

久效磷对中国对虾细胞超微结构的影响 I. 对肝胰脏和肌肉的毒性效应

汝少国 李永祺 姜明 刘晓云

(青岛海洋大学, 266003)

摘要 通过对0.10mg/L久效磷处理的中国对虾细胞超微结构的透射电镜观察,结果表明:1.中毒的肝胰脏细胞内质网严重水肿、扩张、囊泡化,片层结构水肿;线粒体内嵴局部瓦解;肝管微绒毛出现空缺区域及药物中毒的退化结构;脂滴电子密度不匀。2.中毒的肌肉细胞肌原纤维萎缩、间隔增大;肌浆网水肿、扩张,部分肌浆网膜破裂,线粒体内嵴膨胀,细胞质中出现中毒坏死巢。

关键词 久效磷,中国对虾,超微结构

目前,我国有机磷农药的生产品种和数量取代了有机氯农药,跃居首位。在害虫抗药性大增的今天,它对粮、林、果的丰收起了重要作用。自然界靶生物与非靶生物是共存的,农药的大量使用对许多种类的非靶生物的安全构成了威胁[Readman等,1992;陈碧鹃,1993],如甲壳类的对虾,对有机磷农药很敏感[田中正治,1988;Raxald等,1989;里见至弘,1993]。80年代中期以来,我国沿海在雨季经常发生有机磷农药造成对虾死亡事故[李永祺,1993]。近几年,我国对虾病害大暴发,养殖生态环境恶化是重要原因,而有机磷农药是近岸海域的主要污染物之一。因此,为了深入探讨有机磷农药对对虾的毒性效应,在国家科委“海水增殖生物优良种质和抗病力的基础研究”项目的支持下,我们拟通过有机磷农药污染对对虾毒性的基础生物学研究,揭示甲壳类动物对有机磷农药敏感的机理,提出保护沿海养殖环境的建议 and 对策。本文首次报道久效磷对中国对虾肝胰脏和肌肉细胞超微结构的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

中国对虾(*Penaeus chinensis* Osbeck)取自青岛市水产局养殖公司,体长9.8~10.9cm,体重11.04~14.60g。

实验用久效磷(Monocrotophos)为青岛农药厂生产的40%水溶性制剂。

1.2 方法

1.2.1 实验步骤

实验前配成浓度为0.02、0.05、0.10和0.20mg/L的久效磷海水溶液各40L,并设对照组,

收稿日期:1995-03-03。

实验温度(20 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 充氧, 用插入法求得半数致死浓度约为 0.10mg/L 。将中国对虾在半数致死浓度(0.10mg/L)久效磷溶液中各处理 24、48、72 及 96h, 分别取其肝胰脏、肌肉迅速固定。

1.2.2 电镜样品的制备

实验材料用 2.5% 戊二醛及 1% 锇酸双固定, 梯度乙醇脱水, Epon 包埋, 以 LKB 超薄切片机切片, 常规电镜切片染色。日立 H-7000 型透射电镜观察摄影。

2 结果与分析

2.1 肝胰脏细胞的毒理变化

对照: 肝胰脏细胞胞质中粗面内质网和滑面内质网较丰富, 线粒体近微绒毛区分布, 内嵴发达, 脂滴的电子密度均匀(图版-1, 2); 细胞核居细胞的中后位(图版-3)。

24h: 肝胰脏细胞的滑面内质网和粗面内质网开始水肿, 部分扩张(图版-4), 线粒体体积膨大, 外膜水肿, 嵴有轻微破坏(图版-5), 其他细胞器均无明显变化。

48h: 滑面内质网和粗面内质网扩张并初步囊泡化(图版-6), 线粒体内嵴部分瓦解(图版-6), 脂滴电子密度不匀(图版-7), 其他细胞器出现不显著的异常现象。

