

重金属 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 对泥鳅 DNA 损伤的研究

张迎梅^{1,2} 王叶菁¹ 虞闰六¹ 张 晟² 吴振斌²

(1. 兰州大学生命科学学院, 兰州 730000; 2. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要:采用单细胞凝胶电泳技术(SCGE),研究重金属 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 在不同暴露时间(1—35d)、单一重金属离子不同暴露浓度(0.05mg/L、0.5mg/L、5.0mg/L)或混合重金属离子($\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$)相同浓度(0.5mg/L)条件下对泥鳅肝胰脏细胞核 DNA 的损伤作用。以带彗尾核 DNA 百分率和彗尾长度(TL)与核直径(D)比值为指标,探讨 DNA 损伤级别与处理浓度间的相关性。结果显示,随着处理时间的延长,带彗尾核 DNA 百分率和 TL/D 值均呈上升趋势,5.0mg/L Zn^{2+} 组 28d 时带彗尾核 DNA 百分率最高(84.85%),35d 的 TL/D 值亦为所有组中最高(2.50);对 DNA 损伤作用,初期以 1 级损伤为主,7d 后以 3 级损伤为主,且损伤率超过 80%; Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 之间的联合毒性表现复杂,但总体表现为 Cd^{2+} 存在时能增强 Pb^{2+} 或 Zn^{2+} 对 DNA 的损伤作用。总之,重金属 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 对泥鳅肝胰脏细胞核 DNA 损伤具有明显的浓度和时间效应,利用 SCGE 技术可对水环境污染导致的生物基因毒性作用进行监测。

关键词:单细胞凝胶电泳;重金属;泥鳅;DNA 损伤

中图分类号:X174 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2006)04-0399-05

近年来黄河兰州段重金属类负荷占化学污染总负荷的 12.96%^[1],重金属在食物链中的富集系数可高达几万倍,一旦人们食用了这些含有大量有毒重金属的水生生物(如鱼虾、贝类)后,重金属就会在人体相关功能器官内积累,严重的会使人慢性中毒,影响人体正常发育。因此,重金属作为一类主要的污染物对鱼类的毒害作用,也日益受到人们的关注^[2-4]。目前,世界各国无不把重金属含量列为重要的水体污染指标,作为监控的重要内容。鱼类是仅次于昆虫和甲壳类动物的一类灵敏监测生物,而泥鳅是一种生命力较强的淡水鱼,分布广泛,取材容易,是理想的毒性实验材料。大量的研究表明,浓度严重超标会对水生生物产生毒性作用,但以往的研究主要集中在急性毒性或单一金属的毒性评价上,实际上,在自然界中,动植物不可避免地暴露在混合化学污染条件下,且多属于慢性或亚急性的混合重金属污染。贾秀英研究了铜、铅、汞、锌 4 种重金属对泥鳅幼鱼呼吸强度^[5]和镉对泥鳅幼鱼的急性和亚急性毒性^[6]的影响;谢志浩^[7]报道了四种除草剂对泥鳅红细胞遗传毒性的研究,而有关重金属离子相

互作用及其对泥鳅 DNA 损伤的研究还未见报道。虽然 SCGE 技术广泛用于评价污染物诱导 DNA 的损伤^[8-13],但利用该技术研究重金属对鱼类 DNA 损伤的报道甚少,国内报道仅限于对鲫鱼淋巴细胞和肾细胞 DNA 损伤的研究^[11-13]。本文采用单细胞凝胶电泳技术(Single cell gel electrophoresis assay, SCGE),研究不同暴露时间、不同暴露浓度下单一或混合重金属离子对泥鳅 DNA 的损伤作用,以期探讨重金属的遗传毒性作用,并为制定重金属离子在水中的排放标准等提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料 泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)购自水产品市场(黄河水养殖),选择平均体重 6.58(5.17—7.99)g,平均体长 12.50(11.79—13.21)cm,且健康的个体。染毒前先置于实验室大鱼缸里,在符合饮水标准的自来水中驯养半个月,期间隔天喂市售鱼食一次。选择反应敏捷的泥鳅作为实验鱼,实验期间每隔 2d 喂食市售鱼饵一次,期间不换水。取样前 1d 不喂食。驯养和实验期内的温度控制在 22 ± 1 °C。

