

研究简报

SO₂的衍生物对泥鳅的急性毒性和染色体损伤研究

吴若菁¹ 陈奋飞¹ 庄捷¹ 杜惠东² 吴惠平³

(1. 福建师范大学生命科学学院, 福州 350007; 2. 福建省晋江市养正中学, 晋江 362000;
3. 福建省漳州一中, 漳州 363000)

SO₂ DERIVATIVE TO *MISGURNUS ANGUILLICAUDATUS* OF ACUTE TOXICITY AND CHROMOSOME DAMAGE RESEARCH

WU Ruo-Jing¹, CHEN Fen-Fei¹, ZHUANG Jie¹, DU Hui-Dong² and WU Hui-Ping³

(1. College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007; 2. Yangzheng Middle School, Jinjiang 362000; 3. First Middle School, Zhangzhou 363000)

关键词: 亚硫酸氢钠; 泥鳅; 急性毒性; 染色体损伤; 回归分析

Key words: Sodium bisulfite; *Misgurnus anguillicaudatus*; Acute toxicity; Chromosome damage; Regression analysis

中图分类号: X835; Q953 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2007)04-0585-05

SO₂是形成酸雨的主要成分之一, SO₂对生物的危害主要是通过其进入生物体内产生的代谢产物——亚硫酸钠与亚硫酸氢钠对组织、细胞和生物大分子的作用而实现的^[1]。前人的研究结果发现: 亚硫酸氢钠能够诱发人外周血淋巴细胞和小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的产生^[2-3]。鱼类对化学物质的反应与哺乳动物有很多相似之处, 而鱼类中泥鳅具有较高敏感性, 它们较之蝌蚪及其他鱼类, 具有取材容易、涂片方便、室内饲养易成活等优点。因此, 近年来常被用来检测水体的污染情况以及评价污染物对水生生物的遗传损害及毒理效应^[4-9]。但是关于亚硫酸氢钠对泥鳅的急性毒性和染色体损伤的研究则未见报道。

因此, 本试验以泥鳅为对象, 研究亚硫酸氢钠对泥鳅的急性毒性和染色体损伤情况, 用不同的数学模式来研究不同浓度的亚硫酸氢钠对泥鳅红细胞微核形成和核变形的影响, 以及它们之间的回归关系, 以便建立最佳的评估泥鳅红细胞微核率和核变形率与亚硫酸氢钠污染之间的回归相关关系模式。

1 材料与方法

1.1 材料 实验鱼购于福州市程浦头市场, 经鉴定为鲤形目鳅科的泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)。实验时挑选健康

活泼和体表无损伤的体长 12±2cm, 体重 12±2g 的泥鳅作为实验鱼。化学诱变剂: 采用国产分析纯亚硫酸氢钠 (NaHSO₃)。用于饲养泥鳅和配制药品的水均采用曝气 3d, pH 6.8~7.0 的自来水。所有用于实验的泥鳅均置于充分曝气的自来水中驯养 2d 再进行急性中毒或染毒实验。

1.2 方法

1.2.1 亚硫酸氢钠对泥鳅急性毒性试验 将亚硫酸氢钠用曝气后的自来水分别配制成 250mg/L, 300mg/L, 400mg/L, 500mg/L 的浓度, 对照组采用曝气的自来水。对照组和实验组的水量均为 5L, 用统一规格的水桶盛放, 每个浓度设三个重复, 每一处理分别投放 8 尾泥鳅。水温为 26±2℃, 24h 换一次水。

根据泥鳅的死亡条数和死亡时间, 找出引起 0% 死亡率和 100% 死亡率剂量的所在范围。利用改良寇氏法 (Karber)^[10] 计算半致死浓度 (LC₅₀):

$$LC_{50} = \log^{-1} [X_m - i(\sum P - 0.5)]$$

其中: X_m: 最大剂量的对数值; i: 相邻两组剂量对数值之差; P: 各组动物死亡率, 用小数表示 (如死亡率为 80% 则写成 0.80); $\sum P$: 各组动物死亡率之总和

