

多氯联苯和多溴联苯醚对非洲爪蟾 生长发育和性腺发育的影响

李焕婷^{1,2}, 秦占芬², 秦晓飞², 夏晞娟², 徐晓白², 马保华¹

(1 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100;

2 中国科学院生态环境研究中心 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085)

[摘要] 【目的】揭示多氯联苯 PCB-118 和多溴联苯醚 PBDE-209 对非洲爪蟾生长发育以及性腺发育的影响。【方法】选择非洲爪蟾第 46/47 阶段的健康蝌蚪各 80 只, 分别置于 0.5 $\mu\text{g/L}$ PCB-118、0.5 $\mu\text{g/L}$ PBDE-209、0.5 $\mu\text{g/L}$ PCB-118 和 0.5 $\mu\text{g/L}$ PBDE-209 的混合物中暴露直到变态 1 个月后, 再在不加暴露物的情况下饲养 5 个月后解剖, 取性腺进行形态学和组织学研究。暴露期间, 每天记录蝌蚪的生长发育情况和生存率。【结果】PCB-118 可使非洲爪蟾的变态时间延长, 使雌性的性腺发育延迟。PBDE-209 暴露对非洲爪蟾的变态发育、生存率、性腺形态以及性别比无显著影响, 但可使睾丸组织中出现早期卵并导致精子排列混乱。PCB-118 和 PBDE-209 联合暴露对非洲爪蟾的变态发育、生存率、性腺形态、性别比以及性腺组织学均未产生明显影响。【结论】PBDE-209 对雄性非洲爪蟾的性腺组织学结构有一定影响。

[关键词] 非洲爪蟾; PCB-118; PBDE-209; 生存率; 性腺发育; 内分泌干扰

[中图分类号] R994.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)04-0031-06

Effects of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers on the growth and gonadal development of African clawed frogs (*Xenopus laevis*)

LI Huan-ting^{1,2}, QIN Zhan-fen², QIN Xiao-fei², XIA Xi-Juan²,
XU Xiao-bai², MA Bao-hua¹

(1 College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: 【Objective】The effects of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers on the growth and gonadal development of African clawed frogs (*Xenopus laevis*) were studied. 【Method】*Xenopus laevis* was exposed to 0.5 $\mu\text{g/L}$ PCB-118, 0.5 $\mu\text{g/L}$ PBDE-209, 0.5 $\mu\text{g/L}$ PCB-118 and 0.5 $\mu\text{g/L}$ PBDE-209 mixture in water from NF stage 46/47 to one month postmetamorphosis. Followed by another five months without exposure, the gonads of frogs were examined in gross morphology and histology. During the exposure days, the growth and survival rate were recorded every day. 【Result】PCB-118 delayed the metamorphic time and the ovary development. PBDE-209 had no effect on the metamorphosis, survival rate, gross gonadal morphology and the sex ratio, but the histological examination suggested that the tests contained early oocytes and disordered sperms. There were no effects observed in the PCB-118 and PBDE-

* [收稿日期] 2008-05-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目(20677074;20437020)

[作者简介] 李焕婷(1980—), 女, 天津市人, 在读硕士, 主要从事动物生殖毒理研究。E-mail: lihuantinglht@126.com

[通信作者] 马保华(1965—), 男, 陕西城固人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事动物胚胎生物技术及生殖毒理研究。

209 co-exposure group. 【Conclusion】 The results indicated that PBDE-209 can affect the male gonadal histologic structure.

