3 种新型污染物单一毒性测试结果

Table 2 Single toxicity test results of three emerging pollutants

新型污染物 Emerging pollutant	回归方程 Regression formula	r	浓度范围/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$ Concentration range/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$EC_{50}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
三氯生 Triclosan	$y=293.07x+36.189$	0.9804	0.01~0.07	0.045
双酚 A Bisphenol A	$y=17.068x+37.375$	0.9566	0.1~19	0.74
五氯酚 Pentachlorophenol	$y=347.8x+37.114$	0.9838	0.01~0.3	0.037

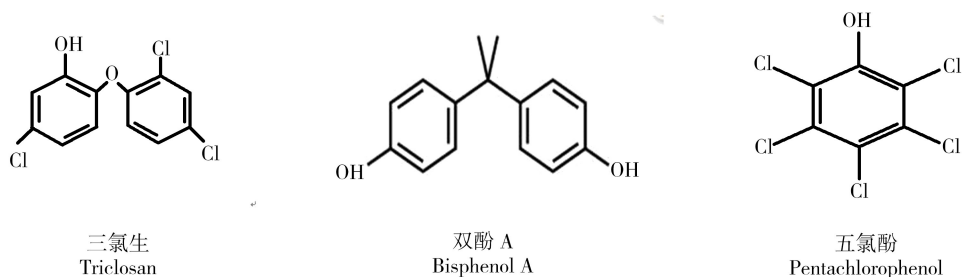


图 1 3 种新型污染物结构式

Fig. 1 Structural formula of three emerging pollutants

二元混合体系的 M 值均大于 M_0 值; AI 均小于 0; MTI 均小于 0。因此, 3 组二元混合体系均表现出拮抗作用。AI 值越接近于 0, 越靠近相加作用, 而 MTI 值越接近于 0, 越靠近独立作用, 根据 3 组二元混合体系的 MTI 和 AI 值大小的不同, 可判断其拮抗作用的强度有所不同, 由此获得不同体系拮抗作用的排序为: 双酚 A+五氯酚 > 三氯生+五氯酚 > 三氯生+双酚 A。

等毒性比例混合下, 三元混合体系的 M 值大于 M_0 值; AI 小于 0; MTI 小于 0。三元联合毒性作用表现为拮抗效应。由于二元混合体系联合毒性均表现为拮抗作用, 由此猜测 3 种新型污染物分子间的相互作用可导致体系联合毒性降低, 多个二元拮抗体系累加, 各分子间相互作用增强可导致多元混合体系呈现拮抗作用。因此, 多元混合体系联合作用类型在多数情况下呈现为拮抗作用。实验结果与假设相符, 证实猜测: 多元混合体系联合毒性表现为拮抗的原因是多种拮抗体系累加的结果。方章顺等^[14]

研究典型抗生素与群体感应抑制剂对费氏弧菌的三元慢性联合毒性, 证明了两元混合体系的拮抗作用是三元体系为拮抗作用的根本原因。任皓等^[15]在盐酸吉他霉素与金霉素、盐霉素、黄霉素对发光细菌联合毒性作用实验的研究结果中发现: 在多个混合体中, 拮抗作用表现较强的分子混合体系起主导作用。由此可见, 污染物在环境中经过各途径混合后, 其相互作用可能导致毒性减弱。

在现实环境的污染评价中, 不能将各污染物毒性通过简单叠加来判断其综合毒性^[16]。实验获得联合毒性类型为拮抗作用, 与前人研究结果相一致。丛永平等^[17]研究发现, 四环素类抗生素和氯霉素类抗生素对发光菌 (*Photobacterium phosphoreum*) 的联合急性毒性亦均表现出拮抗作用。翟丽华^[13]选取 5 种有机化合物苯、苯酚、苯胺、硝基苯、对氯酚采用等比毒性进行联合毒性研究, 其中联合作用类型以拮抗为主, 上述研究同时表明, 拮抗作用在同类化合物发生的概率较高。

表 3 二元和三元混合体系的 EC_{50} 值和联合毒性评价参数及作用类型

Table 3 Joint toxicity evaluating parameters and types for different binary and ternary systems

