

## 苯磺隆对鲫鱼肝细胞内膜系统形态 和转氨酶活性的影响

张彬彬<sup>1,2</sup>, 王彦美<sup>1</sup>, 王玉芳<sup>1</sup>, 付娟<sup>1</sup>

(1. 滨州学院 生命科学系, 山东 滨州 256603; 2. 滨州市食品安全重点实验室, 山东 滨州 256603)

**摘要:** 为揭示苯磺隆对水生生物细胞生物标志物——内膜系统和转氨酶〔谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)〕的影响, 采用等比数列设计质量浓度梯度对鲫鱼进行慢性中毒试验。结果表明: 随苯磺隆质量浓度的增加, 鲫鱼肝细胞内膜系统中线粒体肿胀及空泡化, 内质网空泡化, 异噬型溶酶体增多。0.64~5.07 mg/L 的苯磺隆处理 24 h、48 h、96 h, 均使上述 2 种转氨酶活性增强, 96 h、10.14 mg/L 苯磺隆处理组 GPT 活性明显低于同等质量浓度下 48 h 处理组, 提示苯磺隆对水生生物标志物具有一定的毒性影响。

**关键词:** 苯磺隆; 鲫鱼; 肝脏; 内膜系统; 谷丙转氨酶; 谷草转氨酶

**中图分类号:** X503.225 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)10-0145-04

## Effects of Tribenuron-methyl on Hepatic Endomembrane System and Aminotransferase of *Carassius auratus*

ZHANG Bin-bin<sup>1,2</sup>, WANG Yan-mei<sup>1</sup>, WANG Yu-fang<sup>1</sup>, FU Juan<sup>1</sup>

(1. Life Science Department of Binzhou University, Binzhou 256603, China;

2. Key Laboratory for Food Safety of Binzhou, Binzhou 256603, China)

**Abstract:** To study the effects of tribenuron-methyl on biomarkers of aquatic organism cells in the intima and on two aminotransferase, GPT and GOT, a chronic poisoning test was performed by geometric sequence design concentration gradient and the experiment data was analyzed by factorial design variance. The results showed that with concentration elevated, mitochondrion swelled and vacuolated, ER vacuolated, heterolysosome grew in the hepatic endomembrane system. Treatment of tribenuron fluid lower of 0.64—5.07 mg/L caused the enhancement of two transaminase activity. However, the group of high concentration of 10.14 mg/L decreased their activities after 96 h, indicating that tribenuron-methyl has toxicity impact on aquatic biomarkers.

**Key words:** tribenuron-methyl; *Carassius auratus*; hepar; endomembrane system; GPT; GOT

苯磺隆(tribenuron-methyl)为内吸传导选择性麦类作物高效磺酰脲类除草剂, 又名 DPX-L5300、Express TM、巨星、阔叶净。通过植物的根、茎、叶吸收后, 在植株体内传导, 通过抑制乙酰乳酸合成酶(ALS)的活性, 阻碍缬氨酸与异亮氨酸生物合成, 使植物生长受抑制, 导致植株在 1~3 周内死亡。但农药在喷洒过程中会散落在土壤中, 最终随雨水的冲刷进入水体, 从而对土壤生物、水生生物乃

至人体造成影响。李淑梅等<sup>[1]</sup>研究表明, 随着苯磺隆浓度的提高, 土壤中动物的数量和种类呈递减趋势。杜慧玲等<sup>[2]</sup>报道, 苯磺隆对土壤微生物生长有显著的抑制或刺激作用。李春阳等<sup>[3]</sup>研究表明, 苯磺隆对大鼠睾丸组织细胞、肾有轻度的毒性作用。苯磺隆对水生生物生理功能是否有影响, 尚未见报道。鉴于此, 探讨了苯磺隆对鲫鱼肝细胞 2 类生物标志物(内膜系统和转氨酶)的影响, 为研究苯磺隆

收稿日期: 2012-04-03

基金项目: 滨州市科技发展计划项目(2011ZC0704)

作者简介: 张彬彬(1971-), 女, 山东惠民人, 副教授, 硕士, 主要从事生理学研究。E-mail: bzzbbwj@126.com

对水生生物的影响提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

粉剂苯磺隆由金华市金龙化工有限公司提供;鲫鱼购自滨州市六街水产批发市场,鲫鱼平均体质量 $(36.5 \pm 2.4)$ g,体长 $(12.3 \pm 1.5)$ cm;内膜系统观察使用日产 JEM-140a 投射电镜,内膜系统拍照使用 Gatan-792 CCD 数字图像采集系统;转氨酶试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 肝细胞电镜切片的制备 参照杨怡等<sup>[4]</sup>的电镜切片制备方法。