$$\text{安全浓度} = 96 LC_{50} \times 0.1$$

收稿日期: 2005-07-04 修订日期: 2006-09-23

基金项目: 福建省自然科学基金(B0310007)资助

作者简介: 吴若菁(1955—), 女, 福建古田县人, 副教授, 主要从事细胞遗传学及遗传毒理学研究

通讯作者: 吴若菁, E-mail: genetic@fjnu.edu.cn

1.2.2 亚硫酸氢钠对泥鳅的染色体损伤试验 用曝气3d的自来水配制亚硫酸氢钠溶液, 溶液浓度分别为: 4mg/L、10mg/L、20mg/L、30mg/L、40mg/L、50mg/L, 每隔48h更换一次处理液。进而按照不同处理时间, 断尾取血涂片, 每一处理组进行3次重复。对照组采用曝气3d的自来水。

1.2.3 血涂片的制备 各个处理组于染毒后6h、12h、24h、48h、72h、96h、120h、144h, 分别对泥鳅断尾取血, 制备血涂片。涂片晾干后, 用卡诺固定液固定15min, 再用Giemsa染液染色20min, 而后用水(或磷酸缓冲液)冲洗, 晾干, 观察。

1.2.4 显微观察与分析 每个处理随机观察2000个以上的细胞, 观察微核率和核变形率。

1.2.5 数据分析 对试验所得数据, 采用EXCELL和SPSS软件进行统计分析、T检验, 并进行浓度与微核率、核变形之间相互回归分析。最后根据实际观测值与不同模式回归的吻合结果, 找出最适宜的回归方程。

2 结果与讨论

2.1 亚硫酸氢钠对泥鳅的毒性实验

亚硫酸氢钠对泥鳅的毒性实验结果见表1。实验中刚投入水中的泥鳅烦躁不安, 翻动不止, 而后相对静止, 死亡时泥鳅身体僵直, 脊椎骨骼弯曲呈弓型, 腹部充血, 口开张有血, 肝门外突, 体表黏液凝固成一层黄色的膜状物。

表1 亚硫酸氢钠对泥鳅的急性毒性实验

Tab. 1 Acute toxicity of NaHSO₃ to *Misgumus anguillicaudatus*

处理浓度	不同处理时间的死亡率(%)			
	24h	48h	72h	96h
CK	0	0	0	0
250 mg/L	0	0	0	0
300 mg/L	0	0	0	12.5
350 mg/L	0	0	12.5	37.5
400 mg/L	37.5	50.0	62.5	75.0
500 mg/L	37.5	50.0	75.0	100.0

根据公式计算出泥鳅24h, LC₅₀=515 mg/L; 48h, LC₅₀=498 mg/L; 72h, LC₅₀=489 mg/L; 96h, LC₅₀=455 mg/L。安全浓度为45.5 mg/L。

2.2 微核的成因

对于微核的成因, 有的学者认为是由无着丝粒的染色体断片或落后染色体形成^[11, 12], 也有的认为可直接由间期核形

成^[13], 或是由细胞核向外突出并延伸而成^[9, 14]。本实验的观察结果表明: 泥鳅正常的红细胞分裂是核质均等的一分为二(图1), 而当用亚硫酸氢钠对泥鳅进行诱变时, 微核的形成途径有两条。一条是出现染色体断裂, 进而产生微核; 另一条是幼红细胞的正常分裂被扰乱, 细胞不均等缢缩分裂, 并表现出核质外凸、内凹和不均等缢缩等核畸形现象(图2—图4), 缢缩继续进行, 则出现主核与微核之间有丝状相连(图5), 进而出现游离的微核(图6)。而成熟的红细胞因其核处于异染色质状态, 不会继续复制和分裂。所以, 微核不是由成熟红细胞的核质外突延伸而成。

