

除草剂施田补对鲫鱼红细胞核异常的诱导

邵 晨, 蒋立琴, 鲍伟利

(浙江师范大学生命与环境科学学院, 浙江 金华 321004)

摘 要:利用除草剂施田补不同浓度、不同染毒时间对鲫鱼(*Carassius auratus*)的影响,研究了其对鲫鱼红细胞核异常的诱导作用。试验结果表明,在一定浓度范围内,随浓度增高,核异型率有增高的趋势,但当浓度过高时,核异型率反而下降;在染毒时间间隔为 48 h 时,主要表现出核异型较高的情况,而时间过长时,核异型则呈下降的趋势。从试验结果来看,施田补作为一种旱田除草剂也能诱导鱼类血细胞核发生异型,一定程度上造成水体污染。

关键词:除草剂; 施田补; 鲫鱼; 红细胞; 核异常

中图分类号:X503. 225 文献标识码:A 文章编号:1000 – 0267(2002)03 – 0266 – 03

Inducement of Abnormal Nucleus of Erythrocytes of Suckfish (*Carassius auratus*) by Herbicide Pendimethalin

SHAO Chen, JIANG Li-qin, BAO Wei-li

(Academy of Life and Environment Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, P. R. China)

Abstract: Inducement of abnormal nucleus of erythrocytes of suckfish (*Carassius auratus*) by a herbicide pendimethalin is studied at various concentrations and exposure times. The results indicated that at certain range of concentrations, the rate of abnormal nucleus increased with the concentration over a suitable range instead. At the interval time of 48 hours, the rate of abnormal nucleus was high. In addition, when the exposure time was too long, it showed a decreasing trend. From the results of the present test, pendimethalin could induce abnormal nucleus of erythrocytes of suckfish and caused the water pollution in a sense as a herbicide of land field.

Keywords: herbicide; pendimethalin; suckfish; erythrocyte; abnormal nucleus

近年来,大量除草剂的使用已经给水体环境带来了一定的负面效应。检测水体中污染物对水生生物的影响,可利用遗传毒理特性来检测核异常情况^[1-3]。为此,选用了湖泊、河流及农田养殖中较常见的鲫鱼(*Carassius auratus*)作为研究对象;另外,基于长期以来,人们往往比较容易忽视旱田除草剂对水体环境的影响,故又选用旱田除草剂施田补来研究该除草剂对鲫鱼红细胞核异型诱导的情况,以了解旱田除草剂对水体的污染性。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

试验鱼鲫鱼购自浙江师范大学附近的菜市场。雌雄兼用,体重为 20—50 g。在室内暂养 5 h 后,挑选健康、活泼和体表无损的个体作为试验鱼。试验时间为

4 月下旬和 5 月上旬,水温为 17 ℃—22 ℃。

1.2 药剂

施田补 Pendimethalin[33% 乳油,瑞士氰胺(国际)公司],又名除草通。有效成分 N – (1 – 乙基丙基) – 2, 6 – 二硝基 – 3, 4 – 二甲基苯胺,属二硝基苯胺类。该剂在 20 ℃ 时,在水中溶解度为 0.33 mg · L⁻¹,易溶于氯代烃及芳香烃类溶剂,性质较稳定,不易光解^[4]。

1.3 试验方法

1.3.1 染毒试验

染毒试验在同一规格(10 L)的鱼缸内进行,水量保持在 9 L。在预试验的基础上,用施田补配制成浓度为 1.32 mg · L⁻¹,0.66 mg · L⁻¹,0.33 mg · L⁻¹,0.165 mg · L⁻¹,0.082 5 mg · L⁻¹,即为正常使用浓度的 1/1 000,1/2 000,1/4 000,1/8 000,1/16 000。并设置一对照组(不加施田补)。每一浓度中投放鲫鱼 10 条。每天换水一次,投放饵料一次。不同浓度组于染毒后间隔 6、12、24、48 和 72 h 断尾取血制备血涂片,并

