

# 久效磷对真鲷鳃、肝和肾细胞超微结构的影响\*

邴欣<sup>1</sup> 汝少国<sup>1</sup> 姜明<sup>2</sup> 魏渲辉<sup>1</sup> 李永祺<sup>1</sup>

(青岛海洋大学<sup>1</sup>海洋生命学院<sup>2</sup>测试中心 266003)

**摘要** 0.5 mg/L 的久效磷处理真鲷 4 d 和 10 d 后,利用电子显微镜观察真鲷鳃细胞、肝细胞和肾小管细胞的超微结构变化,结果表明:鳃细胞微小管严重水肿;肝细胞核膜水肿、溶解,部分线粒体外膜和嵴溶解,内质网明显水肿;肾小管细胞内质网和刷状缘严重水肿。并且这三种组织细胞器的超微结构变化呈时间效应关系。

**关键词** 久效磷,真鲷,超微结构,鳃,肝,肾

久效磷是我国农业生产中大量使用的一种有机磷农药,化学名称为 O,O-二甲基-O[1-甲基-2-(甲基氨基甲酰)]乙烯基磷酸酯。农药厂排放的“三废”和农药施用后的田间残留可随雨水的冲刷流入河流和海洋,从而造成对海洋生物的危害。目前有关有机磷农药对海洋生物的危害的报道主要集中于海洋微藻和甲壳类,而对海洋鱼类的毒性效应研究报道尚少。真鲷是一种名贵经济鱼类,也是我国海水养殖的主要经济品种之一。因此开展有机磷农药对海洋鱼类的毒性效应研究,对丰富鱼类毒理学和减轻农药污染具有重要的理论意义和应用价值。本文报道了久效磷对真鲷鳃、肝和肾超微结构的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验药品

实验用久效磷(monocrotophos)为青岛农药厂出品的 40%水溶性溶剂,分子式为 C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>NP。

### 1.2 实验材料

真鲷(*Pagrus major* Temminck et Schlegel)取自中国水产科学研究院黄海水产研究所小麦岛养殖场,于青岛海洋大学生态学实验室驯化两周。真鲷体长 10~13 cm,体重 32.6±2.3 g。

### 1.3 实验步骤

李永祺报道了久效磷对真鲷的 96 h 半致死浓度为 7.0 mg/L<sup>[1]</sup>。根据这一半致死浓度,本实验选择采用 0.5 mg/L 久效磷处理真鲷并设对照组。分别在处理 4 d 和 10 d 时取鳃、肝和肾三种组织样品。实验用水族箱为 40 L,各养鱼 5 条。每天更换 10 L 海水并补充农药,水温 20±2℃,实验过程中投喂少量冻虾,连续充气。

### 1.4 电镜样品制片方法

取来的鳃、肝和肾组织样品各 0.5 mm<sup>3</sup>,迅速用 2.5%戊二醛溶液固定 2 h,经磷酸缓冲液冲洗后用 1%锇酸溶液后固定 1 h,梯度乙醇脱水,Epon-812 包埋,LKB 超薄切片机切片,常规电镜切片染色,日立 H7 000 型透射电镜上观察并摄影。

## 2 结果

### 2.1 真鲷在实验过程中的行为及生理变化

真鲷投入到 0.5 mg/L 的久效磷实验海水溶液后,立即出现狂游和不安的现象,约 3 h 后陆续有鱼沉于水槽底部,行动迟缓,摄食减少,排泄细小颗粒状粪便。真鲷死亡时表现为鳃盖张开,口大张,沉于水槽底部。对死亡鱼解剖观察发现,鳃部颜色暗红,个别鱼鳃有淤血;肝脏轻度水肿,呈深桔黄色;肾呈深灰色,局部糜烂。

### 2.2 鳃细胞的超微结构变化

氯细胞是鱼鳃中的一类具有特殊功能的细胞,它通过向体外分泌 NaCl 以调节体内的渗透压平衡,因此本文主要观察鳃氯细胞的动态变化。氯细胞存在于鳃小片基部,它是一种嗜酸性细胞,形态一般比其它

