

敌百虫对水丝蚓的毒害

乔淑晶 范学铭* 方芳 陈凤虎 陈辉

(哈尔滨师范大学 生命与环境科学学院 生物系 哈尔滨 150080)

摘要:采用急性毒性方法测定了被不同浓度敌百虫毒害的水丝蚓(*Limnodilus hoffineisteri*)半致死浓度(LC₅₀)。利用测定酶活性方法检测了水丝蚓超氧化物歧化酶(SOD)的变化及中毒后水丝蚓喂饲的强壮水螅(*Hydra robusta*)SOD的改变。(1)敌百虫对水丝蚓48 h LC₅₀为3.29 mg/L。敌百虫对水丝蚓SOD活性影响显著($P < 0.05$)。在低浓度1~4 mg/L时,SOD活性呈上升趋势,但随浓度增加至5 mg/L,SOD活性开始下降。(2)用1~8 mg/L中毒后的水丝蚓依次喂饲水螅,SOD活性呈上升趋势。实验结果表明,敌百虫作为重要的杀虫剂或作为防治鱼病的药物,对水丝蚓造成胁迫,并在一定浓度范围内直接或间接地影响以其为食的动物的生存,以至危害生命。

关键词:敌百虫 水丝蚓 强壮水螅 半致死浓度 超氧化物歧化酶

中图分类号:Q494 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)06-92-05

The Poisoning of Metriphionate to *Limnodilus hoffineisteri*

QIAO Shu-Jing FAN Xue-Ming FANG Fang CHEN Feng-Hu CHEN Hui

(Department of Biology, College of Life and Environment Sciences, Harbin Normal University, Harbin 150080, China)

Abstract: This article describes the poisoning of metriphionate to *Limnodilus hoffineisteri*. The LC₅₀ of metriphionate to *L. hoffineisteri* was determined, and superoxide dismutase (SOD) changes in *L. hoffineisteri* and SOD changes in hydra feeding with poisoned *L. hoffineisteri* were measured. The LC₅₀ of metriphionate to *L. hoffineisteri* was 3.29 mg/L. The SOD activity in *L. hoffineisteri* was significantly affected by metriphionate ($P < 0.05$). Low concentration (1–4 mg/L) of metriphionate increased SOD activity, while high concentration (5 mg/L) of metriphionate decreased SOD activity. When hydras were fed with *L. hoffineisteri* which had been poisoned in 1–8 mg/L metriphionate, SOD activity was increased. It is proved that metriphionate an important insecticide or a drug which is used to prevent fish diseases, threatens the survival of *L. hoffineisteri* and affects the predators of *L. hoffineisteri* indirectly.

Key words: Metriphionate; *Limnodilus hoffineisteri*; *Hydra robusta*; LC₅₀; Superoxide dismutase

水丝蚓(*Limnodilus hoffineisteri*)为水生环虫类,栖息于少氧和有机物污染严重的水中,对环境适应能力较强,为底栖种类。分布于我国各淡水水域,也是鱼类或其他捕食动物的饵料。材料易得,可作为实验动物的良好材料。强壮水螅(*Hydra robusta*)属刺胞动物,生活在清澈、缓流、有水生植物的淡水中,附着在植物的茎上及叶子的背面。饥饿时,充分伸展触手,捕捉水蚤、水丝蚓、孑孓等为食^[1]。敌百虫(Metriphionate)作为一种常见的杀虫药剂和防治

鱼病的药物被广泛使用,势必会对淡水生物体的生存造成影响与危害。

配制不同浓度的敌百虫毒害水丝蚓以及将中毒的水丝蚓作为食物喂饲水螅直至对动物造

基金项目 黑龙江省自然科学基金资助项目(No. TC2005-18), 黑龙江省教育厅自然科学基金资助项目(No. 10541096);

* 通讯作者, E-mail: fanxueming996@163.com;

第一作者介绍 乔淑晶,女,硕士研究生,研究方向:水生生物学。

收稿日期 2006-05-29,修回日期 2006-09-29

成伤害,目前未见报道。本实验采用不同浓度敌百虫对水丝蚓进行毒害,测定 LC_{50} 和水丝蚓超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化,并将中毒后的水丝蚓作为食物喂饲水螅测定对水螅 SOD 的影响。

