

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 31 卷 第 11 期 Vol.31 No.11 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 11 期 2011 年 6 月 (半月刊)

目 次

微生物介导的碳氮循环过程对全球气候变化的响应·····	沈菊培, 贺纪正 (2957)
巢湖蓝藻水华形成原因探索及“优势种光合假说”·····	贾晓会, 施定基, 史绵红, 等 (2968)
我国甜菜夜蛾间歇性暴发的非均衡性循环波动·····	文礼章, 张友军, 朱 亮, 等 (2978)
庞泉沟自然保护区华北落叶松林的自组织特征映射网络分类与排序·····	张钦弟, 张金屯, 苏日古嘎, 等 (2990)
上海大莲湖湖滨带湿地的生态修复·····	吴 迪, 岳 峰, 罗祖奎, 等 (2999)
芦芽山典型植被土壤有机碳剖面分布特征及碳储量·····	武小钢, 郭晋平, 杨秀云, 等 (3009)
土壤微生物群落结构对中亚热带三种典型阔叶树种凋落物分解过程的响应·····	张圣喜, 陈法霖, 郑 华 (3020)
中亚热带几种针、阔叶树种凋落物混合分解对土壤微生物群落碳代谢多样性的影响·····	陈法霖, 郑 华, 阳柏苏, 等 (3027)
桂西北喀斯特峰丛洼地表层土壤养分时空分异特征·····	刘淑娟, 张 伟, 王克林, 等 (3036)
重金属 Cd 胁迫对红树蚬的抗氧化酶、消化酶活性和 MDA 含量的影响·····	赖廷和, 何斌源, 范航清, 等 (3044)
海南霸王岭天然次生林边缘效应下木质藤本与树木的关系·····	乌玉娜, 陶建平, 奚为民, 等 (3054)
半干旱黄土丘陵区不同人工植被恢复土壤水分的相对亏缺·····	杨 磊, 卫 伟, 莫保儒, 等 (3060)
季节性干旱对中亚热带人工林显热和潜热通量日变化的影响·····	贺有为, 王秋兵, 温学发, 等 (3069)
新疆古尔班通古特沙漠南缘多枝桉柳光合作用及水分利用的生态适应性·····	王珊珊, 陈 曦, 王 权, 等 (3082)
利用数字图像估测棉花叶面积指数·····	王方永, 王克如, 李少昆, 等 (3090)
野生大豆和栽培大豆光合机构对 NaCl 胁迫的不同响应·····	薛忠财, 高辉远, 柳 洁 (3101)
水磷耦合对小麦次生根特殊根毛形态与结构的影响·····	张 均, 贺德先, 段增强 (3110)
应用物种指示值法解析昆崙山植物群落类型和植物多样性·····	孙志强, 张星耀, 朱彦鹏, 等 (3120)
基于 MSIASM 方法的中国省级行政区体外能代谢分析·····	刘 晔, 耿 涌, 赵恒心 (3133)
不同生态区烟草的叶面腺毛基因表达·····	崔 红, 冀 浩, 杨惠娟, 等 (3143)
B 型烟粉虱对 23 种寄主植物适应度的评估和聚类分析·····	安新城, 郭 强, 胡琼波 (3150)
杀虫剂啉虫脒和毒死蜱对捕食蜘蛛血细胞 DNA 的损伤作用·····	李 锐, 李生才, 刘 佳 (3156)
杀真菌剂咪鲜安对蓼花臂尾轮虫的影响·····	李大命, 陆正和, 封 琦, 等 (3163)
长、短期连续孤雌生殖对蓼花臂尾轮虫生活史和遗传特征的影响·····	葛雅丽, 席貽龙 (3170)
专论与综述	
区域景观格局与地表水环境质量关系研究进展·····	赵 军, 杨 凯, 邵 俊, 等 (3180)
露水对植物的作用效应研究进展·····	叶有华, 彭少麟 (3190)
葡萄座腔菌科研究进展——鉴定, 系统发育学和分子生态学·····	程燕林, 梁 军, 吕 全, 等 (3197)
人工林生产力年龄效应及衰退机理研究进展·····	毛培利, 曹帮华, 田文侠, 等 (3208)
树木年轮在干扰历史重建中的应用·····	封晓辉, 程瑞梅, 肖文发, 等 (3215)
植物中逆境反应相关的 WRKY 转录因子研究进展·····	李 冉, 娄永根 (3223)
研究简报	
三江源地区高寒草原土壤微生物活性和微生物量·····	任佐华, 张于光, 李迪强, 等 (3232)
3 种黑杨无性系水分利用效率差异性分析及相关 <i>ERECTA</i> 基因的克隆与表达·····	郭 鹏, 夏新莉, 尹伟伦 (3239)
猕猴桃园节肢动物群落重建及主要类群的生态位·····	杜 超, 赵惠燕, 高欢欢, 等 (3246)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 298 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-06



