

基因突变与抗突变*

GENE MUTATION AND ANTIMUTAGENESIS

林光恒

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

从“孟德尔定律”(Mendel law)重新发现(1900 年)

1995 年第 4 期

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2605 号。

到今日,遗传学(Genetics)的发展已经走过了近1个世纪的历程。从早期的以孟德尔学说为代表的经典遗传学,到以摩尔根学派(T. H. Morgan school)为核心的细胞遗传学,再到今日以 J. D. Watson 和 F. H. C. Crick DNA 双螺旋结构为基础的分子遗传学(基因工程),整个遗传学经历着从个体水平、细胞水平到分子水平的转变和突飞猛进的发展,成为当代生物科学中最活跃、最富有生命力和最激励人心的领域。然而就整个遗传学的核心而言,还是围绕在“基因”与“突变”这一根本问题上。

1 基因突变是生物进化和多样性的源泉

遗传与变异是生命的重要属性之一,没有这一属性,生物就不能生存,更不能进化。基因突变为变异提供了最根本、最广泛的基础,也为自然选择提供了丰富的基因库,使生物进化和多样性成为可能。没有基因突变,就不可能有种类繁多的海洋生物。现已清楚,在未受人为干扰和污染的自然生态条件下,每种生物的突变频率是相当稳定的,高等生物是 $10^{-5} \sim 10^{-8}$ 间,低等生物是 $10^{-4} \sim 10^{-10}$ 间,各种生物之间突变频率也是不一样的。相对稳定的突变频率,既保证了自然选择的可能性,也保证了物种的稳定性。物种间突变频率的差异,一方面有利于生态系中物种的多样性和平衡,另一方面也有利于系统的稳定性。群体中基因型和表现型频率受 Hardy-Weinberg 定律所决定,即可用:

$$P^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa)$$

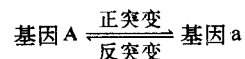
求得各基因型与表现型频率。

2 基因突变类型和特征

基因突变有2种,一种为自发突变,另一种为诱发突变。自发突变是在自然界中在正常的条件下发生的突变。这种基因突变的频率,在一定条件下是相当稳定的。各种生物间都有自己一定的基因突变频率,但是,不同的基因其突变频率是不同的。诚然,自发突变绝非是一种无诱因的突变。研究已经表明自发突变产生的原因,除了存在于自然界中的辐射本底宇宙线中电离辐射外,温度的变化,性别、营养、年龄,以及机体内的生理、生化过程状态都有可能促成自发突变的产生。诱发突变是在外界人为因素的影响下产生的基因突变。诱发突变的频率随诱发因素的种类、性质和剂量大小而异,也与生物体本身的遗传性,即生物的种类和基因的不同有关。这里要指出的是广义的基因突变概念,既包括基因突变,也包括染色体畸变,特别是在诱发突变的情形下,有大

量的染色体畸变出现不足为奇。基因突变与染色体畸变就基因变化的分子基础而言,有共同点,也有不同点。共同点,亦是基因突变的首要特征在于都是遗传物质 DNA 分子上的变化,只是前者多以基因 DNA 分子上的碱基变化为基础,而后者则以 DNA 分子的断裂和重新组合排列为依据。不管怎样,二者最终都导致生物体性状、特征的变异。不同点在于:第一,基因突变对遗传物质的改变相对较微,而染色体畸变则是遗传物质较大的变化。第二,一般而言多数基因突变对生物的遗传性和代谢影响较弱、往往只涉及到某一性状、某种特征的改变,而染色体畸变对遗传性和代谢影响往往较强,大的染色体畸变往往危及生物体自身的生长、发育和生存,有的还造成生物的不育性或后代的畸形。第三,造成基因突变的能量一般较弱,而造成染色体断裂畸变的能量相对较大,如紫外线、X-射线、 γ -射线等都能诱发产生大量的染色体畸变。第四,基因突变存在可逆性,而染色体畸变则是不可逆的。