SOD 是存在于生物细胞中消除超氧阴离子自由基(O_2^-)的酶类之一,将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 和 O_2 。在正常的情况下,生物体内的自由基产生与消除处于平衡状态,当生物体受到环境污染胁迫时,自由基的量增加,表现出 SOD 的变化,测定 SOD 的变化能显示出动物体受到环境胁迫的程度。

1 材料与方法

1.1 实验动物

水丝蚓购自哈尔滨市花鸟鱼市场,在摄氏 15~18℃ 条件下,培养于大培养皿中,每天清洗一次。2~3 d 后选取长度相对一致的个体为实验动物。

强壮水螅^[2]2005 年 8 月采于黑龙江省五常市郊区一水域,培养于烧杯中,温度在摄氏 20~22℃。培养用水为储存 15 d 以上的自来水,每天按时喂裸腹蚤(*Moina* sp.)一次。及时清除水螅排泄物和水蚤的残体,注意保持水螅体表及生活水体的洁净,1 周左右换水一次。在喂食 12~13 h 后,选取健康、大小相近的水螅个体(未产生芽体的成熟个体)作为实验材料。

1.2 药剂

敌百虫购于哈尔滨市鱼药商店。

1.3 方法

1.3.1 急性毒性实验^[3]

水丝蚓:设处理组和对照组。处理组:将敌百虫制成较大的浓度范围,用水丝蚓进行预实验,以确定全致死浓度和最小抑制浓度。在此基础上选择实验浓度,用梯度稀释法,配制成 1 mg/L、2 mg/L、3 mg/L、4 mg/L、5 mg/L、6 mg/L、7 mg/L 和 8 mg/L 敌百虫溶液。每种浓度设定为 A 液和 B 液。实验时,为了减小误差,先将实验动物放入 A 液中,尽量减少带入水分,2 min 后再移入 B 液中。随机取 10 只水丝蚓为一组,共 8 组,分别放入 1~8 mg/L 的实验溶液中。重复 4 次。对照组一组 10 只水丝蚓。处理组、对照

组所用溶液为 30 ml,置于直径为 12 cm 的培养皿中,温度为(22±0.5)℃。48 h 时检查,记录数据。根据 48 h 动物死亡率计算 LC_{50} 。水丝蚓的中毒症状主要表现为:身体泛白,失去伸缩能力,用解剖针碰触,无反应为死亡特征。

水螅:同样设处理组和对照组,随机取 15 只水螅为一组,共 8 组。分别用 1~8 mg/L 敌百虫毒害 48 h 尚未死亡的水丝蚓依次喂饲水螅,将水丝蚓切成长约 1.5 mm 的小段,每只水螅喂一段,重复 4 次。处理组、对照组培养用水 30 ml 于 50 ml 烧杯中,温度为 20~22℃。48 h 检查,记录数据。水螅的中毒症状主要表现为:触手缩短或消失,失去固着能力和捕食能力,缩为一球形,进而解体,以水螅完全解体为死亡特征。

1.3.2 酶活性测定

(1) 粗酶液制备

水丝蚓:取敌百虫处理后的水丝蚓,用清水快速冲洗一次,置于滤纸上吸去多余的水分后称重(w),然后加入 0.5 ml 预冷的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8),用组织研磨器磨成匀浆,4℃,1 200 r/min 条件下离心 10 min,取上清液 0.5 ml,加入 1 ml 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8)定容至 1.5 ml。

水螅:取敌百虫处理过的水丝蚓喂饲过的水螅 30 只,200 r/min 条件下离心 10 min,移去上层的水,用滤纸吸干离心管壁上多余的水分,打开盖子,通风 10 min,称重(w)。之后操作步骤同处理水丝蚓。