在各时间段各浓度组均制 4 张装片。

1.3.2 血涂片的制备

染毒后按 6、12、24、48、72 h 时间间隔制片,每浓度组随机取两条鲫鱼,将其体表水分擦干后断尾取血,并将血涂于清洁的载玻片上,涂片晾干后,先用甲醇固定 15 min,然后以 1/15 mol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液 (pH6.8) 稀释的 Giemsa 染液 (5:1) 染色 12 min,再用水冲洗。待晾干后用中性树胶封片,便于显微观察。对照组鲫鱼血涂片的制备与染毒后鲫鱼血涂片制作的时间间隔、具体过程均相同,不再赘述。

1.3.3 血涂片的显微观察

采用油镜观察计数。镜检时在目镜中放入两根十字交叉的细线以分割视野,便于观察计数。每张装片观察 1 000 个左右的红细胞,记录具有各种核异常的细胞数。

2 结果与分析

2.1 施田补对鲫鱼红细胞核异常的诱导

鲫鱼正常的红细胞多呈椭圆形,少数呈圆形。而核异常包括无丝分裂、核质外凸、核内凹、核内空泡、微核、双核、核碎裂、核变形等现象。见图 1 ①—⑧ (Olympus 镜观察并拍摄)。在此次试验中较常见的是无丝分裂、核内凹现象。其中核内凹为部分核质内陷,深度约等于或大于直径的 1/5;部分细胞核出现了染色体积聚的现象;而部分细胞空泡现象较明显,有些甚至整个细胞核没有染色体,即由空泡占据了整个核空间,核内空泡其实就是细胞核内含有空洞。经过试验,施田补对鲫鱼红细胞核异常的影响具体见表 1。

从表 1 中可知,经施田补处理 6 h 后,红细胞核异常率最低的是 1.32 mg · L⁻¹ 浓度组,约为对照组的

表 1 施田补对鲫鱼红细胞核异常的影响

Table 1 Inducement of abnormal nucleus of erythrocytes of suckfish by herbicide pendimethalin		浓度 /mg · L ⁻¹				
时间间隔及其核异型率 /%	对照	0.082 5	0.165 0	0.330 0	0.660 0	1.320 0
6 h 核异型率	0.009 427	0.007 066	0.009 626	0.007 448	0.009 784	0.004 364
12 h 核异型率	0.018 634	0.018 121	0.018 187	0.022 917*	0.008 946	0.008 380
24 h 核异型率	0.008 250	0.001 497	0.001 208	0.008 545	0.002 091	0.003 520
48 h 核异型率	0.005 116	0.011 282*	0.005 140	0.018 075**	0.010 892*	0.011 286*
72 h 核异型率	0.008 756	0.001 745	0.003 750	0.004 029	0.007 270	0.005 432

注: * 表示与对照差异显著, *P* <0.05; ** 表示与对照差异极显著, *P* <0.01。

1/2,最高的是 0.66 mg · L⁻¹ 浓度组,两者相差 2.242 倍,但经 *t* 检验,该浓度组与对照差异并不显著;这一时间段中除 0.165 mg · L⁻¹、0.66 mg · L⁻¹ 外,其核异型发生率均低于对照组。间隔时间为 12 h 的核异型发生率较高,而且在溶液浓度为 0.33 mg · L⁻¹ 时达到最高值,与对照差异显著。但总体来说,间隔时间为 12 h 的各染毒组与对照组相比差异不明显,其核异型率大体趋势是先升高达到顶峰后又逐渐降低。间隔时间为 24 h 的核异型率除 0.33 mg · L⁻¹ 浓度组外均较对照组低。在时间间隔 48 h 时,0.0825 mg · L⁻¹、0.33 mg · L⁻¹、0.66 mg · L⁻¹、1.32 mg · L⁻¹ 浓度组的核异型率都较对照高,浓度从低到高分别为对照组的 2.205 倍、1.005 倍、3.53 倍、2.13 倍、2.206 倍,而且又是在 0.33 mg · L⁻¹ 浓度组时达到最高值,经 *t* 检验表明,0.082 5 mg · L⁻¹、0.66 mg · L⁻¹、1.32 mg · L⁻¹ 浓度组与对照组差异显著,在 0.33 mg · L⁻¹ 时与对照差异极显著。间隔时间 72 h 的核异型率普遍较对照低。

