

苯酚和铬对麦穗鱼的急性毒性及苯酚麦穗鱼的遗传毒性研究

张海艳¹, 李霞², 骆美蓉³ (1. 洛阳师范学院生命科学系, 河南洛阳 471022; 2. 陕西师范大学生命科学院, 陕西西安 710062; 3. 西南民族大学大学生命科学与技术院, 四川成都 610041)

摘要 [目的] 为水产养殖业生产捕捞环境的水质科学管理提供理论依据。[方法] 以麦穗鱼仔鱼为材料, 研究了苯酚、铬对麦穗鱼的急性毒性以及苯酚对其的遗传毒性。[结果] 苯酚对麦穗鱼仔鱼 24、48、72、96 h 的半致死浓度 (LC_{50}) 分别为 53.236、47.039、38.729 和 36.56 mg/L; 铬对麦穗鱼仔鱼 24、48、72、96 h 的 LC_{50} 为 366.367、319.530、284.205 和 190.757 mg/L。苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的安全质量浓度分别为 0.365 6 和 1.907 57 mg/L。在染毒 96 h 后 0~42 mg/L 浓度范围内苯酚对麦穗鱼仔鱼微核的产生具有明显的影响, 且随着浓度的升高而增加。[结论] 苯酚对麦穗鱼属于高毒物质, 而铬对麦穗鱼属于中等毒性物质。

关键词 麦穗鱼仔鱼; 苯酚; $K_2Cr_2O_7$; 急性毒性; 遗传毒性; 安全质量浓度

中图分类号 S965.199 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)12-05389-03

Study on the Acute Toxicity of Phenol and Chromium to *Pseudorasbora parva* and Genetic Toxicities of Phenol

ZHANG Hai-yan et al (Department of Life Science, Luoyang Teachers College, Luoyang, Henan 471022)

Abstract [Objective] The aim of the research was to provide the theoretical basis for the aquaculture production of fishing environment water quality management. [Method] *Pseudorasbora parva* were taken as materials to study the acute toxicity of phenol and $K_2Cr_2O_7$ and the genetic toxicities of phenol on the *Pseudorasbora parva*. [Result] The LC_{50} of phenol for 24 h, 48 h, 72 h and 96 h was found to be 53.236, 47.039, 38.729, 36.56 mg/L, respectively; LC_{50} of $K_2Cr_2O_7$ was found to be 366.367, 319.530, 284.205, 190.757 mg/L, respectively. The safety concentrations of phenol and $K_2Cr_2O_7$ were found to be 0.3656, 1.90757 mg/L. After contamination 96 h, in the 0~42 mg/L concentration scope, phenol has the obvious influence to the *Pseudorasbora parva*'s micronucleus production, also significant increase in micronucleus rate along with the concentration ascension. [Conclusion] Phenol belongs to the high toxic substances to the *Pseudorasbora parva*, $K_2Cr_2O_7$ is a moderately toxic substance to the *Pseudorasbora parva*.

Key words *Pseudorasbora parva*; Phenol; $K_2Cr_2O_7$; Acute toxicity; Genetic toxicity; Safety quality concentration

近年来,随着工农业的快速发展、城市人口的增加和人们生活水平的提高,工业污染、城市排污量大量增加,水体污染现象日趋严重,给我国淡水渔业资源造成了不同程度的危害。其中,重金属是污染水体内的主要污染物之一,而苯酚是一种常见的有机溶剂污染物。

麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)又名罗汉鱼,隶属鲤形目、鲤科、鮡亚科、麦穗鱼属。头尖,略平扁;口上位;无须;背鳍无硬刺;生殖时期雄鱼体色深黑,吻部、颊部出现珠星。雄鱼个体大,雌鱼个体小,差别明显。它是江河、湖泊、池塘等水体中常见的小型鱼类,生活在浅水区,杂食,主食浮游动物,具有适应性广、繁殖力强和竞争性等特点。以前,人们常常将麦穗鱼作为小型野杂鱼类,相关研究报道并不多。郝天和等^[1]对北京地区麦穗鱼、杨竹舫等^[2]对天津地区麦穗鱼、韩希福等^[3]对白洋淀麦穗鱼以及张堂林等^[4-5]对保安湖麦穗鱼的食性、年龄生长和繁殖研究分别进行了报道,但是目前就重金属离子对麦穗鱼的毒性研究报道较少^[6],更缺乏对麦穗鱼的遗传毒性研究。汞、镉、铅、铬等是生物毒性显著的重金属元素,也是环境优先污染物,而苯酚是生产某些树脂、杀菌剂、防腐剂以及药物的重要原料,也是一种常用的电解质,能够在鱼体内富集,超过一定剂量就会对机体产生毒性作用。为此,笔者就水体中铬对麦穗鱼的急性毒性以及苯酚对麦穗鱼的急性毒性和遗传毒性作用进行了分析,以确定苯酚和铬对麦穗鱼的急性毒性效应和安全浓度,旨在为水产养殖业生产捕捞环境的水质科学管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用鱼。试验用鱼为 2010 年 7 月上旬从洛阳市隋唐遗址公园人工湖内一次性捕获的麦穗鱼仔鱼,平均体长为 (3.65 ± 0.35) cm,平均体重为 (0.24 ± 0.05) g,将捕获的麦穗鱼在实验室水族箱驯养 1 周后,选择身体健康、反应灵敏的麦穗鱼作为试验对象。

1.1.2 试剂。 $K_2Cr_2O_7$ (分析纯),购自天津市开通化学试剂有限公司;苯酚(分析纯),购自上海化学试剂厂。

1.2 试验方法

1.2.1 试验条件。试验在洛阳师范学院生命科学系水产试验室进行。试验用水为采用国际标准配制的稀释水^[7],水温为 (33.95 ± 4.45) °C,总硬度为 (6.51 ± 0.23) mmol/L, pH 为 (7.3 ± 0.1) , DO 浓度为 7.53 mg/L。

1.2.2 急性毒性试验。根据预试验结果,按照等对数间距设置 5 个质量浓度梯度组^[8]。将仔鱼置于处理容器中,每个容器中放入 10 尾鱼苗,加入 2 L 不同浓度的处理液,每组设置 3 个平行试验,另设 1 个对照组。试验采用静水生物测试法^[9],试验开始 8 h 内连续观察,以后分别于 24、48、72、96 h 后记录鱼苗的存活情况和中毒反应症状,及时捞出死亡个体。为了避免饵料的影响,试验期间不喂食。整个试验过程中不更换试液。

1.2.3 遗传毒性试验。

(1) 鱼染毒处理。先进行预备试验,确定苯酚的 LC_{50} ,再在此 LC_{50} 附近按照等对数间距设置 4 个质量浓度梯度组。将仔鱼置于处理容器中,每个容器中放入 10 尾仔鱼,加入 2 L 不同浓度的处理液,每组设置 3 个平行试验,另设 1 个对照

作者简介 张海艳(1977-),女,山西长治人,讲师,硕士,从事生物化学教学与研究。

收稿日期 2013-03-12

组。染毒 96 h 后随机取样制作血涂片,观察并计数。

(2) 血涂片制备与镜检。将染毒后的麦穗鱼用纱布裹住甩晕后擦干,用手术剪剪断尾取血,制成血涂片,自然干燥后用甲醇-冰醋酸液固定 15 min,风干后用吉姆萨染液染色 15 min。然后用蒸馏水冲洗,晾干。

将血液涂片置于高倍显微镜下进行观察。在有核血细胞的胞浆中,与主核分开,呈圆形或椭圆形,大小为主核 1/3 以下的边缘光滑的蓝紫色颗粒,并记录总数。每张涂片观察 1 000 个左右的细胞,结果用千分率来表示。

1.3 数据处理 根据苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的急性毒性试验结果,采用死亡率-质量浓度的线性回归方程对试验数据进行处理与分析。计算 96 h 的半致死质量浓度 (LC_{50})^[8],并按照以下公式求出苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的安全质量浓度 (SC):

$$SC = LC_{50} \times 0.01$$

根据苯酚对麦穗鱼仔鱼的遗传毒性试验结果,采用单因子方差分析和微核率-质量浓度线性回归方程对试验数据进行处理与分析。

2 结果与分析

2.1 苯酚和铬处理后麦穗鱼仔鱼的死亡情况 由表 1 可知,对照组各处理时间仔鱼的死亡率均为 0,而在处理组中麦穗鱼仔鱼的死亡率随着苯酚浓度的升高和处理时间的延长而上升。苯酚低浓度组 24 h 的死亡率大多数为 0,与对照组接近,随着处理时间的延长,死亡率虽增加却在 96 h 时没有出现全部死亡的现象;高浓度组 24 h 的死亡率较低浓度组明

