

鱼微核试验筛检水体诱变物的应用与研究

李 谷¹ 程晓莉² 陈 丹² 余文斌¹ 翟良安¹

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 荆州 434000;

2. 同济医科大学公共卫生学院, 武汉 430030)

摘要: 对五种环境污染物的遗传毒性采用鱼微核试验技术对其进行了筛检, 试验结果表明鱼微核试验用作筛检诱变物的遗传毒性是有效的, 对监测水体的质量也具有潜在的价值; 同时, 对国内外学者将各种各样的技术应用到鱼微核试验进行了总结, 概述了微核形成的机理; 在此基础上, 提出应用鱼微核试验筛检水体诱变物时应注意的问题。

关键词: 微核试验; 遗传毒性; 胞质受阻技术; 鱼; 水体; 诱变物

中图分类号: X17 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)01-0074-008

鱼特别是小型真骨鱼作为一种理想的试验对象, 在于它易于在实验室饲养和易于暴露有毒化学物质当中。由于鱼对化学物质的反应同哺乳类动物相比具有很多相似之处, 过氧化物酶的增高, 肝脏氧化代谢的异常以及具有转化前致癌物的混合功能氧化酶P-450系统, 因此它们被用来筛选对人类具有潜在致畸、致癌效应的化学物质。在目前水环境污染越来越严重的情况下, 把鱼作为试验对象的主要目的还是用来确定水体化学污染的分布和毒性效应。已经证实底栖鱼类肿瘤发病率与沉积物中高浓度的多环芳烃类(PAHs)物质密切相关^[1], 而人们对广泛存在但浓度极低的环境污染物的潜在遗传毒性效应还是知之甚少。因此, 发展简便、快速、有效的筛检方法一直是人们研究的课题。

微核试验是根据细胞质内产生额外核小体的现象来判断化学物质诱发染色体异常作用的试验方法。自七十年代初将微核试验用于致突变研究后, 已日益受到国内外的重视, 并在筛选化学诱变剂中得到了普遍的应用^[2]。近年来, 微核试验在方法学上也不断改进, 发展了多种新的微核检测方法, 其中鱼体微核的测定也得到广泛应用。本文选择镉、铅、呋喃丹、印染废水和非离子洗涤剂五种环境污染物对几种不同的鱼进行了微核试验, 分析了微核形成的机理, 并对鱼微核试验的技术和方法进行了总结。

1 材料与方法

1.1 材料 试验鱼基本上采用当年鱼种, 其种类, 规格, 来源详见表1。

收稿日期: 2000-10-06; 修订日期: 2001-08-28

基金项目: 国家环境保护局和农业部协作项目。

作者简介: 李谷(1965—), 男, 湖北省公安县人; 硕士, 助理研究员; 研究方向: 鱼类遗传毒理学和分子生物学

通讯作者: 余文斌 现工作单位: 湖北农学院动物科学系

表 1 试验鱼的基本情况

Tab. 1 The basic condition of experimental fish

种类 Species	规格 Size	来源 Source
黄鳝 <i>Monopterus albus</i>	W: 13. 73 ± 2. 74g	市场购得
银鲫 <i>Carassius auratus gibelio</i>	W: 14. 15 ± 9. 33g, L: 9. 25 ± 2. 02cm	本所试验场
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	W: 18. 40 ± 6. 63g, L: 13. 08 ± 1. 88cm	本所试验场
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	W: 47. 31 ± 8. 72g, L: 16. 43 ± 3. 53cm	本所试验场
鲤 <i>Carassius auratus</i>	W: 32. 01 ± 10. 38g, L: 12. 75 ± 1. 53cm	本所试验场
泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	W: 11. 47 ± 1. 52g	市场购得

1.2 试剂 氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)，优质纯，北京化工厂生产；铅($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$)，优质纯，北京化工厂生产；呋喃丹(Faradan)，美国FMC公司生产，有效成分为3%；非离子洗涤剂(活力28洗衣粉)，沙市日化总厂生产。将上述试剂分别配成含镉(Cd^{2+})，铅(Pb^{2+})，呋喃丹，非离子洗涤剂为1mg/mL的试验母液，土林染料废水直接采自沙市印染厂车间下水道。