封面图说: 盘锦市盘山县水稻田——盘锦市位于辽宁省西南部, 自古就有“鱼米之乡”的美称。这里地处温带大陆半湿润季风气候, 有适宜的温度条件和较长的生长期以供水稻生长发育, 农业以种植水稻为主, 年出口大米达 1 亿多公斤, 是国家级水稻高产创建示范区和重要的水稻产区。

彩图提供: 沈菊培博士 中国科学院生态环境研究中心 E-mail: jpshe@reccs.ac.cn

杀虫剂啉虫脒和毒死蜱对捕食蜘蛛 血细胞 DNA 的损伤作用

李 锐, 李生才*, 刘 佳

(山西农业大学农学院, 山西太谷 030801)

摘要:应用蜘蛛血细胞微核试验和单细胞凝胶电泳试验研究了两种杀虫剂啉虫脒和毒死蜱对蜘蛛头胸部和腹部血细胞 DNA 的损伤作用。微核试验结果表明:在啉虫脒和毒死蜱供试浓度作用下,对蜘蛛血细胞微核率与对照组相比存在极显著性差异($P < 0.01$);随着两种农药浓度升高,血细胞微核率显著增加,且存在明显的剂量-效应关系,啉虫脒浓度与星豹蛛头胸部血细胞微核率线性方程为: $Y = 3.192X + 8.129$ ($r = 0.954$),腹部为 $Y = 3.206X + 12.829$ ($r = 0.932$);毒死蜱浓度与星豹蛛头胸部血细胞微核率线性方程为: $Y = 0.443X + 6.833$ ($r = 0.993$),腹部为 $Y = 0.524X + 12.214$ ($r = 0.986$)。单细胞凝胶电泳试验研究结果表明:在两种农药供试浓度范围内,对星豹蛛头胸部和腹部受损伤细胞百分率和 DNA 迁移长度与对照相比存在极显著性差异($P < 0.01$),且随着浓度增大出现先增大后减小的变化趋势;但两种农药对星豹蛛血细胞 II 级及 II 级以上损伤率与浓度存在明显的剂量-效应关系,啉虫脒浓度与星豹蛛头胸部血细胞 DNA 损伤线性方程为: $Y = 6.856X + 99.377$ ($r = 0.984$),腹部为 $Y = 9.039X + 100.795$ ($r = 0.983$);毒死蜱浓度与星豹蛛头胸部血细胞 DNA 损伤线性方程为: $Y = 0.308X + 98.315$ ($r = 0.981$),腹部为 $Y = 0.241X + 100.762$ ($r = 0.966$)。两种试验结果皆表明,在同种农药种同一浓度作用下,对星豹蛛腹部血细胞微核率和 DNA 损伤程度要明显大于头胸部。

关键词:啉虫脒;毒死蜱;星豹蛛;捕食蜘蛛;微核试验;单细胞凝胶电泳试验(又名彗星试验)

Studies of hemocytes DNA damage by two pesticides acetamiprid and chlorpyrifos in predaceous spiders of *Pardosa astrigera* Koch

LI Rui, LI Shengcai*, LIU Jia,

College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

Abstract: Spiders are among the most abundant predators of insects and other invertebrates in agroecosystems and forest ecosystems, and they can play an important ecological role by regulating invertebrate population abundance. Biological control using spiders may represent a sustainable method of controlling the abundance of agricultural pest species and reducing the amount of damage inflicted to crops. However, application of pesticides to agricultural crops may directly or indirectly impact on the foraging spiders in the crop. In particular, pesticides may have mutagenic effects on spiders, which negatively affect the spider population abundance and importantly these effects can be transferred to the next generation of spiders. The study of the genetic toxicity of pesticides to spiders should be therefore as one element of the safety evaluation of pesticides.

In this study, we used both the micronucleus test and the single cell gel electrophoresis assay (the comet assay) to assess the effects of two pesticides (acetamiprid and chlorpyrifos) on the DNA of the wolf spider, *Pardosa astrigera* Koch. The objective of the study was to achieve a more comprehensive understanding of the effects and potential risks of using these pesticides on spider populations. The results of the micronucleus test showed that there were significant differences in the frequencies of micronuclei in spiders exposed to different concentrations of acetamiprid and chlorpyrifos ($P < 0.01$)

基金项目:山西省青年基金(2008021041);山西省留学基金项目(2009042)

收稿日期:2010-12-08; 修订日期:2011-03-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sxaulisc@126.com

compared with the control spiders that were not exposed to pesticides. There was an effect of increasing the concentration of the pesticides. The linear regression equations between the frequencies of micronuclei in cephalothorax hemocytes and abdomen hemocytes and the concentration of acetamiprid were $y = 3.192x + 8.129$ ($r = 0.954$) and $y = 3.206x + 12.829$ ($r = 0.932$) and those with the concentration of chlorpyrifos were $y = 0.443x + 6.833$ ($r = 0.993$) and $y = 0.524x + 12.214$ ($r = 0.986$). The results of the comet assay showed that there were significant differences in the proportion of cells with DNA tails and tail length of nuclear DNA between different concentrations of acetamiprid and chlorpyrifos. The linear regression equations between the frequencies of damage (degree II and III) in the cephalothorax and abdomen hemocytes and the concentration of acetamiprid were $y = 6.856x + 99.377$ ($r = 0.984$), and $y = 9.039x + 100.795$ ($r = 0.983$) and those with the concentration of chlorpyrifos were $y = 0.308x + 98.315$ ($r = 0.981$), and $y = 0.241x + 100.762$ ($r = 0.966$). The frequencies of micronuclei and DNA damage in the abdomen hemocytes of *P. astrigera* were higher than the damage in the cephalothorax hemocytes.