(2) 酶活性测定

SOD 酶的测定参照自俊清等^[4]的方法并稍作修改。

1.3.3 计算方法

LC_{50} 值的计算方法:采用概率单位法,当浓度对数和死亡概率单位呈直线时,计算 LC_{50} 的值。

SOD 酶计算方法:以抑制 NBT 光化还原 50% 作为酶活性单位(U),酶活性以 U/g 鲜重表示 $U = (1 - OA_{\text{样品}}/OA_{\text{对照}}) \times (0.5 \times w \times T \times V_{\text{总}})$,其中, $OA_{\text{样品}}$ 、 $OA_{\text{对照}}$ 分别表示 560 nm 下酶液和

对照的光吸收值 ;T 表示 25℃ 的光照时间 ;V_总 表示反应管液体总体积。

1.3.4 数据处理 采用 SPSS for Windows 10.0 软件中的单因素方差对浓度变量进行分析,以 确定浓度变化对水丝蚓及水螅的 SOD 活性的 影响。

2 结 果

2.1 敌百虫对水丝蚓的急性毒性及中毒水丝 蚓对水螅的毒性作用 敌百虫对水丝蚓的急性 毒性实验结果显示,不同浓度的敌百虫对水丝 蚓造成不同程度的伤害(图 1),随药剂浓度的 增加,水丝蚓死亡率呈逐渐上升的趋势。敌百 虫浓度为 1 mg/L 时,48 h 观察无死亡;当浓度 接近 4 mg/L 时,死亡率接近 50%;浓度达到 8 mg/L 时,水丝蚓全部死亡。实验结果用概率单 位法,求出敌百虫毒害水丝蚓 48 h 的 LC₅₀ = 3.29 mg/L。

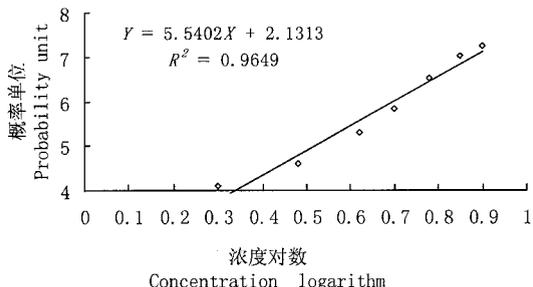


图 1 敌百虫毒害水丝蚓剂量-反应关系

Fig. 1 Dosage-dependent poisoning effect of metrifonate on *L. hoffmeister*-reflection relationship

中毒后的水丝蚓毒害水螅实验结果显示, 对水螅有一定的毒害作用(图 2)。低于 2 mg/L 中毒的水丝蚓对水螅无影响($P > 0.05$),随着 敌百虫作用于水丝蚓浓度的增加,水螅的死亡 率开始逐渐升高,但在本实验范围内,在达到 8 mg/L 时水螅的死亡率只有 11.3%。对照组无 一死亡。

2.2 敌百虫对水丝蚓 SOD 活性的影响及中毒 水丝蚓对水螅 SOD 活性的影响 用浓度为 1 ~ 4 mg/L 的敌百虫分别处理水丝蚓 48 h 后,水

丝蚓的 SOD 活性逐渐上升,与对照组相比较 4 mg/L 时的 SOD 活性变化显著($P < 0.05$)。随着 敌百虫浓度升高至 8 mg/L 时,测得的 SOD 活性 呈现降低的趋势,与 4 mg/L 时比较差异明显($P < 0.05$)。在用 7 ~ 8 mg/L 敌百虫处理水丝蚓 48 h 后,SOD 活性达到 0.156 ~ 0.099 U/g,低于 1 mg/L 时的 0.244 U/g(表 1 图 3)。

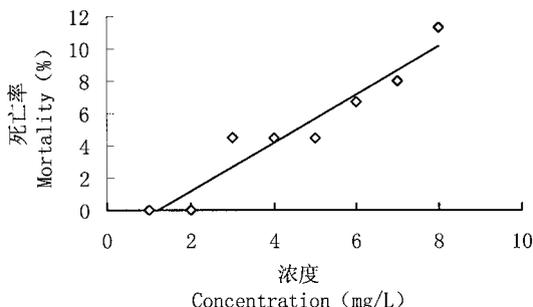


图 2 中毒水丝蚓毒害水螅剂量-反应关系

Fig. 2 Dosage-dependent effect of poisoned *L. hoffmeisteri* on *H. robusta*-reflection relationship