Key words: *Xenopus laevis*; PCB-118; PBDE-209; survival rate; gonad; endocrine disruptor

多氯联苯(Polychlorinated biphenyls, PCBs) 类物质是一类重要的环境内分泌干扰物,普遍存在于自然环境尤其是被污染的水体中。PCBs 的化学性质非常稳定,其在众多工业产品,如变压器、电容器、油漆涂料、电视以及空调等中得到广泛应用。PCBs 类化学物质在 20 世纪 70 年代就已被禁止生产,但是由于其非常稳定而且很难降解,故 PCBs 还将在环境中继续存在^[1-2]。PCBs 能通过皮肤、肺和胃肠道被有机体吸收,可通过食物链在自然环境,包括人的脂肪组织、胎盘、脐带血以及乳汁中富集^[3]。PCBs 对野生动物和人的健康会产生不利影响,这种影响会深入到身体的各个系统,包括生殖系统、神经系统、内分泌系统以及神经系统等。以生殖系统为例,在小鼠中,PCBs 能通过减少卵子植入和增加卵子的退化率来降低雌性小鼠的生产力^[4],并且也能通过抑制雄性器官的生长发育和减少精子的产生来影响雄性的生殖能力^[5-6]。在以非洲爪蟾为研究模型的试验中,PCBs 从蝌蚪 46/47 阶段到变态后的长期暴露,能使雄性蝌蚪产生雌性化及去雄性化现象^[7]。

多溴联苯醚(Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)是一类广泛用于电子、化工、建材、纺织等行业的溴系阻燃剂。在生产、使用和废物处置过程中, PBDEs 会释放到环境中,目前已在许多环境样品和生物样品乃至人的血和奶中检出 PBDEs^[8]。由于具有持久性和强亲脂性, PBDEs 能在环境中长期存在,并在食物链中富集放大,从而对生态系统构成潜在的威胁,所以 PBDEs 的污染问题已成为目前环境科学研究领域的一大热点。

由于与 PCB 的结构相似, PBDEs 的内分泌干扰作用也受到学者们的关注。研究显示, PBDEs 对肝脏、甲状腺系统、神经系统和生殖发育系统有比较明显的毒性。Darnerud 等^[8]报道, PBDEs 能干扰小鼠和大鼠的甲状腺系统。PBDEs 对神经系统的毒性,表现为其可使发育中的鼠的运动行为失常,成年后记忆、学习能力下降^[9]。在生殖系统发育方面, PBDEs 能导致雄性子代生殖系统受损,表现为精细胞和精子数量的减少^[10]。

目前,有关 PCBs 和 PBDEs 的生物学研究,多以鼠为模型,而非洲爪蟾从卵到蝌蚪再到成蛙的生

长发育过程中始终生活在水里,且其皮肤具有高渗透性的特性,因而近年来在毒理学尤其是生态毒理学研究中,得到越来越多的应用。非洲爪蟾能对水体中 PCBs 及 PBDEs 的污染作出反应,而这些反应将在其生长发育及性腺发育中表现出来。因此,本次试验以非洲爪蟾为模型,研究 PCB-118 和 PBDE-209 对其生长发育、性别比例、性腺组织学的影响,以期为 PCBs 和 PBDEs 生态毒理作用的研究提供证据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

PCB-118(纯度 98.0%) 和 PBDE-209(纯度 99.5%),购自德国奥格斯堡 GmbH;人绒毛膜促性腺激素(HCG),购自上海第一生化药业有限公司;二甲基亚砜(DMSO,纯度 99%),Sigma 公司产品。试验时将 PCB-118 与 PBDE-209 溶于 DMSO 中配制成母液。

1.2 试验动物及饲养

成年非洲爪蟾,购自中国科学院遗传与发育生物学研究所,分别饲养于盛有去氯自来水的玻璃缸内,每周饲喂一次猪肝。待适应后给非洲爪蟾注射人绒毛膜促性腺激素诱导产卵,雌性注射剂量为 700 IU/只,雄性为 300 IU/只,放入同一孵化缸内,产卵完毕,移出亲蛙。受精卵在去氯自来水中孵化。蝌蚪孵化出 5 d 后,开始每天饲喂丰年虫。试验期水温为(22±2)℃,每日光照 12 h。