The findings of this study provide valuable information on the potential risks of pesticide-use to spiders, which are natural enemies of agricultural pests. The sensitivity of the single cell gel electrophoresis assay is higher than the micronucleus test as it can detect chemicals on the damaged DNA single-strand and the DNA damage repair capacity. The single cell gel electrophoresis assay therefore provides a sensitive and reliable detection method to reveal the potential hazards of pesticides. Evaluation of the mutagenicity of pesticides and other chemicals to non-target organisms is important to ensure their safe use in agricultural ecosystems.

Key Words: acetamiprid; chlorpyrifos; *Pardosa astrigera*; predators; spiders; micronuclei test; single cell gel electrophoresis assay (comet assay)

蜘蛛是农林生态系统中害虫的主要捕食性天敌之一,对于农林生态系统有害生物的生态防治起重要作用^[1-2]。农田施用的农药会直接或间接对蜘蛛造成影响,特别是农药的致突变性,它不但影响蜘蛛的生活力和捕食能力,而且还会对下代产生影响。因此,研究农药对蜘蛛的遗传毒性可以作为农药安全性评价的重要内容,具有重要的科学意义。

微核试验(Micronuclei test)作为快速检测体内染色体畸变的方法,已广泛应用于遗传、食品、药物、环境等很多领域,并以其简便、迅速、敏感为优点,广泛用于辐射损伤、工业管理、药物筛选以及血液学等工作的研究^[3]。单细胞凝胶电泳(single cell gel electrophoresis assay, SCGE)又称彗星试验,是由 Ostling 等首次提出,并利用该技术在酸性条件下检测 x 射线引起的 DNA 双链断裂^[4]。Singh 等建立了碱性单细胞凝胶电泳技术,该技术不仅可以检测 DNA 单、双链断裂,还可用来检测碱性不稳定位点、DNA 交联和不完全切除修复位点等^[5]。与传统 DNA 损伤检测方法相比,SCGE 具有简便、快速、经济、灵敏,并无需放射性标记、所需细胞少等优点,适合于体内、外不同类型实验和各种类型细胞 DNA 损伤的研究。微核试验和单细胞凝胶电泳试验技术在检测化学物质的遗传毒性方面具有诸多优点,广泛地应用于遗传毒理学研究。李锐等建立了规范化的蜘蛛血细胞微核试验^[6]和改良的适用于蜘蛛血细胞 DNA 损伤的彗星试验方法^[7],而有关农药对蜘蛛 DNA 损伤的微核试验和彗星试验目前国内尚未见报道。

随着高效高毒农药(甲胺磷、水胺硫磷等)的禁用,啉虫脒和毒死蜱已成为我国代替高效高毒农药而被广泛使用的新型杀虫剂,且具有良好的杀虫效果^[8-9]。但它们对非靶标生物捕食蜘蛛的分子生态毒理学的研究尚未见报道。本文采用微核试验和彗星试验方法研究啉虫脒和毒死蜱对蜘蛛细胞的损伤作用,为啉虫脒和毒死蜱安全合理使用提供科学的依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试蜘蛛为星豹蛛(*Pardosa astrigera* Koch),采自山西农业大学试验田;供试农药为:3% 啉虫脒乳油

(Acetaniprid), 江苏省常州市绿风生化有限公司生产; 48% 毒死蜱乳油 (Chlorpyrifos), 通州正大农药化工有限公司提供。

1.2 主要仪器及试剂

数显电热恒温水浴箱 (北京市长风仪器仪表公司), DYY-III 7B 型电泳仪 (北京市六一仪器厂), 低温冷冻离心机 (SIGMA), BX51 型荧光显微镜 (OLYMPUS 公司), 正常熔点琼脂糖 (NMA), 低熔点琼脂糖 (LMA), N-十二烷基肌氨酸钠, Triton-X-100, 溴化乙锭 (EB)。其它化学试剂为国产分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 单细胞悬液的制备

将雌雄各 10 头活体蜘蛛用 75% 的酒精冲洗 3 次进行消毒处理, 然后用不锈钢剪刀将其头胸部和腹部分离后分别置于两个玻璃匀浆器中, 加 100 μ L PBS (pH 值 = 7.5) 缓冲液冰浴研磨, 将匀浆转入预冷的离心管中, 4000 r/min 离心 10 min。取沉淀的血细胞用 PBS 缓冲液离心 (4000 r/min, 10 min) 洗涤 3 次, 并悬浮于 1 mL PBS 溶液中, 调细胞终浓度为 4×10^6 个细胞/mL, 吸取少量细胞悬液, 用苔盼蓝排斥法镜检细胞存活率达 95% 以上。