收稿日期:2004-09-30;修订日期:2004-12-02

基金项目:教育部科学技术研究重点项目(02080);中国科学院淡水生态与生物技术国家重点实验室开放基金(2002FB08)资助

作者简介:张迎梅(1963—),女,汉族,山西临汾人,教授、博士生导师,主要从事环境动物学和生态毒理学研究。E-mail: ymzhang@lzu.edu.cn

1.2 染毒重金属化合物 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$,上海亭新化工厂生产; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$,上海金山化工厂生产; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,西安化学试剂厂生产。以上染毒用药品全为分析纯。

1.3 亚急性实验染毒浓度设计 国内关于重金属 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 的废水排放标准分别为 0.1,1.0,5.0mg/L,本实验中设计了 3 个均低于国家废水排放标准的浓度 0.05mg/L Cd^{2+} 、0.5mg/L Pb^{2+} 和 0.5mg/L Zn^{2+} ;0.0mg/L 为对照组(ck)浓度。每组水体均为 20L,放入泥鳅 20 尾,各做 4 个平行,每组共计 80 尾鱼(表 1);实验期间采用自然光,尽量保持各浓度组之间背景一致,实验期间各组未出现死亡现象。

表 1 实验分组及浓度设计

Tab. 1 The design of heavy metal concentrations in the experiments

浓度(mg/L)	0.0	0.05	0.5	5.0
重金属	n = 80	n = 80	n = 560	n = 240
Cd^{2+}		+	+	+
Pb^{2+}		-	+	+
Zn^{2+}		-	+	+
$\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	+	-	+	-
$\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$		-	+	-
$\text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$		-	+	-
$\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$		-	+	-

1.4 单细胞凝胶电泳法(SCGE)^[14,15] 各组分别于第 1、7、14、21、28、35d 取肝胰脏细胞样,每次每浓度组 3 尾鱼混合为一个样,共计样品数 12 组 ×6 个样/组 ×4 个平行 = 288 个样。单细胞凝胶电泳,测其 DNA 损伤程度,并进行统计。

每个样随机统计 100 个细胞核中带彗尾核 DNA 百分率,每浓度组共统计 400 个细胞核;用目镜测微

尺测量 20 %左右的带彗尾核 DNA 直径及彗尾长度($n = 8 - 64$)。

以彗尾长度/核直径(TL/D)值衡量损伤程度,比值小于 0.3 为 1 级损伤或轻微损伤,0.3—0.6 为 2 级损伤或中级损伤,0.6 以上为 3 级损伤或严重损伤。

1.5 数据处理 组间差异显著性用 t 检验,并用单因素方差分析处理时间或离子浓度对指标的影响程度。 $P < 0.05$ 表示差异或影响显著, $P < 0.01$ 表示差异或影响极显著。

2 结果

2.1 DNA 损伤率统计

单一重金属离子(Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+})不同浓度(0.05mg/L、0.5mg/L、5.0mg/L)和混合重金属离子($\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$)相同浓度(0.5mg/L)短期处理(1—35d)条件下,对泥鳅肝胰脏细胞核 DNA 的损伤程度均显著($P < 0.05$),具体分析如下。

2.1.1 单一离子不同浓度的统计 由表 2 可以看出,随着处理时间的延长,除 0.05mg/L Cd^{2+} 组、0.5mg/L Cd^{2+} 组和 5.0mg/L Zn^{2+} 组在 28d 时带彗尾核 DNA 百分率达最高外,其余各组带彗尾核 DNA 百分率呈持续上升趋势。比较单一离子处理组,5.0mg/L Zn^{2+} 组的带彗尾核 DNA 百分率最高(84.85 %),其次是 5.0mg/L Cd^{2+} 组和 5.0mg/L Pb^{2+} 组。