基因突变的可逆性是基因突变的另一个重要特征。这种可逆性意味着基因既可产生正向突变,也可产生反向突变。正向突变使基因从正常状态的野生型改变为突变型,而反向突变使突变型又回复到野生型,即:



正向突变频率与反向突变频率是不同的。一般而言正向突变频率往往高于反向突变频率。上面我们提到基因突变是基因 DNA 分子上碱基的替换或变化,也就是说并非是非结构成分的丢失。基于这一点就不难理解基因突变的可逆性了。基因突变的可逆性对遗传变异、自然选择和种族生存繁衍都有重要意义,也为我们今日利用基因突变的可逆性来研究反突变或抗突变,实现基因疗法成为可能。

基因突变的第三个特征是广泛性和随机性。自然界中所有生物,上至人类下至最低等的病毒、类病毒、噬菌体中,都能发生基因突变。突变广泛存在于生物体中,是一种普遍的现象。但是,在同一条件下,不同的基因突变频率是不一样的。与基因突变的广泛性并存的是基因突变的随机性。基因突变的随机性意味着基因突变的不确定性,即在同一条件下,何种生物,何种基因,在何时发生突变是很难确定的,也就是说突变是随机发生的。只有通过仔细观察、筛选、选择(自然选择和人工选择)才能从自然界中大量的个体中,检出带有突变基因的突变体。基因突变的广泛性和随机性,既保证了生物丰富多样的基因库,也使自然选择、物种生存、生物进化和生物多样性成为可能。

基因突变的第四个特征是多向性和有害性。基因突变的分子基础是遗传物质 DNA 上的变化,即碱基或密码排列组合的变化,这种变化可以有各种形式,因而信使 RNA(即 mRNA)上的三联体所决定的氨基酸也就各不相同,如 AAA(赖氨酸),变化后可为 AUA(异亮氨酸)、ACA(苏氨酸)、AGA(精氨酸)、CAA(谷氨酰胺)、GAA(谷氨酸)、AAU(门冬酰胺)、CCA(脯氨酸)等等。基因突变的多向性导致形态特征、性状变异的多态性和复等位基因的出现。基因突变的多向性并不意味着突变是绝对的漫无边际,显然要受到生物自身的遗传性和基因本身的制约。

基因突变的广泛性和随机性意味着基因突变在自然界中不以人的意志而转移,是自然界中生命活动的一种规律。突变所产生的许许多多变异,既有对生物本身有害的,也有对生物本身有利的,既有对生物既无害也无利,也有对生物自身无利但对人类有益。显然,在大量的突变中,大多数的突变对生物体是有害的,只有极少数突变是对生物体有利的。原因在于任何生物及其遗传基础都是经过长期适应进化和自然选择的结果。任何一种突变都有可能影响生物体内正常的代谢系统和长期进化适应所建立起来的各种平衡体系,有的甚至会严重扰乱生物体的正常生理代谢,导致生物生长发育受阻,出现死亡,如致死突变即是一例。当然基因突变多数的有害性,并不排斥少数基因的有益性,也正是由于这些突变使生物的适应进化成为可能,也使人类对动植物进行选育得以实现。

3 基因突变的检测

基因突变的检测可分为间接方法和直接方法两种。间接方法检测突变的基因,一般都采用自交、回交等方式,然后通过后代性状给予判别,这种方法是较经典的方法。根据的原理是隐性突变基因在异合状态时并未导致可察觉的表现型变化,只有在纯合状态时才能引起表现型的变化。当然对于显性突变,后代一目了然,就不必用此方法了。用间接方法检测基因突变有许多局限性,首先是费时长,要隔代或隔数代才能判别;其次,检出率低,许多未能引起可察觉或可检出的突变往往被疏漏掉;第三,由于基因的多态性会给判断造成困难性和不精确性。

随着现代生物技术的进步,分子生物学检测技术被广泛引入了基因突变的检测中。鉴于基因的化学基础是 DNA,基因突变也就是基因化学基础 DNA 的变化,那么检测分析 DNA 的变化便可直接了解基因变化状况。因此,对基因 DNA 进行直接分析便成为当今最直接、最先