2.3 亚硫酸氢钠对泥鳅红细胞染色体的损伤

孟紫强等人曾对SO₂对细胞染色体损伤的机制提出一自由基损伤学说。认为SO₂进入体内后, 转变为亚硫酸盐和亚硫酸氢盐, 二者通过自氧化和酶促氧化过程产生自由基引起细胞内蛋白质和酶的结构与功能改变, 引起蛋白质、DNA损伤并影响其修复过程从而引起染色体改变^[1]; 所产生的自由基也可以直接攻击DNA链上嘌呤C₈、胞嘧啶的C₅和C₆之间的双烯键引起碱基损伤, 导致碱基置换、脱嘌呤、DNA链断裂等基因突变^[15]。本实验的结果表明: 亚硫酸氢钠对泥鳅红细胞染色体的损伤表现为细胞的微核率和核变形率增高, 细胞正常的分裂被干扰。在一定的浓度范围内, 随着亚硫酸氢钠浓度的逐渐增加, 核变形和微核率也逐渐上升。当处理浓度为40mg/L时, 微核率和核变形率达到最高, 分别为38%、36.9%(表2)。但是泥鳅红细胞微核率和核变形率达到最高峰值的处理时间不同。最高核变形率出现的处理时间是72h, 而最高微核率出现的处理时间是在96h。当处理浓度超过安全浓度后, 随着浓度的增加和处理时间的延长, 微核率和核变形率出现不升反降的趋势(图7—图8)。在50mg/L的处理中可观察到部分红细胞出现核裂解(图9), 进而产生无核细胞(图10), 最后细胞凋亡的现象(图11)。因此笔者认为在高浓度处理下, 出现微核率不升反降现象的可能原因有两种: 其一是由于高浓度的亚硫酸氢钠对细胞的染色体损伤较严重, 当细胞基因严重缺失或突变严重时, 会导致细胞启动特定的致死程序, 产生细胞凋亡。由于细胞凋亡的数量增加(而实验中未将细胞凋亡数统计到微核数中), 导致出现具微核的细胞数量相对减少。其二是基因缺失或突变改变了相邻基因的表达方式, 进而使细胞分裂指数降低, 细胞周期延滞, 结果出现核变形率和微核率不升反降的趋势。

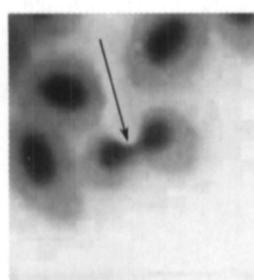


图1 红细胞的无丝分裂

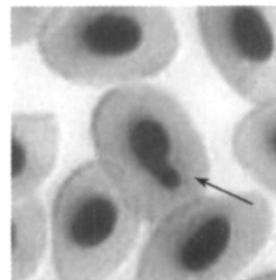


图2 核外突

Fig. 1 Amitosis of *Misgumus anguillicaudatus* erythrocytes

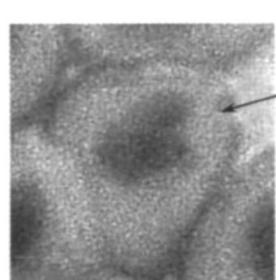


图3 核内凹

Fig. 3 Nucleus inward curving

form

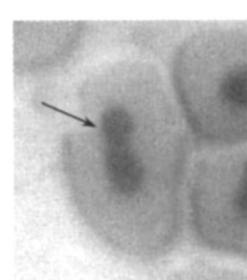


图4 不均等核缢缩

Fig. 4 Unequal nucleus

of cell division

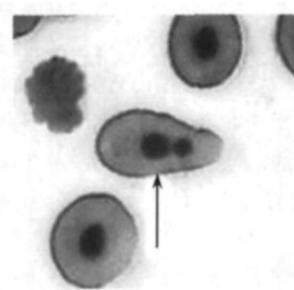


图 5 主核与微核相连

Fig. 5 Conjoint of nucleus and micronucleus

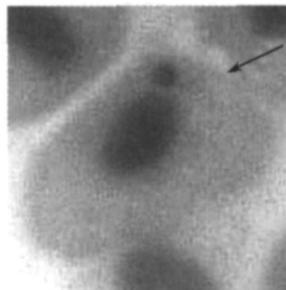


图 6 微核

Fig. 6 Micronucleus

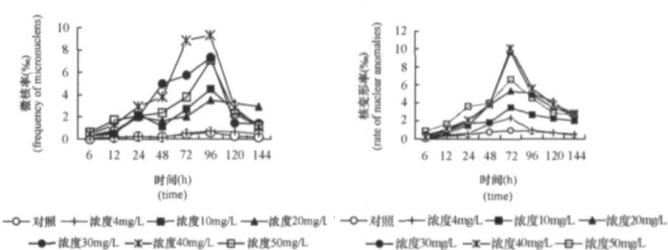


图 7 亚硫酸氢钠的不同处理对泥鳅红细胞微核的诱导

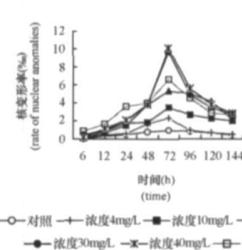
Fig. 7 Induction of micronucleus in *Misgurnus anguillicaudatus* erythrocytes by NaHSO₃ different disposal