由表 3 看出,随着处理时间延长,1d 时 DNA 损伤程度以 1 级为主,7d 后以 3 级损伤为主,损伤率超过 80 %;除 5.0mg/L Zn^{2+} 组外,其他各处理组 DNA 损伤程度呈现先上升再下降趋势,且同种金属离子 14d 之前高浓度组造成的 DNA 损伤比低浓度组严重($P < 0.05$),21d 以后差异不显著($P > 0.05$)。

表 2 单一离子处理组带彗尾核 DNA 百分率(%)

Tab. 2 Percentage of damaged DNA with tail treated by single heavy metal

时间(d)	1	7	14	21	28	35
浓度(mg/L)						
ck	8.00 ±0.63	6.00 ±0.86	4.30 ±0.72	9.00 ±1.24	4.17 ±0.51	5.50 ±0.62
Cd^{2+} 0.05	28.33 ±2.62	45.95 ±1.23	52.00 ±1.28	56.00 ±1.25	57.89 ±2.21	53.33 ±1.24
0.5	30.16 ±1.44	54.17 ±2.66	56.00 ±2.24	60.00 ±1.42	62.00 ±1.06	60.71 ±1.11
5.0	32.00 ±2.91	66.67 ±3.19	67.92 ±2.06	74.00 ±2.35	77.78 ±1.19	78.13 ±2.07
Pb^{2+} 0.5	35.45 ±1.48	52.94 ±1.72	58.00 ±3.32	62.00 ±1.31	64.86 ±2.26	66.67 ±3.52
5.0	38.00 ±2.25	57.14 ±2.24	61.14 ±1.46	66.00 ±2.29	69.23 ±2.47	71.05 ±2.23
Zn^{2+} 0.5	35.71 ±2.71	60.00 ±3.26	66.00 ±2.92	72.00 ±1.52	72.00 ±1.21	73.81 ±2.94
5.0	40.91 ±2.59	76.19 ±2.52	80.00 ±3.34	82.00 ±2.47	84.85 ±2.27	81.25 ±1.90

表 3 单一离子处理受损 DNA 的 TL/D 值

Tab.3 The TL/D value of damaged DNA treated by single heavy metal

时间(d)		1d	7d	14d	21d	28d	35d
浓度(mg/L)							
ck		0.10 ±0.06	0.36 ±0.12	0.42 ±0.14	0.36 ±0.10	0.36 ±0.09	0.20 ±0.09
Cd^{2+}	0.05	0.11 ±0.07	1.31 ±0.74	1.37 ±0.68	1.49 ±0.71	1.79 ±0.57	1.25 ±0.49
	0.5	0.13 ±0.08	1.73 ±0.89	1.79 ±0.74	1.85 ±0.99	1.78 ±0.67	1.55 ±0.64
	5.0	0.18 ±0.04	1.90 ±0.76	2.02 ±0.66	1.96 ±0.98	1.90 ±0.79	1.90 ±0.82
Pb^{2+}	0.5	0.21 ±0.08	1.96 ±0.43	2.08 ±0.85	1.55 ±0.72	1.43 ±0.87	1.07 ±0.65
	5.0	0.23 ±0.10	2.14 ±0.88	2.26 ±0.66	1.67 ±0.58	1.37 ±0.74	1.43 ±0.72
Zn^{2+}	0.5	0.14 ±0.04	1.49 ±0.55	1.55 ±0.72	1.79 ±0.78	1.85 ±0.82	1.73 ±0.84
	5.0	0.33 ±0.12	1.79 ±0.64	1.90 ±0.49	2.14 ±0.85	2.08 ±0.88	2.50 ±0.96

