

文章编号:1000-0615(2009)05-0865-06

硝基苯对斑马鱼细胞 DNA 的损伤

陈伟兴, 范兆廷, 方静杰, 关庆芝

(东北农业大学动物科学技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:硝基苯是重要的人造化工原料,人类的生产和生活使其可能成为水体和环境的污染源。为了解硝基苯对水产动物可能的致毒作用,采用单细胞凝胶电泳(SCGE)方法检测了不同浓度硝基苯染毒后的斑马鱼肝脏、肾脏、鳍条表皮和精子细胞 DNA 的损伤情况。当硝基苯的处理剂量在国家地表水环境质量标准(GB3838-2002)时(0.017 mg/L),对斑马鱼肝脏、肾脏和精子细胞 DNA 的损伤不明显,分别为 30%、33% 和 44%,与对照组相比差异不显著($P > 0.05$);在同样浓度下,鳍条表皮细胞 DNA 受损率则高达 69%。当硝基苯的浓度高于国家地表水环境质量标准时,可引起斑马鱼肝脏、肾脏、鳍条表皮和精子细胞 DNA 的严重损伤。处理剂量为 0.106 mg/L 时,其受损率分别为 48%、62%、61%、82%;0.213 mg/L 时分别为 42%、87%、76%、56%;在 0.425 mg/L 时分别为 52%、87%、75%、75%;在 0.850 mg/L 时分别为 58%、95%、93%、85%;在 1.700 mg/L 时分别为 62%、90%、99%、83%,以上各处理组与空白对照相比差异显著($P < 0.05$)。实验结果表明,当水环境中硝基苯的浓度低于国家地表水环境质量标准时,对斑马鱼的体细胞及精子细胞没有明显的毒性作用;硝基苯的浓度高于国家地表水环境质量标准时,对斑马鱼体细胞和精子细胞具有较强的毒害作用,且细胞 DNA 的受损率随着硝基苯剂量的增加而增加,并呈现一定的剂量损伤效应。因此,渔业水质标准中硝基苯的浓度不应高于国家地表水环境质量标准。

关键词:斑马鱼;硝基苯;DNA 损伤;单细胞凝胶电泳

中图分类号:X 592; S 917

文献标识码:A

硝基苯(nitrobenzene, NB)是重要的人造化工原料,俗称人造苦杏仁油,是一种剧毒有机物,有像杏仁油的特殊气味,化学式为 $C_6H_5NO_2$ 。纯品是几乎无色至淡黄色的晶体或油状液体,不溶于水,广泛应用于国防、印染、塑料、农药和医药工业。在自然界中没有硝基苯的存在,由于人类的生产和生活使其可能成为水体和环境的污染源,现已被国家环保局列为水中优先控制的有机污染物。鉴于硝基苯为常见的水体污染物,我国建立了地表水环境质量标准(GB3838-2002)(0.017 mg/L),污水综合排放标准(GB8978-1996)(一级为 2.0 mg/L,二级为 3.0 mg/L,三级为 5.0 mg/L)。但与水产养殖业密切相关的,且容易受到硝基苯污染的渔业水质尚未建立相应的标准。

斑马鱼(*Danio rerio*)及其胚胎和幼鱼对有害物质非常敏感,国际标准组织(ISO)将斑马鱼推荐为河水毒性试验鱼种并制定了相应的标准(ISO07346),利用斑马鱼作为试验动物检测水体污染既快捷又稳定,因而成为一种趋势。如 Hallare 等^[1]利用野生型斑马鱼,检测了菲律宾 Laguna 湖不同区域的水质污染程度。Carvan 等^[2]制备了几种转基因斑马鱼,它们受环境中的多环烃、卤化共面分子、苯醌或汞等重金属离子的激活而表达出绿色荧光蛋白或荧光素酶,由此响应污染物浓度的变化而表达出易于观测的荧光,从而可以更直观、灵敏、动态监测水体污染。我国在斑马鱼方面的研究已有十多年的历史,在环境和毒性检测等方面也开展了一些研究,如王英彦