1.2.2 试验分组及转氨酶活性的测定 通过急性中毒试验,得出苯磺隆对鲫鱼的 24 h 半数致死量为 20.27 mg/L,48 h 半数致死量为 19.24 mg/L,安全质量浓度为 5.2 mg/L。以此为标准,采用等比数列设置慢性质量浓度组,分别为 0.64、1.27、2.54、5.07、10.14 mg/L (依次为 1~5 组),每个处理设 2 个平行。0 组为不加苯磺隆的对照组。每间隔 24 h 换 1 次处理溶液。24、

48、96 h 时,分别从每组溶液中取出适量鲫鱼,取其肝脏。按照南京建成生物工程研究所提供的方法进行肝脏组织匀浆的制备和谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)活性的测定。为直观反映苯磺隆对鲫鱼肝细胞转氨酶活性的影响,计算其诱导率。诱导率=(苯磺隆处理组鲫鱼肝细胞转氨酶活性-同时段对照组转氨酶活性)/同时段对照组转氨酶活性 $\times 100\%$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 苯磺隆对鲫鱼肝细胞内膜系统的影响

苯磺隆对鲫鱼肝细胞内膜系统的影响见图 1。由图 1 可以看出,0 组(CK)细胞内线粒体嵴多、明显,有丰富的粗面内质网。1 组内质网明显比 0 组丰富。2 组线粒体肿胀、嵴减少,并且 1、2 组均有大量的异噬型溶酶体出现。3 组线粒体开始出现肿胀现象,嵴明显比 0 组减少。4 组内质网有空泡化现象。5 组线粒体有空泡现象。

电镜照片显示,随苯磺隆质量浓度的增加,肝细胞内膜系统中线粒体出现嵴减少、肿胀、空泡化,内质网空泡化,异噬型溶酶体增多。

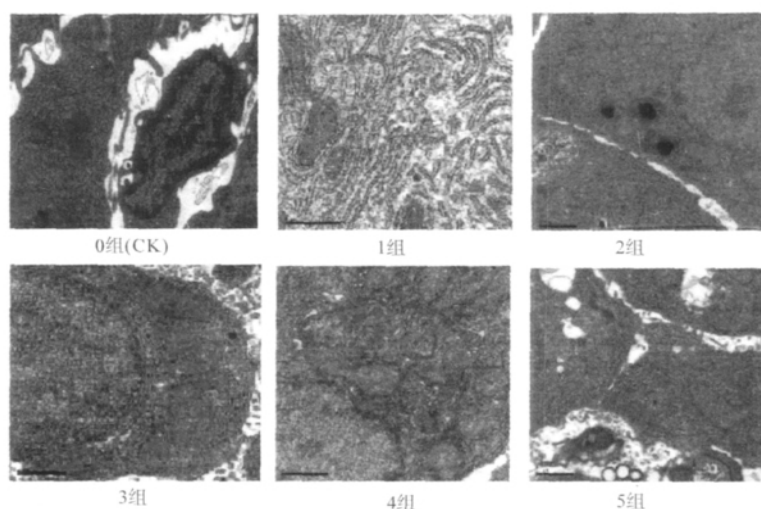


图 1 不同质量浓度苯磺隆对鲫鱼肝细胞线粒体、内质网、溶酶体等内膜系统的影响

### 2.2 苯磺隆对鲫鱼肝细胞转氨酶活性的影响

2.2.1 谷丙转氨酶(GPT)活性 苯磺隆处理后 GPT 活性变化见表 1。从表 1 可以看出,5 个试验组测得的酶活性均高于对照组,诱导率均大于 0,反映了短时间苯磺隆处理可诱导 GPT 活性升高,加强对毒物的排出。但各组 96 h 的酶活性和诱导率均低于同一组 48 h 的,反映出鲫鱼肝细胞长期处于苯磺隆中毒这一不良状态下,功能开始下降,说明鲫鱼肝中 GPT 活性与染毒质量浓度和时间长短有关。

经析因设计的方差分析,不同质量浓度间的差别有统计学意义( $F=170.43, P<0.001$ ),不同的时间点差别有统计学意义( $F=82.56, P<0.001$ ),且质量浓度与时间之间存在交互作用( $F=11.89, P<0.001$ ),即不同质量浓度不同时刻 GPT 的变化是不同的。24 h 的第 2、4 组,48 h 的第 1、5 组和 96 h 时第 3 组与对照组相比,差异均达显著水平( $P<0.05$ );24 h 的第 3 组,48 h 的第 2、3、4 组以及 96 h 的第 2 组与对照组相比,差异均达极显著水平( $P<0.01$ )。

