

高爱保. 草甘膦对黑斑蛙主要器官中抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(1): 278–281.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.01.052

草甘膦对黑斑蛙主要器官中抗氧化酶的影响

高爱保

(晋中学院生物科学与技术学院, 山西晋中 030600)

摘要:随着农业的大力发展,农药的使用量也越来越多,草甘膦作为低风险的除草剂得到大量推广使用,而两栖类动物种群数量逐渐下降。为合理使用草甘膦、保障生物多样性和提高生物安全性,测定了不同体积分数的 41% 草甘膦异丙胺盐(水剂)溶液对黑斑蛙不同组织器官中超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,SOD 活性先被诱导激活,而后受到抑制。在肝脏、皮肤和肾脏中,SOD 和 CAT 活性在 0.82~1.23 mL/L 体积分数下,30 d 内均有升高趋势;而在 1.64~2.87 mL/L 体积分数下,20 d 后其活性降低,表现出剂量效应和时间效应。本研究为当前探寻两栖类动物种群数量下降的原因提供一定的参考依据,对环境污染的生物监测具有重要科学应用价值。

关键词:草甘膦;黑斑蛙;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶;生物安全性;剂量效应;时间效应

中图分类号: S481⁺.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)01-0278-04

草甘膦,化学名为 *N*-(磷酸甲基)甘氨酸,不溶于有机溶剂,极性很强,易溶于水,它是一种非选择性、无残留、内吸传导型广谱灭生性除草剂。虽然草甘膦对动物的毒性很低,但由于其消耗量大、施用范围广,还可能通过食物链富集,因此其毒性不可忽视。一方面,它们可直接进入人和其他生物的体内,引起急性、慢性中毒或畸变;另一方面,通过径流、排污、挥发等途径进入土壤、水体和大气,引起各种生态环境下生物的死亡,并通过食物链的富集、传递,影响人类的食物安全^[1]。这些污染物进入生物体内,可形成多种中间产物,其中许多中间产物可进入氧化还原循环,产生比母体污染物危害性更大的中间代谢产物,同时伴随着大量的活性氧自由基的产生^[2]。这些活性氧自由基若不及时清除,就会引起 DNA 断裂、脂质过氧化、酶失活等损伤^[3],对机体造成氧化胁迫。目前,国内对草甘膦的毒性研究已有不少报道。2007 年,肖永红等在草甘膦对中华大蟾蜍的慢性毒性的研究中发现,亚致死剂量的草甘膦溶液对中华大蟾蜍蝌蚪的生长、发育和运动频率有抑制作用^[4]。2010 年,张彬彬研究的草甘膦对鲫鱼肝脏内膜系统和超氧化物歧化酶的影响表明,随草甘膦质量浓度增加,干细

胞内膜系统中线粒体肿胀及空泡化、内质网空泡化,不同质量浓度的草甘膦处理对鲫鱼肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)均起诱导作用,SOD 活性随污染物质量浓度升高而升高,96 h 处理 SOD 活性先被诱导,而后出现抑制效应^[5]。

黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)是无尾目、蛙科、蛙属的两栖动物,成蛙常栖息于池塘、水沟边等近水域附近的草丛中。近年来,两栖类动物在全球范围内出现了严重的种群衰退现象,尤其是农药和除草剂使用后的负面影响已引起人们的重视^[6-7]。同时,草甘膦对环境及有益生物的影响受到关注^[8-9]。两栖类动物是生态群落的重要组成部分,因此它们的消亡和灭绝将会对生物多样性产生巨大的威胁。近年,随着环境污染的日益加重,两栖动物种类在世界各地正在急剧地衰减或消失^[10]。国内外许多学者报道了常见杀虫剂和除草剂对两栖类的毒性及对两栖类种群衰退的影响,他们对常见的两栖类物种不明原因地衰减或消失进行了多次论证,认为两栖动物由于其皮肤的高渗透性、水陆两栖等生物学特性,对环境污染极其敏感,两栖动物种群的变化与环境污染有密切的关系^[11-13]。本试验用不同浓度的草甘膦研究其在不同时间内对黑斑蛙的肝脏、肾脏和皮肤中 SOD 活性及过氧化氢酶(CAT)活性的影响,了解草甘膦对其抗氧化系统的毒害,从而为合理使用草甘膦、保障生物多样性和提高生物安全性提供初步的试验依据。