进的基因突变检测方法。

3.1 DNA 直接测序(DNA Sequence Analysis)

这一方法是测定基因突变的最准确、最可靠的方法。最常用的是双脱氧末端终止法和化学断裂法。由于采用的测序策略不同,又可分为不对称 PCR 单链 DNA 直接测序和 DNA 双链直接测序两种。方法的基本点是将待测突变基因 DNA 分离、纯化并进行各种处理后,用专门的 DNA 测序仪进行序列分析,然后与未发生突变的野生型或正常 DNA 进行核苷酸序列比较,找出变异的核苷酸序列或序列段。由于直接测序需要专门的技术、复杂的操作和昂贵的仪器设备,并非各个实验室都能做到。近年在此方法的基础上进行了简化,推出了两种简化了的操作法,即磁性珠法(Magnetic beads method)和荧光标记法。前一种方法是将抗生蛋白链菌素包被在磁性珠外,这样此珠就能被生物素末端标记的待测序 DNA 片段从溶液中分离出来,因而大大地简化了纯化操作步骤;后一种方法是将 4 种末端双脱氧核苷酸分别进行荧光标记,然后在电泳时直接对凝胶进行连续阅读。

3.2 变性梯度凝胶电泳法(DGGE)

此法是将野生型与突变型 DNA 杂交,产生杂合双链,然后进行凝胶电泳,突变位点上的错配将导致在递增的变性梯度(如温度、尿素等)凝胶电泳中心电泳迁移率的变化。这种方法能检出只占总样本 1% 的突变。

3.3 化学切割法

即用 DNA 探针与突变 DNA 混合,然后解链、退火。当杂合双链形成时,必然在突变位点上产生 DNA 碱基错配,然后用特定的化学药品(如羟胺、四氧化锇等)对错配位点处的 DNA 碱基片段进行化学切割,再用电泳法分离错配碱基段,最后对短小片段进行序列分析鉴定突变。

4 诱发突变与“三致作用”

正常自然环境条件下基因突变(自发突变)的频率是相当低的,也是相对稳定的。一个特定群体中各种突变基因经数代后很快就能达到平衡,并不会给生物和群体造成严重危害。然而,随着人类文明的进步,科技和经济的发展,人类不仅认识了基因突变的本质,而且可以用人工的方法诱发基因的突变,使其更好地为人类需要服务。用人工方法所诱发的基因突变称为诱发突变,是与自然界中存在的生物自发突变相对应的一类基因变异。诱发突变的一个重要特点是其突变频率与诱发因素密切相关。诱发突变的诱发因素可以分为两大类,一类

是化学的,另一类是物理的。化学诱发因素统称为化学诱变剂,包括亚硝酸、甲基磺酸乙酯(EMS)、亚硝基甲基脒(NMU)、羟胺、氯化锂、二硝基甲苯、二溴乙烷、乙烯亚胺、秋水仙素、芥子气、环氧乙烷、某些石油烃等等。物理诱变剂包括紫外线、X-射线、 α -射线、 γ -射线、 β -射线、中子流等等。

随着人工合成的各种医药、农药、化妆品、食品添加剂、各种化工产品和日用品不断进入人类生活的各个领域,人工接触各种化学品的机会也大大增加。据估计目前已应用的化学品不下 900×10^4 种,每年还以数以万计的速度不断增加着。如此巨大数量各类化工品的生产和使用会给人类和环境造成什么样的影响呢?特别是50年代后发生了一系列因环境污染造成的公害事件,如日本有机汞中毒引起的水俣病,伦敦烟雾以及药物反应引发的大量畸胎出现等等。人类已经认识到保护其赖以生存的生态环境和防止环境污染的重要性和紧迫性。控制“三废”排放(排放废气、废水和废渣),保护生态环境、保护人类基因库的呼声日益高涨。在这一形势下,一批有识的遗传学家、环境卫生学家和毒理学家于1976年成立了国际环境诱变剂学会,从此在国际范围内大规模开展了环境诱变剂的致癌、致畸、致突变的研究(即“三致”研究)。经过20多年的努力,推动了一门暂新的边缘学科“遗传毒理学”的产生和发展。大量的研究表明人类赖以生存的大气、水体、土壤食品、饮料以及许多日常用品中都含有具“三致”作用的化学诱变剂,它们通过直接或间接的途径进入人体并作用于遗传物质DNA,干扰或破坏DNA的复制和修复,损伤DNA分子,诱发基因突变或染色体畸变。大量的资料也证明了肿瘤与基因突变和染色体畸变有重要联系。