1.3 试验设计

蝌蚪孵出后第 6 天,选择第 46/47 阶段^[11]的健康蝌蚪,随机移到盛有 20 L 去氯水的形状大小相同的圆形玻璃缸内,每缸 40 只。将一定量的母液加入到 20 L 去氯水中,配成一定浓度的试验用水。试验共设 4 处理,即 PCB-118 暴露组、PBDE-209 暴露组、PCB-118 + PBDE-209 联合暴露组和溶剂对照组。PCB-118、PBDE-209 单独暴露和 PCB-118 + PBDE-209 联合暴露处理中,各种药物的质量浓度均为 0.5 μg/L。溶剂对照组中 DMSO 的体积百分数为 0.001%,所有试验水中 DMSO 的体积分数均不超过 0.001%。每个暴露处理设 2 个重复,共 80 只。试验用水每 3 d 更换 1 次。于非洲爪蟾 46/47

阶段开始暴露处理,直到变态完成后1个月,然后在不加暴露物的情况下再饲养5个月。在暴露期间,每天记录蝌蚪的生长发育情况和生存率。依照 Nieuwkoop 等^[1]建立的系统,划分爪蟾蝌蚪的发育阶段。

1.4 试验方法

1.4.1 非洲爪蟾的性别鉴定 在非洲爪蟾完全变态6个月后,取组内所有爪蟾用3 g/L MS-222将蛙麻醉后解剖,取其性腺连同肾脏在体视显微镜下观察,记录性腺形态以及雌雄只数,同时计算性别比。随后将性腺连同肾脏一起固定于 Bouin's 固定液中。所有解剖蛙的性别鉴定都基于性腺的总体形态,每个暴露组的雌雄比均基于该组内的所有蛙数。正常卵巢为祥环结构,有黑色素颗粒。正常睾丸呈圆柱状,表面光滑没有黑色素颗粒。

本研究中,性腺具有典型卵巢特征的蛙被判为雌性,性腺具有典型睾丸特征的蛙则被判为雄性,而性腺同时兼具卵巢和睾丸特征的蛙被判定为雌雄同体。

1.4.2 非洲爪蟾性腺组织学观察 每组至少选择10只雄性和10只雌性非洲爪蟾用于性腺的组织学观察。被固定的性腺连同肾脏经组织脱水,石蜡包埋,切片(切片厚度为5 μm)后用伊红和苏木精染色方法进行染色。

1.5 数据统计与分析

用SPSS 13.0软件对试验数据进行统计与分析。用卡方检验分析各暴露组蝌蚪的性别比、变态百分数以及生存率与溶剂对照组的差异。

2 结果与分析

2.1 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾蝌蚪变态发育的影响

所有蛙均完全变态时,溶剂对照组、PCB-118暴露组、PBDE-209暴露组以及联合暴露组的蛙数分别为48,43,48和47只。图1为暴露第29天后各暴露组非洲爪蟾蝌蚪在各个时间的完全变态率。从图1可以看出,PCB-118暴露组蝌蚪的数量较少,但全部蝌蚪完全变态所用的时间明显长于其他暴露组,且与对照组相比差异显著($P < 0.05$);虽然联合暴露组蝌蚪完全变态的时间也有所延长,但不如PCB-118暴露组明显,并且与对照组相比差异不显著;PBDE-209暴露组蝌蚪的变态情况,与对照相组相比无显著差异。

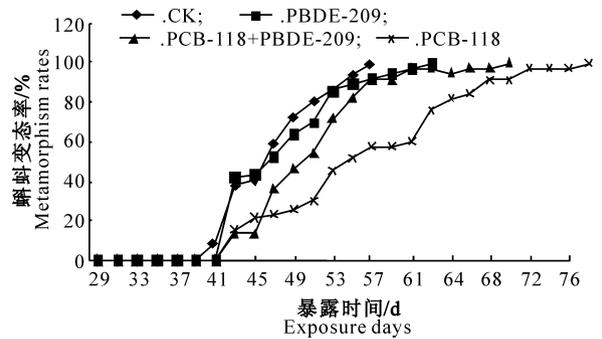


图1 PCB-118 和 PBDE-209 单独或联合暴露对非洲爪蟾蝌蚪变态发育的影响

Fig.1 Effect of PCB-118 and PBDE-209 on the metamorphic rates of *Xenopus laevis*

