

氯氰菊酯通过食物链在鲤鱼肾脏和小肠中的生物积累效应

张文雅, 张迎梅

(兰州大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要:以鲤鱼为研究对象,对常用农药氯氰菊酯通过食物链(蔬菜-黄粉虫幼虫-鲤鱼)在鲤鱼肾脏和小肠内的富集效应进行了研究。饲喂的蔬菜农药残留剂量为 $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $10.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,通过 HPLC 定量检测黄粉虫幼虫体内及鲤鱼肾脏和小肠内氯氰菊酯的富集浓度,同时对鲤鱼肾脏和小肠组织结构进行了观察。结果显示,氯氰菊酯在黄粉虫幼虫及鲤鱼体内的富集浓度与剂量呈正相关,在食物链中的富集呈逐级递增,且对黄粉虫幼虫及鲤鱼的摄食情况及活动能力有明显的影响,随着处理时间的延长及剂量的增大,氯氰菊酯对鲤鱼肾脏及小肠结构损伤程度也增大。因此,杀虫剂氯氰菊酯的使用会通过食物链对环境生物乃至人类健康和生态平衡造成影响,应慎重使用。

关键词:氯氰菊酯;食物链;鲤鱼;生物富集

中图分类号:X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)08-1640-05

Bioaccumulation of Cypermethrin in Kidney and Intestine of Carp Through Food Chain

ZHANG Wen-ya, ZHANG Ying-mei

(School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Cypermethrin, which is frequently used in agricultural practice as an important pesticide, was used in this paper to detect the concentration of bio-pollutants in kidney and intestine of carp *Cyprinus carpio* entered through the food chain (cabbage—*Tenebrio molitor* larva—carp). Cabbage plants were spread with cypermethrin to create a gradient of cypermethrin residue value of 0, $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $10.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The values of cypermethrin in the larvae of *T. molitor* as well as in the organs of carps were determined by HPLC. The tissue structures of kidney and intestine of carps were observed for any abnormalities. The results indicated that there was a positive correlation between cypermethrin accumulation values and the residue values. The concentration of cypermethrin in the larvae and in the organs of carps went up as time extends. The concentration of cypermethrin in the intestine was higher than that in the kidney. The appetite and activity of the larvae and the fishes were also appeared to be affected. Cypermethrin was toxic to larvae and caused high mortality in the treated larvae. Further more, the structures of kidney and intestine were appeared to be affected by cypermethrin with the increase of treatment time and dose. Therefore, caution should be taken when use cypermethrin because of its effect on organism, human health and ecological balance.

Keywords: cypermethrin; food chain; *Cyprinus carpio*; bioaccumulation

拟除虫菊酯类农药是 20 世纪 80 年代进入我国的新一代广谱杀虫剂,具有毒力强、用量少、残留量低、药效迅速等优点,被广泛用于农业生产,商品化的拟除虫菊酯有近 40 个品种,在全世界的杀虫剂销售

额中占 19%^[1]。菊酯类农药虽对哺乳动物等非靶生物低毒,但对鱼类等水生动物的毒性却很高。若对其使用不当,残留物进入水环境,将对水生生态及水产养殖造成很大危害^[2-3]。

氯氰菊酯(cypermethrin)又称兴棉保、灭百可,属拟除虫菊酯类农药中重要的一种广谱性杀虫剂,其作用范围广,对于棉花、果树、蔬菜等多种作物的各类害虫均有良好的防治效果,且持效期较长,作用效果迅速。在渔业生产方面,多用于清塘、毒杀杂鱼及

收稿日期:2008-12-08

基金项目:国家自然科学基金(30770390)

作者简介:张文雅(1984—),女,硕士研究生,现主要从事环境生物学方面的研究。

通讯作者:张迎梅 E-mail:ymzhang@lzu.edu.cn

有害生物。

近年来,有关氯氰菊酯对动物的毒理效应已有报道,如氯氰菊酯对大型蚤有明显的毒性效应^[4],体内试验表明,低浓度氯氰菊酯($0.002\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)即可导致果蝇遗传损伤^[5],浓度达 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 即可显著降低氯离子通道的开放率^[6],此外,氯氰菊酯可引起 SD 大鼠肝、脾、肺、肾等脏器不同程度的病理改变^[7],造成大鼠血脑屏障功能障碍^[8],还可使小鼠骨髓细胞姐妹染色单体交换率明显增加^[9]。但有关氯氰菊酯通过食物链的富集作用尚未见研究报道。本研究通过检测氯氰菊酯在食物链传递过程中的生物富集和对鱼体组织器官结构的影响,旨在为建立农药使用安全评价方法等提供生物学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验生物