显增加,并出现全部死亡的现象,且随着浓度的升高全部死亡现象出现的时间越早。铬的低浓度组 24 h 死亡率与对照组相比有所增加,随着处理时间的延长,死亡率增加且在 96 h 时几乎全部死亡;高浓度组 24 h 的死亡率较低浓度组明显增加,且在 48 h 时几乎全部死亡。

2.2 苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的急性毒性效应及安全质量浓度 由表 1 可知,苯酚对麦穗鱼仔鱼的毒性较大,而铬的毒性较弱。

表 1 苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的急性毒性试验结果

试验药物	试验浓度 mg/L	不同时间的死亡率//%			
		24 h	48 h	72 h	96 h
对照组	0.0	0	0	0	0
	25.0	0	0	0	0
	29.7	0	3.33	6.66	9.99
苯酚	35.4	3.33	9.99	13.33	16.65
	42.0	40.00	43.33	86.67	86.67
	50.0	43.33	60.00	86.67	100
	300.0	10.00	30.00	60.00	90.00
	322.0	10.00	40.00	70.00	90.00
$K_2Cr_2O_7$	346.0	30.00	80.00	100	100
	372.0	30.00	100	100	100
	400.0	90.00	100	100	100

由表 2 可知,麦穗鱼仔鱼对苯酚安全质量浓度 (SC) 分别为 0.365 6 和 1.907 57 mg/L,苯酚和铬的安全质量浓度均高于渔业水质标准^[9]所规定的指标。这表明麦穗鱼仔鱼属于对苯酚具有较低耐受性,对铬具有高耐受性的小型鱼类。

表 2 苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的急性毒性 ($n=5$)

试验药物	时间//h	回归方程	R^2	F	LC_{50} //mg/L	SC //mg/L
苯酚	24	$y = 7.004x - 7.090$	0.780 7	10.677 6	53.236	0.365 7
	48	$y = 8.136x - 8.607$	0.933 4	42.021 7	47.039	
	72	$y = 11.650x - 13.499$	0.877 4	21.466 2	38.729	
	96	$y = 13.607x - 16.268$	0.944 8	51.363 3	36.560	
$K_2Cr_2O_7$	24	$y = 18.845x - 43.317$	0.792 2	11.438 9	366.367	1.907 6
	48	$y = 22.941x - 52.456$	0.928 5	38.943 1	319.530	
	72	$y = 15.528x - 33.100$	0.781 8	10.746 3	284.205	
	96	$y = 6.521x - 9.870$	0.748 6	8.934 9	190.757	

注: x 为处理药物的浓度对数, y 为死亡率概率单位, R^2 为决定系数。

2.3 苯酚对麦穗鱼仔鱼的致突变毒性效应 麦穗鱼可以作为毒物遗传毒性效应的试验动物^[10]。分别用 4 个等对数浓度梯度的苯酚处理麦穗鱼,染毒 96 h,能诱导红血细胞产生微核。从表 3 可以看出,在对照组中微核出现的数量和微核

表 3 苯酚对麦穗鱼仔鱼血细胞微核产生的影响

苯酚浓度 mg/L	鱼数 条	观察细胞数 个	微核数 个	微核率 ‰
0	6	6 000	19	3.160 a
25.0	6	6 000	31	5.167 b
29.7	6	6 000	38	6.333 b
35.4	6	6 000	52	8.667 c
42.0	6	6 000	92	15.333 d

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上显著差异 ($P < 0.05$)。

率为 19 和 3.167‰;随着苯酚浓度的增加,微核出现的数量和微核率亦增加。当苯酚浓度达到 42.0 mg/L 时,微核率达到最大值 15.333‰。这表明在 0~42.0 mg/L 的浓度范围内苯酚对麦穗鱼仔鱼微核的产生具有明显的影响,且随着浓度的升高而增加。