1.3 试验装置 黄鳝，泥鳅暴露染毒装置为内径23cm，高12.5cm的圆形玻璃缸，盛溶液5L；鲢，银鲫，鲤，草鱼暴露染毒装置为60×40×30cm的塑料水簇箱，盛溶液30L。试验用水的水质参数：pH7.0±0.5，T 21.0±2.0，DO 4.0±2.0mg/L，硬度4.6。

1.4 暴露染毒 将在室内暂养7d以上，体质健壮，活动良好，规格基本一致的试验鱼随机分组，每组8—10尾，进行染毒。染毒期间每天更换溶液一次，以保证试验浓度的基本恒定。试验浓度的设定以急性毒性试验得出的 LC_{50} 值为基础，一般低于 LC_{50} 值，各自具体的浓度设置见表2。

1.5 制片 连续染毒8d后，将鱼转入清水放养1—2d，然后取出，擦净，断尾，蘸取少许血液混入事先加好的一滴小牛血清，迅速推片使之均匀涂在玻片上，风干，甲醇固定，3%Gimesa染色，自来水冲洗，空气中自然晾干。

1.6 镜检 每尾鱼至少统计2000个外周血有核红细胞中出现的微核数，计算出微核率。微核的判断标准：(1)位于细胞质中，与主核完全分开；(2)染色与主核一致或稍淡；(3)大小为主核的1/10以下，多为圆形或椭圆形边缘清晰的小核。

1.7 统计分析 计算每组鱼微核率的平均值(\bar{x})及标准方差(SD)，将各试验组微核率的均数同阴性对照组均数比较，进行t检验，确定差异的显著性。

表2 五种环境污染物在实验室诱导鱼产生微核的试验结果

Tab. 2 The inducing micronuclei (MN) in fish exposed in the laboratory of 5 kinds of environmental contaminants

环境污染物 Environ mental contaminants	鱼种 Species	浓度(mg/L) A moun t	观察细胞数(个)/鱼数(尾) No. of observed cells/ No. of fish	总的微核数(个) Total number of MN	微核率(‰) MN/1000 cells (±SD)
镉(Cd ²⁺)	黄鳝 <i>M. albus</i>	0.01	10980(5)	9	0.82±0.81
		0.1	10372(5)	22	2.11±0.84*
		1.0	10735(5)	38	3.35±1.15*
		10.0	10370(5)	45	4.33±7.72*
		0.01	14644(7)	9	0.61±0.46
	银鲫 <i>C. auratus gibelio</i>	0.1	14783(7)	10	0.69±0.62
		1.0	16305(7)	24	1.33±0.77*
		10.0	14846(7)	32	2.18±0.61*
		0.01	15694(7)	12	0.77±0.56
		0.1	15482(7)	16	1.01±0.97
铅(Pb ²⁺)	鲢 <i>H. molitrix</i>	0.1	14292(7)	21	1.44±0.95*
		1.0	12428(6)	26	2.11±0.90*
		10.0	10032(5)	6	0.59±0.52
		0.01	10068(5)	6	0.59±0.64
		0.1	10196(5)	12	1.17±0.54
	泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i>	1.0	10148(5)	18	1.76±0.87*
		0.01	12882(6)	15	1.20±0.76*
		0.5	14042(7)	29	2.10±0.96*
		5.0	13932(6)	37	2.66±1.80*
		0.5	14711(7)	6	0.43±0.62
呋喃丹 (Faradan)	银鲫 <i>C. auratus gibelio</i>	1.0	14203(7)	19	1.43±0.65*
		5.0	13932(6)	37	2.90±0.70*
	黄鳝 <i>M. albus</i>	0.05	10321(5)	6	0.49±0.94
		0.10	10224(5)	7	0.69±0.96
		0.35	10976(5)	10	0.98±1.10
	草鱼 <i>C. idellus</i>	0.05	15674(7)	8	0.51±0.56
		0.10	10814(5)	7	0.72±1.14
		0.35	13695(6)	11	0.80±1.04
		0.05	10224(5)	7	0.69±0.96
		0.10	10006(5)	11	1.05±1.20
非离子洗涤剂 (Nonionic detergent)	银鲫 <i>C. auratus gibelio</i>	0.35	12886(6)	12	0.93±1.01
		0.5	13222(6)	13	0.98±0.68
		1.7	14027(7)	20	1.43±1.10*
		3.9	14413(7)	32	2.23±1.98*
		5.0	11028(5)	36	3.26±1.87*
	黄鳝 <i>M. albus</i>	0.5	12578(6)	12	0.93±0.68
		1.7	10102(5)	19	1.85±1.06*
		3.9	10032(5)	18	1.78±1.09*
		5.0	16262(8)	21	2.26±0.96*
		0.28	21318(6)	50	2.38±2.24*
染料废水 (Dyestuff waste water)	草鱼 <i>C. idellus</i>	0.56	14033(7)	68	4.89±2.23*
		1.12	14699(7)	85	5.06±2.44*
		0.28	12090(6)	7	0.60±0.56
	黄鳝 <i>M. albus</i>	0.56	13297(6)	9	0.62±0.40
		1.12	13335(6)	10	0.74±0.61