试验所用健康鲤鱼(*Cyprinus carpio*)购自兰州市张苏滩水产市场,平均体重(302.57 ± 12.63)g,平均体长(19.20 ± 1.37)cm。所有鲤鱼在室内驯养 7 d 后进行试验。所用水为曝气 24 h 自来水,水温(18 ± 1)℃,以氧泵供氧,采用自然光照周期。每日傍晚换水 1 次,每次更换 1/2 的水。

试验用健康黄粉虫幼虫购自兰州市雁滩花鸟鱼市场,以麸皮和卷心菜叶片喂养。

1.1.2 试验药品

农药高效氯氰菊酯(4.5% EC)购自邯郸市瑞田农药有限公司。

氯氰菊酯标准品($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)由农业部环境保护科研监测所提供(GSB G2033-92)。

试验用试剂石油醚、甲醇均为分析纯。

试验用卷心菜购自蔬菜市场,选新鲜幼嫩的菜叶饲喂黄粉虫幼虫。

1.1.3 高效液相色谱条件

采用日本产 SHIMADZU,LC-8A 型高效液相色谱仪,色谱柱 SHIMADZU,VP-ODS($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$)。流动相为甲醇+水=85+15,流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温为室温,检测波长 254 nm,进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.2 方法与步骤

1.2.1 染毒处理

1.2.1.1 蔬菜染毒

根据国家标准 GB 2763—2005 食品中农药最大残留限量规定叶菜类农药氯氰菊酯最大残留量为

$2.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[10],本试验设定蔬菜农药残留值为 A 组 $10.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,B 组 $2.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。染毒方法如下:

准确称取(10.00 ± 0.02)g 卷心菜新鲜嫩叶 2 份,备用。

用加样枪吸取 $112\text{ }\mu\text{L}$ 氯氰菊酯农药原药至 50 mL 容量瓶内,加蒸馏水定容后,均匀喷洒 1.00 mL 稀释液至 10.00 g 菜叶表面,生成农药氯氰菊酯残留量 $10.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的叶菜。

用加样枪吸取 $45\text{ }\mu\text{L}$ 氯氰菊酯原药至 100 mL 容量瓶内,加蒸馏水定容后,均匀喷洒 1.00 mL 稀释液至 10.00 g 菜叶表面,生成农药氯氰菊酯残留量 $2.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的叶菜。

1.2.1.2 黄粉虫幼虫染毒

A、B 组蔬菜叶染毒后撕成小碎片,均匀撒在喂养黄粉虫幼虫的烧杯中,每日早晚更换新鲜染毒蔬菜,以确保黄粉虫幼虫充分取食。处理时间共计 21 d,每组设 3 个重复,另设空白对照组,喂以干净无毒蔬菜叶。

所有黄粉虫幼虫在(18 ± 1)℃培养箱恒温、恒湿培养。每 5 d 筛粪 1 次。

1.2.1.3 鲤鱼染毒

鲤鱼随机分为 5 组,每组 9 尾,设 3 个重复。编号如下:

F_{CT} 组:空白,喂以空白组黄粉虫幼虫。

F_{A1} 组:喂以染毒处理 21 d 的 A 组幼虫,喂养 10 d 后进行后续试验。

F_{A2} 组:喂以染毒处理 21 d 的 A 组幼虫,喂养 20 d 后进行后续试验。

F_{B1} 组:喂以染毒处理 21 d 的 B 组幼虫,喂养 10 d 后进行后续试验。

F_{B2} 组:喂以染毒处理 21 d 的 B 组幼虫,喂养 20 d 后进行后续试验。

每日早晚各喂 1 次,以每次投饵,鲤鱼取食后黄粉虫幼虫略有剩余为限。

1.2.2 氯氰菊酯的提取与检测

对染毒 7、14、21 d 的黄粉虫幼虫及各组鲤鱼肾脏、小肠组织进行氯氰菊酯的提取与检测。称取黄粉虫幼虫或鲤鱼组织(2.00 ± 0.02)g,放在研钵中,加入 2 mL 石油醚,2 mL 蒸馏水,研磨至肉糜,再加 2 次石油醚萃取,匀浆 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,上清液转移至离心管中,浓缩干燥后,流动相定容至 1 mL,冰箱 4℃冷藏备用。用 HPLC 色谱法^[11](标准曲线方程: $y=14\,475x+2\,186.6$, $R^2=0.999$)测定样品中氯氰菊酯含

量,每样做 3 个平行。

1.2.3 组织石蜡切片

分别对处理 10 d 和 20 d 的鲤鱼小肠及肾脏进行石蜡切片处理,采用 Zenker 固定液,按常规方法做石蜡切片,HE 对染。F_{CT}:对照组;F_{A1}:初始浓度 10 mg·kg⁻¹,富集时间 10 d;F_{A2}:初始浓度 10 mg·kg⁻¹,富集时间 20 d;F_{B1}:初始浓度 2 mg·kg⁻¹,富集时间 10 d;F_{B2}:初始浓度 2 mg·kg⁻¹,富集时间 20 d。

1.3 数据处理

原始数据的处理及统计分析采用 SPSS(Version 13.0)软件及 Excel2003 完成,结果以平均值±标准差的形式表示。

黄粉虫幼虫对氯氰菊酯的富集系数 BCF1=黄粉虫幼虫体内氯氰菊酯浓度/染毒菜叶氯氰菊酯浓度

鲤鱼各器官中氯氰菊酯的富集系数 BCF2=鲤鱼相应器官内氯氰菊酯浓度/对应黄粉虫幼虫体内氯氰菊酯浓度

2 结果与分析

2.1 氯氰菊酯对黄粉虫幼虫及鲤鱼的毒性

试验中,处理组黄粉虫幼虫有明显中毒症状,表现为生长发育不良、行动迟缓、拒食,严重的会在短时间内死亡。幼虫粪化率降低且排泄物异常,为黑色粘稠物质,严重的会把虫体黏附在饲养器皿壁上。部分虫体变弯曲,身体逐渐变黑、变软,最终虫体干瘪。虽然黄粉虫幼虫在正常饲养过程中也会出现死亡现象,但是处理组黄粉虫幼虫死亡率明显较高,多数幼虫出现拒食现象,高浓度组表现的尤为明显。

试验期间,各处理组鲤鱼摄食情况良好,鲤鱼健康状况良好,但高浓度处理组鲤鱼表现出活动烦躁现象。

2.2 氯氰菊酯的生物富集

随着富集时间的延长,黄粉虫幼虫体内氯氰菊酯浓度先升高,后期增幅降低,与空白组比较,差异极显著($P<0.01$),低浓度组(B 组)富集系数显著高于高浓度组(A 组)($P<0.05$)(表 1)。黄粉虫幼虫体内氯氰菊酯的富集度与染毒剂量正相关($r=0.888, P<0.01$)。染毒期间,高浓度组(A 组)幼虫拒食现象严重,且死亡率高,可能与农药气味及强毒性影响有关。另外,低浓度组(B 组)幼虫随着饲养时间的延长,体内氯氰菊酯富集浓度有所降低。黄粉虫幼虫的取食行为具有间歇性,并且本试验中黄粉虫幼虫都是经过饥饿 1 d 后才开始富集试验的,所以在前几天影响富集系数的主

表 1 黄粉虫幼虫对氯氰菊酯的富集系数(BCF1)

Table 1 Bioconcentration factor of cypermethrin in *T. molitor* larvae (BCF1)

组别	蔬菜农药残留/ mg·kg ⁻¹	富集时间/d		
		7	14	21
A	10	2.83±0.23a	9.16±0.41a	10.42±0.43a
B	2	40.75±1.42ab	56.19±1.97ab	41.79±1.25ab
CT	0	ND	ND	ND

注:ND 表示未检出;a 表示空白组(CT)与其他组相比较,差异极显著($P<0.01$);b 表示 B 组与 A 组相比较,差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: ND=not detectable; a shows extremely significant difference that CT group compared with A or B group ($P<0.01$); b shows significant difference that A group compared with B group ($P<0.05$). The same as follows.