72h: 滑面内质网和粗面内质网继续扩张, 形成小的囊泡(图版-8), 有的线粒体双层膜开始溶解(图版-9)。

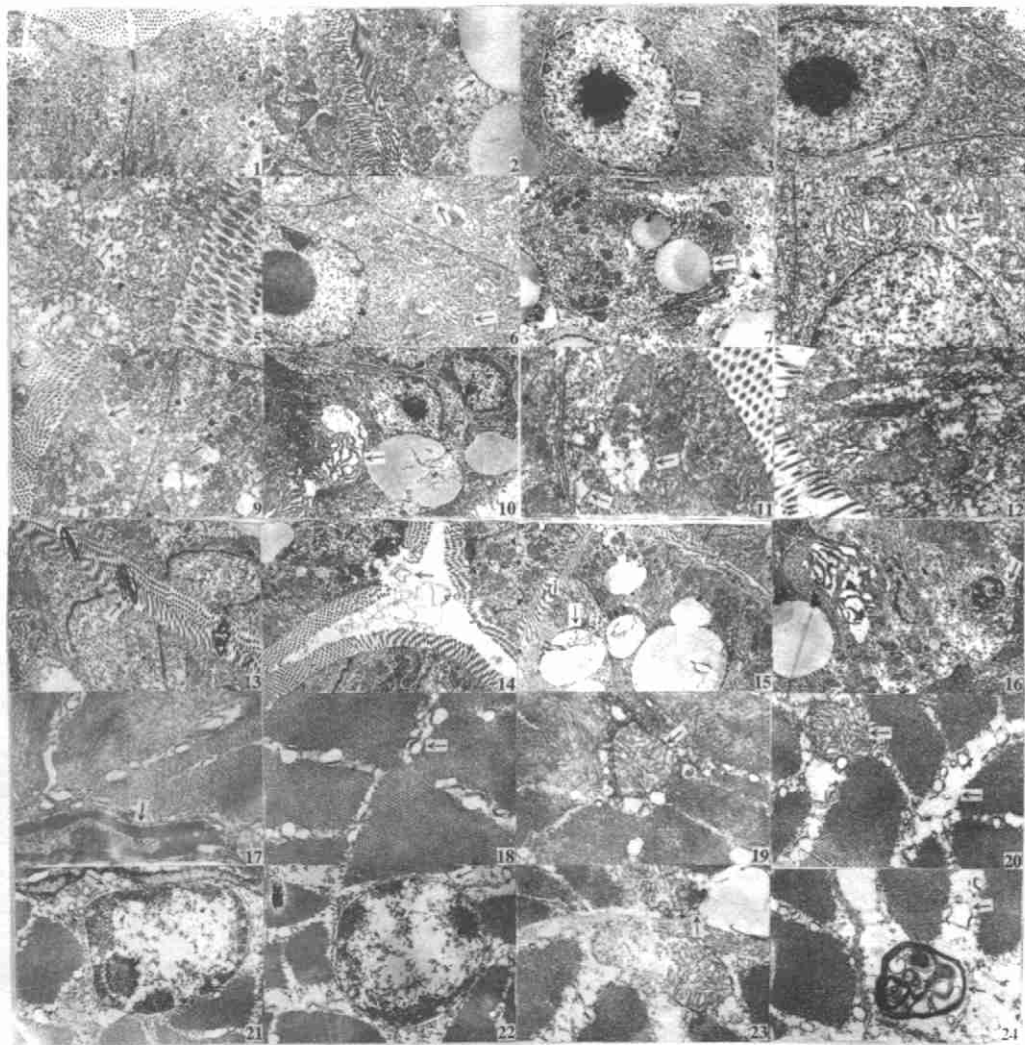
96h: 滑面内质网和粗面内质网扩张形成较大数量的空泡区(图版-10), 部分内质网的膜破碎或分解(图版-11), 粗面内质网膜上附着的核糖体大量脱落, 片层结构水肿(图版-10); 线粒体内嵴局部瓦解, 形成大的电子透明区, 双层膜部分溶解, 乃至使线粒体趋于解体(图版-11, 12); 肝管微绒毛出现药物中毒退化结构(图版-13)及部分缺少(图版-14); 脂滴少许增多, 电子密度不匀(图版-15); 核膜水肿, 严重者局部溶解并形成小的空泡(图版-16)。

2.2 肌肉细胞的毒理变化

对照: 肌肉细胞的细胞核位于细胞边缘(图版-17), 核内异染色质较多; 肌浆网发达, 与 T 管形成二联体或三联体(图版-18)[卢建平, 1994], 线粒体的内嵴发达(图版-19)。

48h: 肌原纤维萎缩、间隔增大, 肌浆网水肿、扩张, 部分肌浆网膜破裂(图版-20); 线粒体内嵴膨胀, 部分溶解(图版-20), 细胞核内出现空白区, 核膜轻微水肿(图版-21)。

72h: 肌浆网严重水肿, 肌浆网膜破裂, 肌原纤维萎缩加剧、间隔继续增大(图版-22); 线粒体内嵴明显水肿, 有溶解现象, 并出现电子透明区(图版-23); 细胞核膜水肿, 部分溶解, 核内形成较大面积空白区, 染色质凝聚呈块状(图版-23); 细胞质中出现中毒的坏死巢(图版-24)。