\* 国家自然科学基金资助项目 39870580 号。

第一作者:邴欣,出生于 1978 年,硕士研究生,目前从事环境内分泌扰乱化学物质的研究。E-mail: bingxin@mail.ouqd.edu.cn

收稿日期:2001-06-22;修回日期:2001-10-9

细胞大,常呈椭圆形。对照组氯细胞细胞质中含有细微的颗粒,线粒体大且多,含有丰富的微小管系统(图 1-1)。0.5 mg/L 久效磷处理 4 d 后,氯细胞中的线粒体外膜局部溶解,微小管轻度水肿(图 1-2)。处理 10 d

后,线粒体嵴也开始溶解,微小管膨胀,部分严重水肿(图 1-3)。

### 2.3 肝细胞的超微结构变化

对照组肝细胞中线粒体较多,粗面内质网丰富;

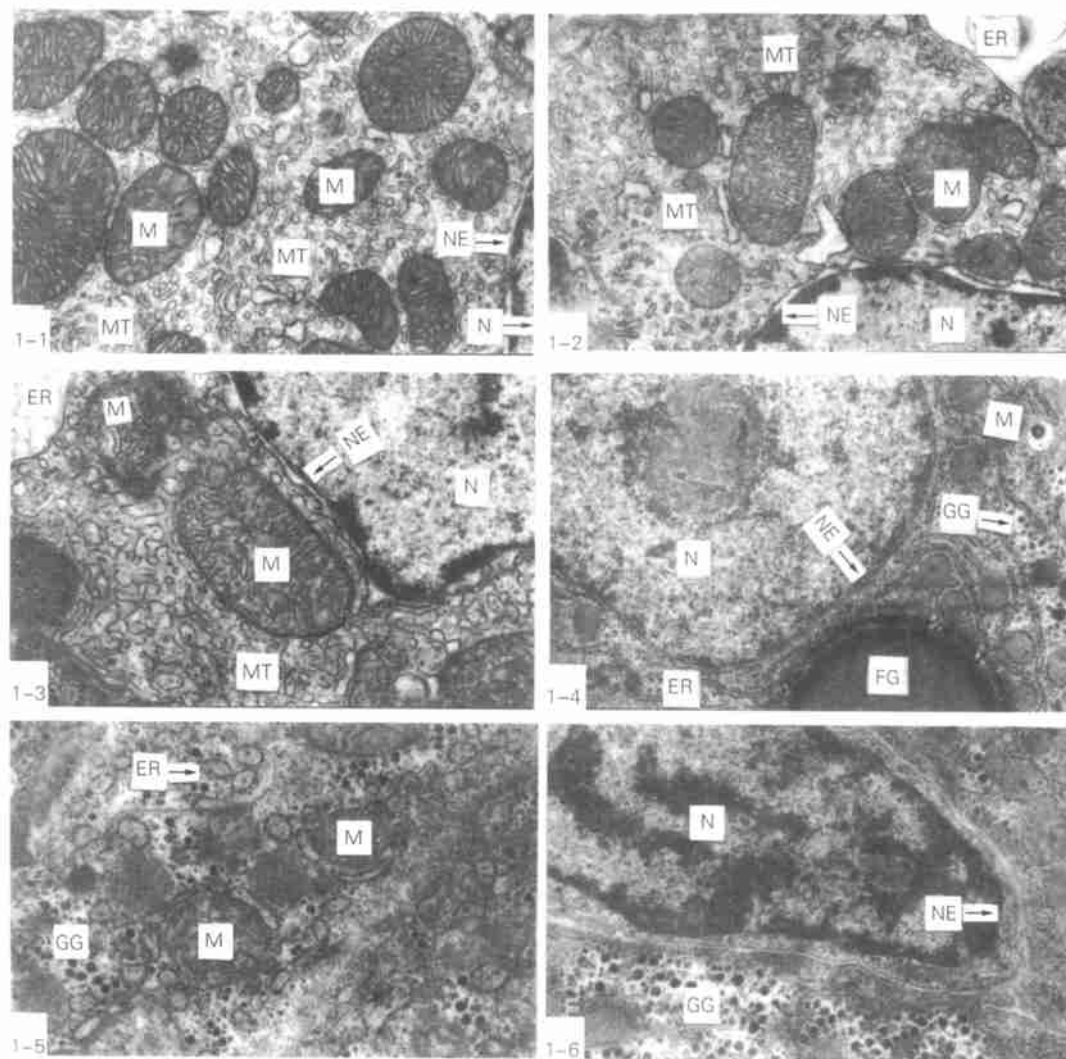


图 1 久效磷对真鲷鳃、肝和肾细胞影响的超微结构

Fig.1 Ultrastructure of effect of monocrotophos on gill, liver and kidney in *Pagrus major*

图 1-1. 对照组氯细胞  $\times 12\ 000$ ; 1-2. 处理 4 d 后,氯细胞线粒体外膜局部溶解,微小管轻度水肿  $\times 12\ 000$ ; 1-3. 处理 10 d 后,氯细胞线粒体嵴溶解,微小管严重水肿  $\times 12\ 000$ ; 1-4. 对照组肝细胞  $\times 12\ 000$ ; 1-5. 处理 4 d 后,肝细胞内质网水肿,线粒体外膜溶解  $\times 12\ 000$ ; 1-6. 处理 4 d 后,肝细胞核膜局部溶解  $\times 12\ 000$ . N 核, NE 核膜, M 线粒体, MF 微小管, ER 内质网, GG 糖原, FG 脂滴, BB 刷状缘.

Fig. 1-1. Normal chloride cell  $\times 12\ 000$ ; 1-2. The chloride cell has been treated for four days, showing extima of mitochondria dissolved, microtubule with drosy  $\times 12\ 000$ ; 1-3. The chloride cell has been treated for ten days, showing cristae of mitochondria dissolved, microtubule with drosy seriously  $\times 12\ 000$ ; 1-4. Normal liver cell  $\times 12\ 000$ ; 1-5. The liver has been treated for four days, showing endoplasmic reticulum with drosy and extima of mitochondria dissolved  $\times 12\ 000$ ; 1-6. The liver which has been treated for four days, shows the nuclear envelope dissolved partially  $\times 12\ 000$ . N nuclear, NE nuclear envelope, M mitochondria, MF microtubule, ER endoplasmic reticulum, GG glycogen, FG fat granule.

糖原颗粒丰富,颜色深;脂滴较大,圆形(图 1-4)。0.5 mg/L 久效磷处理 4 d 后,内质网水肿;线粒体外膜溶解;糖原颗粒增多(图 1-5);部分核内染色质聚集;核膜变形,局部溶解(图 1-6)。处理 10 d 后,核内染