要因素来自取食量和取食行为。到试验后期,受单一食性以及农药的影响,黄粉虫幼虫处于拒食状态,另外,长期处于有毒环境胁迫下,黄粉虫幼虫对农药的吸收摄取及代谢能力也会改变,受黄粉虫幼虫本身生理生化反应的影响,试验后期氯氰菊酯的富集幅度较前期降低。

鲤鱼各器官内氯氰菊酯浓度随着染毒时间的延长、剂量的升高富集程度增高($P<0.05$),且与染毒剂量呈正相关($r=0.699, P<0.01$)。小肠内氯氰菊酯的富集浓度高于肾脏内的富集浓度(表 2)。由于小肠是营养物质消化和吸收的主要部位,加之有部分染毒虫体残留在小肠中,所以小肠内氯氰菊酯的富集浓度相对较高。而肾脏是废物代谢的一个重要器官,氯氰菊酯在鱼体内可进行缓慢的生物降解,氧化生成其他物质^[12],因此在肾脏中可检测到的氯氰菊酯含量相对较低,可能是部分氯氰菊酯已被鱼体代谢。

2.3 鲤鱼组织结构

与对照组(F_{CT})相比,处理组肠粘膜出现水肿现象,并伴有粘膜上皮细胞变性、脱落,高浓度处理组

表 2 鲤鱼各器官中氯氰菊酯的富集系数(BCF2)

Table 2 Bioconcentration factor of cypermethrin in *C. carpio* organs (BCF2)

组别	鲤鱼器官	富集时间/d	
		10	20
F _A	肠	2.78±0.21a	3.63±0.36a
	肾	2.20±0.18a	3.11±0.38a
F _B	肠	2.89±0.33a	2.97±0.27a
	肾	0.64±0.09a	3.74±0.25a
F _{CT}	肠	ND	ND
	肾	ND	ND