致癌作用(Carcinogenesis)。这种作用是环境诱变剂通过各种途径影响遗传物质,导致基因表达的异常,细胞增殖失控产生癌变。这类致癌剂大部分分子中含有亲电子基因,很容易与DNA共价结合,影响DNA复制,诱发基因突变;另一部分是通过自由基形成等机制,引发DNA双链或单链断裂,产生基因突变和染色体畸变。

致畸作用(Teratogenesis)。环境诱变剂作用于生物遗传物质,导致后代畸形个体的出现。这种作用如果是在胚胎发育时期,便可形成畸胎或流产。后代大量畸形个体的出现,严重影响种族繁衍和强盛。

致突变作用(Mutagenesis)。这种作用是指在较生理毒性低的剂量下,环境中诱变剂诱发基因突变或染色体畸变。这一作用如果发生在生殖细胞,便增加了后代遗传病的发病率。人类中现存最庞大的一类疾病便是基因突变导致的各种遗传性代谢病,这类疾病现已发现有

2000余种。基因工程技术的发展,虽对个别这类疾病找到了缓解或改善症状的办法,但对绝大多数这类疾病,直到今日还是束手无策。

大量的实验证明过去许多不为人们所注意的化学药品,如咖啡中的咖啡因、无机重金属镉、镍、砷、铝、铬(Cr^{+6})等,都具有致突变作用。海洋生物具有吸收、积累和转移无机重金属诱变剂的能力,已被我国学者林光恒等人在一系列文章中所报道;美国学者W. Tabor及其同事也报道过海虾体内砷积累很高,当人体摄入100g海虾后10h,体内砷浓度可达132.3 $\mu\text{g/L}$ 。砷诱发皮肤癌与砷摄入量之间存在正比关系。林光恒等人的工作还揭示了无机重金属诱变剂镉可以从褐指藻(*Phaeodactylum tri-cornutum* Bohlén)流向中国对虾,再从中国对虾流向欧氏六线鱼(*Hexagrammos otakii* Jordan et Starks),前者传递比为66.6%,后者为29.9%,说明了中国对虾具有明显的吸收、积累和转移诱变剂镉的能力。林光恒等人的研究还指出中国对虾中诱变剂镉主要积累在对虾内脏中,摄食大量积累有诱变剂的中国对虾会给人体基因造成潜在的危害。

5 环境诱变剂对基因库的损伤与遗传负荷

环境诱变剂的广泛存在及其“三致”作用给生物基因造成的影响,只要从人类的2000余种的遗传性代谢病便可见一斑。基因突变造成的遗传病使许多人终生丧失了工作、生活和生育的能力,有的早夭,有的终生挣扎在死亡线上,给个人、家庭和社会都带来巨大的精神、道义和物质负担。基因突变,特别是诱发突变广泛存在,海洋生物中也不例外。林光恒等人(1990年)曾报道过用海洋中常见的诱变剂苯并(a)芘成功地诱发出条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)的色素突变。这些色素突变体与自然界中受环境诱变剂影响所出现的突变体很相似。