2.1.2 0.5mg/L 浓度下混合离子统计 比较同浓度 0.5mg/L 的混合处理组,带彗尾核 DNA 百分率呈不同程度的增长趋势,随着时间的延长,在 14d 后增长趋势变平缓(图 1)。TL/D 值,1—7d 显著增大,7—14d 较平缓,14—21d 呈下降趋势,21d 后下降趋势变缓(图 2)。总体上讲, $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 处理组损伤作用最强,其他各混合离子处理组的损伤作用随时间延长变化各一,说明 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 这三种重金属离子之间的联合毒性比较复杂。

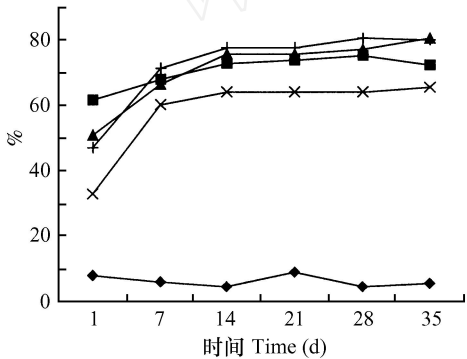
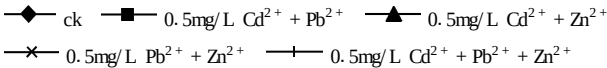


图 1 各混合离子处理组同为 0.5mg/L 浓度下受损核 DNA 百分率(%)
Fig.1 Percentage of damaged DNA with tail treated by mixed heavy metals at the 0.5mg/L (%)



2.2 DNA 损伤程度

泥鳅肝胰脏核 DNA 单细胞凝胶电泳结果显示(图 3):DNA 未受损的细胞核为一圆形荧光核心(图 3A),而染毒各组均可引起程度不同的核 DNA 损伤(图 3B,C,D)。受损细胞核有一个彗星状的尾从核中伸向阳极,形成一个紧连荧光头部的尾部。

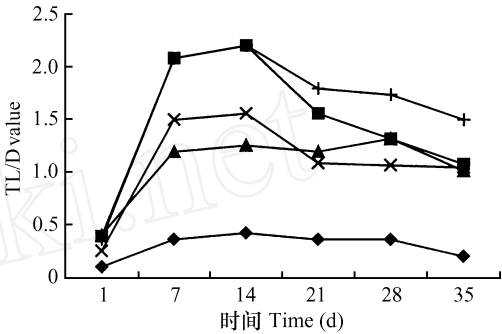


图 2 各混合离子处理组同为 0.5mg/L 浓度下受损核 DNA 的 TL/D 值
Fig.2 The TL/D value of damaged DNA treated by mixed heavy metals at the 0.5mg/L

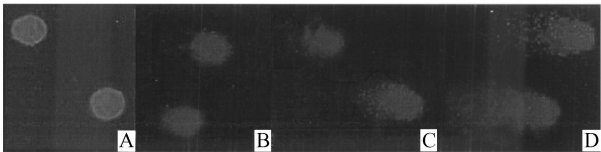
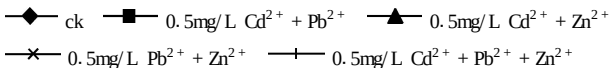


图 3 泥鳅肝胰脏细胞单细胞凝胶电泳图(×200)
Fig.3 The SCGE images of loach hepatopancreas cells

A:21d,对照组,无损伤;B:21d,0.05mg/L Cd^{2+} 组,1 级损伤;C:35d,0.5mg/L $\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 组,2 级损伤;D:28d,5.0mg/L Zn^{2+} 组,3 级损伤
A:21d, control, no damage; B:21d, 0.05mg/L Cd^{2+} , 1st damaged level; C:35d, 0.5mg/L $\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ group, 2nd damaged level; D:28d, 5.0mg/L Zn^{2+} group, 3rd damaged level