收稿日期:2008-09-03 修回日期:2009-02-09

资助项目:国家科技攻关项目(2006BA618A-22)

通讯作者:范兆廷, E-mail: fanzhaoting9999@yahoo.com.cn

等^[3]用斑马鱼超弱光技术检测水体污染;修瑞琴等^[4]研究了胼与苯胼对斑马鱼胚胎和仔鱼的毒性。

单细胞凝胶电泳(single cell gel electrophoresis, SCGE)又称为彗星试验,是在细胞水平检测DNA损伤的一种方法。这种方法具有操作简便快速,需要的细胞少和灵敏度高等优点,可用于各种与DNA链断裂有关的研究。利用单细胞凝胶电泳检测硝基苯对斑马鱼细胞DNA的损伤作用,可以了解硝基苯的毒性和安全浓度,从单细胞水平研究硝基苯对水生生物的危害并探讨其机理,对于建立相应的渔业水质标准和从根本上解释硝基苯对水生生物的危害具有重要意义。目前尚未见有硝基苯对斑马鱼细胞DNA损伤方面的研究报道。

1 材料与方 法

1.1 试验材料与试剂

斑马鱼购于哈尔滨市道外区花鸟鱼市场,4月龄,体长3~4 cm,性成熟,暂养于东北农业大学水产养殖系试验室。养殖水温(25±1)℃;pH为6.5~6.8;溶解氧≥6.0 mg/L。试验前及试验期间投喂摇蚊幼虫,早晚各一次。

消化液 EDTA(0.02%)和胰蛋白酶(0.25%),1:1混匀。

细胞裂解液(100 mL) NaCl 14.625 g, Na₂EDTA 3.724 g,十二烷基肌氨酸钠 1 g,调pH至10,使用前加入1 mL Triton X-100,10 mL DMSO。

电泳液(1 L) 300 mmol NaOH,10 mmol Na₂EDTA,pH>13。

固定液 15%(w/v)三氯乙酸;5%(w/v)硫酸锌;5%甘油。

染色液(100 mL) 34 mL B液[0.2%(w/v)硝酸铵,0.2%(w/v)硝酸银,0.5%(w/v)硅钨酸,0.15%(v/v)甲醛,5%(w/v)碳酸钠]倒入到66 mL A液中(5%碳酸钠),摇匀。

1.2 单细胞悬液制备与染毒

将斑马鱼解剖取其肝胰脏、肾脏和鳍条,成熟雄性个体取其精子,将所取组织分别剪碎,在37.5℃预热的消化液中消化20 min,每3分钟摇

晃一次。消化后加入几滴牛血清,用300目不锈钢筛网过滤,离心(1000 r/min)10 min后去上清液,调整细胞密度为10⁶~10⁷ ind/mL,经台盼蓝排斥法检测细胞活力,细胞的存活率须大于95%,4℃贮存备用。

试验分为7个处理组(表1),在4℃染毒1 h。硝基苯用无水酒精溶解成34 mg/L的原液,然后再配成相应浓度。

1.3 单细胞凝胶电泳(SCGE)

将0.65%正常熔点的琼脂糖加热融化,取300 μL浇注到透明载玻片上,迅速加盖盖玻片,使胶均匀铺开,待胶干后将盖玻片取下,取10 μL细胞悬液与90 μL 0.5%低熔点琼脂糖均匀混合,加到第一层胶之上,盖上盖玻片,胶干后取下。

将制成的细胞琼脂糖凝胶浸入新鲜配制4℃预冷的细胞裂解液中,避光裂解1 h。从裂解液中取出载玻片,用去离子水将其充分清洗,置于水平电泳槽中。将新鲜配制的电泳液缓慢倒入电泳槽中,液面高于载玻片2.5 mm左右,室温避光解旋20 min。然后调整电泳液液面的高度,电压20 V,电流稳定在300 mA,室温避光条件下电泳20 min。