1.3.2 染毒处理

啶虫脒致 DNA 断裂作用 将制成的细胞悬液分装于 6 支 1.5 mL 的离心管中, 依次加入终浓度为 1.5、3.0、4.5、6.0、7.5 mg/L 的啶虫脒溶液, 同时设一阴性对照组。6 支离心管置于室温下, 染毒 30 min。重复 3 次。

毒死蜱致 DNA 断裂作用 将制成的细胞悬液分装于 6 支 1.5 mL 的离心管中, 依次加入终浓度为 24、48、72、96、120 mg/L 的毒死蜱溶液, 同时设一阴性对照组。6 支离心管置于室温下, 染毒 30 min。重复 3 次。

1.4 微核试验方法

在 40 $\times$ 100 倍的荧光显微镜下观察蜘蛛细胞涂片。每张涂片随机观察 4000 个左右的细胞, 统计微核总数, 计算微核率。

1.5 单细胞凝胶电泳试验方法

单细胞凝胶电泳实验方法参考文献^[10-14]并有所改进, 实验步骤采用李锐等^[7]的方法进行。

1.6 实验数据的统计分析

DNA 损伤的测量参数有尾长、头长、DNA 迁移长度、DNA 链断裂分为 3 级, I 级, 彗星尾长/彗星头长 < 1; II 级, $1 < \text{彗星尾长/彗星头长} < 2$; III 级, 彗星尾长/彗星头长 ≥ 2 。

$$\text{微核细胞率}(\%) = \frac{\text{带有微核的细胞数}}{\text{观察细胞总数}} \times 100\%$$

$$\text{受损伤细胞百分数}(\%) = \frac{\text{受损伤的细胞数}}{\text{观察细胞总数}} \times 100\%$$

$$\text{损伤率}(\%) = \text{II 级受损伤的细胞率} + \text{III 级受损伤的细胞率}$$

DNA 伤率 (AU): $U = \sum i \times n_i$, n_i 为第 i 级损伤细胞数, 是一种衡量 DNA 链损伤程度的特有单位, 是把不同的分级加以换算统计, 得到 DNA 损伤的总体水平。

彗星图像由 CCD 拍摄, 在电脑上用 CASP 彗星图像分析软件 (WWW.casp.of.pl) 自动分析。

统计学分析 应用 χ^2 检验法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞微核率的影响

啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞微核试验的结果见表 1。

由表 1 可得, 在啶虫脒和毒死蜱各供试浓度作用下, 对蜘蛛血细胞微核率与对照组相比存在极显著性差异 ($P < 0.01$); 且随着两种农药浓度升高, 血细胞微核率显著增加, 且存在明显的剂量-效应关系, 啶虫脒浓度与星豹蛛头胸部血细胞微核率线性方程为: $Y = 3.192X + 8.129$, $r = 0.954$, 腹部为 $Y = 3.206X + 12.829$, $r = 0.932$; 毒死蜱浓度与星豹蛛头胸部血细胞微核率线性方程为: $Y = 0.443X + 6.833$, $r = 0.993$, 腹部为 $Y =$

0.524X+12.214, $r=0.986$;啶虫脒和毒死蜱两种农药在同种农药同一浓度作用下,星豹蛛腹部血细胞微核率要明显大于头胸部;两种农药在高浓度时,不但蜘蛛血细胞微核率增加,还表现在双微核和多微核细胞增多,有的细胞发生核碎裂现象。

表 1 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞微核细胞率的影响

Table 1 Effects of acetamiprid and chlorpyrifos on micronuclei frequency in cephalothorax and abdomen hemocytes of <i>Pardosa astrigera</i>						
受试物 Chemicals	剂量 Dosage/(mg/L)	动物数 Number of animals/头	头胸部 Cephalothora		腹部 Abdomen	
			观察细胞数 Number of cells	微核率 Micronucleus frequencies/%	观察细胞数 Number of cells observed	微核率 Micronucleus frequencies/%
对照 Control		20	12435	5.6±0.6	12075	8.9±1.11
啶虫脒	1.5	20	12242	13.7±4.6**	12132	18.4±5.4**
Acetamiprid	3.0	20	12216	20.6±7.6**	12070	25.1±7.4**
	4.5	20	12037	21.2±6.8**	12127	30.6±4.8**
	6.0	20	12291	30.7±7.3**	12135	34.0±10.2**
	7.5	20	12257	28.8±2.8**	12059	32.1±5.4**
毒死蜱	24	20	12084	20.9±4.9**	12186	23.0±2.0**
Chlorpyrifos	48	20	12150	27.8±6.3**	12148	44.5±9.7**
	72	20	12119	36.4±12.5**	12109	52.3±7.6**
	96	20	12153	47.5±7.9**	12177	60.1±10.3**
	120	20	12214	62.4±15.4**	12130	73.1±13.5**