(F_{A2})小肠绒毛受损更为严重(图1)。肾组织结构损伤主要表现在:肾小管、肾小管上皮细胞不同程度的

肿胀与变形坏死;囊腔相对扩大,足细胞消失,高浓度组损伤尤为严重(图2)。

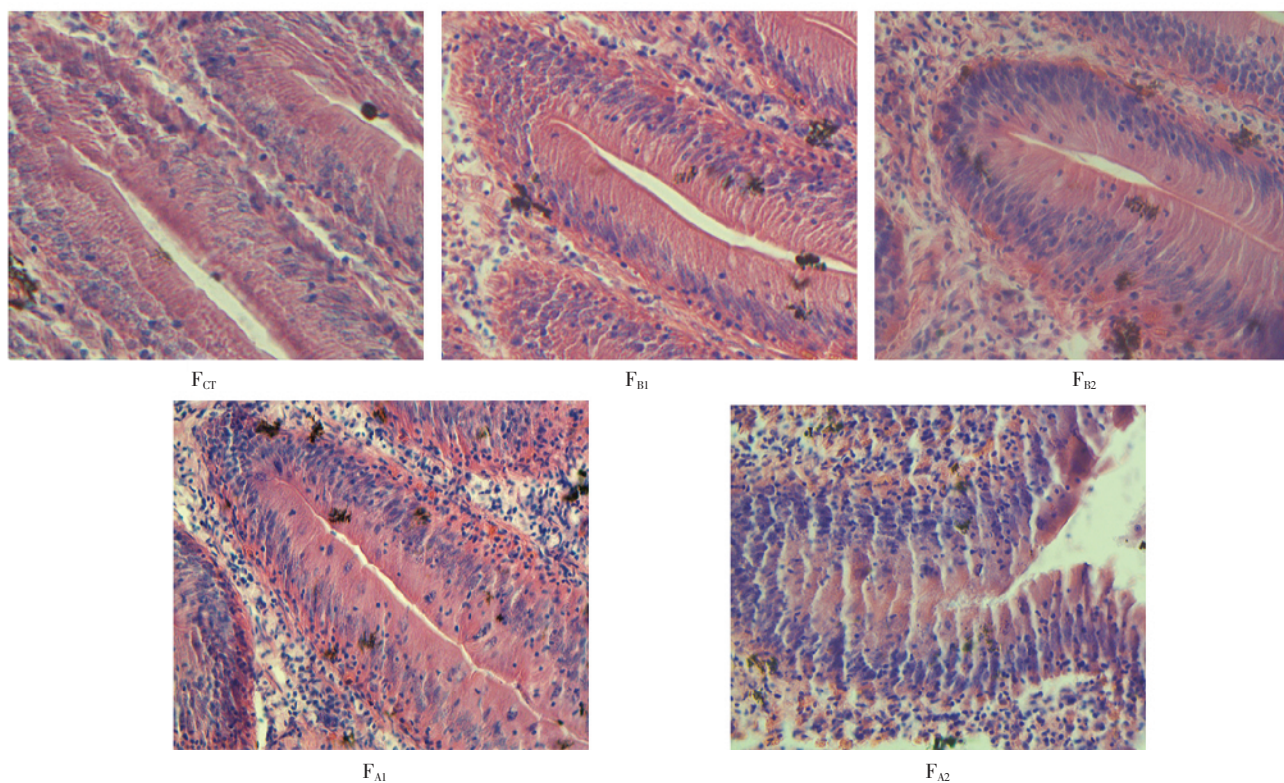


图1 鲤鱼小肠组织结构(横切)400×

Figure 1 Transection view of small intestine of *C. carpio* 400×

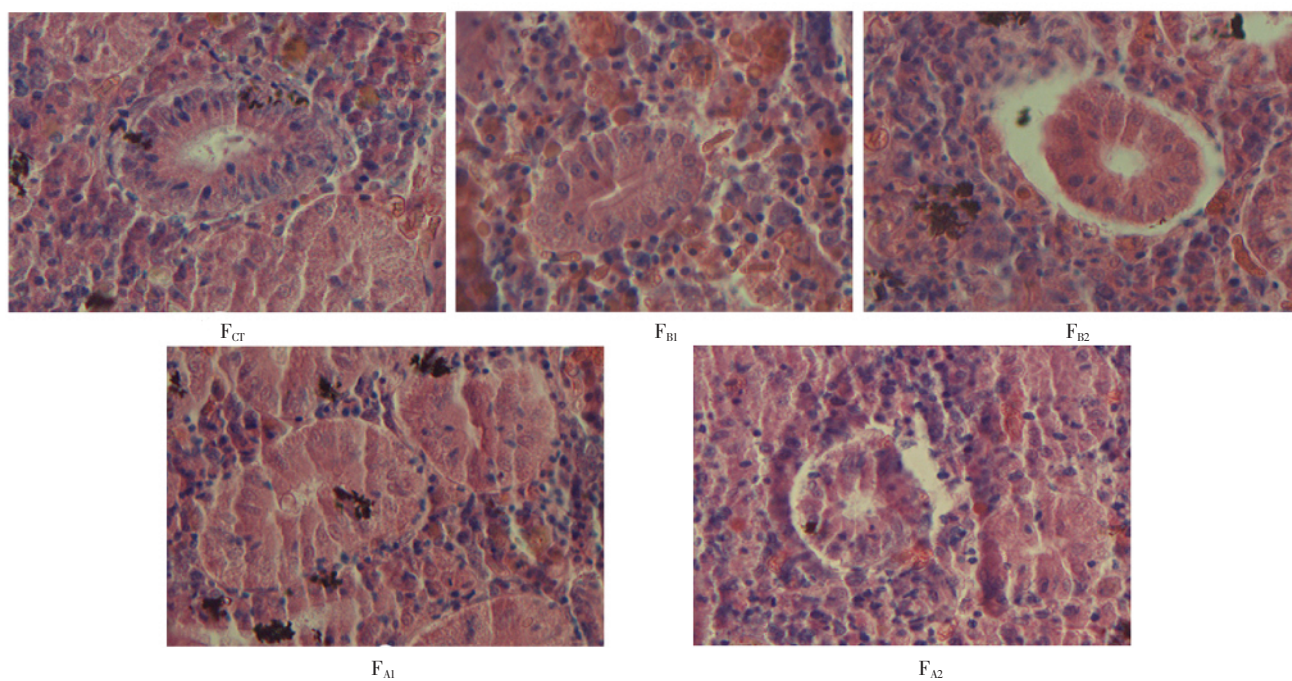


图2 鲤鱼肾组织结构 400×

Figure 2 Structure of kidney of *C. carpio* 400×

3 结论

鲤鱼通过食物链对农药氯氰菊酯有显著的富集作用,且该作用有明显的剂量效应,揭示过量氯氰菊酯在蔬菜作物中的使用可能会对人类健康和生态平衡造成影响。建议在使用杀虫剂、除草剂等农药时应严格遵循国家的相关标准,以减少对环境的压力和对人类健康的影响。

参考文献:

- [1] 谢文平, 马广智. 氯氰菊酯对草鱼鳃和肝组织超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 水产科学, 2003, 22(6):5.
- XIE Wen-ping, MA Guang-zhi. Effects of cypermethrin on superoxide dismutase(SOD) activities in gill and liver tissues of grass carp fingerlings[J]. *Fisheries Science*, 2003, 22(6):5.
- [2] J Gan, S J Lee, W P Liu, et al. Distribution and persistence of pyrethroids in runoff sediments[J]. *J Environ Qual*, 2005, 34:836-841.
- [3] 龚瑞忠, 蔡道基. 拟除虫菊酯类农药对水生生物的毒性评价研究[J]. 环境科学研究, 1988, 1(4):39.
- [4] 熊 丽, 吴振斌, 赵文玉, 等. 氯氰菊酯对大型溞的毒性研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2002, 36(2):210-211.
- XIONG Li, WU Zhen-bin, ZHAO Wen-yu, et al. Study on the toxicity of cypermethrin to *Daphnia magna* HB[J]. *Journal of Central China Normal University(Nat Sci)*, 2002, 36(2):210-211.