采用Nadin等^[5]的银染法并稍作改进,电泳后的凝胶玻片在室温下晾干1 h后用固定液固定10 min。然后用去离子水洗3遍,在室温下晾干2 h。染色前在去离子水中浸泡5 min,室温下在水浴摇床中用硝酸银染液染色20 min,至凝胶玻片至灰色为止。染色后用去离子水洗2~3遍,再放入1%的醋酸溶液中5 min停止染色。接着再用去离子水洗2遍,而后室温空气干燥。所有银染的玻璃器皿预先用50%的硝酸处理,并用洗洁剂和去离子水清洗。

染色后的凝胶玻片在Motic显微成像系统下镜检并拍照,然后每个样品中随机挑选100个细胞测定细胞彗尾长度。按照Kamer等^[6]的细胞损伤分级标准,根据彗星的尾长将损伤分为5级:0级(胞核清楚,无彗尾)、1级(胞核清楚,尾长不超过10 μm)、2级(胞核清楚,尾长在10~30 μm)、3级(尾长在30~40 μm)、4级(胞核与彗尾不能区分,尾长超过40 μm)。

试验所得到的数据用SPSS 13.0进行统计分析。

表 1 不同浓度的硝基苯对斑马鱼组织细胞 DNA 的损伤

Tab. 1 DNA injury of histiocyte by NB

组别 treatment	受试浓度 (mg/L) concentration	组织细胞 histiocyte	细胞损伤分级 grade of damage					彗尾平均值 (μm) length
			0	1	2	3	4	
control	0.000	肝胰脏 liver and pancreas	73	17	9	1	0	4.72 \pm 8.98
		肾脏 kidney	75	23	2	0	0	4.16 \pm 7.76
		鳍条表皮 fin	69	9	18	4	0	8.44 \pm 11.76
		精子 sperm	78	12	9	1	0	4.51 \pm 10.43
A	0.017	肝胰脏 liver and pancreas	70	18	10	2	0	3.29 \pm 6.68
		肾脏 kidney	67	18	13	2	0	10.85 \pm 13.42 *
		鳍条表皮 fin	31	54	12	3	0	8.24 \pm 10.91
		精子 sperm	56	24	16	4	0	7.15 \pm 9.96
B	0.106	肝胰脏 liver and pancreas	52	19	22	7	0	8.93 \pm 12.41 *
		肾脏 kidney	39	25	26	9	1	14.61 \pm 14.36 *
		鳍条表皮 fin	18	38	40	5	1	15.97 \pm 12.87 *
		精子 sperm	38	31	25	6	0	11.94 \pm 11.78 *
C	0.213	肝胰脏 liver and pancreas	58	8	23	10	1	12.74 \pm 16.53 *
		肾脏 kidney	13	17	40	29	1	25.23 \pm 13.76 *
		鳍条表皮 fin	24	26	27	27	6	24.42 \pm 20.00 *
		精子 sperm	44	37	14	5	0	10.84 \pm 12.12 *
D	0.425	肝胰脏 liver and pancreas	48	22	21	8	1	10.91 \pm 12.90 *
		肾脏 kidney	13	25	48	24	0	17.56 \pm 12.35 *
		鳍条表皮 fin	25	23	22	20	10	23.13 \pm 22.86 *
		精子 sperm	25	51	22	1	1	10.08 \pm 9.88 *
E	0.850	肝胰脏 liver and pancreas	42	25	26	6	1	11.26 \pm 14.20 *
		肾脏 kidney	5	19	52	22	2	26.47 \pm 14.03 *
		鳍条表皮 fin	7	14	37	31	11	29.84 \pm 17.12 *
		精子 sperm	15	25	28	32	0	24.98 \pm 17.02 *
F	1.700	肝胰脏 liver and pancreas	38	16	35	10	1	14.01 \pm 14.62 *
		肾脏 kidney	10	6	57	27	0	28.38 \pm 13.79 *
		鳍条表皮 fin	1	11	42	38	8	33.12 \pm 15.58 *
		精子 sperm	17	36	44	13	0	17.40 \pm 12.97 *