* * $P<0.01$,与对照组相比

2.2 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞 DNA 损伤的影响

2.2.1 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞 DNA 的损伤效应

每个浓度处理的头胸部和腹部的单细胞悬液各制 3 张片子,每张片子随机选择 100 个细胞,统计拖尾细胞数并计算受损伤细胞百分率,同时测量彗星尾长,计算 DNA 平均迁移长度,啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛头胸部和腹部血细胞 DNA 损伤效应结果见表 2。

表 2 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛头胸部、腹部血细胞 DNA 损伤效应

Table 2 Damaging effects of acetamiprid and chlorpyrifos on cephalothorax and abdomen hemocytes of <i>Pardosa astrigera</i>							
受试物 Chemicals	剂量 Dosage/(mg/L)	动物数 Animal number	观察细胞数 Number of cells observed	头胸部 Cephalothorax		腹部 Abdomen	
				受损伤细胞百分数 Percent of cells with DNA tails /%	DNA 迁移长度 Tail length of nuclear DNA /μm	受损伤细胞百分数 Percent of cells with DNA tails /%	DNA 迁移长度 Tail length of nuclear DNA /μm
对照 Control		20	300	19.00±6.24	45.21±3.55	20.67±15.04	49.45±22.27
啶虫脒	1.5	20	300	27.00±2.65	60.20±4.65	21.33±3.21	70.06±9.12
Acetamiprid	3.0	20	300	29.33±2.52	63.67±7.49	19.00±5.57	77.23±12.78
	4.5	20	300	63.33±2.72**	114.96±30.57*	30.33±4.04*	150.52±49.93**
	6.0	20	300	66.67±25.14**	138.24±88.82**	52.67±1.53**	202.62±42.15**
	7.5	20	300	35.04±11.90	56.35±19.89	24.00±11.53	112.69±52.60**
毒死蜱	24	20	300	18.18±5.25	30.96±4.45	23.68±18.9	45.00±29.90
Chlorpyrifos	48	20	300	60.92±33.49**	118.51±95.21**	56.56±7.63**	95.64±12.42**
	72	20	300	67.82±5.26**	240.83±18.86**	61.62±1.74**	112.82±12.81**
	96	20	300	29.33±4.62	53.24±9.43	32.67±3.79	68.81±6.53*
	120	20	300	21.47±4.64	40.26±9.60	24.29±9.93	58.20±20.22*

由表 2 可得,啶虫脒和毒死蜱在供试浓度范围内对星豹蛛头胸部和腹部血细胞产生一定程度的损伤作用,与对照相比存在显著($P<0.05$)或极显著差异($P<0.01$)。当啶虫脒和毒死蜱浓度低时,对蜘蛛头胸部和

腹部血细胞受损伤细胞百分率和 DNA 迁移长度影响较大,其中啶虫脒浓度为 6.0 mg/L、毒死蜱浓度为 72 mg/L 时对星豹蛛头胸部和腹部血细胞受损伤细胞百分率和 DNA 迁移长度达到最大;其后随着浓度升高损伤作用逐渐减小。说明啶虫脒和毒死蜱两种农药在供试浓度范围内,DNA 断裂受损伤细胞百分率和 DNA 迁移长度随着浓度增大出现先增大后减小的变化趋势,其原因是由于低浓度造成细胞 DNA 断裂,高浓度下细胞 DNA 发生交联,部分受损细胞得到修复。

2.2.2 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞 DNA 损伤程度分级

本研究将 DNA 链断裂分为 3 级,Ⅰ级、Ⅱ级为一般型 DNA 链断裂,其中Ⅰ级为轻微型 DNA 链断裂;Ⅲ级为凋亡型 DNA 链断裂,表现为很小的彗星头,大而圆的彗星尾,像一把大扫帚。根据分级标准将啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛头胸部、腹部血细胞 DNA 的损伤程度进行分级。损伤分级结果见表 3。

表 3 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛头胸部、腹部血细胞 DNA 损伤分级

Table 3 Damaging degrees of acetamiprid and chlorpyrifos on cephalothorax and abdomen hemocytes of *Pardosa astrigera*