2.2 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾蝌蚪生存率的影响

暴露在玻璃缸内的蝌蚪完全变态时,溶剂对照组、PCB-118暴露组、PBDE-209暴露组及PCB-118与PBDE-209联合暴露组蝌蚪的生存率分别为68.5%,61.4%,68.5%和67.1%。各个暴露组非洲爪蟾的生存率与对照组相比均无显著差异。

2.3 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾性腺形态学及雌雄比例的影响

观察结果(图2)显示,除PCB-118暴露组有些雌性非洲爪蟾的卵巢发育不发达外,各暴露组非洲爪蟾的性腺形态均无明显异常,并且各暴露组爪蟾的性别比例与对照组相比均无显著差异(图3)。

2.4 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾性腺组织学结构的影响

每个暴露组取至少10只雄性和10只雌性非洲爪蟾进行组织结构观察。结果发现,变态6个月后,对照组雌性爪蟾卵巢中的卵变得更大,卵黄层增厚,有的卵核转移至卵黄层,卵外卵泡细胞明显(图4a);雄性睾丸组织中所有的精子囊和初级精母细胞都被包裹在生精小管中,生精小管中包含各个发育阶段的精子囊(精母细胞精子囊、精细胞精子囊),从外到内精子囊逐步成熟,中心是成簇的精子、初级精原细胞和次级精原细胞很少(图4b)。

变态6个月时,PCB-118和PBDE-209联合暴露组爪蟾的睾丸组织结构,与对照组相比无显著异常(图4c);PCB-118暴露组非洲爪蟾睾丸的组织结构与对照组相比也无明显异常;而PBDE-209暴露组内有些爪蟾的睾丸组织中有早期卵出现(图4e),另观察到有些爪蟾的睾丸结构虽然无明显异常,但其精子排列比较混乱(图4f)。