注:经 SPSS 13.0 LSD 检验,与对照组比较,*表示差异显著($P < 0.05$)

Notes: Analysis by SPSS 13.0 LSD, compare to control, "*": $P < 0.05$

2 结果与分析

2.1 硝基苯对斑马鱼肝胰脏细胞 DNA 的影响

除 0.017 mg/L 处理外,各个试验组彗尾平均值与对照相比差异显著($P < 0.05$),当硝基苯的浓度高于 GB3838-2002 规定的量时可引起斑马鱼肝胰脏细胞 DNA 损伤(表 1)。其中 B 组与 D、E 组差异不显著($P > 0.05$),与其他组差异显著($P < 0.05$);而 C 组与 D、E、F 组差异不显著($P > 0.05$),与其他组差异显著($P < 0.05$)。随着浓度的增加,肝胰脏细胞所表现出的细胞 DNA 受损率(图 1)和细胞彗尾平均值(细胞受损程度)(图 2)均增大。根据细胞 DNA 各级损伤结果可以看出,对照、A 和 B 组未受损细胞数目占绝对优势,

而 E 组和 F 组受损级别为 1、2 和 3 级的细胞数逐渐增加。

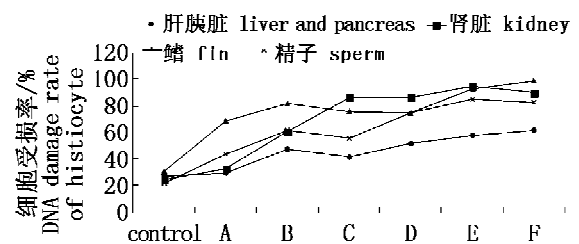


图 1 硝基苯与组织细胞 DNA 受损率的关系

Fig. 1 The relationship between NB and DNA damage rate of histiocyte

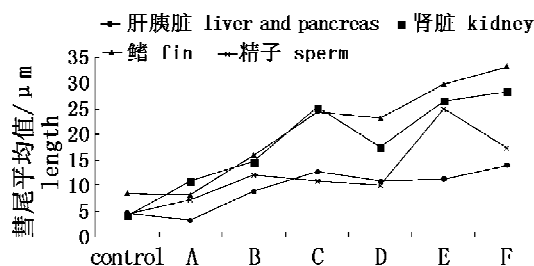


图2 硝基苯与组织细胞彗尾长度的关系
Fig.2 The relationship between NB and the comet tail length of histiocyte

2.2 硝基苯对斑马鱼肾脏细胞 DNA 的影响

除 0.017 mg/L 外,各个试验组彗尾平均值与对照相比差异显著 ($P < 0.05$),当硝基苯的浓度高于 GB3838-2002 规定的量时可引起斑马鱼肾脏细胞 DNA 损伤。其中 B 组与 D 组差异不显著 ($P > 0.05$),与其他组相比较差异显著 ($P < 0.05$);而 C 组与 E、F 组差异不显著 ($P > 0.05$),与其他组差异显著 ($P < 0.05$)。随着受试浓度的增加,肾脏细胞的细胞 DNA 受损率和细胞彗尾平均值(细胞受损程度)均增大。浓度大于 0.213 mg/L 时,受损率则趋于平稳,处于 87%~95%。根据细胞 DNA 损伤程度可以看出,自 B 组开始,未受损细胞数急剧下降,受损级别 1、2 和 3 的细胞数逐渐增加,3 级损伤细胞数的上升极其明显。