表 1 敌百虫对水丝蚓 SOD 活性的影响($\bar{X} \pm S, n = 8$)
Table 1 The effect of metrifonate on *L. hoffmeisteri* SOD activity

浓度 Concentration(mg/L)	SOD 活性 Activity(U/g)
对照组 Control group	80.242 ± 0.012
1	0.244 ± 0.011
2	0.304 ± 0.013
3	0.399 ± 0.013*
4	0.452 ± 0.015*
5	0.542 ± 0.018*
6	0.316 ± 0.017*
7	0.156 ± 0.014*
8	0.099 ± 0.007*

* 与对照组相比较 $P < 0.05$ 。

* Compared with control group $P < 0.05$ 。

中毒后的水丝蚓毒害水螅的结果显示,1 ~ 2 mg/L 敌百虫毒害后的水丝蚓对水螅的 SOD 活性影响不大,随着浓度的升高,48 h 后 SOD 活性逐渐上升,但差异不显著($P > 0.05$)。当 浓度升至 3 mg/L 时,与对照组相比较变化显著 ($P < 0.05$),之后水螅的 SOD 活性有上升趋势 (表 2 图 4)。

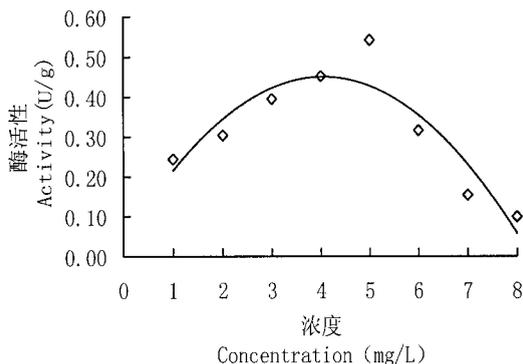


图3 敌百虫对水丝蚓 SOD 活性的影响

Fig. 3 The effect of metrifonate on *L. hoffmeisteri* SOD activity表2 中毒水丝蚓对水螅 SOD 活性影响($\bar{X} \pm S, n = 8$)Table 2 The effect of poisoned *L. hoffmeisteri* on *H. robusta* SOD activity

浓度 Concentration (mg/L)	SOD 活性 Activity (U/g)
对照组 Control group	0.094 ± 0.022
1	0.092 ± 0.020
2	0.094 ± 0.010
3	0.119 ± 0.023 *
4	0.195 ± 0.010 *
5	0.203 ± 0.012 *
6	0.312 ± 0.015 *
7	0.840 ± 0.027 *
8	0.416 ± 0.012 *

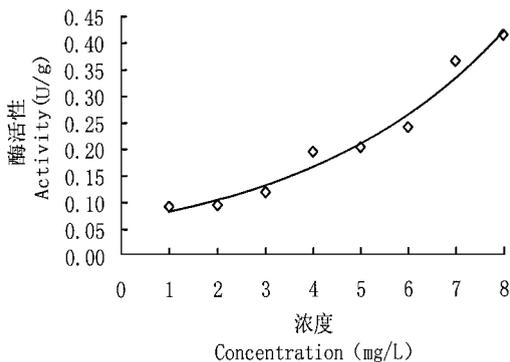
* 与对照组相比较 $P < 0.05$ 。* Compared with control group $P < 0.05$.

图4 中毒水丝蚓对水螅 SOD 活性的影响

Fig. 4 The effect of poisoned *L. hoffmeisteri* on *H. robusta* SOD activity

3 讨论

3.1 敌百虫对水丝蚓的急性毒性及中毒水丝蚓对水螅的毒性作用 敌百虫作为一种广谱性药物,使动物神经中毒,直至死亡。本实验所用敌百虫浓度分别为 1~8 mg/L,在 48 h 内造成水丝蚓死亡率从 34.3%~100%,其 $LC_{50} = 3.29$ mg/L。只有敌百虫浓度为 1 mg/L 时,48 h 内水丝蚓没有死亡个体,但动物表现蠕动缓慢或只有触动才见移动身体。而敌百虫浓度从 2 mg/L 开始,被毒杀致死的水丝蚓个体逐渐增多,浓度增加到 8 mg/L 时,死亡率达到 100%。