图版 plate

图版 1、2. 对照组肝胰脏细胞的超微结构, $\times 6000$; 3. 对照组肝胰脏细胞的细胞核, $\times 4000$; 4. 24h 内质网水肿, $\times 6000$; 5. 24h 线粒体内嵴的水肿, $\times 12000$; 6. 48h 内质网的扩张、初步囊泡化, $\times 6000$; 7. 48h 脂滴电子密度的变化, $\times 3000$; 8. 72h 内质网的小囊泡, $\times 8000$; 9. 72h 线粒体双层膜的溶解, $\times 6000$; 10. 96h 内质网的囊泡化和片层结构的水肿, $\times 3000$; 11. 96h 内质网的囊泡化和线粒体的变化, $\times 15000$; 12. 96h 线粒体的变化, $\times 12000$; 13. 96h 肝管微绒毛中毒退化, $\times 6000$; 14. 96h 肝管微绒毛的缺少, $\times 45000$; 15. 96h 脂滴的变化, $\times 3000$; 16. 96h 核膜局部形成小泡或溶解, $\times 3000$; 17. 对照组肌肉细胞的细胞核, $\times 15000$; 18. 对照组肌肉细胞发达的肌浆网, $\times 22500$; 19. 对照组肌肉细胞的细胞核, $\times 15000$; 20. 48h 肌原纤维萎缩、间隔增大和肌浆网水肿与线粒体内嵴的膨胀, $\times 18000$; 21. 48h 肌肉细胞的核膜水肿形成空泡, $\times 12000$; 22. 72h 肌肉细胞的核膜水肿与部分溶解, $\times 10000$; 23. 72h 线粒体内嵴的膨胀与溶解, $\times 15000$; 24. 72h 肌原纤维严重萎缩、间隔明显增大和肌浆网膜破裂, $\times 15000$

3 讨论与结语

3.1 对肝胰脏的毒性效应

久效磷对对虾细胞的损伤主要表现为细胞器的变化。0.10mg/L 久效磷处理 24h 时,肝胰脏细胞的内质网轻度水肿,线粒体、微绒毛无明显变化,一般认为是可逆的,48h 后粗面内质网上的核糖体颗粒开始大量脱落,内质网严重水肿,线粒体内嵴局部瓦解,72h、96h 时内质网已中毒形成若干独立的小泡,即囊泡化(与有机磷农药对鱼类的毒性反应相似)[伊泽久夫,1983];线粒体双层膜溶解,出现电子透明区,部分趋于解体;微绒毛变形和少数破损,表明久效磷对肝胰脏已构成了较大的损伤和破坏,且随处理时间延长,对细胞器损伤越来越重。可见,在半数致死浓度下,久效磷对肝胰脏细胞的毒性效应最为敏感的细胞器是内质网,其次是线粒体和微绒毛。与锌和氨基对对虾肝胰脏的毒性作用靶部位(因分泌细胞的破裂解体导致部分肝小管损伤和破坏)明显不同[张克俭,1993]。细胞结构是功能的单位,结构损伤必导致功能的受损,功能的受损又反过来加速结构的损伤。滑面内质网为药物和细胞内酶类相互作用的界面,能使外源性有毒药物或内源性有害的代谢产物转变为无毒物质或易于排泄的产物;粗面内质网上的核糖体具有分泌、合成蛋白的功能。因此,内质网的严重损伤造成了机体解毒功能下降以及分泌和合成蛋白功能的降低;线粒体和微绒毛破坏也会使机体供能减少,破坏正常的代谢水平。结构的损伤还会带来一些其它的影响,如 Kunio Kobayashi 等[1985、1990]曾报道杀螟硫磷使日本对虾(*Penaeus japonicus*)体内 β -葡萄糖苷酸酶漏出,而 β -葡萄糖苷酸酶主要存在细胞的内质网、溶酶体和线粒体等,所以,它可作为久效磷损伤肝胰脏细胞的主要靶部位是内质网和线粒体的佐证。