的关系。在不同浓度同一时间里一般是随着浓度的升高其异型发生率较高,然后在某一浓度达到最高值后其发生率又呈下降趋势。此次试验表明,在 0.33 mg · L⁻¹ 浓度组时核异型率发生比较高。在同一浓度不同时间里,也有最高值出现,也有先上升后下降的趋势。如在间隔时间为 48 h 时,核异型相对发生率(某一时间段里,染毒组相对于对照组的核异型发生率)较其他时间间隔段明显高。在高浓度与长时间的条件下,核异型率反而下降,这可能与红细胞对逆境的适应而增强其免疫与损伤修复能力有关,针对对照组核异型相对较高的现象也可能与这一因素有关。

当然除了浓度与时间外,影响因素还包括水温、水中溶解氧含量、鲫鱼的来源等。这些因素的存在也使得核异型发生率造成一定的偏差,它们对于红细胞核异型的影响状况是有待于进一步研究的。

2.2 施田补遗传毒性的初步分析

施田补属于二硝基苯胺类除草剂,它能抑制侧根和侧生根的生长,抑制根类细胞的有丝分裂。有资料^[5]表明:施田补引起的前期分裂相增多,而中、后、末期

可见,核异常的发生率与浓度和时间都有着密切

①正常的红细胞 ②核空泡 ③双核 ④无丝分裂
⑤核质外凸 ⑥微核 ⑦核内凹 ⑧核内全空泡

图 1 除草剂施田补对鲫鱼红细胞核异常的诱导

Figure1 Induction of abnormal nucleus of erythrocytes of suckfish
(*Crassius auratus*) by herbicide – pendimethalin

分裂相减少,并导致染色体的短缩、散乱排列以及多倍体核的现象,其作用部位也是在前中期向中期的过渡时期,可能是影响了前期末纺锤体的形成,而使染色体不能向赤道聚集移动、完成向中、后、末期的过渡,而表现为染色体的短缩与散乱分布,最后凝集粘合并形成多核、多倍体核等异常细胞。而结果表明:施田补同样也能引起鱼类红细胞遗传损伤,从而形成多核包括微核和双核。微核的出现主要是由于染色体断裂产生的无着丝粒断片或由纺锤丝断裂造成的一条或一组染色体滞后形成的^[1-3]。可见,施田补具有染色体断裂剂和纺锤丝毒剂的双重作用。

施田补本身是适用于叶菜类蔬菜、玉米、棉花等

多种旱田作物的选择性除草剂,其水溶性不高。但试验结果表明,尽管其水溶性不高,作为一种旱田除草剂仍能引起鱼类红细胞核的异常,说明施田补对鲫鱼红细胞具有明显的遗传毒性,即诱导正常细胞核异常。其实这也不难说明一点——旱田除草剂对环境的污染不容忽视。

本试验采用的鲫鱼常见、易于获取。从试验结果来看,可将鱼类血细胞核异常测定作为遗传毒理学的一个评定指标来监测环境污染。因此,本试验具有实际应用价值。

参考文献:

[1] 贺维顺,王蕊芳. 污水和污水土地处理系统中各种水质对华西蟾蜍蝌蚪红细胞微核率的影响[J]. 动物学研究, 1992, 13(3): 275 – 279.

[2] 楼允东,吴萍. 亚硝基弧对泥鳅红细胞微核及核异常的诱发[J]. 中国环境科学, 1996, 16(4): 275 – 278.

[3] 耿德贵. 除草剂乙草胺对蝌蚪红细胞微核及核异常的影响[J]. 环境与健康杂志, 2000, 17(1): 36 – 38.

[4] 刘乾开,朱国念. 新编农药使用手册(第二版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999. 398 – 400.

[5] 张宗俭,李扬汉,张志敏. 除草通对玉米幼苗根尖细胞有丝分裂的影响[J]. 西北植物学报, 1995, 15(6): 32 – 35.