3 结论与讨论

3.1 中毒现象 在试验过程中,药物浓度越高,处理时间越长,麦穗鱼的中毒症状越明显。中毒初期,麦穗鱼异常兴奋,上下窜动,四处冲撞,急躁不安,并有狂游跃出水面的现象,体色不变,体表粘液很少。随着中毒时间的延长,鱼游动减慢,渐渐安静下来,静卧水底。随着离子浓度的增加和处理时间的延长,麦穗鱼的活动能力明显降低。中毒后身体僵直、侧翻,肛门和眼处充血并溢出,以镊子夹其口裂,身体完

全不动,用大量清水冲洗,再放入清水中,5 min 后仍不动即可确定为个体死亡^[11]。

3.2 苯酚和铬对麦穗鱼仔鱼的急性毒性效应及其安全质量浓度评价 苯酚和铬的毒性大小不仅与药物的种类、存在状态、温度、pH 等理化条件有关,还与生物种类、发育阶段、质量浓度以及生物体的自身解毒机制有关^[12]。

该试验结果表明,苯酚对麦穗鱼仔鱼的 24、48、72、96 h 的半致死浓度分别为 25.0、29.7、35.4 和 42.0 mg/L,安全质量浓度为 0.365 6 mg/L。铬对麦穗鱼仔鱼的 24、48、72、96 h 的半致死浓度分别为 366.367、319.530、284.205 和 190.757 mg/L,安全质量浓度为 1.907 57 mg/L。根据有毒物质对鱼类的毒性标准^[4],苯酚对麦穗鱼属于高毒物质,铬对麦穗鱼属于中等毒性物质。

铬对麦穗鱼的安全质量浓度为 1.907 57 mg/L,低于黄鳝的 6.055 mg/L^[13],高于鳊鱼幼鱼的 6.88 mg/L^[14],更极显著低于金鱼幼鱼^[15]和鲫鱼^[16]的安全质量浓度,但是高于我国现行的渔业水质标准^[9](铬 \leq 0.1 mg/L)的规定。由此可见,麦穗鱼仔鱼对铬的耐受性比其他鱼类弱,对铬敏感,但在铬含量超标的水域中也能正常存活和生长。此外, $K_2Cr_2O_7$ 在养殖中可用于预防鱼类及其受精卵的水霉病,因此在麦穗鱼养殖中要谨慎使用 $K_2Cr_2O_7$ 。

3.3 苯酚对麦穗鱼仔鱼微核产生的作用 试剂单一处理的微核率可能与不同试剂的作用机理、作用强度有关,也可能与不同生物种类,试验条件等因素有关。为了研究低浓度苯酚对麦穗鱼的遗传毒性,笔者采用低于 LC_{50} 的不同浓度的苯酚处理麦穗鱼,结果表明即使在安全浓度下苯酚也可以引起其红细胞微核率。当苯酚浓度为 25.0、29.7、35.4 和 42.0 mg/L 时,麦穗鱼红细胞中的微核率分别约为对照组的 2.58 倍、3.31 倍、4.33 倍、7.67 倍。微核率随处理浓度的增

加而升高。微核是细胞受遗传毒物作用后由断裂的染色体断片或滞后的染色体形成的^[17],与染色体损伤和畸变密切相关。据此推测,苯酚具有较强的诱变性。在麦穗鱼红细胞微核的观察中,笔者看到的红细胞大多为单微核血细胞,很少看到双微核血细胞,没有看见 3 个或 3 个以上的微核血细胞。