混合体系 Mixed system	$EC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	TU		AI	MIT	作用类型 Interaction type
		M	M_0			
三氯生+五氯酚 Triclosan+Pentachlorophenol	0.092 0.077	4.13	1.98	-3.13	-1.07	拮抗 Antagonism
三氯生+双酚 A Triclosan+Bisphenol A	0.076 1.29	3.43	1.97	-2.43	-0.85	拮抗 Antagonism
五氯酚+双酚 A Pentachlorophenol+Bisphenol A	0.19 1.66	7.38	1.44	-6.38	-4.53	拮抗 Antagonism
五氯酚+双酚 A +三氯生 Pentachlorophenol+Bisphenol A+Triclosan	0.089 1.81 0.11	7.30	3.00	-6.295	-0.83	拮抗 Antagonism

2.3 联合毒性机制初步讨论

综合分析二元、三元混合体系联合毒性,同为拮抗效应,对于呈现的联合作用效应,可从3种新型污染物不同取代基的特性及其相互作用、发光菌发光原理进行初步的联合毒性机理分析。大部分发光细菌发光机制是基本相同的,都必须有细菌荧光素酶(LE)、还原性的黄素单核苷酸(FMNH₂)、氧气(O₂)、长链脂肪醛(RCHO)的参与,大体发光反应过程如下^[17-19]:

$$\text{FMNH}_2 + \text{O}_2 + \text{RCHO} \rightarrow \text{FMN} + \text{PRCOOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{光 (light)}$$

此反应中,黄素单核苷酸是重要的辅酶,它的还原形式(FMNH₂)与氧化形式(FMN)之间的转化起到了传递氢的作用。研究的化合物可与FMNH₂分子以氢键结合,阻碍了FMNH₂对氢的传递作用,从而干扰了正常的发光反应,致使发光菌的发光受到抑制。

结合本实验3种新型污染物的联合毒性作用类型,拮抗作用可由竞争位点理论来解释^[20]。3种新型污染物均属于芳香族化合物,假设这类物质进入机体后首先形成离子活性形式,然后与生物大分子的电荷中心发生结合。以三元混合体系的联合作用为例,当五氯酚和三氯生与双酚A共同作用时,由于双酚A在等毒性溶液中的物质浓度较高,且分子量小,更容易进入细胞膜,大量双酚A活性离子占据有限结合位点,从而降低了五氯酚和三氯生活性离子的结合机会,而双酚A的毒性远小于五氯酚和三氯生,导致混合毒性降低,联合毒性作用表现为拮抗作用。

新型污染物混合体系对发光菌的联合作用呈现以拮抗作用为主,表明此类污染物环境残留可导致相关化学品功效降低,引发微生物耐药性的产生和传播的风险。若进一步分析引起拮抗作用的原因,还需要对毒物联合作用机制以及对发光菌生理生化反应等进行深入研究,实现对混合毒性和作用机制的定量预测,为该类污染物全生命周期影响评价奠定基础。

通讯作者简介:董玉瑛(1968—),女,环境科学博士,教授,主要研究方向为有机污染化学,发表学术论文100余篇。

参考文献(References):

[1] Pal A, Gin K Y, Lin A Y, et al. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of

recent occurrences, sources, fate and effects [J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(24): 6062-6069

[2] Sorensen J P R, Lapworth D J, Nkhuwa D C W, et al. Emerging contaminants in urban groundwater sources in Africa [J]. *Water Research*, 2015, 72: 51-63

[3] Arpin-Pont L, Bueno M J M, Gomez E, et al. Occurrence of PPCPs in the marine environment: A review [J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2016, 23 (6): 4978-4991

[4] 周世兵, 周雪飞, 张亚雷, 等. 三氯生在水环境中的存在行为及迁移转化规律研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2008, 30(10): 71-74

Zhou S B, Zhou X F, Zhang Y L, et al. The research for occurrence transport and transformation rules of triclosan in water environment [J]. *Environmental Pollution and Prevention and Control*, 2008, 30(10): 71-74 (in Chinese)

[5] Duan Z, Zhu L, Zhu L, et al. Individual and joint toxic effects of pentachlorophenol and bisphenol A on the development of zebrafish (*Danio rerio*) embryo [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2008, 71(3): 774-780

[6] Staples C A, Dome P B, Klecka G M, et al. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A [J]. *Chemosphere*, 1998, 36(10): 2149-2173

[7] Deng Z Q, Lin Z F, Zou X M, et al. Model of hormesis and its toxicity mechanism based on quorum sensing: A case study on the toxicity of sulfonamides to *Photobacterium phosphoreum* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(14): 7746