3 讨论

水体中的重金属混合物可通过物理化学过程,生理过程以及脱毒过程对鱼类呼吸、免疫、酶活性、DNA 损伤以及胚胎发育等方面产生程度不同的毒

性作用^[2],而且与重金属离子的性质和浓度密切相关^[4],但有关重金属混合物对鱼类基因毒性作用机制报道甚少。本研究选择动物必需元素 Zn 和非必需元素 Cd 和 Pb 化合物,采用 SCGE 技术,以 DNA 损伤为观察指标,发现不同浓度条件下单一重金属离子 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 或 Zn^{2+} 和相同浓度 (0.5mg/L) 条件下其混合物 ($\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$) 随处理时间的延长对泥鳅肝胰脏 DNA 损伤作用呈现一定的规律性:各处理组对泥鳅肝胰脏 DNA 有显著的损伤作用,而且随着处理时间的延长带彗尾核 DNA 百分率和 TL/D 值均呈上升趋势,DNA 损伤程度增加,结果与胡晓磐等^[13]报道的 Cd、Zn、Pb、Hg 四种重金属混合物对鲫淋巴细胞 DNA 的损伤效应相一致,均存在明显的剂量-效应关系;对单一浓度条件下 (0.5mg/L) Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 相互联合毒性作用研究,发现三者之间的作用关系复杂,当生物体必须的 Zn^{2+} 存在时会降低 Pb^{2+} 对 DNA 的毒性作用,当 Cd^{2+} 存在时会增加 Zn^{2+} 和 Pb^{2+} 对泥鳅肝胰脏 DNA 的损伤作用 (图 2),而周新文^[4]等研究发现 Cu 离子能降低 Zn、Pb 和 Cd 离子对 *C. auratus* 大脑、鳃和肝胰脏 DNA 的毒性作用,说明重金属离子间的相互作用关系复杂。由此推测,当多种重金属毒物共存于水环境中时,将出现复杂的联合毒性效应,仅用单种重金属毒性的污染指标判断污染水体的生物毒性作用是不可取的。自然水域的污染评价在测定了单一毒物含量的同时,还应从联合毒性的角度采用生物毒性试验技术对水质污染做出较客观的综合评价。

重金属离子引起动物 DNA 损伤,产生基因毒性的主要机制是诱导大量自由基产生,这些活性自由基攻击 DNA 链后,使 DNA 链发生断裂,若断裂的 DNA 链不能及时修复,则会影响 DNA 的功能,从而引发基因毒性。但生物体必需元素和非必需元素的作用机制略有不同,必需元素 Zn 参与多种酶催化的生化反应,但超过动物体内必需的浓度时,可诱导产生大量自由基,从而引发细胞膜的脂质过氧化作用;而非必需元素 Cd 和 Pb 在低浓度条件下就能诱导产生自由基,高浓度时可影响核酸内切酶和聚合酶的活性,甚至引发 DNA 突变^[2]。本研究发现,单一重金属离子染毒,在 0.5mg/L 水平上随着处理时间的延长,诱导泥鳅肝胰脏 DNA 损伤能力无显著差异 ($P > 0.05$);而在 5.0mg/L 水平上则表现为 Zn^{2+} 组诱导能力随染毒时间的延长而增强,可能与泥鳅肝胰脏对不同重金属的解毒作用具有差异性有关。

本实验对三个低于国家废水排放标准浓度 (0.05mg/L Cd^{2+} 、0.5mg/L Pb^{2+} 和 0.5mg/L Zn^{2+}) 处理组的研究结果表明: Cd、Pb 和 Zn 重金属离子低浓度、短期单独染毒均能引起泥鳅肝胰脏细胞 DNA 损伤,而混合重金属之间的相互作用更加明显。当污染物的毒性作用超越动物体本身对遗传毒物的代谢转化作用时,动物就表现出异常或病理现象。因此,建议有关部门在修订渔业水质标准时,除考虑单种重金属离子对动物的遗传毒性效应外,应兼顾污染环境综合因素,制定更加科学合理的废水排放标准。