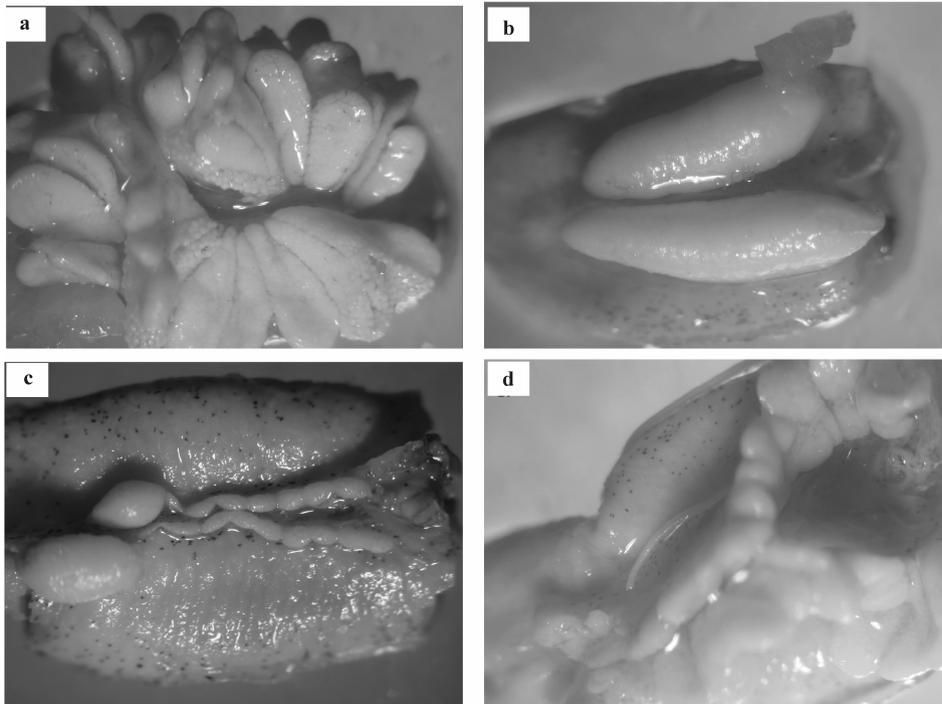


图 2 PCB-118 和 PBDE-209 单独或联合暴露对非洲爪蟾性腺形态的影响

a. 正常卵巢; b. 正常睾丸; c. 雌雄同体; d. PCB-118 暴露导致卵巢较小

Fig. 2 Effect of PCB-118 and PBDE-209 on the gross gonadal morphology of *Xenopus laevis*

a. Normal ovary; b. Normale testicle; c. Hermaphroditic gonad; d. PCB-118 exposure induced

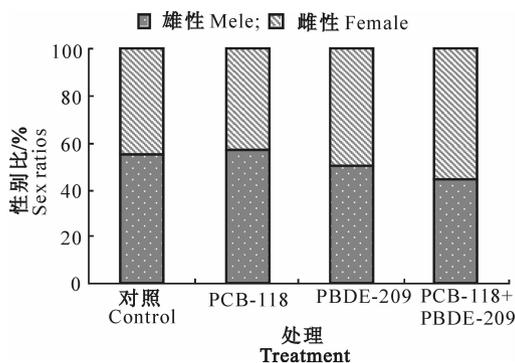


图 3 PCB-118 和 PBDE-209 单独或联合暴露对非洲爪蟾性别比的影响

Fig. 3 Effect of PCB-118 and PBDE-209 on the Sex ratios of *Xenopus laevis*

变态 6 个月时, PCB-118 暴露组非洲爪蟾中出现发育较迟的卵巢, 这些卵巢中的卵细胞发育阶段较早, 变态 6 个月后的卵巢组织仅与正常发育 64 阶段时蝌蚪的卵巢组织相当(图 4d)。其余各暴露组内雌性非洲爪蟾的卵巢组织结构均无明显异常。

3 讨论

3.1 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾变态时间以及生存率的影响

本试验中, 非洲爪蟾蝌蚪从 46/47 阶段开始暴

露于 $0.5 \mu\text{g/L}$ PCB-118 中, 直到变态结束后 1 个月, 在此期间非洲爪蟾的生存率没有变化, 但暴露组内蝌蚪完全变态的时间显著长于对照组 ($P < 0.05$)。有报道指出^[12], PCBs 可以降低幼鱼和未成年哺乳动物的存活率并抑制其生长发育。也有报道指出, 长时间食物暴露于 Aroclor 1254, 能延迟非洲爪蟾的变态发育^[13]。另外, Gutleb 等^[14]认为, 非洲爪蟾长时间食物暴露 PCB-126, 能减少其血液中的 T4 水平, 并且延长变态时间。从本试验结果来看, PCB-118 暴露能延长非洲爪蟾蝌蚪的变态发育时间, 与已有文献的报道结果基本一致^[12-14]。

本试验表明, 暴露于 $0.5 \mu\text{g/L}$ PBDE-209 时, 非洲爪蟾完全变态的时间未发生改变。目前, 关于 PBDEs 对非洲爪蟾变态发育影响的研究较少, 有限的资料显示, $1\ 000$ 和 $5\ 000 \mu\text{g/g}$ DE-71 能显著抑制非洲爪蟾尾的吸收, 延长变态时间, 而 $0.000\ 1$, 0.01 和 $1 \mu\text{g/g}$ DE-71 对非洲爪蟾的变态发育无明显影响^[15]。该研究的结果与本试验相似, 说明低浓度的 PBDE 对非洲爪蟾的发育无明显影响, 而高浓度的 PBDEs 暴露则可能影响非洲爪蟾的变态发育过程。