- [5] Indranil Mukhopadhyay, D Kar Chowdhuri, Mahima Bajpayee, et al. Evaluation of in vivo genotoxicity of cypermethrin in *Drosophila melanogaster* using the alkaline Comet assay[J]. *Mutagenesis*, 2004, 19(2):85-90.
- [6] Steven A Burr1, David E Ray. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated Chloride ion channels[J]. *Toxicological Sciences*, 2004, 77:341-346.
- [7] 朱光华, 池继梅, 马 争, 等. 国产高效氯氰菊酯原药的亚慢性毒性研究[J]. 中国职业医学, 2004, 31(5):34-35.
- ZHU Guang-hua, CHI Ji-mei, MA Zheng, et al. Study on subchronic toxicity of homemade β -cypermethrin[J]. *Chin Occup Med*, 2004, 31(5):34-35.
- [8] Chaitali Sinha, Girja S Shukla. Species variation in pesticide-induced Blood-brain barrier dysfunction[J]. *Human and Experimental Toxicology*, 2003, 22:647-652.
- [9] Sarbani Giri, Anirudha Giri, Gouri Dutt Sharma, et al. Induction of sister chromatid exchanges by cypermethrin and carbosulfan in bone marrow cells of mice in vivo[J]. *Mutagenesis*, 2003, 18(1):53-58.
- [10] GB 2763—2005, 食品中农药最大残留限量[S].
- GB 2763—2005, Maximum residue limits for pesticides in food[S].
- [11] 邓丛蕊, 刘思全, 杨秀利. 液相色谱法同时测定辛硫磷和氯氰菊酯[J]. 光谱实验室, 2003, 20(1):59-61.
- DENG Cong-rui, LIU Si-quan, YANG Xiu-li. Simultaneous determination of phoxim and cypermethrin by HPLC[J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2003, 20(1):59-61.
- [12] Jean-Pierre Demoute, 马晓东. 简述拟除虫菊酯在环境中的归趋及代谢[J]. 农药译丛, 1990, 12(6):39-42.

致谢:新西兰梅西大学纪维红博士在本文的写作上给予了指导,在此深表谢意。