收稿日期:2018-09-17

基金项目:晋中学院博士基金(编号:bsjj2015211);晋中学院水生生物研究创新团队项目。

作者简介:高爱保(1973—),男,山西榆次人,博士,副教授,研究方向为农药环境毒理学。E-mail: gaoaibao@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

健康成年黑斑蛙平均体长为 (74.5 ± 4.5) mm, 随机均分为对照组和染毒组, 放在室内盛有 3 ~ 5 cm 不同体积分数的草甘膦(41% 草甘膦异丙胺盐 水剂, 南京华洲药业有限公司)溶液的小桶内养殖, 对照组溶液为饮用水, 每天更换 1/2 溶液, 且投喂 1 次。试验组分为 5 个处理, 每个处理 3 次重复, 其体积分数梯度为 0.82、1.23、1.64、2.05、2.87 mL/L; 定时观察记录黑斑蛙外形及生理变化。

1.2 试验方法

每隔 10 d 以双毁髓法处死, 取其皮肤、肝脏和肾脏测定超氧化物歧化酶(SOD)活力和过氧化氢

酶(CAT)活性, 并记录试验数据, 采用 SPSS 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 草甘膦对黑斑蛙肝脏中 SOD 活性的影响

由图 1 可知, 不同体积分数草甘膦处理后黑斑蛙肝脏中 SOD 活性发生变化, 与对照组相比呈先增高后降低的趋势。10 d 时, 对照组肝脏中 SOD 活性与 0.82、1.23 mL/L 组无显著差异。SOD 最高值 33.35 出现于 2.87 mL/L 组, 其余体积分数组与对照组相比差异显著($P < 0.05$)。20、30 d 对照组肝脏中 SOD 活性均与处理组有显著差异($P < 0.05$)。30 d 处理 SOD 活性升高后, 为降低, 草甘膦体积分数为 2.05 mL/L 时, SOD 活性出现最高值, 为 33.808 U/mg。

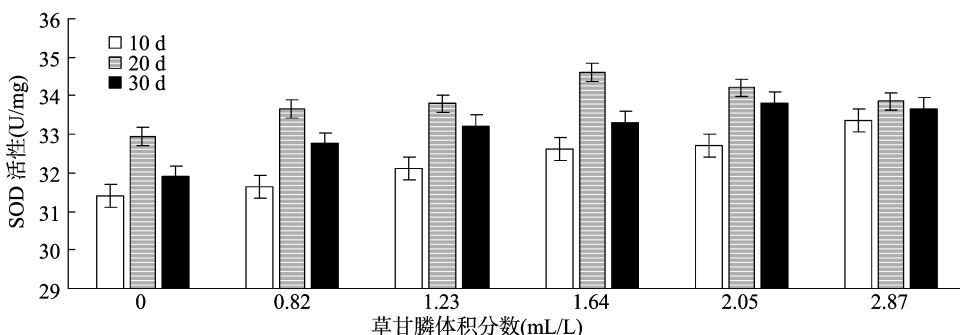


图1 草甘膦对黑斑蛙肝脏 SOD 活性的影响

2.2 草甘膦对黑斑蛙肾脏中 SOD 活性的影响

由图 2 可知, 不同体积分数草甘膦处理后, 黑斑蛙肾脏中 SOD 活性变化。10 d 时, 肾脏 SOD 活性与对照相比, 除最低体积分数 0.82 mL/L 组外, 其

他组均差异显著($P < 0.05$)。20、30 d 时, 所有处理组与对照组相比均有显著差异($P < 0.05$)。SOD 活性最大值 33.29 U/mg 出现于 2.05 mL/L 处理 20 d 时。