本研究发现, PCB-118 与 PBDE-209 联合暴露不会对蝌蚪的变态发育时间及生存率产生显著影

响。这可能是由于 PCB-118 与 PBDE-209 的结构相似,在体内作用时会产生竞争性抑制,从而减轻了对

机体的影响。由于目前对 PCB 和 PBDE 联合暴露的研究较少,其机制机理还需要做进一步研究。

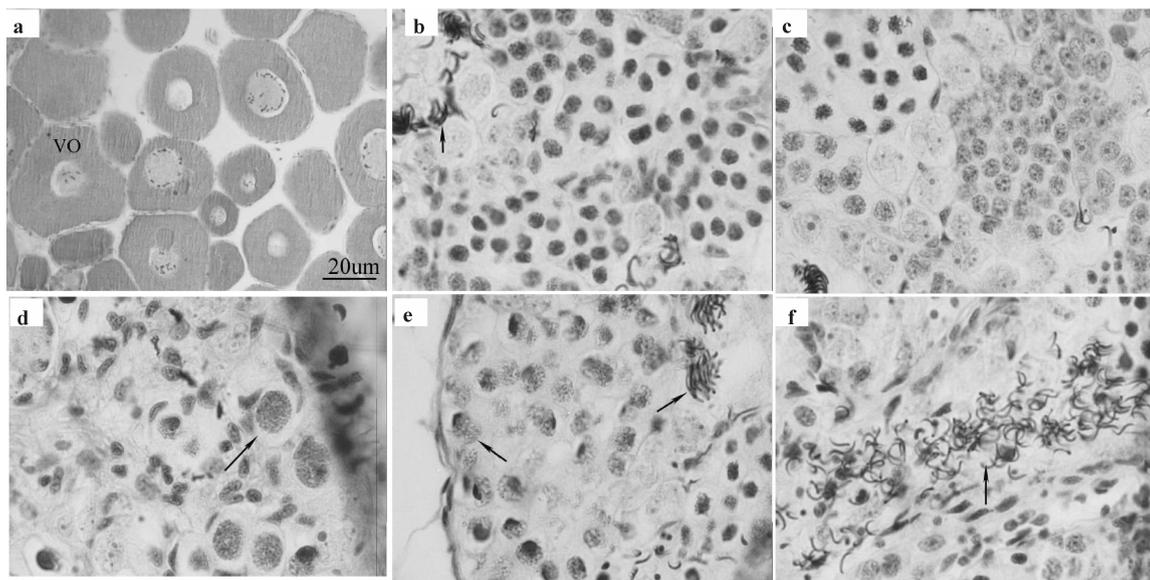


图 4 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾性腺组织学结构的影响(HE×400)

- a. 正常卵巢组织;b. 正常睾丸组织;c. PCB 和 PBDE 联合暴露组睾丸组织;d. PCB-118 暴露导致雌性性腺发育迟缓;
e. PBDE-209 暴露组睾丸组织出现的早期卵和精子;f. PBDE-209 暴露组睾丸组织虽无明显异常,但精子排列较乱

Fig. 4 Effect of PCB-118 and PBDE-209 on the gonad histology structure of *Xenopus laevis*

- a. Normal ovarian histological structure;b. Normal testicle histology structure;c. Testicle structure of PCB-118 and PBDE-209 co-exposure group;d. PCB-118 exposure delayed the ovarian structure of *Xenopus laevis*;e. PBDE-209 exposure induced the testicular oocytes (left arrow) and the sperm(right arrow);f. PBDE-209 exposure disorder the sperm array