受试物 Chemicals	剂量 Dosage/(mg/L)	头胸部 Cephalothora/%				AU
		Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级	损伤率/% Damage Percentage	
对照 Control		98.68 ± 7.8	0.66 ± 0.1	0.66 ± 0.1	1.32	101.98
啶虫脒	1.5	90.32 ± 12.3	8.39 ± 1.2	1.29 ± 0.4	9.68 **	110.97
Acetamiprid	3.0	89.05 ± 4.5	8.75 ± 3.2	2.20 ± 0.6	10.95 **	113.15
	4.5	76.43 ± 6.4	15.52 ± 0.5	8.05 ± 0.9	23.57 **	131.62
	6.0	69.83 ± 6.1	20.48 ± 1.4	9.69 ± 1.5	30.17 **	139.86
	7.5	58.09 ± 8.9	30.88 ± 1.6	11.03 ± 1.5	41.91 **	152.94
毒死蜱	24	96.97 ± 3.2	3.03 ± 0.7	0 ± 0	3.03 **	103.03
Chlorpyrifos	48	90.52 ± 7.8	6.44 ± 5.1	3.04 ± 0.1	9.48 **	112.52
	72	85.86 ± 1.2	9.92 ± 4.4	4.22 ± 0.8	14.14 **	118.36
	96	80.16 ± 4.3	13.20 ± 9.2	6.64 ± 1.1	19.84 **	126.48
	120	72.13 ± 0.9	17.18 ± 3.1	10.69 ± 1.3	27.87 **	138.56
受试物 Chemicals	剂量 Dosage/(mg/L)	腹部 Abdomen/%				AU
		Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ级	损伤率/% Damage Percentage	
对照 Control		99.46 ± 10.5	0.54 ± 0.1	0 ± 0	0.54	100.54
啶虫脒	1.5	86.80 ± 9.7	10.61 ± 2.8	2.59 ± 0.2	13.20 **	115.79
Acetamiprid	3.0	83.27 ± 15.4	11.59 ± 3.4	5.14 ± 0.8	16.73 **	121.87
	4.5	65.96 ± 4.5	22.60 ± 4.6	11.44 ± 1.6	34.04 **	145.48
	6.0	57.22 ± 7.8	24.89 ± 8.9	17.89 ± 1.2	42.78 **	160.67
	7.5	53.60 ± 8.6	29.00 ± 2.7	17.40 ± 1.5	46.40 **	163.80
毒死蜱	24	93.53 ± 6.2	4.88 ± 2.6	1.59 ± 0.7	6.47 **	108.06
Chlorpyrifos	48	89.57 ± 4.8	5.22 ± 4.1	5.21 ± 0.9	10.43 **	115.64
	72	86.44 ± 5.0	6.78 ± 2.7	6.78 ± 2.4	13.56 **	120.34
	96	83.67 ± 4.5	13.00 ± 3.2	3.33 ± 1.3	16.33 **	119.66
	120	69.85 ± 13.4	27.14 ± 5.2	3.01 ± 3.7	30.15 **	133.16

** $P < 0.01$ (用 χ^2 检验)

由表 3 可得,啶虫脒和毒死蜱各浓度均能对星豹蛛头胸部和腹部组织血细胞 DNA 产生一定程度的损伤作用,与对照相比存在极显著差异 ($P < 0.01$);且随着浓度的增大对头胸部和腹部组织血细胞造成Ⅱ级及Ⅱ级以上损伤率逐渐增大。在同种农药同一浓度作用下,两种农药对星豹蛛腹部组织血细胞造成Ⅱ级及Ⅱ级以上损伤率显著大于对头胸部的损伤。

2.2.3 啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞 DNA 损伤剂量-效应关系

啶虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞Ⅱ级及Ⅱ级以上 DNA 损伤剂量-效应关系见图 1、图 2。

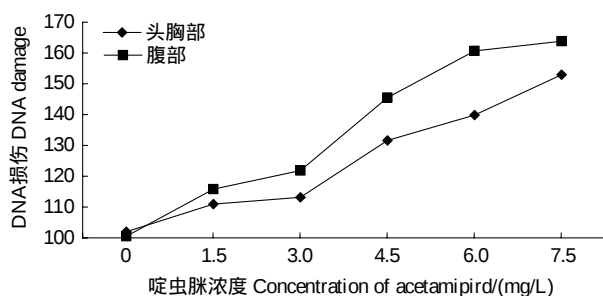


图1 啉虫脒对星豹蛛头胸部、腹部血细胞 DNA 损伤剂量-效应关系

Fig.1 The dosage effect of acetamiprid on cephalothorax and abdomen hemocytes of *Pardosa astrigera*

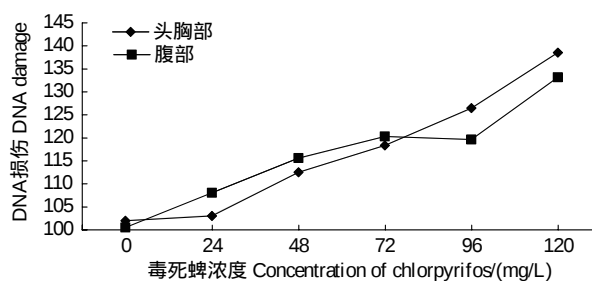


图2 毒死蜱对星豹蛛头胸部、腹部血细胞 DNA 损伤剂量-效应关系

Fig.2 The dosage effect of chlorpyrifos on cephalothorax and abdomen hemocytes of *Pardosa astrigera*