2.2.2 谷草转氨酶(GOT)活性 苯磺隆处理后

GOT 活性变化见表 2。从表 2 可以看出,鲫鱼肝细胞 GOT 的活性变化趋势与 GPT 相似:除去 96 h 的第 5 组 GOT 活性低于对照组,诱导率为-10.51%以外,其余苯磺隆处理组 GOT 活性均被诱导,但随着处理时间的延长,诱导率有所下降,96 h 的 GOT 活性低于 48 h 处理组。说明肝细胞随着处于不良状态下时间的延长,肝组织受到一定程度的损伤,抑制了肝细胞中 GOT 活性。

表 1 苯磺隆对鲫鱼肝细胞 GPT 活性的影响

组别	24 h		48 h		96 h	
	活性/(U/mg)	诱导率/%	活性/(U/mg)	诱导率/%	活性/(U/mg)	诱导率/%
0	56.70±0.86	—	56.53±2.48	—	56.10±3.44	—
1	67.60±2.33	19.22	76.22±3.19*	34.83	69.56±2.88	23.99
2	80.43±2.61*	41.85	104.07±5.95**	89.40	84.70±2.27**	50.98
3	92.59±2.03**	63.30	89.99±2.64**	59.20	75.26±0.29*	34.15
4	77.26±4.10*	36.26	85.18±0.98**	50.68	66.95±3.06	19.34
5	62.13±3.68	9.58	71.87±2.22*	27.14	56.26±3.17	0.29

注: \*表示与对照组差异显著( $P<0.05$ ), \*\*表示与对照组差异极显著( $P<0.01$ ),下同。

表 2 苯磺隆对鲫鱼肝细胞 GOT 活性的影响

组别	24 h		48 h		96 h	
	活性/(U/mg)	诱导率/%	活性/(U/mg)	诱导率/%	活性/(U/mg)	诱导率/%
0	144.82±6.25	—	149.40±11.84	—	153.26±2.71	—
1	175.88±6.75*	21.45	198.19±9.06**	32.66	182.82±8.28*	17.29
2	197.77±4.84**	36.56	229.77±8.62**	53.80	194.77±4.27**	27.08
3	221.76±3.17**	53.13	215.85±6.00**	44.48	169.49±6.75	10.59
4	184.49±6.46**	27.39	179.92±4.94*	20.43	154.10±5.26	0.55
5	168.60±8.79	16.42	170.85±1.79	14.36	137.15±2.55	-10.51

经析因设计的方差分析,不同质量浓度间差别有统计学意义( $F=114.84,P<0.001$ ),不同的时间点差别有统计学意义( $F=69.58,P<0.001$ ),且质量浓度与时间之间存在交互作用( $F=14.37,P<0.001$ ),即不同质量浓度不同时刻 GOT 的变化是不同的。24 h 的第 1 组,48 h 的第 4 组和 96 h 的第 1 组与对照组相比,差异均达显著水平( $P<0.05$ );24 h 的第 2、3、4 组,48 h 的第 1、2、3 组以及 96 h 的第 2 组与对照组相比,差异均达极显著水平( $P<0.01$ )。

3 结论与讨论

3.1 苯磺隆对鲫鱼肝细胞内膜系统形态的影响

与对照组相比,经苯磺隆处理鲫鱼肝细胞主要表现为线粒体肿胀、嵴减少、空泡以及内质网空泡化,异噬型溶酶体增多等一系列的亚细胞结构形态病变。这些改变大多是细胞不可修复性损伤的标志,预示着活体细胞死亡或坏死的出现<sup>[5]</sup>。同时还发现,随苯磺隆质量浓度的增大,亚细胞结构损伤程度也呈现渐进的变化:第 1、2 组细胞中线粒体、内质网大量增生,说明因低质量浓度苯磺隆刺激,肝细胞出现暂时的应激反应。同时,在第 1、2 组肝细胞吸收的苯磺隆中的有机成分被溶酶体吞噬,而溶酶体又不能对其消化分解,因而异噬型溶酶体大量形成。

此种溶酶体的增多,将影响肝细胞的功能。随着苯磺隆质量浓度的进一步增加,在第 3、4、5 组,线粒体、内质网出现空泡,最终导致肝细胞的损伤。

3.2 苯磺隆对鲫鱼肝细胞转氨酶活性的影响

转氨酶是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移的一类酶,普遍存在于动物、植物组织和微生物中,心肌、脑、肝等动物组织中含量较高,转氨酶参与氨基酸的分解与合成,其中 GPT 和 GOT 是肝脏细胞中活性比较高的 2 种重要转氨酶。转氨酶活性高低能反映出生物体内氨基酸代谢情况,是衡量肝脏功能的生理指标。肝脏既是营养物质消化的主要腺体,也是尿素合成的主要场所,有解毒功能。GPT 和 GOT 活性显著提高,能够加快尿素生成,减少氨基酸代谢产物对机体的毒害<sup>[6]</sup>。