图 8 亚硫酸氢钠的不同处理对泥鳅红细胞核变形率的诱导

Fig. 8 Induction of nuclear anomalies in *Misgurnus anguillicaudatus* erythrocytes by NaHSO₃ different disposal

表 2 不同浓度诱导下泥鳅红细胞总微核率和核变形率的 T 检验

Tab. 2 Different concentration induced the *Misgurnus anguillicaudatus* erythrocytes total micronucleus rate and nuclear anomalies rate of the T test

浓度	观察细胞数(个)	微核率(%) \pm SE	T 检验	观察细胞数(个)	核异常率(%) \pm SE	T 检验
对照组(CK)	46154	0.26 \pm 0.07	/	46296	0.54 \pm 0.11	/
4mg/L	78000	0.39 \pm 0.09	—	52508	0.91 \pm 0.26	—
10mg/L	48864	1.90 \pm 0.49	* *	48947	1.90 \pm 0.35	**
20mg/L	48700	2.05 \pm 0.40	* *	49123	2.85 \pm 0.71	**
30mg/L	53691	2.98 \pm 0.93	*	53582	3.49 \pm 1.03	*
40mg/L	51052	3.82 \pm 1.21	*	50949	3.69 \pm 1.10	*
50ng/L	49242	2.64 \pm 0.71	* *	49254	3.35 \pm 0.63	**

注: * “SE”为标准误; “*”表示差异显著; “**”表示差异极显著; “—”表示差异不显著

Note: * “SE” was standard error; “*” difference was remarkable; “**” difference was extremely remarkable; “—” difference was not remarkable

另外, 实验中还观察到双核细胞率增加的现象(图 12), 其原因可能是亚硫酸氢钠通过一电子氧化作用形成三氧化硫自由基(SO₃⁻), 而SO₃⁻可与O₂迅速反应生成超氧自由基(O₂⁻), 结果导致超氧自由基作用于构成生物膜组成成分的不饱和脂肪酸, 使之形成自由基, 进而不饱和脂肪酸所形成的自由基相互结合, 这种自由基的结合抑制膜

的形成。另外, 不饱和脂肪酸自由基与分子氧反应形成的有机过氧自由基也可以进一步氧化裂解, 使得不饱和脂肪酸丢失, 从而破坏生物膜的结构和形成。因此, 出现红细胞的核一分为二, 但是细胞膜却不能正常形成, 出现双核细胞率增高的现象。当然, 这个推论还需做进一步的实验证实。

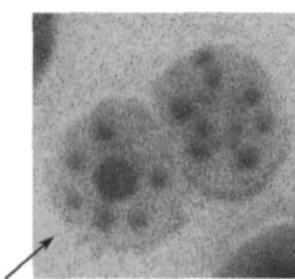


图 9 核裂解

Fig. 9 Nuclear disintegration

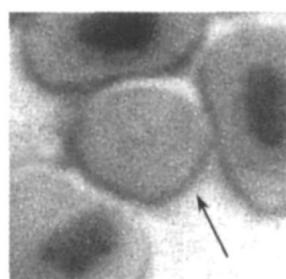


图 10 无核红细胞

Fig. 10 Nucleated erythrocyte



图 11 细胞凋亡

Fig. 11 Cell apoptosis

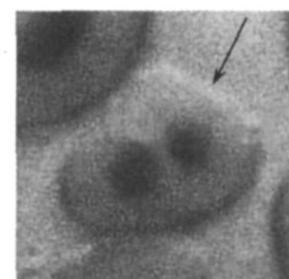


图 12 双核细胞

Fig. 12 Two nucleus of cell

上述这些现象表明亚硫酸氢钠既具染色体断裂剂的作用, 又有干扰细胞正常分裂的作用。此外, 从实验的结果还可看出在相同浓度的处理下, 核变形率高于微核率, 这说明泥鳅自身的 DNA 修复机制在起作用。