[8] Lyndall J, Fuchsman P, Bock M, et al. Probabilistic risk evaluation for triclosan in surface water, sediments, and aquatic biota tissues [J]. *Integrated Environmental Assessment & Management*, 2010, 6(3): 419-440

[9] Zhu M, Zhang L, Zheng L, et al. Typical soil redox processes in pentachlorophenol polluted soil following biochar addition [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 579-591

[10] 董玉瑛, 雷炳莉, 张春宝, 等. SDS与取代芳烃多元混合体系联合毒性作用研究[J]. *环境科学*, 2006, 27(8): 1643-1646

Dong Y Y, Lei B L, Zhang C B, et al. Joint toxicity on multi-component mixtures of SDS and substituted aromatic compounds [J]. *Environmental Science*, 2006, 27(8): 1643-1646 (in Chinese)

[11] 孟庆俊, 肖昕. 不同方法对联合毒性作用的评价[J]. *污染防治技术*, 2004, 1: 33-35

Meng Q J, Xiao X. Assessment of combined toxicity using different methods [J]. *Pollution Control Technology*, 2004, 1: 33-35 (in Chinese)

- [12] 董玉瑛, 雷炳莉, 马静, 等. 助溶剂对发光菌生物毒性测试的影响[J]. 化工学报, 2006, 57(3): 636-639
Dong Y Y, Lei B L, Ma J, et al. Influence of cosolvents on *Photobacterium phosphoreum* toxicity test [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2006, 57(3): 636-639 (in Chinese)
- [13] 翟丽华. 部分取代苯化合物对发光菌的急性毒性研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2003: 14-21
Zhai L H. A study on acute toxicity of some substituted benzenes to *Photobacterium phosphoreum* [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2003: 14-21 (in Chinese)
- [14] 方章顺, 姚志峰, 王婷, 等. 典型抗生素与群体感应抑制剂对费氏弧菌的三元慢性联合毒性[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(2): 369-373
Fang Z S, Yao Z F, Wang T, et al. Chronic joint toxicity of sulfa antibiotics and quorum sensing inhibitors to *Vibrio fischeri* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(2): 369-373 (in Chinese)
- [15] 任皓, 王金荣, 陈行杰, 等. 应用发光细菌法检测饲料中抗生素单一及联合毒性的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(21): 49-53
Ren H, Wang J R, Chen X J, et al. Primary research on single and combined toxicity of antibiotics in feeds by luminescent bacteria [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2011, 47(21): 49-53 (in Chinese)
- [16] 孟顺龙, 瞿建宏, 宋超, 等. 农药灭多威和辛硫磷对罗非鱼的联合毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(2): 257-263
Meng S L, Qu J H, Song C, et al. Joint toxicity of pesticides methomyl and phoxim to tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(2): 257-263 (in Chinese)
- [17] 丛永平, 姜蕾, 王婷, 等. 典型抗生素二元混合物对明亮发光杆菌的急性联合毒性[J]. 环境化学, 2013(7): 1348-1352
Cong Y P, Jiang L, Wang T, et al. Acute joint toxicity of binary antibiotic mixtures on *Photobacterium phosphoreum* [J]. Environmental Chemistry, 2013(7): 1348-1352 (in Chinese)
- [18] 杨颐康, 唐法尧, 吴自荣. 重金属离子对明亮发光杆菌 *Photobacterium phosphoreum* A₂ 发光影响的研究[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 1981(4): 103-108
Yang Y K, Tang F Y, Wu Z Z. Studies on the effects of cations of heavy metals on luminescence of *Photobacterium phosphoreum* A₂ [J]. Journal of East China Normal University: Natural Science Edition, 1981(4): 103-108 (in Chinese)
- [19] 童蕾, 姚林林, 刘慧, 等. 抗生素在地下水系统中的环境行为及生态效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(2): 27-36
Tong L, Yao L L, Liu H, et al. Review on the environmental behavior and ecological effect of antibiotics in groundwater system [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(2): 27-36 (in Chinese)
- [20] 端正花, 郑敏, 朱琳. 五氯酚和双酚 A 联合作用对斑马鱼胚胎发育的毒性[J]. 中国环境科学, 2006, 26(s1): 121-124
Duan Z H, Zheng M, Zhu L. Toxicity of joint action of pentachlorophenol and bisphenol A on the growth of zebrafish (*Brachydanio rerio*) embryo [J]. China Environmental Science, 2006, 26(S1): 121-124 (in Chinese) ◆