* 与对照组比较, P<0.05, 差异具有显著性。

2 结果

对试验鱼未经任何染毒测得其外周血有核红细胞微核率(%)分别为: 黄鳝 0.43 ± 0.11, 银鲫 0.34 ± 0.12, 鲢 0.62 ± 0.33, 草鱼 0.31 ± 0.22, 泥鳅 0.59 ± 0.19; 郭永灿等测定鲢微核的本底值为 0.71, 陈丽琨瞪测定鲢微核正常值为 0.07, 黄鳝为 0.14, 泥鳅为 0.05, 这说明鱼类红细胞微核率正常值差异很大, 即使同种鱼也有个体差异, 由于年龄不同, 水体生态环境不同, 地理、气候条件以及饲养水平的不同, 其微核出现率会不相同。鱼类微核率正常值到底为多少, 哪些鱼类是检测水体环境污染物的敏感品系或品种, 还有待进一步试验研究。而在实验室受到染毒的鱼其有核红细胞微核率会发生多大的变化, 其结果列于表 2。

从表 2 可知, 暴露在 Cd^{2+} 溶液中的鱼其外周血有核红细胞微核均有不同程度的增加。在设置的浓度范围内, 随着 Cd^{2+} 浓度的增加, 黄鳝红细胞微核率升高, 浓度效应关系非常明显。当 Cd^{2+} 浓度大于 0.1mg/L 时, 此时黄鳝红细胞微核率与对照组比较, 差异有显著性意义。而对银鲫和鲢, 当 Cd^{2+} 浓度大于 1.0mg/L 时, 其红细胞微核率与对照组相比, 才出现明显差异; 对泥鳅只有当 Cd^{2+} 浓度达到 10.0mg/L 时, 其红细胞微核率才会出现异常升高。可见, 不同种类的鱼对 Cd^{2+} 诱导效应所需要的浓度大小并不相同, 其中黄鳝所需浓度最低, 银鲫和鲢次之, 泥鳅最高。因此认为, 黄鳝对 Cd^{2+} 的诱导效应最敏感, 银鲫和鲢次之, 泥鳅最不敏感。

铅为一种环境污染物, 欧德有^[3]在研究湘江底泥铅的污染效应时认为: 铅能诱导鲫鱼外周血红细胞微核率明显增加。试验也表明, 当 Pb^{2+} 浓度大于 1.0mg/L 时, 会诱导黄鳝和银鲫外周血有核红细胞微核率明显增加。而对目前应用较为广泛的高效低残留农药呋喃丹, 在设置的浓度范围内, 其诱导黄鳝和银鲫外周血有核红细胞微核率与对照组相比均没有明显变化。