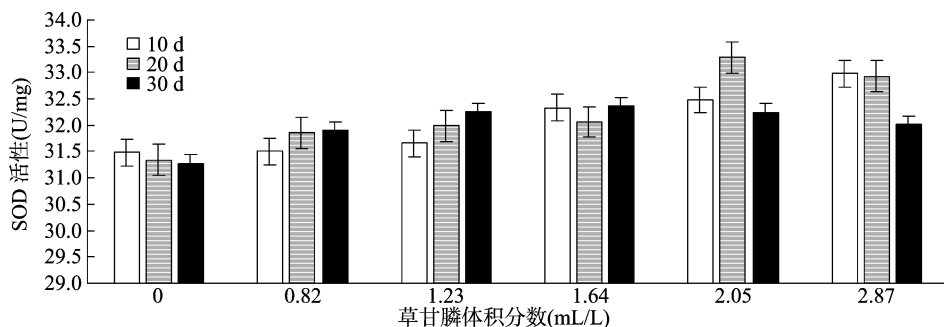


图2 草甘膦对黑斑蛙肾脏 SOD 活性的影响

2.3 草甘膦对黑斑蛙皮肤中 SOD 活性的影响

由图 3 可知, 不同体积分数草甘膦处理后, 黑斑蛙皮肤中 SOD 活性变化。10 d 时, 肾脏 SOD 活性仅 2.05 mL/L 组与对照组有显著性差异($P < 0.05$)。在 2.05 mL/L 时, 10、20 d 所有处理与对照组均有显著差异($P < 0.05$)。SOD 活性最大值 38.708 U/mg 出现于 2.05 mL/L 处理 10 d 时。

2.4 草甘膦对黑斑蛙肝脏中 CAT 活性的影响

由图 4 可知, 不同体积分数草甘膦处理后, 黑斑蛙肝脏中 CAT 活性与对照组相比有先增高后降低的趋势; 肝脏中 CAT 活性与对照组相比均显著升高($P < 0.05$), 但不同体积分数草甘膦对 CAT 活性间差异不显著。CAT 最低值 4.49 mg/(g · min) 出现在 0.82 mL/L 处理 10 d 时, 最高值 4.52 mg/(g · min)

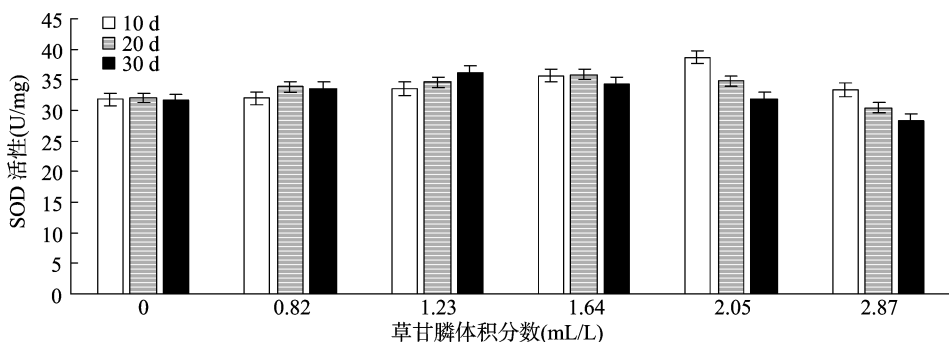


图3 草甘膦对黑斑蛙皮肤 SOD 活性的影响

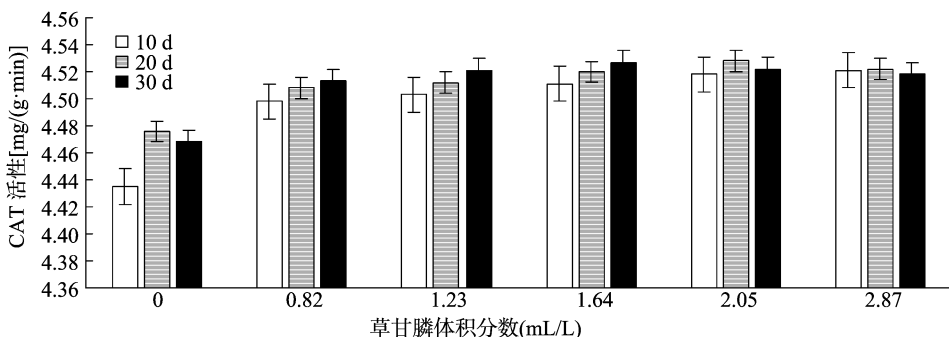


图4 草甘膦对黑斑蛙肝脏 CAT 活性的影响

出现在 1.64 mL/L 处理 30 d 时。

2.5 草甘膦对黑斑蛙肾脏中 CAT 活性的影响

由图 5 可知,经过不同体积分数草甘膦处理后,黑斑蛙肾脏中 CAT 活性与对照组相比较有升高的趋势。处理 10、20、30 d 时,肾脏 CAT 活性与对照组

比较差异显著 ($P < 0.05$),表明草甘膦处理后 CAT 活性发生了显著变化,从而对抗氧化损伤压力。CAT 活性最低值 1.81 mg/(g·min) 出现在 0.82 mL/L 处理 10 d 时,最高值 2.22 mg/(g·min) 出现在 1.64 mL/L 处理 30 d 时。