2.4 处理浓度与微核率、核变形率之间的统计分析

把不同处理浓度诱导出的微核率和核变形率与对照组进行方差分析和 T 检验回归分析, 从表 2—表 4 中可看出, 除了 4mg/L 的处理浓度与对照相比差异不显著外, 其余的浓度

处理均达到差异显著或极显著。这说明当水体中含有 10mg/L 以上的亚硫酸氢钠时,会对泥鳅的红细胞造成显著的染色体损伤。用不同浓度的处理与微核率、核变形率之间进行的不同模式回归分析结果发现:采用Logarithmic、Inverse、Power和S模式无法建立浓度与微核率之间的回归关系。而采用其他模式,能在浓度与微核率之间建立回归关系。但是只有Linear、Cubic和Quadratic模式所建立的回归关系相关性达到显著性水平,其中以Quadratic进行回归的效果最好。而其余模式所建立的回归关系的相关性均未达到显著性水平。因此,当用Quadratic模式的回归公式 $Y=0.086+0.164X-0.002X^2$ (Y—微核率, X—浓度),来预测不同浓度与微核率之间的相应关系时,二者的相关系数 $r=0.953$, $p=0.009 < p=0.01$, 相关性达到极显著水平,实际观察值与Quadratic模式模拟曲线的吻合情况(图13)。

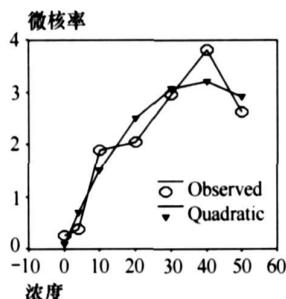


图13 浓度与微核率的Quadratic回归模拟

Fig. 13 Concentration and micronucleus rate of Quadratic regression analysis simulation

表3 亚硫酸氢钠不同浓度组诱发泥鳅红细胞微核率的方差分析

Tab. 3 Variance analysis of the frequencies of nuclear anomalies in erythrocyte of *Misgurnus anguillicaudatus* induced by different concentrations

变异	平方和	自由度	均方	F	P
处理间	82.3	6	13.72	3.70	0.004**
处理内	181.64	49	3.71		
总和	263.95	55			

注: ** 表示差异极显著

Note: ** Difference was extremely remarkable

表4 亚硫酸氢钠不同浓度组诱发泥鳅红细胞核变形率的方差分析

Tab. 4 Variance analysis of the frequencies of micronucleus in erythrocyte of *Misgurnus anguillicaudatus* induced by different concentrations

变异	平方和	自由度	均方	F	P
处理间	79.15	6	13.19	3.44	0.007**
处理内	188.08	49	3.84		
总和	267.23	55			

注: ** 表示差异极显著

Note: ** Difference was extremely remarkable

在不同浓度与核变形率之间,采用Inverse、Logarithm、Power和S模式无法建立相互之间的回归关系,采用Linear、Compound、Logistic、Growth和Exponential模式,能建立二者的回归

关系,而且相关性均达到显著水平,当采用Quadratic、Cubic模式来预测不同浓度与核变形率之间的相应关系时,相关性达到极显著水平。尤其是用Cubic模式时,即用 $Y=0.479+0.146X-0.001X^2-1.324 \times 10^{-5}X^3$ 来预测时(Y—核变形率,X—浓度),浓度与核变形率之间的相关系数 $r=0.999$, $p=0.000 < p=0.01$,实际观察曲线与Cubic模式模拟曲线(图14)几乎完全重合。

上述结果表明:评价亚硫酸氢钠的处理浓度、微核率和核变形率三者之间的相应关系不同,因此,它们各自适用的回归模式也不同。要想准确评估亚硫酸氢钠对泥鳅的染色体损伤或根据泥鳅的微核率和核变形率来预估水体中的亚硫酸氢钠含量,应该对处理浓度、微核率和核变形率三者分别进行不同相关回归模式分析对比,从中找出最佳的回归模式,才能获得理想预测拟合的效果。