洗涤剂为一种日常生活用品, 它随生活废水流入江河湖海, 对生态环境的影响一致受到人们的广泛关注。贺维顺^[4]曾对国产十种合成洗衣粉诱变效应进行过研究, 结果表明有 8 种洗衣粉在不同的剂量水平能诱发蝌蚪(*Bufo bufo andrewsi*)红细胞微核率增高。本次试验以活力 28 洗衣粉(非离子型洗涤剂)为代表, 对黄鳝和银鲫进行室内染毒, 结果表明红细胞的胞核会产生明显的异常诸如核碎裂、核凹陷、核固缩、核变型等, 当配制的浓度大于 1.7mg/L 时, 黄鳝和银鲫红细胞微核率与各自对照组相比均具有显著性差异。

在对以土林染料为主的染料废水进行的鱼微核试验中还发现, 当配制的浓度为 2.8% (v/v) 以上时, 黄鳝红细胞微核率明显增加, 而在此浓度范围内, 草鱼外周血红细胞微核率与对照组相比几乎没有明显变化。试验重复多次, 结果依然如此。这种现象进一步说明鱼对诱变物的敏感程度并不一样, 但造成这种现象的原因现在尚不清楚。

3 讨论

3.1 一般认为, 微核是由染色体断片演化而成。而化学物质诱发的染色体畸变中, 除倒位、易位等外, 几乎都伴有断片的形成。因此, 在理论上由诱变物诱发的微核, 就其性质而言, 也属于染色体畸变。大量实验证实, 某些诱变物诱发的微核率与染色体畸变率间存在

着明显的关系^[5]。与染色体畸变分析相比, 微核试验的优点还在: 1. 除能反映化学物质诱发的染色体损伤外, 还能反映纺锤体毒物对细胞分裂损伤的效应; 2. 微核自发发生率很低, 因而阳性结果的参考价值较大; 3. 微核不像染色体那样, 在不同种类动物中数目和形态都不相同, 所以在任何不同的动物身上所得的阳性结果, 都可以进行快速比较; 4. 在染色体畸变分析中, 高剂量时往往会影响细胞的有丝分裂或由于技术质量等问题, 使分裂相细胞过少, 而 M/T 可计数的细胞多; 5. 方法简单, 无需特殊设备和技术训练, 较少主观性。观察所需时间少。但微核试验也有局限性, 不能检测染色体断裂剂和纺锤体毒物以外的有害因子; 不产生染色体断片的染色体畸变, 如重复、倒位、易位、染色体不分离等不能被检测; 在反映染色体畸变的质与量方面, 微核试验方法提供的信息不及染色体畸变分析准确和具体。虽如此, 微核试验仍是一种检测染色体损伤的良好方法, 在筛选化学诱变物、致癌物上有较高的应用价值。

从 1976 年, Buckley^[6]用银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)幼鱼接触水体残留氯, 在细胞中发现有 Howell-Jolly 小体即微核以来, 鱼微核试验用于检测水体中的诱变物具有独特的潜力, 因为生活在水体的真骨鱼类不仅其红细胞有核, 只要观察红细胞中的微核即可反映出诱变物活性大小; 而且作为一种生物对人类具有警戒作用。大量的研究表明: 暴露在不同诱变物中的鱼, 无论在实验室和在野外条件下, 其相应组织细胞的微核率都会发生相应的变化。