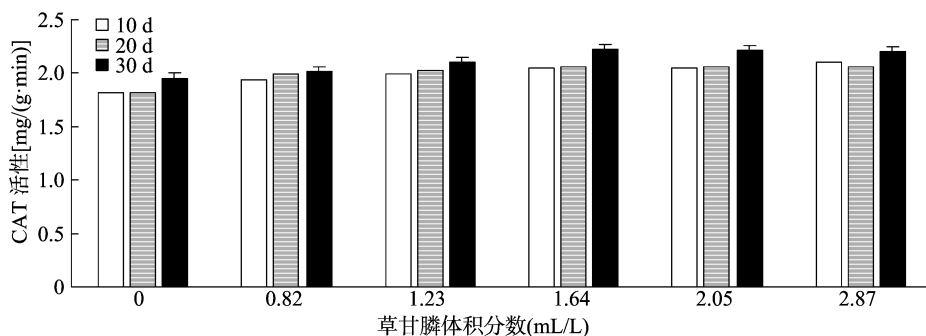


图5 草甘膦对黑斑蛙肾脏 CAT 活性的影响

2.6 草甘膦对黑斑蛙皮肤中 CAT 活性时影响

由图 6 可见,经过不同体积分数草甘膦处理后,黑斑蛙皮肤中 CAT 活性与对照组相比较有升高的趋势,处理 10、20、30 d 时各体积分数组皮肤 CAT 活性与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$),尤其是 2.87 mL/L 体积分数处理组,与对照差异极显著 ($P < 0.01$),表明草甘膦处理后皮肤中 CAT 活性很快发生显著变化,从而对抗氧化损伤压力。处理组 CAT 活性最低值 6.098 mg/(g·min) 出现在 0.82 mL/L 处理 10 d 时,最高值 10.728 mg/(g·min) 出现在 1.64 mL/L 处理 30 d 时。

3 讨论

近年来,除草剂草甘膦的使用所带来的危害已经引起越来越多的人的关注,而本身它作为一种潜在的生态危险源,已经被众多研究者探究,两栖类动物种群的消失与农药的使用有一定的相关性。草甘膦对植物的毒性作用机理被认为是低风险的除草剂,因此对它的使用得到了推广,使用量也逐年增加。但农药的使用不可能全部被杂草吸收,随着雨水的冲刷、液体的蒸发,使得部分草甘膦残留在土壤、大气以及水域系统中,这样再加上时间的