参考文献:

- [1] Ma H M. Law of variety and straits of the pollutants in the Lanzhou strain of the Yellow River[J]. *Gansu Environmental Study and Monitoring*, 2002, 15(2): 101—103[马和梅. 黄河兰州段水体污染物变化规律与特征. 甘肃环境研究监测, 2002, 15(2): 101—103]
- [2] Sun D W, Zhan Y, Xu Z R. Study on the hazards of heavy metals to fishes[J]. *Reservoir Fisheries*, 2003, 23(2): 4—6[孙德文, 詹勇, 许铨荣. 重金属对鱼类危害作用的研究. 水利渔业, 2003, 23(2): 4—6]
- [3] Yang J, Yin J, Xu H L, et al. The ingestion and accumulation of zinc, copper, lead, cadmium and arsenic in the Yangtze finless porpoise *Neophocaena phocaenoides asiatorientalis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(5): 557—563[杨健, 尹君, 许海伦, 等. 长江江豚铜铅镉和砷的摄入与累积. 水生生物学报, 2005, 29(5): 557—563]
- [4] Zhou X W, Zhu G N, Sun J H, et al. Toxicity of Copper, Zinc, Lead, Cadmium to Tissue's Cellular DNA of the Fish (*Carassius auratus*) [J]. *Acta Agriculturae Nucleare Sinica*, 2001, 15(3): 167—173[周新文, 朱国念, 孙锦荷, 等. Cu、Zn、Pb、Cd 对鲫鱼 (*Carassius auratus*) 组织 DNA 毒性的研究. 核农学报, 2001, 15(3): 167—173]
- [5] Jia X Y. Effect of four kinds of heavy metal on respiration intensity of juvenile *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 2001, 27(5): 556—558[贾秀英. 四种重金属对泥鳅呼吸强度的影响. 浙江大学学报 (农业与生命科学版), 2001, 27(5): 556—558]
- [6] Jia X Y. Acute and subacute toxicity of cadmium on juvenile loach[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2001, 23(5): 227—228[贾秀英. 镉对泥鳅幼鱼的急性和亚急性毒性研究. 环境污染与防治, 2001, 23(5): 227—228]
- [7] Xie Z H, Li J, Ping B, et al. Study on genetic toxicity of four herbicides on erythrocytes of *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. *Chinese Journal Applied Environmental Biology*, 2003, 9(4): 412—416[谢志浩, 李骏, 平波, 等. 四种除草剂对泥鳅红细胞遗传毒性的研究. 应用与环境生物学报, 2003, 9(4): 412—416]
- [8] Pandrangi R, Petras M, Rasph S. Alkaline single cell gel (comet) assay and genotoxicity monitoring using bullheads and carp. *Environmental Molecular Mutagen*, 1995, 96(4): 345—356