在我国, 人们采用鱼微核试验方法对大量化学物质的诱变性进行了筛选。郭永灿^[7]采用腹腔注射的方式, 进行了 Cd²⁺ 对鲤外周血细胞微核率影响的研究, 并提供如下事实, Cd²⁺ 是一种诱变剂, 它能诱发红细胞微核, 且微核随剂量、致毒时间而递增; Cd²⁺ 能诱发血细胞进行不正常分裂, 从而产生多种多样的微核形式。本文作者采用暴露染毒的方式, 对受试鱼的红细胞微核进行了检测, 结果同样表明, 一定浓度的 Cd²⁺ 能明显诱导黄鳝、银鲫、鲢等产生微核; 欧德有研究了湘江底泥铅对鱼类的毒性影响, 结果表明, 底泥中铅含量为 3.2 mg/L 的水环境中鲫鱼致毒一个月后, 其外周血有核红细胞的胞核便发生了显著性的损伤, 外周血红细胞的总微核率随着毒物的剂量和致毒时间的增加而增高; 唐明德^[8]进行了农药百菌清诱导鳝鱼有核红细胞微核率的研究。结果表明, 阴性对照组有核红细胞微核率为 1.3‰, 而试验组分别达到 17.5‰, 13.2‰ 和 4.6‰, 差异具有高度显著性; 由此表明利用鱼类外周血有核红细胞所出现的微核作为一项新的生物学指标, 用以检测水体的污染状况, 具有一定的意义。

除此之外, 国外学者在这方面也进行更为深入的研究。Schultz 等人^[9]甚至将虹鳟暴露在 4 加伦的 X-射线下, 结果发现其外周血红细胞微核率明显增加, 同时受辐射的罗非鱼和林氏荫鱼的鳃细胞和鳍细胞微核也明显增加; 在野外的环境检测中, Hose 等人^[10]在遭受 DDT 和 PCBs 污染的水域现场采集鱼样分析发现鱼外周血红细胞微核率 6 倍于清洁水体同种鱼的红细胞微核率。针对鱼微核试验存在灵敏度低和特异性不强的缺点, Williams 和 Metcalfe^[11]发展一种虹鳟肝体外培养的微核试验方法, 在肝细胞的体外培养过程中, 再生繁殖的肝细胞受到所暴露的诱变物的作用, 产生的微核会大大地增加, 试验结果相当明确。与此同时, Ueda 等人^[12]发明了一种荧光亚啶橙染色的技术, 它能区分早期和成熟红细胞, 只有早期红细胞能被亚啶橙染色, 这为微核的计数和识别提供了很大的

方便。在啮齿动物的微核试验中, 结果的灵敏度和重现性随胞质受阻技术的发展而得到极大提高。这一技术的特点就是诱导产生的微核出现在具双核的胞质中。Al-Sabti^[13] 将这一技术应用到鱼微核试验, 对低浓度的 Se^{6+} 、 Hg^{2+} 及甲基汞单一的和联合的遗传毒性效应进行的研究, 在具双核的体外培养的肝细胞中其微核率较之对照组都有明显的增加, 但 Se^{6+} 的加入能降低 Hg^{2+} 及甲基汞单独作用所引起的微核率的增加。

3. 2 微核的形成 如前所述, 微核是浓缩的染色体断片或在分裂的后期没有包括在主核中的整条染色体。Heddle^[14] 和 Schmidt^[15] 认为微核是通过下列细胞分裂所形成: (1) 在后期, 带着丝粒染色体向纺锤体两极移动的时候, 无着丝点的染色体和染色体断片落后而形成微核; (2) 落后的断片可能包括在子细胞中, 但所占的比例比主核小得多, 通常为主核的 $1/5 \sim 1/20$, 而鱼的染色体更小, 产生的微核只有主核的 $1/10 \sim 1/30$ 。微核是除主核之外的存在于胞质中独立的微小核物质, 它必须经过一次完整的细胞分裂周期才能观察到, 微核出现的频率不仅取决于诱变剂或纺锤体抑制剂活性的强弱, 还取决于细胞有丝分裂的速度。而细胞有丝分裂的速度随鱼的种类、靶组织和环境条件的不同而有很大的变化。因此, 将鱼暴露于遗传毒性物质之后, 如果没有可与之比较的类似的试验程序, 要确定观察微核的最佳的时期是不可能的。可是在细胞培养过程中, 当加入具有使胞质分裂受阻而并不影响细胞核分裂的细胞松弛素 B 后, 就可以观察到大量的具双核的细胞, 与此同时微核也容易在具双核的细胞观察到。