2.3 硝基苯对斑马鱼鳍条表皮细胞 DNA 的影响

各个试验组彗尾平均值与对照相比差异显著 ($P < 0.05$),当硝基苯的浓度高于 GB3838-2002 规定的量时可引起鳍条表皮细胞 DNA 的损伤。其中 B 组与 D 组差异不显著 ($P > 0.05$),与其他组相比较差异显著 ($P < 0.05$);C 组与 D、E 组差异不显著 ($P > 0.05$),与其他组差异显著 ($P < 0.05$)。随着受试浓度的增加,细胞 DNA 受损率和细胞彗尾平均值(细胞受损程度)均增大。斑马鱼鳍条表皮细胞在硝基苯浓度为 0.017 mg/L 时,细胞 DNA 受损率即达 69%。根据细胞 DNA 各级损伤结果可以看出,A 组受损细胞数较多,其中主要是 1 级受损细胞,表明随着硝基苯浓度的升高,受损率开始增加,但是受损较轻;当浓度大于 0.017 mg/L 时,各处理中 2 级与 3 级细胞数增加,细胞受损逐渐加重。

2.4 硝基苯对斑马鱼精子细胞 DNA 的影响

除 0.017 mg/L 外,各个试验组彗尾平均值与对照相比差异显著 ($P < 0.05$),当高于 0.017

mg/L 时可引起斑马鱼精子细胞 DNA 损伤。其中 B 组与 C、D 组差异不显著 ($P > 0.05$),与其他组相比较差异显著 ($P < 0.05$);E、F 组与其他组相比较差异显著 ($P < 0.05$)。随着受试浓度的增加,精子细胞 DNA 受损率和细胞彗尾平均值(细胞受损程度)均呈增大趋势。根据细胞 DNA 各级损伤结果可以看出,A 组受损程度较低;随着硝基苯浓度的升高,受损细胞数逐渐增加,且损伤级别也逐渐增加。

3 讨论

机体氧化应激时,肝脏为负担其抗氧化功能,从而诱导酶活性升高,阻止对机体产生进一步的氧化损伤作用。但这种主动调节能力和代偿能力是有一定限度的,超过限度时酶活性就转为抑制^[7]。曹建萍^[8]研究表明,鲫的幼体暴露于浓度为 0.5 mg/L、1.0 mg/L 和 10 mg/L 的硝基苯后,肝胰脏中的超氧化物歧化酶(SOD)先被抑制后被诱导,过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽转硫酶(GST)或被诱导或被抑制,处于一种连续动态变化中,活性出现异常。据此判断,鲫主要是通过抗氧化防御系统避免氧化损伤,肝脏是硝基苯毒性作用的重要靶器官之一。这一观点与 Ignacio 等^[9]的类似,即硝基苯类化合物可通过诱导氧自由基的产生,进而引起脂质过氧化反应导致细胞和组织的损伤。本试验结果显示,当硝基苯的浓度高于 GB3838-2002 规定的量时,肝胰脏细胞的彗尾平均值和细胞 DNA 的受损率都随着硝基苯剂量的增加而增加,即硝基苯可引起肝胰脏细胞 DNA 损伤,并呈现一定的剂量-损伤效应。但当硝基苯浓度达到 1.7 mg/L 时,肝胰脏细胞 DNA 损伤率只有 62%,明显低于其他组织细胞。这可能是肝胰脏细胞的解毒能力降低了硝基苯的毒性,抑或是肝胰脏细胞所产生的氧化反应延迟了硝基苯对细胞 DNA 的损伤。

厉以强等^[10]研究了氨基酚类化合物在鲤体内暴露 72 h 后对其肾脏细胞 DNA 的遗传毒性,发现 3 种氨基酚类化合物均能引起不同程度的 DNA 损伤,其损伤程度随剂量的增加而增加。刑厚娟^[11]研究发现,高剂量的硝基苯(105 mg/kg)可引起昆明小鼠肾细胞核固缩和核质边集,核内电子密度较深区域的面积明显增大。本试验结果显示,硝基苯各剂量组彗尾平均值与对照相比差