本试验中,2 种转氨酶活性的变化结果表明:各苯磺隆处理组鲫鱼肝细胞 GPT 和 GOT 活性在 24、48 h 都明显高于对照组,反映了短时间苯磺隆处理可诱导这 2 种酶活性提高,加强对毒物的排出。各处理组 2 种酶活性在 96 h 呈现下降趋势,其中第 5 组酶活性明显小于第 4 组的酶活性。反映肝细胞长期处于不良的状态下,功能开始下降<sup>[7]</sup>。

鉴于苯磺隆对水生生物的影响研究不多,本研究为环境保护、渔业生产及合理使用除草剂提供了一定的参考依据。  
(下转第 157 页)

强父本和母本的胸围、体长和体高的选择,以期获得体质量更好的杂交后代,具有实际指导意义。本研究中所建立的模型与肖国亮等<sup>[11]</sup>建立的最优模型不一致,可能是因为研究对象不同、采样地点的自然环境和生产环境不一致引起的。

总之,吐鲁番驴在提纯复壮、培育选育和保种时应以胸围为主并兼顾体长和体高,同时参照最优回归模型可以获得好的效果。由于体质量与胴体、屠宰率、净肉率等屠宰性状有关,因此,对吐鲁番驴的体质量与屠宰性状的相关性有待于进一步的研究。

#### 参考文献:

- [1] 吐鲁番地区畜牧兽医局. 吐鲁番驴产业前景广阔大有可为[EB/OL]. [2010-12-01][2012-04-28]. <http://www.xjxmt.gov.cn/article.asp?id=36259>.
- [2] R Development Core Team. R2. 14. 2[EB/OL]. [2012-02-29][2012-03-10]. <http://cran.r-project.org.html>.
- [3] Jimmy S, David M, Kugonza, *et al*. Variability in body morphometric measurements and their application in predicting live body weight of Mubende and small east African goat breeds in Uganda[J]. Middle-East J Sci Res, 2010, 5(2): 98-105.
- [4] 邱金玲, 阿不都斯木·阿不力木. 浅谈吐鲁番驴及其开发利用[J]. 新疆畜牧业, 2010(5): 58-59.
- [5] Prasad B, Singh C S P, Mishra H R. Note of body weight-measurement relationship in Black Bengal goats[J]. Ind J Anim Sci, 1981, 55: 880-882.
- [6] 袁志发, 周敬芋, 郭满才, 等. 决定系数一通径系数的决策指标[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(5): 131-133.
- [7] 徐俊晓. 统计学与 R 读书笔记. [2012-03-28][2010-09-20]. <http://bbs.Pinggu.org/thread-923292-1-1.html>.
- [8] Emmanuel Paradis. R for Beginners (Chinese) [EB/OL]. [2006-04-12][2012-03-28]. <http://wenku.baidu.com/view/bc4b69ec0975f46527d3e1db.html>.
- [9] 王怀亮. Fisher 判别分析及 R 语言实现[J]. 商业经济, 2011(11): 65-66.
- [10] 王颜颜, 托乎提·阿及德, 肖海霞, 等. 新疆良种驴 DGAT2 基因第 3 内含子 PCR-SSCP 多态性与体尺性状的相关性分析[J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2011, 29(1): 40-44.
- [11] 肖国亮, 姜锋韬, 吕长鹏, 等. 新疆驴成年母驴体质量及体尺性状的相关关系[J]. 畜牧与饲料科学, 2007(6): 55-56.

(上接第 147 页)

#### 参考文献:

- [1] 李淑梅, 盛东峰, 许俊丽. 苯磺隆除草剂对农田土壤动物影响的研究[J]. 土壤通报, 2008, 39(6): 1369-1371.
- [2] 杜慧玲, 郭震宇, 胡学峰, 等. 苯磺隆和 2, 4-D 胁迫对土壤微生物影响的研究[J]. 土壤通报, 2008, 39(6): 1372-1375.
- [3] 李春阳, 李志远, 许东, 等. 苯磺隆对雄性大鼠生殖系统的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2004, 39(4): 608-610.
- [4] 杨怡, 张德添, 张飒, 等. 培养细胞透射电镜超薄切片制备方法[J]. 电子显微学报, 2004, 23(4): 506.
- [5] 周群芳, 傅建捷, 孟海珍, 等. 水体硝基苯对日本青鲈和稀有鮈鲫的亚急性毒理学效应[J]. 中国科学, 2007, 37(2): 197-206.
- [6] Hulka B S, Wilcosk T C, Griffith J D. Biological markers in epidemiology[M]. New York: Oxford Univer Press, 1990.
- [7] 徐晓白. 典型化学污染物中的变化及生态效应[M]. 北京: 科学出版社, 1998.