参考文献

- [1] 郝天和,高德伟. 麦穗鱼在北京地区的食性和繁殖[J]. 动物学杂志, 1983(4):9-11.
- [2] 杨竹舫,李明德. 天津地区麦穗鱼的生物学[J]. 动物学杂志,1989,24(1):11-14.
- [3] 韩希福,李书宏. 白洋淀鱼的生物学[J]. 河北渔业,1995(2):3-6.
- [4] 张堂林,崔奕波,方榕乐,等. 保安湖麦穗鱼种群生物学V. 生产力[J]. 水生生物学报,2001,25(4):331-337.
- [5] 张堂林,崔奕波,方榕乐,等. 保安湖麦穗鱼种群生物学IV. 种群动态[J]. 水生生物学报,2000,25(4):537-545.
- [6] 宋维彦,解相林. 重金属离子对麦穗鱼的急性毒性作用研究[J]. 江苏农业科学,2010(1):239-241.
- [7] 雷衍之. 淡水养殖水化学[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [8] 周永欣,章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京:农业出版社,1989.
- [9] 国家环境保护局. GB11067-1989. 渔业水质标准[S]. 北京:中国标准出版社,1990.
- [10] 陈叙龙,张富国,张文成,等. 亚硒酸钠对麦穗鱼的遗传毒性效应研究[J]. 南开大学学报,1994(3):87-90.
- [11] 万全,王婧. 硫酸铜等 4 种药物对黄鳝鱼种的急性毒性试验[J]. 水产科学,2005,24(12):29-30.
- [12] 张传永,孙振兴. Cd^{2+} 对中国蛤蚧的急性毒性及 SOD 活性的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(1):193-195.
- [13] 陈细香,谢嘉华,卢昌义,等. 汞和铬对黄鳝的急性毒性研究[J]. 水利渔业,2008,28(2):103-104.
- [14] 陈万光,周芬娜,邓平平,等. 3 种常用药物对高体鳊鱼幼鱼的急性毒性研究[J]. 水产科学,2010,29(9):543-545.
- [15] 卜艳珍,杨利晓. 4 种重金属对金鱼幼鱼的急性毒性研究[J]. 水利渔业,2007,27(1):85.
- [16] 杨丽华,方展强,郑文彪. 重金属对鲫鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 华南师范大学学报:自然科学版,2003(2):101-106.
- [17] 吕晓华,张立实,王瑞淑. 体外微核试验的方法研究进展[J]. 癌变·畸变·突变,1999,11(2):109-112.
- [105] CHOISY M, BROWN S, LAFFERTY K, et al. Evolution of trophic transmission in parasites: why add intermediate hosts[J]. American Naturalist, 2003, 162: 172-181.
- [106] SCHRAG S J, WIENER P. Emerging infectious disease-what are the relative roles of ecology and evolution? [J]. Trends in Ecology and Evolution, 1995, 10: 319-324.
- [107] DASZAK P, CUNNINGHAM A A, HYATT A D. Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health[J]. Science, 2000, 287: 443-449.
- [108] CHAPMAN C A, COLIN A, GILLESPIE T R, et al. Primates and the ecology of their infectious diseases: how will anthropogenic change affect host-parasite interaction[J]. Evolutionary Anthropology, 2005, 14(4): 134-144.
- [109] KINNAIRD M F, OBRIEN T G. Ecotourism in the Tangkok DuaSudara nature reserve: opening pandora's box? [J]. Oryx, 1996, 30: 65-73.
- [110] GOODWIN H. In pursuit of ecotourism[J]. Biodivers Conser, 1996, 5: 277-291.
- [111] WALLIS J, LEE D R. Primate conservation: the prevention of disease transmission[J]. International Journal of Primatology, 1999, 20: 803-826.
- [112] WALLIS J. Prevention of disease transmission in primate conservation [J]. Ann NY Acad Sci, 2000, 916: 691-693.
- [113] VAN H K, ZUCKERMAN J, CASTELLI F, et al. Traveler's knowledge, attitudes, and practices on prevention of infectious diseases: results from a pilot study[J]. Journal of Travel Medicine, 2003, 10(2): 75-78.
- [114] VAN H K, CASTELLI F, ZUCKERMAN J, et al. Knowledge, attitudes and practices in travel-related infectious diseases: the European airport survey[J]. Journal of Travel Medicine, 2004, 11: 3-8.
- [115] WILDER S A, KHAIRULLAH N S, SONG J H, et al. Travel health knowledge, attitudes and practices among Australasian travelers [J]. Journal of Travel Medicine, 2004, 11: 9-15.
- [116] MUDIKIKWA A B, CRANFIELD M R, SLEEMAN J M, et al. Clinical medicine, preventative health care and research on mountain gorillas in the Virunga Volcanoes region [M]// ROBBINS M M, SICOTTE P, STEWART K J. Mountain Gorillas: Three Decades of Research at Karisoke. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 341-360.
- [117] MIKOTA S K, AGUILAR R F. Management protocols for animals in captive propagation and reintroduction programmes [J]. Revue Scientifique et Technique de L Office International des Epizooties, 1996, 15: 191-208.
- [118] RYAN S J, THOMPSON S D. Disease risk and inter-institutional transfer of specimens in cooperative breeding programs; herpes and the elephant species survival plans [J]. Zoo Biology, 2001, 20: 89-101.

(上接第 5388 页)