3.2 PCB-118 和 PBDE-209 对非洲爪蟾性别比以及性腺形态学与组织学的影响

性别比例、性腺总体形态学以及性腺组织学结构,被认为是鉴别内分泌干扰物生殖毒性的终点指标。在以往的研究中,这些终点指标曾被用于多种化学物质(如双酚 A、4-壬基酚、多氯联苯等)内分泌干扰作用的评价^[7,16-18]。本研究显示,PBDE-209 暴露不能引起非洲爪蟾性别比例、性腺总体形态学的改变,但却能引起雄性性腺组织学结构的变化,如睾丸组织中出现早期卵和睾丸精子的排列混乱等现象。现已证实,非洲爪蟾幼体的性腺发育是激素依赖性的,在性腺分化期暴露雌二醇,可使雌性表现型后代增加^[19],依据暴露时期的不同,可表现为完全性逆转、不完全性逆转(间性)和不发生性逆转^[20]。在本次试验中,雄性非洲爪蟾性腺中出现早期卵,说明 PBDE-209 可能具有微弱的雌激素活性,能使雄性睾丸发生不完全性逆转,从而表现为间性性腺。在以鼠为模型的试验中,CD-1 雄性小鼠 PBDE-209 暴露可降低附睾精子功能,但不会导致睾丸形态以及睾丸内 DNA 的改变^[21],这与本试验结果相吻合,

揭示 PBDE-209 可能具有通过雌性化或去雄性化作用影响睾丸发育的潜能。

由于较其他溴系阻燃剂(PBDE-209 的同系物)的毒性较低,PBDE-209 已成为建筑材料中广泛应用的第二大溴系阻燃剂,并且由于其的广泛使用,致使其在人奶、血液、室内环境以及食物中的检出率较高。PBDE-209 是否会对人类生殖健康产生影响,尚待进一步探究,但是其所存在的潜在危害不容忽视。

有资料显示,PCBs 能通过减少卵子植入和增加卵子的退化率,来降低雌性小鼠的生产力^[4],并且也能通过抑制雄性器官的生长发育和减少精子产生,来影响雄性的生殖能力^[5-6]。本次试验中,PCB-118 暴露组非洲爪蟾的睾丸形态学没有明显的异常变化,但卵巢组织出现了明显的发育延迟现象,与已有资料的报道结果相同^[4]。可见,PCBs 具有一定的生殖毒性,可对生殖系统的发育产生较为严重的影响。

PCBs 是一类重要的内分泌干扰物,能干扰体内激素的合成及转运,从而使体内激素平衡遭到破坏。Kuriyama 等^[22]和 Qin 等^[23]认为,质量为 375

$\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 PCB-118 暴露大鼠能使其子代睾丸以及附睾减小,精子以及精细胞减少,性腺内的睾丸激素水平降低。也有报道指出,高剂量的 PCBs 暴露能增加精子的产量以及睾丸的质量,而低剂量暴露则无显著影响^[24]。可见,PCBs 的生物效应似乎有剂量效应关系,高浓度时表现为增加雄性特征的雄性化或去雌性化作用,而低浓度时则表现出雌性化或去雄性化作用。综合以上资料及本文研究结果,笔者认为,PCBs 的干扰作用因暴露动物的不同以及暴露浓度的差异,所产生的结果也不尽相同。

[参考文献]