水丝蚓是淡水生活的水螅所喜食的一种动物,采用不同浓度敌百虫中毒的水丝蚓作为饵料喂食水螅,也不同程度地危害了水螅的生命,尽管水螅死亡率在 48 h 内不是很高(用 8 mg/L 中毒的水丝蚓致 11.3% 水螅死亡),但也说明了受药剂毒害的水丝蚓对食物链下一级消费者水螅造成一定的危害^[5]。喜生活在污染较重的水体中的水丝蚓作为食物链的一个成员,体内积累的有毒物质将会危害以其为食的下一级消费者。

3.2 敌百虫对水丝蚓及中毒水丝蚓对水螅 SOD 活性的影响 实验结果表明,当水丝蚓受到低浓度敌百虫胁迫时,其 SOD 活性表现为升高,当高浓度敌百虫胁迫时,其组织内 SOD 活性则表现为不同程度的降低^[6,7]。在水丝蚓低浓度中毒的 48 h 内,SOD 活性呈上升趋势,但随着浓度的增加,SOD 活性均呈下降趋势,说明水丝蚓已受到了重度危害。SOD 活性的表现与相关文献的报道结果相一致^[8~10]。同时,中毒后的水丝蚓能够将药物的毒害传递到食物链下一级消费者水螅中,构成对水螅的毒害。随着水丝蚓中毒的加深,食用了中毒水丝蚓的水螅的 SOD 活性呈上升趋势,说明对水螅胁迫递增,在本实验中并未出现 SOD 活性下降,这与敌百虫在水丝蚓体内中毒与积累的程度有直接关系^[11,12]。

3.3 小结 一定浓度的敌百虫对水丝蚓造成危害直至死亡,积累于水丝蚓体内的敌百虫对

水螅亦可致死亡,并直接或间接对 2 种动物 SOD 活性均产生不同程度的影响。

参 考 文 献

- [1] 范学铭,陈凤虎,张彦帅等.黑龙江省水螅分布及适应性分析.哈尔滨师范大学学报,2003,19(3):73~76.
- [2] 史新柏,丁曙微,范学铭等.强壮水螅的特征及其与寡水螅的种间差别问题.动物学报,1987,33(2):174~179.
- [3] 范学铭,付海燕,王文敬等.强壮水螅(*Hydra robusta*)和水丝蚓(*Limnodrilus* sp.)对七种洗衣粉毒性的反应.水产学杂志,2001,14(1):61~65.
- [4] 自俊清,邓希贤,金虬等.氮蓝四唑光照法实验操作的改进及效果.北京师范大学学报(自然科学版),1998,34(1):101~102.
- [5] 沈韞芬,章宗涉.水污染生物学问题.见:刘建康等编著.高级水生生物学(第三版).北京:科学出版社,1999.
- [6] 方展强,张凤君,郑文彪等.多氯联苯对剑尾鱼超氧化物歧化酶活性的影响.中国实验动物学报,2000,24(3):217~220.
- [7] 赵元凤,吕景才,宋晓阳等.镉污染对鲢鱼超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的影响.农业生物技术学报,2002,10(3):267~271.
- [8] Forlin L, Norrgren L. Physiological and morphological Studies of feral perch before and after remediation of a PCB contaminated lake järnsjön. *Ambio*, 1998, 27(5):418~423.
- [9] 沈盎绿,沈新强.柴油对斑马鱼超氧化物歧化酶和过氧化物酶的影响.海洋渔业,2005,27(4):314~318.
- [10] 王淑红,王新红,陈荣等.荧蒽、菲、芘对菲律宾蛤仔的超氧化物歧化酶的影响.厦门大学学报,2000,39(4):504~508.
- [11] 楼百丹,范学铭,孙国娜.强壮水螅对凤尾鱼苗的危害.动物学研究,2000,25(4):347~350.
- [12] Peters L D, Livingstone D R. Antioxidant enzyme activities in embryologic and early larval stages of turbot. *J Fish Biol*, 1996, 49(5):986~997.