色质明显固缩,核膜严重水肿,甚至溶解;部分线粒体嵴完全溶解;糖原颗粒更多(图 2-1)。

## 2.4 肾细胞的超微结构变化

本文主要观察了具有重吸收和代谢功能的肾小

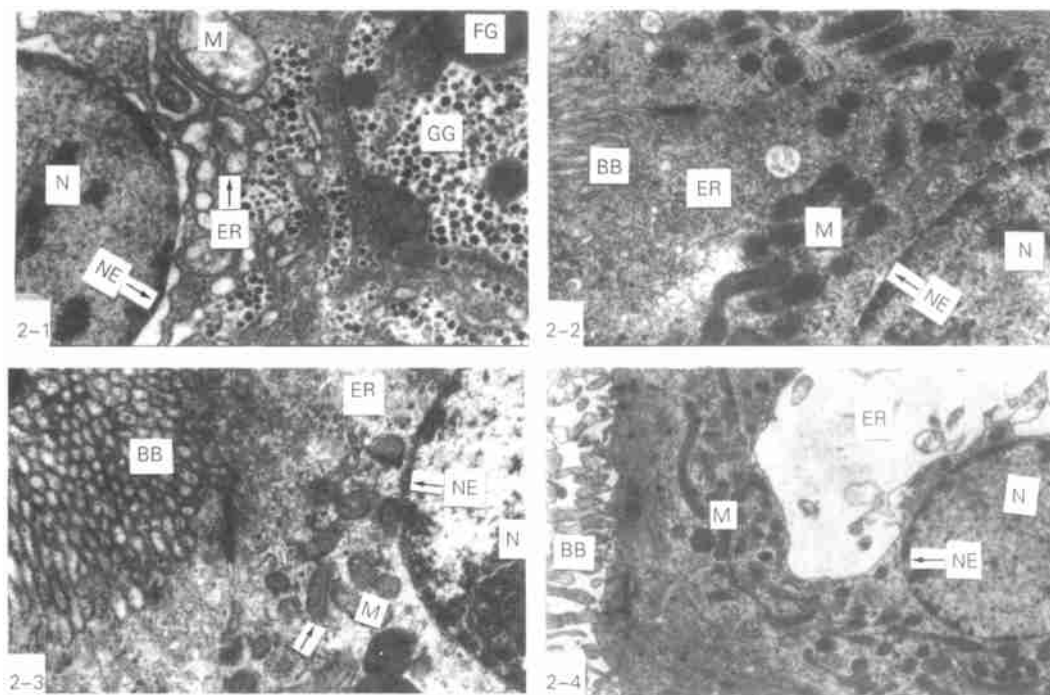


图 2 久效磷对真鲷鳃、肝和肾细胞影响的超微结构

Fig.1 Ultrastructure of effect of monocrotophos on gill,liver and kidney in *Pagisomis mpr*

图 2-1. 处理 10 d 后,肝细胞核膜严重水肿、溶解 × 12 000;2-2. 对照组肾小管细胞 × 12 000;2-3 处理 4 d 后,肾小管细胞核膜和线粒体外膜局部溶解,内质网、刷状缘水肿 × 12 000;2-4. 处理 10 d 后,肾小管细胞内质网、刷状缘严重水肿部分溶解 × 6000. N 核,NE 核膜,M 线粒体,MF 微小管,ER 内质网,GG 糖原,FG 脂滴,BB 刷状缘

Fig. 2-1. The liver has been treated for ten days, showing nuclear envelope with dropsy seriously and dissolved × 12 000;2-2. Normal renal cell × 12 000;2-3. The kidney has been treated for four days, showing nuclear envelope and extima of mitochondria dissolved partially, endoplasmic and brush border with dropsy × 12 000;2-4. The kidney has been treated for ten days, showing endoplasmic reticulum with dropsy seriously and dissolved partially × 6 000. N nuclear, NE nuclear envelope, M mitochondria, MF microtubule, ER endoplasmic reticulum, GG glycogen, FG fat granule, BB brush border.

管超微结构的变化。对照组肾小管上皮细胞核呈椭圆形,染色质分布较均匀;胞质内充满大量的线粒体(图 2-2)。0.5 mg/L 久效磷处理 4 d 后,核内染色质聚集;核膜局部溶解;线粒体外膜部分溶解;内质网水肿;刷状缘水肿(图 2-3)。处理 10 d 后,染色质和处理 4 d 组无明显变化;内质网严重水肿形成空泡区;刷状缘严重水肿,部分溶解(图 2-4)。