- [9] Gabbianelli R, Lupidi G, Villarini M, et al. DNA Damage Induced by Copper on Erythrocytes of Gilthead Sea Bream *Spaas aurata* and Mullusk *Scapharca inaequivalvis*. *Archives Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, **45**(3):350—356
- [10] Li X N, Han Y L, Deng R P, et al. Effects of tributyltin on DNA damage of gill cell from *Saccostrea cucullata*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(3):336—339[李兴暖,韩雅莉,邓瑞鹏,等. 三丁基锡对牡蛎腮细胞 DNA 损伤的研究. 水生生物学报, 2005, **29**(3):336—339]
- [11] Zhao S C, Zhang J. Study on the effects of chromium (Cr^{3+}) on DNA damaging in carp (*Carassius auratus*) kidney cells[J]. *Hebei Fisheries*, 1999, **4**:11—13[赵守城,张娟. 用 SCGE 技术检验铬污染对鲫鱼肾细胞 DNA 损伤的研究. 河北渔业, 1999, **4**:11—13]
- [12] Hu X P, Zhou J H, Shi X J. Detection of DNA damage in *Carassius auratus* lymphocytes induced by cadmium with Single Cell Gelelectrophoresis Assay[J]. *Journal of Agrov-Environment Science*, 2005, **24**(1):43—45[胡晓磐,周建华,时夕金. 利用单细胞凝胶电泳技术研究镉对鲫鱼淋巴细胞 DNA 的损伤. 农业环境科学学报, 2005, **24**(1):43—45]
- [13] Hu X P, Shi X J, Zhou J H. Study of DNA damage in *Carassius auratus* lymphocytes treated by mixed heavy metals[J]. *Reservoir Fisheries*, 2005, **25**(1):11—12[胡晓磐,时夕金,周建华. 重金属混合物对鲫淋巴细胞 DNA 损伤的研究. 水利渔业, 2005, **25**(1):11—12]
- [14] Feng S L, Kong Z M, Wang W X, et al. Genotoxicological studies of pesticides to tadpoles and frogs of *Rana nigriculata* Hallowei by micronuclei test and single cell gel electrophoresis assay[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, **28**(1):52—57[封少龙,孔志明,王五香,等. 应用微核试验和单细胞凝胶电泳技术来检测农药对青蛙蝌蚪及成体的遗传毒性. 水生生物学报, 2004, **28**(1):52—57]
- [15] Yang J Y, Pen Y, Li L. Inspection of the destruction of single-cell DNA using SCGE[J]. *Shanxi Medical Journal*, 2002, **31**(5):400—402[杨建一,彭芸,李莉. 单细胞凝胶电泳检测单细胞 DNA 损伤. 山西医药杂志, 2002, **31**(5):400—402]

EFFECTS OF HEAVY METALS Cd^{2+} , Pb^{2+} AND Zn^{2+} ON DNA DAMAGE OF LOACH MISGURNUS ANGUILLICANDATUS

ZHANG Ying-Mei^{1,2}, WANG Ye-Jing¹, YU Run-Liu¹, ZHANG Sheng² and WU Zhen-Bin²

(1. School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000; 2. Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Science;

State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology Wuhan 430072)

Abstract: This paper mainly reported the DNA damage effects of heavy metals Cd^{2+} , Pb^{2+} and Zn^{2+} at 0.05mg/L, 0.5mg/L and 5.0mg/L level and their interaction at 0.5mg/L level on hepatopancreas of loach *Misgurnus anguillicaudatus* by SCGE for 1—35 days exposure. For each test group, 20 loaches with similar body size (5.17—7.99g; 11.79—13.21cm) were selected and kept in aquaria with dechlorinated water at $22 \pm 1^\circ\text{C}$ and fed a commercial diet every 48h. According to the percentage of damaged DNA with tail and its TL/D (tail length to diameter of nucleus) value, it probed into the relationship between DNA damage degree and heavy metal dose and exposure time. The results showed that the percentage of damaged DNA and the TL/D value was increasing with the exposure time prolonging. Of all the treated groups, 5.0mg/L Zn^{2+} treating group had the highest percentage (84.85%) of damaged DNA at 28d exposure and the biggest TL/D value (2.50) at 35d exposure. During the first treated week, the damnification of DNA mainly revealed as the 1st level, after that time, the 3rd damaged level was mostly shown and the percentage of damaged DNA was beyond 80%. The joint toxicity effects among Cd^{2+} , Pb^{2+} or Zn^{2+} manifested much complex, but it generally displayed that the existence of Cd^{2+} could enhance the genotoxic of Pb^{2+} or Zn^{2+} . In conclusion, the results suggest that there is a significant time and dose effect relationship between the heavy metal Cd^{2+} , Pb^{2+} or Zn^{2+} treatment and DNA damage in hepatopancreas of loach, and the SCGE could represent a useful test to evaluate the genotoxic of environmental contamination by heavy metals on aquatic organisms.

Key words: SCGE; heavy metals; *Misgurnus anguillicaudatus*; DNA damage