何谓“基因库”?基因库为一个群体能传递给下一代的有效基因总和。“遗传负荷”则为有害基因在群体中的频度或总体水平。一个群体所能承受的遗传负荷是在一定的条件下突变(自发突变和诱发突变)和自然选择相互作用所达到的一种平衡。各生物群体都存在一个遗传负荷的问题,基因库中遗传负荷过大,后代便出现大量突变个体,人类中则出现许多遗传病。从生物适应进化的角度看,太低的遗传负荷对生物并非有益,因为自然选择的回旋余地太小,不利种族生存。

6 诱发突变的短期测试系统

遗传毒理学虽然着眼的是环境中存在的各种诱变剂
海洋科学

剂对生物体遗传物质的损伤和远期效应,但是由于许多对生物、对人体具有遗传毒性的物质,在环境中的存在往往是量微面广种类多,对生物、对人体的遗传效应短期内难以显示和测定出来,这就要求科学家建立起各种快速、简便和有效的短期筛选测试系统,以便从数以百万计的各种化学品中将具“三致”作用的物质测定筛选出来。经过全世界遗传毒理学家的艰苦努力,现在已经有多种有效的方法在世界范围内应用着。归纳起来有3大系统,即微生物系统、动物系统和植物系统。现分述如下:

微生物系统有:

鼠伤寒沙门氏菌回复突变(The *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay)

大肠杆菌回复突变(The *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay)

Crassa 红色链孢霉菌基因突变(Gene Mutation in *Neurospora crassa*)

酿酒酵母基因突变(*Saccharomyces cerevisiae* Gene Mutation Assay)

动物系统系统有:

哺乳动物体对细胞遗传学测试(*In Vitro* Mammalian Cytogenetic Test)

体外哺乳动物姐妹染色单体互换测试(*In Vitro* Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells)

体内姐妹染色单体互换测试(*In Vivo* Sister Chromatid Exchange Assay)

体外哺乳动物细胞基因突变试验(*In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Tests)

体内哺乳动物骨髓细胞染色体分析(*In Vivo* Mammalian Bone Marrow Chromosome Analysis)

体内哺乳动物骨髓细胞微核检测(*In Vivo* Mammalian Bone Marrow Cytogenetic Test for MCN)

哺乳动物生殖细胞细胞遗传学测定(Mammalian Germ Cell Cytogenetic Assay)

小鼠可见特定座位测定(The Mouse Visible Specific Locus Test)

小鼠斑点测试(Mouse Spot Test)

小鼠可遗传易位检测(Mouse Heritable Translocation Assay)

啮齿类动物显性致死测定(Rodent Dominant Lethal Test)

植物系统有:

紫露草微核检测(*Tradescantia* Micronucleus Assay)

紫露草雄蕊丝毛突变检测(*Tradescantia* Stamen Hair

Mutation Assay)

蚕豆根尖染色体畸变测试(*Vicia* Root Tip Chromosome Aberration Test)

拟南芥遗传学测试(*Arabidopsis* Genetic Bioassay)

洋葱根尖染色体畸变测定(*Allium* Root tip Chromosome Aberration Test)

扁藻微核生物测试(*Platymonas* Micronucleus Bioassay)

在上述各测试系统中微生物和动物测试系统推出最早,植物检测系统则是近十几年才发展起来的。植物测试系统与动物和微生物测试系统相比较,有其独特的优越性,如取材容易,技术操作相对较简便、实验周期短、结果快速且可比性高等。因此,近年来备受科技界和联合国世界卫生组织推崇,在实际应用中发展很快。我国学者林光恒等人长期与联合国化学品测试科学顾问、国际著名遗传毒理学家马德修教授合作,在植物测试系统的应用和发展中,作出了多方面国际公认的成果。

由于受本文篇幅限制,不可能对上述各系统中的具体方法进行一一论述介绍和评价,读者如果对其中一种方法感兴趣和想采用某些方法,则可从本文参考文献中追踪。有关海洋环境中诱变剂遗传活性的检测也请参考作者过去所写的综述文章。

7 诱发突变的分子生物学检测

化学物与DNA分子结合的测定一般多采用光谱移动法。此法是在试管或细胞系统中使待测物与DNA发生作用,再将DNA抽提出来,测定紫外吸收光谱,如果光谱位移,说明DNA分子已与待测物或其代谢产物相结合。