- [1] Danse I R, Jaeger R J, Kava R, et al. Review: Position paper of the American council on science and health: public health concerns about environmental polychlorinated biphenyls (PCBs) [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1997, 38: 71-84.
- [2] Pruitt D, Meserve L, Bingman V. Reduced growth of intra and infra-pyramidal mossy fibers is produced by continuous exposure to polychlorinated biphenyl [J]. *Toxicology*, 1999, 138: 11-17.
- [3] Baird C. *Environmental Chemistry: Toxic organic chemicals* [M]. New York: WH Freeman and Company, 1995: 252-274.
- [4] Orberg J, Kihlstrom J. Effects of long-term feeding of polychlorinated biphenyls (PCB, clophen a 60) on the length of oestrous cycle and on the frequency of implanted ova in the mouse [J]. *Environ Res*, 1973, 6: 176-179.
- [5] Sager D, Shih-Schroeder W, Girard D. Effect of early postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) on fertility in male rats [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1987, 38: 946-953.
- [6] Sanders O, Kirkpatrick R, Scanlon P. Polychlorinated biphenyls and nutritional restriction: their effects and interaction on endocrine and reproductive characteristics of male and white mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1977, 40: 91-98.
- [7] Qin Z F, Zhou J M, Chu S G, et al. Effects of Chinese domestic polychlorinated biphenyls (PCBs) on gonadal differentiation in *Xenopus laevis* [J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111: 553-556.
- [8] Darnerud P O, Thuvander A. Studies on immunological effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDE) and polychlorinated biphenyl (PCB) exposure in rat and mice [J]. *Organohalogen Compounds*, 1998, 35: 415-418.
- [9] Eriksson P, Jakobsson E, Fredriksson A. Brominated flame retardants: a novel class of developmental neurotoxicants in our environment? [J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109 (9): 903-908.
- [10] Sergio N K, Chris E T, Konstanze G, et al. Developmental exposure to low dose PBDE 99: Effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113: 149-154.
- [11] Nieuwkoop P D, Faber J. *Normal Table of Xenopus laevis* (Daudin) [M]. Amsterdam: North-Holland, 1956.
- [12] Tillitt D E, Ankley G T, Giesy J P. Polychlorinated biphenyls residues and egg mortality in double-crested cormorants from the Great Lakes [J]. *Environ Toxicol Chem*, 1992, 11: 1281-1288.
- [13] Jelaso A M, DeLong C, Means J, et al. Dietary exposure to Aroclor 1254 alters gene expression in *Xenopus laevis* frogs [J]. *Environ Res*, 2005, 98: 64-72.
- [14] Gutleb A C, Appelman J, Bronkhorst M, et al. Effects of oral exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) on the development and metamorphosis of two amphibian species (*Xenopus laevis* and *Rana temporaria*) [J]. *Sci Total Environ*, 2000, 262: 147-157.
- [15] Gordon C B, Luis A Ve'lez-Espino, Colleen S, et al. Inhibition of metamorphosis in tadpoles of *Xenopus laevis* exposed to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) [J]. *Chemosphere*, 2006, 64: 328-338.
- [16] Kloas W, Lutz I, Einspanier R. Amphibians as a model to study endocrine disruptors; II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sci Total Environ*, 1999, 225: 59-68.
- [17] Kloas W. Amphibians as a model for the study of endocrine disruptors [J]. *Int Rev Cytol*, 2002, 216: 1-57.
- [18] Qin Z F, Zhou J M, Cong L, et al. Potential ecotoxic effects of polychlorinated biphenyls on *Xenopus laevis* [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2005, 24: 2573-2578.
- [19] Chang C Y, Witschi E. Genic control and hormonal reversal of sex differentiation in *Xenopus* [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1956, 93: 140-144.
- [20] Villapando I, Merchant-Larios H. Determination of the sensitive stages for gonadal sex-reversal in *Xenopus laevis* tadpoles [J]. *Int J Dev Bio*, 1990, 34: 281-285.
- [21] Tseng L H, Lee C W, Pan M H, et al. Postnatal exposure of the male mouse to 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabrominated diphenyl ether: Decreased epididymal sperm functions without alterations in DNA content and histology in testis [J]. *Toxicology*, 2006, 224: 33-43.
- [22] Kuriyama S N, Chahoud Ibrahim. In utero exposure to low-dose 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 118) impairs male fertility and alters neurobehavior in rat offspring [J]. *Toxicology*, 2004, 202: 185-197.
- [23] Qin Z F, Qin X F, Yang L, et al. Feminizing/demasculinizing effects of polychlorinated biphenyls on the secondary sexual development of *Xenopus laevis* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 84: 321-327.
- [24] Cooke P S, Zhao Y D, Hansen L G. Neonatal polychlorinated biphenyl treatment increases adult testis size and sperm production in the rat [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1996, 136(1): 112-117.