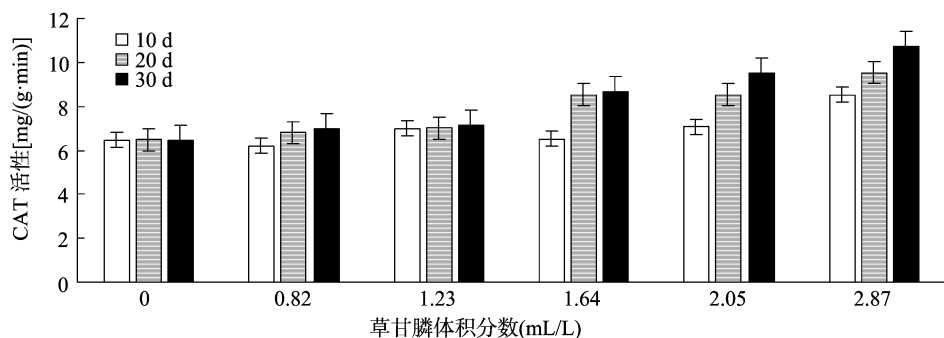


图6 草甘膦对黑斑蛙皮肤 CAT 活性的影响

积累、食物链的富集,有可能同样会威胁到人类的生存和健康。

在生物的抗氧化系统中,SOD 和 CAT 均是重要的抗氧化剂。在草甘膦染毒后,组织中的 SOD 活性和 CAT 活性被诱导,不同体积分数的草甘膦溶液随着染毒时间延长,SOD 活性和 CAT 活性总体呈现先增大后减少的趋势,这与张彬彬研究的草甘膦对鲫鱼肝脏内膜系统和超氧化物歧化酶活性的影响的结果^[5]相似,但在 1.64 ~ 2.87 mL/L 体积分数范围内,0 ~ 20 d 内 SOD 活性和 CAT 活性均增强,而在 20 ~ 30 d 内其活性则在减弱,表现出剂量效应和时间效应,即随时间延长,出现氧化损伤加大、毒害程度加深的现象,并且在不同组织器官中差异显著,皮肤裸露在外,短时间就能作出反馈,而肾脏中反应相对滞后,因而 SOD、CAT 活性具有组织特异性。从本试验的结果可知,除草剂草甘膦对黑斑蛙具有一定的危害性,草甘膦对成年黑斑蛙的安全使用体积分数为 1.64 mL/L。而农业上除草时使用的浓度均高于这一浓度,会使超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性受到抑制。

由于除草剂具有选择毒性,对天敌的致死率与杀虫剂相比普遍较低,因此人们以往并不太关注除草剂对天敌动物的影响,但实际上,农业耕作过程中所施用的除草剂仅有少部分被植物吸收,大部分被喷施在与作物同一生境的动物体表或残留在土壤和水中,对水体和农业生态系统造成污染^[14-15]。尽管草甘膦在被喷施到水体环境中时浓度会被水体有所稀释,但水面蒸发以及草甘膦积累可导致水环境中草甘膦浓度升高,即使按照草甘膦的常用浓度施用,也将会对黑斑蛙造成不同程度的危害。从本研究中黑斑蛙的生长状况来看,低体积分数草甘膦的使用可提高它的活跃性和运动频率;高体积分数的草甘膦使得它的生长缓慢、运动迟缓;但随着染毒时间延长,不论草甘膦为低体积分

数还是高体积分数,都会导致黑斑蛙生长缓慢、运动迟缓。

参考文献:

- [1] 宋辉,胡好远,李玉成,等. 五种常见农药对水螅的单一和联合急性毒性[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版),2010,3(2): 159-163.
- [2] 宋欣媛,吴培福,吴博,等. 草甘膦和扑草净对蚯蚓体内 SOD 和 AChE 酶活性的影响[J]. 江西农业大学学报,2018(2): 371-377.
- [3] 王海黎,陶澍. 生物标志物在水环境研究中的应用[J]. 中国环境科学,1999,19(5): 421-426.
- [4] 肖永红,廖永强,周昌旭,等. 草甘膦对中华大蟾蜍的慢性毒性的研究[J]. 四川动物,2007,26(2): 430-433.
- [5] 张彬彬. 草甘膦对鲫鱼肝脏内膜系统和超氧化物歧化酶的影响[J]. 湖北农业科学,2010,49(7): 1681-1683.
- [6] 高爱保,苑丽霞. 工业污水对黑斑蛙蝌蚪生长发育及 DNA 的影响[J]. 水产科学,2013,32(7): 420-423.
- [7] Daszak P, Berger L, Cunningham A A, et al. Emerging infectious diseases and amphibian population declines[J]. Emerging Infectious Diseases, 1999, 5(6): 735-748.
- [8] 卢信,赵炳梓,张佳宝,等. 除草剂草甘膦的性质及环境行为综述[J]. 土壤通报,2005,36(5): 785-790.
- [9] 朱国念,楼正云,孙锦荷. 草甘膦对水生生物的毒性效应及环境安全性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(3): 84-87.
- [10] Alford R A, Dixon P M, Pechmann J H. Global amphibian population declines[J]. Nature, 2001, 412(6848): 499-500.
- [11] Sparling D W, Fellers G M, McConnell L L. Pesticides and amphibian population declines in California, USA[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2001, 20(7): 1591-1595.
- [12] 徐士霞,李旭东,王跃招. 两栖动物在水体污染生物监测中作为指示生物的研究概况[J]. 动物学杂志,2003,38(6): 110-114.
- [13] Kayama F. Current state of study on environmental pollution[J]. World Environment, 1999, 17(2): 34-35.
- [14] 黄顶成,尤民生,侯有明,等. 化学除草剂对农田生物群落的影响[J]. 生态学报,2005,25(6): 1451-1458.
- [15] 洪宇航. 草甘膦对中华绒螯蟹成蟹主要免疫指标的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(12): 136-140.