基因一级结构改变的检测有下列几种方法可采用,即Southern印迹杂交法、变性梯度凝胶电泳法、寡核苷酸探针法、多聚酶链反应法(即PCR技术)和Rnase A断裂法。

8 抗突变研究

随着现代技术的应用,人类接触各种化学诱变剂和物理诱变剂的机会大大增加;环境中各类诱变剂有增无减,使基因诱发突变率大大提高,数以千计的遗传代谢病,癌病发病率居高不下,日益增多的畸胎出现,使遗传毒理学家认识到在环境中存在着大量诱变剂的情形下,必须迅速抑制和降低高的基因突变率,以减少肿瘤和遗传病的发病率。如何达到这一目标呢?抗突变剂的研究是达到此一目标的最现实的有效方法。

近年来大量研究表明人类生活环境中既存在着各种各样的致癌或致突变物质,也存在着不少具有抗癌或抗突变的物质,过去它们一直未被人们发现和重视。这些物质大多存在于植物中,现在人们把这类具有抗癌、抗突变的物质统称为抗突变剂(Antimutagens)。

抗突变剂对基因突变具有减缓、抑制、消除和恢复功能的作用。鉴于广义的抗突变作用(Antimutagenesis)也包括了去突变作用(Desmutagenesis),因而相对应的抗突变剂也就有了去突变剂(Desmutagens)。

8.1 抗突变剂

抗突变剂在生物体内具有抑制、减缓、降低和消除诱变剂对生物体遗传物质损伤、断裂和变化的功能,从而达到抑制、降低或消除机体诱变效应的效能。近年来,在国际范围内,各国科学家都投入大量人力和财力筛选具有抑癌、抗癌或抗基因突变的各种抗突变剂。抗突变剂的研究已成为遗传毒理学中的一个热点领域。

8.1.1 抑癌作用

研究已经表明茶叶中绿茶具有明显的抑癌作用。绿茶的主要成分是茶多酚,这类化合物富含OH基因,具有强的抗氧化性,能抑制人体内源性亚硝化反应,降低亚硝基化合物对人体的作用。实验室研究证实绿茶提取物对于Bap、MCA/TPA和X-射线诱发的BALB/3T3细胞的恶性转化有较强的抑制性。动物实验证明对于亚硝酸钠诱发的小鼠贲门癌、食管癌、DMBA/TPA诱发的小鼠皮肤乳头状瘤,AFB₁诱发的大鼠肝癌等,绿茶都有较明显的抑制作用。

除了绿茶外,某些新鲜的蔬菜、水果和维生素A、维生素C、类胡萝卜素、大蒜素等都具有一定的抑癌作用。此外,我国学者还报道了香菇、大枣和个别中草药具有一定程度的抑癌作用。流行病学调查还发现微量元素硒与肺癌、大肠癌、鼻咽癌等的发病率呈负相关,可能也与抑癌有联系。

在抑癌机理的研究方面,已经提出了几种理论,其中包括绿茶、维生素C等抑癌作用是通过阻止各类前体化合物在体内形成致癌物;防止致癌物在体内活化或阻止终致癌物与靶分子发生反应,或通过减少、清除自由基对靶物质的损伤,某些中药便属此类;作用于DNA修复系统或基因表达调控系统,抑制肿瘤出现,如微量元素硒的作用;抑制促癌基因的作用,如蛋白酶抑制剂的作用就属此类。

8.1.2 抗癌、抗突变作用

许多具有致癌作用的物质,也都具有致突变作用,而具有抗突变作用的许多物质中很多也具有抗癌作用。这有力地证明了肿瘤与基因突变之间确实存在密切关

系。人类生活、生存的环境中,尽管存在着大量致癌、致突变物质,但是并非人人患有癌病,也非人人都有遗传性代谢病。究其原因,是人类从日常饮食中摄取了许多具抗癌、抗突变的物质成分。