3.2 对肌肉的毒性效应

久效磷对肌肉细胞损伤的主要靶部位与肝胰脏一样都为内质网(肌浆网为肌细胞中特殊的内质网),但肌浆网的损伤较肝胰脏内质网损伤为重。处理 48h 时肌浆网严重水肿,肌浆网膜大部分破裂,肌原纤维萎缩、间隔增大,线粒体局部瓦解,处理 72h 时肌浆网、线粒体等细胞器趋于解体,肌原纤维萎缩加剧、间隔继续增大,随久效磷处理时间延长,由于虾体蓄积久效磷量或代谢产物增加[Kunio Kobayashi, 1986],肌细胞的损伤逐渐加重,这大大超出虾体的自我解毒和保护能力,细胞正常代谢水平遭到破坏,并可能在细胞紊乱的活动中造成了细胞的解体和功能障碍。肌浆网和线粒体等细胞器的损伤,将造成肌浆网传递信息功能障碍,ATP 不能释放能量,同时肌原纤维萎缩、间隔增大,使肌肉失去正常的运动功能。实验过程中观察到将对虾投入 0.10mg/L 久效磷试验液中,开始时处于狂奔状态,24h 后虾体卷曲,运动失调,四肢痉挛,可见,对虾的运动失调等均与久效磷对肌肉超微结构的毒理变化密切相关,这与渡修明[1993]对日本对虾(*Penaeus japonicus*)的急性毒性报道相一致。综上所述,从久效磷对中国对虾肝胰脏、肌肉细胞的影响看,中国对虾对有机磷农药是十分敏感的,而有机磷农药是近岸海域的主要污染物之一[李永祺,1993],因此,有机磷农药对我国沿海对虾养殖的危害应引起足够的重视。

本文是国家 PDB6 支持项目,承蒙中科院动物研究所陈大元研究员帮助分析和审阅电镜照片,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 卢建平等, 1994. 中国对虾 *Penaeus chinensis* (osbeck) 肌肉系统的研究. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 24(4): 539 ~ 551.
- [2] 李永祺, 1998. 1998 年我国人工养殖对虾大量死亡原因、教训和对策浅议. 海洋环境科学, 12(3 ~ 4): 133 ~ 138.
- [3] 张克俭, 1998. 锌和氮氮对对虾肝胰脏的毒性作用. 水产学报, 17(1): 52 ~ 58.
- [4] 陈碧鹏等, 1998. 甲基异柳磷、水胺硫磷对海洋藻类(金藻)、贝类(紫贻贝、蓝蛤)、及对对仔虾的毒性影响. 海洋环境科学, 12(2): 12 ~ 17.
- [5] 田中正治, 1988. スジエビに対する数種薬剤の毒性. 水产増殖, 36(2): 157 ~ 159.
- [6] 伊澤久夫等, 1983. 水生动物疾病学. 株式会社朝仓书店, 90 ~ 96.
- [7] 里见至弘, 1998. 农药が海洋生物に及ぼす影响. 水产の研究, 12(5): 60 ~ 63.
- [8] 渡 修明等, 1998. 农药杀虫有机リン剂 MEP およびカ-バメイト剂 NAC の魚介类に対する急性毒性. 水产増殖, 41(4): 511 ~ 517.
- [9] Kumio Kobayashi *et al.*, 1985. Formation of the sulfate and glucoside metabolites of fenitrothion in tiger shrimp *Penaeus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51(12): 2013 ~ 2017.
- [10] Kumio Kobayashi *et al.*, 1986. Difference in lethal concentration in vivo between fenitrothion and its Oxo-form in tiger shrimp *Penaeus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52(2): 287 ~ 292.
- [11] Kumio Kobayashi *et al.*, 1990. Changes in metabolic activity of tiger shrimp larvae at different stages to fenitrothion, an organophosphorus insecticide. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(3): 489 ~ 496.
- [12] Raxald, M. R. *et al.*, 1989. Relationship between toxicity and acetylcholinesterase inhibition of some thiono and Oxo-form Organophosphates in tiger shrimp larvae at different stages. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55(4): 669 ~ 673.
- [13] Readman, J. W. *et al.*, 1992. Persistent organophosphorus pesticides in tropical marine environments. *Mar. Pollut. Bull.* 24(8): 398 ~ 402.

THE EFFECTS OF MONOCROTOPHOS TO THE ULTRASTRUCTURES OF CELL OF *PENAEUS CHINENSIS* I. THE TOXICITY TO HEPATOPANCREAS AND MUSCLE

Ru Shaoguo, Li Yongqi, Jiang Ming and Liu Xiaoyun
(Ocean University of Qingdao, 266003)

ABSTRACT Electron microscope examination of ultrastructures of cells of *Penaeus chinensis* treated with 0.10mg/L monocrotophos has revealed: 1. In poisonous hepatopancreatic cells; the endoplasmic reticulum swelled up, dilated, vesiculated, the Lamina structure swelled up, the cristae of mitochondria disintegrated partly; parts of the microvilli of hepatic tube were distroged and injured; the electronic density of lipid droplet is unhomogenous; 2. In poisonous muscle cells; the distance between muscle fibril increased, the sarcoplasmic reticulum swelled up, dilated and its membrane was broken, the cristae of mitochondria swelled up.

KEYWORDS monocrotophos, *Penaeus chinensis*, ultrastructures