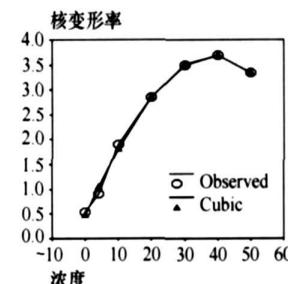


图14 浓度与核变形率的Cubic回归模拟

Fig. 14 Concentration and abnormal nucleus rate of Cubic regression analysis simulation

2.5 核变形率与微核率之间的统计分析

不同浓度处理下,核变形率与微核率均值之间的相关回归分析结果表明:在这二者之间,除了Inverse回归模式达到显著水平,用其余的回归模式均达到极显著水平,当采用Power回归。即当 $Y=0.564X^{1.37}$ (Y—微核率,X—核变形率), $r=0.983$, $p=0.000 < p=0.01$,相关性最好(图15)。说明核变形也可以用作衡量泥鳅红细胞遗传损伤的指标之一。不同浓度与微核率、核变形率的最佳回归模式见表5。

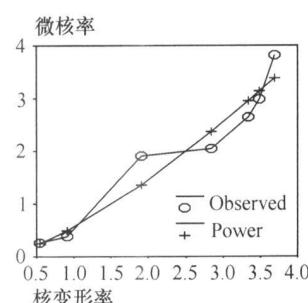


图15 核变形率与微核率的Power回归模拟

Fig. 15 Abnormal nucleus rate and micronucleus rate of Power regression analysis simulation

表5 浓度与微核率、核变形率的最佳回归模式

Tab. 5 Optimal regression modes of correlative among Concentration, time, micronucleus rate and abnormal nucleus rate

回归分析	最佳模式	相关系数	标准误差	显著性水平
浓度与微核率	Quadratic	0.953	0.487	0.009 **
浓度与核变形率	Cubic	0.999	0.099	0.000 **
微核率与核变形率	Power	0.983	0.214	0.000 **

注: * 表示相关性到达显著性水平; ** 表示相关性到达极显著性水平

Note: * relevance arrived the significance level; ** relevance arrived the extremely level of significance

3 结 论

(1) 亚硫酸氢钠对泥鳅的半致死量分别为: 24h, LC₅₀=515mg/L; 48h, LC₅₀=498mg/L; 72h, LC₅₀=489mg/L; 96h, LC₅₀=455mg/L。安全浓度为45.5mg/L。

(2) 在亚硫酸氢钠处理下, 泥鳅微核的形成途径有两条。一条是出现染色体断裂, 进而产生微核; 另一条是幼红细胞的正常均等分裂被扰乱, 细胞出现不均等缢缩分裂, 最后形成微核。

(3) 亚硫酸氢钠对泥鳅既具染色体断裂剂的作用, 又有干扰细胞正常分裂的作用。超过安全浓度的亚硫酸氢钠会导致部分红细胞出现细胞凋亡。

(4) 当水体中的亚硫酸氢钠浓度在10mg/L以上时, 会对泥鳅的红细胞造成显著的染色体损伤。因此, 泥鳅可作为评价亚硫酸氢钠对水体污染的模式生物。

(5) 在亚硫酸氢钠处理下, 泥鳅的微核率与核变形率相关性很高, 达到极显著水平, 说明核变形也可以作为衡量泥鳅红细胞染色体损伤的指标之一。

(6) 正确采用适宜的回归模式, 才能获得理想的评价亚硫酸氢钠对泥鳅红细胞的染色体损伤的预测效果。

参考文献:

- [1] Meng Z Q, Zhang B. Oxidation Damage of sulfur dioxide inhalation on erythrocytes of rats [J]. *Journal of Environment and Health*, 2001, **18**(5): 262—264 [孟紫强, 张波. 二氧化硫吸入对大鼠血红细胞的氧化损伤作用. 环境与健康杂志, 2001, **18**(5): 262—264]
- [2] Meng Z Q, Zhang L Z. Micronuclei induced in human lymphocytes by sodium bisulfite(Sulfur dioxide) [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1994, **12**(1): 1—6 [孟紫强, 张连珍. 亚硫酸氢钠(SO₂)对人血淋巴细胞染色体畸变(CA)、姐妹染色体单体互换(SCE)及微核的效应. 遗传学报, 1994, **12**(1): 1—6]
- [3] Meng Z Q, Sang N, Zhang B, Meng G M. Micronuclei induced by SO₂ derivatives in mouse bone marrow in vivo [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, **20**(2): 239—243 [孟紫强, 桑楠, 张波, 孟光萌. 二氧化硫体内衍生物诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的效应. 环境科学学报, 2000, **20**(2): 239—243]
- [4] Wu R J, Chen Y Q, Lian X, Huang J N, Lian Y. The genetic damage of the nuclear in erythrocytes of *misgurnus anguillicaudatus* to monitor the inland river fluid matter of Fuzhou city [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2005, **11**(1): 59—63 [吴若菁, 陈宜秋, 林霞, 黄静娜, 连迎. 利用泥鳅红细胞核的遗传损伤监测福州市内河水水质. 应用与环境生物学报, 2005, **11**(1): 59—63]
- [5] Xiang D B. Inductive effects of DDVP on erythrocyte nucleus of loach [J]. *Yantai Teachers University Journal (Natural Science)*, 1999, **15**(2): 134—137 [向德标. 敌敌畏对泥鳅红细胞核的诱变效应. 烟台师范学院学报, 1999, **15**(2): 134—137]
- [6] Xie Z H, Wang Y J. Induction of micronuclei and nuclear anomalies in erythrocytes of loach by weedicide Satum [J]. *Journal of Ningbo University (Nsee)*, 1999, **12**(4): 33—37 [谢志浩, 王亚军. 除草剂杀草丹对泥鳅红细胞微核及核异常的诱导. 宁波大学学报, 1999, **12**(4): 33—37]
- [7] Xie Z H, Li J, Ping B, Fan Y Q. Study on genetic toxicity of four herbicides on erythrocytes of *misgurnus anguillicaudatus* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2003, **9**(4): 412—416 [谢志浩, 李骏, 平波, 樊亚青. 四种除草剂对泥鳅红细胞遗传毒性的研究. 应用与环境生物学报, 2003, **9**(4): 412—416]
- [8] Lou Y D, Wu P. Induction of micronuclei and nuclear anomalies in erythrocytes of loach by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine [J]. *China Environmental Science*, 1996, **16**(4): 275—278 [楼允东, 吴萍. 亚硝基胍对泥鳅红细胞微核及核异常的诱发. 中国环境科学, 1996, **16**(4): 275—278]
- [9] Lou Y D, Wu P. Induction of micronuclei and nuclear anomalies in erythrocytes of loach by two pesticides [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1994, **3**(3): 104—111 [楼允东, 吴萍. 两种农药对泥鳅红细胞微核和核异常的诱导. 上海水产大学学报, 1994, **3**(3): 104—111]
- [10] Xiang X, Zhou W L, Wang X Y, Chen S. Four kind of commonly used medicines plant the acute toxic research to the rice field eel fry [J]. *Chongqing Fisheries*, 2000, (4): 34—37 [向枭, 周维禄, 王小艳, 陈胜. 4种常用药物对黄鳝苗种急性毒性研究. 重庆水产, 2000, (4): 34—37]
- [11] Maier P, Schmid W. Ten model mutagens evaluated by the micronucleus test [J]. *Mutation Res*, 1976, **40**: 325—338
- [12] Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis in *Hollaendro* [J]. *Chemical Mutagens*, 1976, **4**: 31—53
- [13] Hoofunan N, Reat E K. Induction of nuclear anomalies(micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *umbra pygmaea* by ethyl methanesulphonate [J]. *Mutation Res.*, 1982, **104**: 147—152
- [14] Rug R. An anomalous lymphocyte; possibly diagnostic for exposure to ionizing radiations or radiomimetic agents [J]. *Acta Roentgen*, 1964, **91**(1): 192—201
- [15] Meng Z Q, Ruan A D, Sang N, Zhang B, Zhang J B. Micronuclei Induced by Chronic Inhalation of SO₂ in Mouse Bone Marrow Cells [J]. *Environmental Science*, 2002, **23**(4): 123—125 [孟紫强, 阮爱东, 桑楠, 张波, 张建彪. SO₂污染对小鼠骨髓细胞微核的诱发作用. 环境科学, 2002, **23**(4): 123—125]