根据1992年Gebhart对抗突变剂的分类,可以把抗突变剂按其作用性质分为3类。一类是作用于代谢过程,如L-半胱氨酸、半胱胺、V_A、鞣酸、苯巴比妥等;另一类是活性分子的阻断剂,如谷胱甘肽、BHA、过氧化氢酶等;还有一类为DNA合成的修饰因子,如多胺、精胺、新生霉素等。

饮食成分中的抗癌、抗突变剂与人类生活息息相关,主要是某些维生素、多酚、类黄酮、类胡萝卜素和吡咯类。它们的作用机理,有的通过阻断诱变作用,如多酚、香豆素、黄酮类;有的诱导提高解毒酶的活性,如谷胱甘肽-S-转移酶等;有的通过清除活性氧、自由基或灭活亲电子化合物,如甲硫氨酸、β-胡萝卜素等。

我国学者林光恒等人还报道了广泛存在于海洋褐藻中的褐藻酸钠、维生素E等物质也具有明显的抑制和抗基因突变效能。

8.2 去突变剂

基因突变具有可逆性,既可正向突变,由野生型转变为突变型,也可以逆向突变由突变型回复到野生型。去突变剂的作用就是使已突变的基因或已断裂的染色体回复到突变前的状态。现在已知的去突变剂有L-半胱氨酸、半胱胺、植物多酚等。对于去突变剂及其机理的研究目前仍处于探索阶段,离实际应用还相差很远。

参考文献

- [1] 林光恒,1987. 海洋环境科学 6(1):49~61.
- [2] 林光恒、马德修,1987. 环境科学 8(6):78~81.
- [3] 林光恒,1987. 青岛环境 4:15~17.
- [4] 林光恒等,1990. 海洋科学 2: 57~59.
- [5] 林光恒等,1990. 癌变、畸变、突变 2(4):1~4.
- [6] 林光恒、秦松,1991. 癌变、畸变、突变 2(3):1~5.
- [7] 秦松、林光恒,1992. 癌变、畸变、突变 4(4):1~5.
- [8] 林光恒等,1992. 癌变、畸变、突变 4(6):5~10.
- [9] Tabor, W. 薛京伦,1992. 癌变、畸变、突变 4(4):52~54.
- [10] 马丽英等,1992. 癌变、畸变、突变 4(2):50~53.
- [11] 周红宁,1992. 癌变、畸变、突变 4(2):35~39.
- [12] 林光恒等,1995. 癌变、畸变、突变 7(1):1~5.
- [13] Klekowski, J. Jr. (ed.), 1982. Environmental Mutagenesis, Carcinogenesis, and Plant Biology. Vol. 11, Praeger, New York, U. S. A.

- [14] Fang, T. , T. H. Ma, G. Lin(林光恒) *et al.* , 1983. *Environmental and Experimental Botany* 23(4): 303-310.
- [15] Waters, M. D. *et al.* , (ed.)1983. Short-Term Bioassay In The Analysis of Complex Environmental Mixtures 111. Plenum Press, New York, U. S. A.
- [16] Lin, G. (林光恒) *et al.* , 1983. 14th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society of U. S. A. San Aantonio, U. S. A.
- [17] Ma, T. H. G. Lin(林光恒) *et al.* , 1984. *Mutation Research* 138: 157-167.
- [18] Ma, T. H. & M. M. Harris 1985. *Hazard Assessment Chemicals* (Current Developments), 4:77-105.
- [19] Lin, G. (林光恒) *et al.* , 1985. Forth International Conference on Environmental Mutagens, Stochholm, Sweden.
- [20] Flamm, W. G. & M. A. Mehlman, 1987. *Mutagenesis*, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, D. C. , U. S. A.
- [21] Lin, G. (林光恒) *et al.* , 1991. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 9(4):291-299.
- [22] Ma, T. H. , G. Lin(林光恒) *et al.* , 1992. *Mutation Research* 270: 39-44.