## 3 讨论

鳃、肝和肾三种组织的结构和功能不同,对久

效磷的反应也不完全相同。鳃、肝脏、肾脏的主要表现分别为微小管;核膜、内质网和线粒体;线粒体和刷状缘的变化。这种变化具有时间效应关系,即随着久效磷处理时间的延长而损伤加重。这与汝少国 1996 年、1997 年报道的久效磷对中国对虾的损伤基本相似。有机磷农药造成的粗面内质网的严重水肿以及核糖体的脱落,将会影响各种组织细胞内蛋白质的分泌,从而影响酶类的合成与功能。线粒体是供应细胞能量的细胞器,线粒体的损伤造成供能不足,从而使细胞

的代谢功能受损。因而鱼类暴露于外源性有毒物质后,由于以上主要细胞器的损伤,引起细胞功能的障碍从而导致鱼的死亡。

鱼类的鳃是对外界环境改变最敏感的器官。1996年 Dutta 报道马拉硫磷暴露后,鱼鳃上皮细胞坏死、破裂,并与毛细血管脱离;粘液分泌增多;氯细胞增殖;淋巴管肿胀。因此我们认为久效磷暴露真鲷后,鳃结构的损伤将会影响正常的气体交换,造成鱼体各组织器官的缺氧、代谢失调,使得大量的二氧化碳和含氮废物不能排出,也会使鱼体的组织器官产生间接中毒现象。肝是鱼类的主要解毒器官。1993年 Dutta 报道马拉硫磷对肝脏的毒性作用主要是:细胞收缩、核固缩;甚至肝细胞坏死破裂,核破裂、染色质外溢。这于我们观察到的久效磷对真鲷肝脏的影响不同,主要是核膜、内质网和线粒体的变化,核膜虽然部分溶解且染色质凝聚但没有观察到染色质的外溢。肾是鱼体的重要排泄器官。肾小管上皮细胞的损伤,会影响肾的

排泄和重吸收功能,使血液中有毒废物积累,甚至引起血液中毒。

有机磷农药是神经毒剂。贾翠红 1999 年报道 0.5 mg/L 久效磷可以抑制乙酰胆碱脂酶的活性的 80%<sup>[2]</sup>。乙酰胆碱酯酶的活性受到抑制阻碍神经冲动的传递。本文观察到,暴露于久效磷溶液的鱼出现行动迟缓的现象,这可能是由于乙酰胆碱酯酶活性受到抑制,从而使肌肉运动功能丧失。死亡时口大张、鳃盖张开的现象可能是因为鳃的损伤造成供氧不足,而引起的生理变化;也可能是由于乙酰胆碱酯酶活性受到抑制,而引起鳃部肌肉功能丧失的结果。

#### 参考文献

- 1 李永祺. 养殖生态环境的保护和改善研究. 山东: 山东省科学技术出版社, 1999. 27~60
- 2 贾翠红等. 久效磷对真鲷幼体中枢神经系统乙酰胆碱酯酶活性的影响研究. 海洋科学, 1999, 3: 7~8

## EFFECT OF MONOCROTOPHOS ON ULTRASTRUCTURE OF GILL, LIVER AND KIDNEY IN *Pagrosomus major*

BING Xin<sup>1</sup> RU Shaoguo<sup>1</sup> JIANG Mng<sup>2</sup> WEI Xuanhui<sup>1</sup> LI Yongqi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> College of Marine Life Science, <sup>2</sup> Test Centre, Ocean University of Qingdao 266003)

received: Jun., 22, 2001

Key Words: Monocrotophos, *Pagrosomus major*, Ultrastructure, Gill, Liver, Kidney

### Abstract

In this paper, *Pagrosomus major* was exposed to sublethal concentration monocrotophos (0.5 mg/L) for four and ten days. We use electron microscope to examine the ultrastructure change of gill, liver and kidney. Results revealed that microtubule of the gill, endoplasmic reticulum, and brush border of kidney cell suffered seriously from dropsy and that nuclear envelope of liver cell with dropsy, cristae of mitochondria, and extima and cristae of mitochondria were dissolved. The ultrastructure change of the three organs was related to time.

(本文编辑:刘珊珊)