鱼微核的形成具有自发性, 但其本底值较啮齿类实验动物低^[16]。以鱼作为试验对象其自发微核出现的频率随使用方法和鱼样本的方式不同而不同。能诱导鱼产生微核的化学物质并不都是诱变剂, 一种被称之为纺锤体毒的物质也能诱导鱼的细胞产生类似微核的微小体, 但并非遗传物质如甲基汞、PCBS 等。大多数诱变物和致癌剂都可引起 DNA 的损伤或改变 DNA 复制的规律, 然后通过细胞的有丝分裂表现出它的遗传毒性。当然生物体内也会有各种各样的生物化学途径来修复 DNA 的损伤, 不过大多数污染物导致的遗传毒性效应所需要的浓度大大低于引起总的细胞毒作用的浓度。经过染毒的细胞的微核必须在第一次细胞分裂期之后的子细胞中才能观察到。一般来说, 机体细胞周期的长短取决于 DNA 复制和胞核分裂所需要的时间, 这在人和用于实验的啮齿类动物其各种组织细胞周期的长短已经有据可查, 但对于真骨鱼类就没有这方面的数据, 部分原因在于鱼是变温动物, 细胞分裂的周期随温度的变化而变化。因此, 在进行鱼体外细胞培养和观察微核时期的选择应给予特别的注意。

3. 3 应注意的问题 鱼微核试验作现场检测水体遗传毒性物质是一个很有用的手段, 前面已经讨论过微核试验较之中期染色体分析具有明显的优点。可是, 微核试验还必须经过完善才能用于日常的检测手段, 鱼类种群之间存在的诸如外来生物的代谢机理、DNA 的修复和细胞繁殖周期的差异都影响到遗传毒物的敏感性, 因此, 研究并筛选出对遗传毒物相对敏感的鱼种, 这项工作非常重要但不容易, 因为不同的鱼其最佳的生理生化温度并不一致。就红细胞微核试验而言, 鱼类血液的数量从占鱼体重的 $1.5 \sim 7.3\%$, 淡水鱼比海水鱼多, 性情活泼的鱼比少活动的鱼多, 来自热带水域的鱼比冷水水域的鱼多^[17]。鱼体内红细胞的数量随种类不同从 $1.0 \sim 3.0 \times 10^6$ 个/ mL 。除此之外, 有关鱼类血细胞生成速率和红细胞代谢的快慢人们知之更少。所有这些不确定的因素都可能影响到红细胞中微

核的产生。

种内的因素比如鱼龄、性别、食性、健康状况、繁殖能力以及遗传性状同样影响到微核试验中微核的产生。因为在啮齿类动物中雄性和雌性的个体在微核试验中对断裂剂的影响存在着差异,这是由于体内激素水平的不同所致。所以,鱼体内微核的产生也可能随性别不同而存在着差异;鱼龄可能是另一个不确定的因素,鱼的早期发育阶段对遗传毒物的反映可能成年个体更敏感,原因可能是毒物阻塞 DNA 合成的主要通道;众所周知,食性也能影响遗传毒物在细胞内的代谢活性,所以在微核试验中各种饵料的影响也应该加以考虑。凡此种种,目的在于促进人们对可能影响微核产生的各种因素加以研究。当然,明确在体内体外试验系统中微核形成的动力学过程无疑更加重要^[18]。

一旦这些可疑的因素在可控的实验室条件下在体内的试验系统中被调查清楚,就可利用敏感鱼种将这一系统应用于现场调查,同时这一技术也将得到很大的发展。鱼微核试验作为一项检测技术在检测水体中的诱变物具有很大的潜力,可是这一技术在作为常规检测手段之前还有许多工作要做。研究工作的重点应集中在控制种间和种内特定变异的因素上,使暴露在诱变物中的鱼的微核率具有可比性。

参考文献:

- [1] Harshbarger M A, Clark J B. Epizootiology of neoplasms in bony fish of North America [J]. *Sci. Total Environ.*, 1990, **94**: 1—32
- [2] 张天保. 微核试验筛检化学诱变物的价值及方法学上的研究近况[J]. 环境与健康杂志, 1986, **3**(1): 43—46
- [3] 欧德有, 周青山. 湘江底泥中重金属铅对鱼类血相的毒性影响[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1986, **2**(增刊): 53—56
- [4] 贺维顺, 王蕊芳. 蝌蚪血红细胞微核和核异常监测水质污染的研究[J]. 动物学研究, 1990, **11**(1): 1—6
- [5] 沈光平, 王钦南. 微核与染色体畸变的相关性[J]. 遗传, 1985, **7**(1): 15—17
- [6] Buckey J A. Heinz Body hemolytic anemia in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated wastewater [J]. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 1977, **34**: 215—224
- [7] 郭永灿, 周青山. 镉对白鲢外周血红细胞微核率影响的观察[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1985, **3**: 79—83
- [8] 唐明德, 易义珍. 百菌清诱导鳙鱼血液有核红细胞微核率的研究[J]. 湖南医学院学报, 1987, **12**(2): 153—155
- [9] Schultz N, Norrgren L, Grawe J A. Micronuclei frequency in circulating erythrocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) subjected to radiation: an imageanalysis and flow cytometric study [J]. *Comp Biochem Physiol.*, 1993, **105C**: 207—211
- [10] Hose J E, Cross J N, Smith S G, et al. Elevated circulating erythrocyte micronuclei in fishes from contaminated sites off Southern California [J]. *Marine Environ. Res.*, 1987, **22**: 167—176
- [11] William s R C, Metcalfe C D. Development of an invivo hepatic micronucleus assay with rainbow trout [J]. *Aquatic Toxicology*, 1992, **23**: 193—202
- [12] Ueda T M, Hayashi M, Ohtsuka Y. A preliminary study of the micronucleus test by acridin orange fluorescent staining compared with chromosomal aberration test using fish erythropoietic and embryonic cells [J]. *Water Sci. Tech.*, 1992, **25**(11): 235—240
- [13] K. Al-Sabti. An in vitro binucleated blocked hepatic cell technique for genotoxicity testing in fish [J]. *Mutation Research*, 1995, **335**: 109—120
- [14] Heddle J A. A rapid in vivo test for chromosomal damage [J]. *Mutation Research*, 1973, **18**: 307—317
- [15] Schmidt W. The micronucleus test [J]. *Mutation Research*, 1975, **31**: 9—15
- [16] 刘爱华, 施立明. 鱼类血细胞的微核测定[J]. 动物学研究, 1985, **6**: 8—10

- [17] Kabil Al-sabti, Chris D Metcalfe. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water [J]. *Mutation Research*, 1995, **343**: 121– 135
- [18] 薛开先, 季国芳. 微核形成与细胞周期关系的初步研究[J]. 遗传学报, 1986, **13**(5): 397—402

THE APPLICATION AND STUDIES OF MICRONUCLEUS ASSAYS WITH FISH TO SCREEN MUTAGEN IN WATER

LI Gu¹, CHEN Xiao-Hi², CHEN Dan², YU Wen-bin¹ and ZHAI Liang-an¹

(1. Yangtse River Fisheries Research Institute, CAFS, Jingzhou, 434000;

2. Institute of Environmental Medicine, Tongji Medical University, Wuhan 430030)

Abstract: By using micronucleus assays with fish to screen the genotoxicity of five kinds of environmental pollutants, the results showed that they are useful techniques for genotoxicity testing, and potential for in situ monitoring of water quality; In discussion, the author summarized the various techniques used for micronucleus analysis in fish from references and discussed mechanisms for formation of micronuclei in cells.

Key words: Micronucleus assays; Genotoxicity; Cytokinesis-blocked method; Fish; Water; Mutagen