异显著 ($P < 0.05$), 即当硝基苯的浓度高于 GB3838-2002 规定的量可引起斑马鱼肾脏细胞 DNA 损伤。随着硝基苯剂量的增加, 肾脏细胞 DNA 受损率也相应增加。

鳍是鱼类重要的运动器官, 与水环境直接接触, 环境污染对鳍表皮细胞的毒性作用最为直接。目前还没有关于环境污染对鱼鳍表皮细胞 DNA 损伤的研究报道。本试验发现, 硝基苯可引起鳍条表皮细胞 DNA 的损伤, 相比较肝脏及肾脏而言, 鱼鳍表皮细胞的 DNA 对硝基苯更加敏感。在处理浓度为 0.017 mg/L 时, 其细胞受损率即达 69%, 而肝脏及肾脏在此浓度处理组的细胞受损率分别为 30% 和 33%。对硝基苯敏感的原因可能是鳍条表皮细胞处于生长状态, 细胞处于不同的周期之中, 开放的 DNA 更加容易受到污染物的毒性作用; 另外上皮细胞内抗氧化酶类较少, 硝基苯进入细胞后即会造成 DNA 损伤。

精子是鱼类繁殖后代的基础, 很多鱼类的受精过程都是在体外完成。因此, 采用体外染毒法研究环境污染对精子细胞 DNA 的损伤对评价污染环境中鱼类的可持续生产有重要意义。程忆渤等^[12]研究表明, 三硝基甲苯(TNT)、2,4-二硝基甲苯(DNT)和 TNT-DNT 混合物均能引起小鼠精子畸形, 主要表现在精子头部, 以无钩、无定形和香蕉形为主。王新^[13]在试验中发现, 随着五氯硝基苯(PCNB)染毒剂量的增高小鼠的精子畸形率升高。宋博等^[14]研究表明, 接触较高浓度的苯可以诱导人精子 DNA 断裂, 引起精子细胞 DNA 损伤。本试验结果显示高浓度的硝基苯可引起斑马鱼精子细胞 DNA 损伤。硝基苯是否如 TNT、DNT 和 TNT-DNT 混合物及 PCNB 可导致斑马鱼的精子畸形, 尚有待研究。但是细胞 DNA 受损可能导致精子畸形, 所以当斑马鱼长期处于硝基苯污染的水体, 完全有可能导致精子细胞受损而出现畸形, 并对其生育功能及其后代产生影响。

本试验证明, 一定剂量的硝基苯可引起斑马鱼组织器官的遗传损伤。鉴于硝基苯污染渔业水体的可能性会随着工农业的发展而增加, 有必要尽快制定渔业水体中硝基苯的相关标准, 以防止硝基苯污染导致的渔业和水域安全事故发生。

参考文献:

- [1] Hallare A V, Pagulayan R, Lacdan N, *et al.* Assessing water quality in a tropical lake using biomarkers in zebrafish embryos: developmental toxicity and stress protein responses [J]. *Environ Monit Assess*, 2005, 104(1):171-187.
- [2] Carvan M J, Dalton T P, Stuart G W, *et al.* Transgenic zebrafish as sentinels for aquatic pollution [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 919: 133-147.
- [3] 王英彦, 马玉琴, 张月敬, 等. 用斑马鱼超弱光技术检测水体污染 [J]. *环境科学*, 1992, 13(6):2-5.
- [4] 修瑞琴, 高世荣, 许永香, 等. 砷与苯砷对斑马鱼胚胎和仔鱼的毒性研究 [J]. *环境科学*, 1992, 13(6):67-69.
- [5] Nadin B B, Vargas-Roig L M, Ciocca D R. A silver staining method for single-cell gel assay [J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2001, 49(9):1183-1186.
- [6] Kamer I, Rinkevich B. *In vitro* application of the comet assay for aquatic genotoxicity: considering a primary culture versus a cell line [J]. *Toxicol In Vitro*, 2002, 16(2): 177-184.
- [7] 徐立红, 张雨元, 陈宜瑜. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义 [J]. *水生生物学报*, 1995, 19(2):171-185.
- [8] 曹建萍. 硝基苯对鲫鱼肝脏的氧化损伤研究 [D]. 哈尔滨: 东北师范大学, 2007.
- [9] Ignacio A R, Timothy L, Hugh K R, *et al.* Early metabolism changes during mdinitrobenzene neurotoxicity and the possible role of oxidative stress [J]. *Free Radical & Medicine*, 1995, 18(2): 311-319.
- [10] 历以强, 孙立伟, 曲莹莹, 等. 氨基酚类化合物对鲤鱼 (*Cyprinus caprio*) 肾细胞遗传毒性的影响 [J]. *环境科学研究*, 2004, 17(5):36-37.
- [11] 刑厚娟. 硝基苯对昆明小鼠亚急性毒性的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007:27-28.
- [12] 程忆渤, 张宗毅. 三硝基甲苯和 2,4-二硝基甲苯对小鼠精子畸形的联合毒性研究 [J]. *劳动医学*, 1996, 13(4):212-214.
- [13] 王新. 五氯硝基苯对雄性小鼠生殖系统毒性作用 [D]. 哈尔滨: 东北师范大学, 2006:26-27.
- [14] 宋博, 蔡志明, 李欣, 等. 苯对人精子 DNA 损伤的影响 [J]. *中华男科学杂志*, 2005, 11(1):53-55.

DNA damage induced by nitrobenzene in histiocyte of zebrafish (*Danio rerio*)

CHEN Wei-xing, FAN Zhao-ting, FANG Jing-jie, GUAN Qing-zhi

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agriculture University, Harbin 150030)

Abstract: Nitrobenzene is an important chemical raw material. Owing to human activities of production and living, it may become the pollution source of the water and the environment. In order to understand the possible toxicity of nitrobenzene to aquatic animals, the DNA damage of the nitrobenzene was studied at different concentrations to the liver and pancreas, kidney, fin, sperm cell of zebrafish by single-cell gel electrophoresis technique. When the treatment dose of nitrobenzene was at the national standard for surface water environmental quality (GB3838-2002, 0.017 mg/L), the DNA damage of the liver and pancreas, kidney and sperm cell was not obvious, being 30%, 33% and 44% respectively. The results were no significant difference compared with the control group ($P > 0.05$). In the same concentration, the DNA damage rate was as high as 69% for epidermal cells of fins. When the concentration of nitrobenzene was higher than the national standard, it caused the serious DNA damage to the liver and pancreas, kidney and sperm cell. When the concentration of nitrobenzene was 0.106, the damage rates were 48%, 62%, 61%, 82%; at 0.213 mg/L those were 42%, 87%, 76%, 56%; those were 52%, 87%, 75%, 75% at 0.425 mg/L; those were 58%, 95%, 93%, 85% at 0.850 mg/L; those were 62%, 90%, 99%, 83% at 1.700 mg/L respectively. All the treatments concentration above the national standard were significant differences compared with the control group ($P < 0.05$). The result showed that the nitrobenzene had no obvious toxicity to the somatic cells and the sperm cells of the zebrafish when the concentration of nitrobenzene in the water environment was lower than the national standard. When the concentration of nitrobenzene was higher than the national standard, the nitrobenzene had stronger toxic effect on the somatic cells and the sperm cells of the zebrafish, and the DNA damage rate rose with the nitrobenzene dose increasing, and it presented the specific dose of the damage effect. So the concentration of nitrobenzene in fishery water standard should not be higher than the national standard.

Key words: zebrafish (*Danio rerio*); nitrobenzene; DNA damage; single cell gel electrophoresis (SCGE)