由图1、图2可得,啉虫脒和毒死蜱对星豹蛛血细胞 DNA II 级及 II 级以上损伤率存在明显的剂量-效应关系,啉虫脒浓度与星豹蛛头胸部血细胞 DNA 损伤线性方程为: $Y = 6.856X + 99.377$, $r = 0.984$,腹部为 $Y = 9.039X + 100.795$, $r = 0.983$;毒死蜱浓度与星豹蛛头胸部血细胞 DNA 损伤线性方程为: $Y = 0.308X + 98.315$, $r = 0.981$,腹部为 $Y = 0.241X + 100.762$, $r = 0.966$;且两种农药对星豹蛛腹部血细胞 DNA 损伤程度显著大于对头胸部的损伤程度。

3 小结与讨论

DNA 损伤是评价环境毒物遗传毒性的一个重要参数。本研究采用体外染毒法对星豹蛛染毒,以单细胞凝胶电泳技术和微核试验,来检测啉虫脒和毒死蜱两种农药对星豹蛛 DNA 的损伤效应,以评价其遗传毒性。结果表明,啉虫脒和毒死蜱处理星豹蛛后,出现低浓度时引起细胞断裂,而在较高浓度时引起细胞 DNA 发生交联;各浓度作用下,啉虫脒和毒死蜱对蜘蛛头胸部和腹部间的损伤程度存在显著差异,腹部的损伤程度大于头胸部,说明腹部对两种农药较头胸部敏感。

啉虫脒和毒死蜱对星豹蛛的损伤程度随其浓度的增大微核率逐渐增大,而星豹蛛血细胞的彗星试验结果则显示,随其浓度的增大受损伤细胞百分率和 DNA 迁移长度出现先增大后减小的变化趋势,这是由于这两种检测方法测试的终点(End-points)不同,微核试验检测的是染色体断裂、染色体丢失,染色体不分离、细胞分裂延迟和凋亡等多个终点,与细胞的分裂密切相关。在微核试验中细胞要经过两个细胞周期,有损伤 DNA 等的修复过程,而且只有在 DNA 双链完全断裂的情况下,不能完全修复的染色体断裂片才形成微核^[15]。虽然在浓度很低时,这两种农药已经对 DNA 造成了一定程度的损伤,但是生物活细胞都具有修复 DNA 损伤的能力,结果不一定形成微核;而彗星试验则与细胞的分裂与否无关,只要化学物质对 DNA 有损伤作用,就能在显微镜下形成明显的彗星,且彗星拖尾的长度与损伤的程度成线性相关^[7]。所以,彗星试验的敏感性比微核试验要高,同时它还可以检测出化学物质对细胞 DNA 单链损伤作用,以及细胞对 DNA 损伤的修复能力等^[11-13],由此可知蜘蛛血细胞单细胞凝胶电泳试验是一种敏感的检测 DNA 损伤的技术。该方法的建立,不仅对揭示农药对捕食性天敌的潜在危害及作用本质具有重要意义,而且为农药致突变物的检出提供了一种新的敏感而准确可靠的生物检测方法,在研究农田生态系统中杀虫剂和其他化学物质对非靶标生物的致突变性评价具有重要意义。

自然界中蜘蛛种类多、分布广、繁殖快、发生量大,对维持生态环境平衡有较大的影响,对害虫的控制效果明显^[16]。星豹蛛是农林生态系统中重要的捕食性天敌蜘蛛,利用单细胞凝胶电泳技术和微核试验研究农药对星豹蛛的遗传毒性,可了解其 DNA 对不同化合物的敏感程度,该技术在蜘蛛细胞中的成功运用,为杀虫剂对农林生态系统中捕食性天敌的安全评价提供了方便快捷的研究手段;同时对探索保护利用捕食性天敌蜘蛛新的途径和协调生防和化学防治措施具有一定的指导意义。

References:

- [1] Croft B A, Brown A W. Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annual Review of Entomology*, 1975, 20: 285-336.
- [2] DeBach P, Rosen D. *Biological Control by Natural Enemies*. London: Cambridge University Press, 1991, 271-273.
- [3] Aardma M J, Albetini S, Arni P, Henderson L M, Kirsch-Voldres M, Mackay J M, Sarraf A M, Stringer D A, Taalman R D F. Aneuploidy: a report of an ECETOC task force. *Mutation Research*, 1998, 410(1): 3-79.
- [4] Ostling O, Johanson K J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1984, 123(1): 291-298.
- [5] Singh N P, Stephens R E. Microgel electrophoresis: sensitivity, mechanisms, and DNA electrostretching. *Mutation Research*, 1997, 383(2): 167-175.
- [6] Li R, Li S C, Liu J, Luo Y. Comparison of two kinds of staining methods for micro-nuclear test. *Acta Arachnologica Sinica*, 2008, 17(2): 124-128.
- [7] Li R, Li S C, Yang H Q, Liu J, Luo Y. Study on DNA damages of hemocytes in spider with single cell gel electrophoresis. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(5): 48-52.
- [8] Yao X H, Min H, Yuan H P. Microbial diversity in an acetamiprid-polluted upland soil. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(9): 3074-3080.
- [9] Zhang Q Z, Chen Z D, Wang W J, Liu X Y. Effects of chlorpyrifos stress on antioxidant enzyme activities and some related compound contents in pakchoi. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(9): 4524-4530.
- [10] Tice R R, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu J C, Sasaki Y F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2000, 35: 206-221.
- [11] Zhang Z H, Chen F, Wu D S, He D L, Yao F. Genetic toxicity in lymphocyte of red crucian carp exposed to the herbicide lecaolong. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2002, 10(3): 185-187, F004-F004.
- [12] Geng B R, Yao D, Xue Q Q. Genotoxicity of the pesticide dichlorvos and herbicide butachlor in *Rhacophorus megacephalus* tadpoles. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, 51(3): 447-454.
- [13] Zhao Z G, Tang M D, Wang Z Y. To detect the damage of insecticide to DNA of mouse cell by improved comet assay. *Acta Laser Biology Sinica*, 2003, 12(1): 30-32.
- [14] Ge Y M, Ning H M, Wang S L, Wang J D. Comet assay of DNA damage in brain cells of adult rats exposed to high fluoride and low iodine. *Fluoride*, 2005, 38(3): 209-214.
- [15] Geng D G, Zhang D S, Cheng W, Chen G, Wen H Y. Effects of four herbicides on micronuclei and nuclear anomalies in tadpole erythrocytes of *Bufo bufo gargarizans*. *Chinese Journal of Zoology*, 2000, 35(1): 12-16.
- [16] Li R, Li S C, Yang H Q, Tian R J, Liang J, Zhang J H. Structure, characteristics, spatical and temporal dynamics of dominant species of spider communities in vegetable fields. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(2): 431-435.

参考文献:

- [6] 李锐, 李生才, 刘佳, 罗原. 2 种染色方法在微核试验中的比较. *蛛形学报*, 2008, 17(2): 124-128.
- [7] 李锐, 李生才, 杨怀卿, 刘佳, 罗原. 单细胞凝胶电泳技术检测蜘蛛血细胞 DNA 损伤研究. *中国农学通报*, 2009, 25(5): 48-52.
- [8] 姚晓华, 闵航, 袁海平. 啮虫脲污染下土壤微生物多样性. *生态学报*, 2006, 26(9): 3074-3080.
- [9] 张清智, 陈振德, 王文娇, 刘红玉. 毒死蜱胁迫对小白菜抗氧化酶活性和相关生理指标的影响. *生态学报*, 2008, 28(9): 4524-4530.
- [11] 张朝晖, 陈锋, 吴端生, 贺栋梁, 姚峰. 除草剂乐草隆对红鲫的遗传毒性研究. *中国实验动物学报*, 2002, 10(3): 185-187, F004-F004.
- [12] 耿宝荣, 姚丹, 薛清清. 杀虫剂敌敌畏和除草剂丁草胺对斑腿树蛙蝌蚪的遗传毒性. *动物学报*, 2005, 51(3): 447-454.
- [13] 赵忠桂, 唐明德, 王自媛. 应用改良彗星试验检测杀虫剂对小鼠细胞 DNA 的损伤. *激光生物学报*, 2003, 12(1): 30-32.
- [15] 耿德贵, 张大生, 程伟, 陈刚, 温洪宇. 四种除草剂对中华大蟾蜍蝌蚪红细胞微核及核异常的影响. *动物学杂志*, 2000, 35(1): 12-16.
- [16] 李锐, 李生才, 杨怀卿, 田瑞钧, 梁娟, 张建华. 菜田蜘蛛群落结构特征及优势种时空动态分析. *中国生态农业学报*, 2008, 16(2): 431-435.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 11 June, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Responses of microbes-mediated carbon and nitrogen cycles to global climate change	SHEN Jupei, HE Jizheng (2957)
Formation of cyanobacterial blooms in Lake Chaohu and the photosynthesis of dominant species hypothesis	JIA Xiaohui, SHI Dingji, SHI Mianhong, et al (2968)
Unbalanced cyclical fluctuation pattern of intermittent outbreaks of beet armyworm <i>Spodoptera exigua</i> (Hübner) in China	WEN Lizhang, ZHANG Youjun, ZHU Liang, et al (2978)
Self-organizing feature map classification and ordination of <i>Larix principis-rupprechtii</i> forest in Pangquangou Nature Reserve	ZHANG Qindi, ZHANG Jintun, Suriguga, et al (2990)
Ecological effects of lakeside wetlands restoration in Dalian Lake, Shanghai	WU Di, YUE Feng, LUO Zukui, et al (2999)
Soil organic carbon storage and profile inventory in the different vegetation types of Luya Mountain	WU Xiaogang, GUO Jinping, YANG Xiuyun, et al (3009)
Response of soil microbial community structure to the leaf litter decomposition of three typical broadleaf species in mid-subtropical area, southern China	ZHANG Shengxi, CHEN Falin, ZHENG Hua (3020)
The decomposition of coniferous and broadleaf mixed litters significantly changes the carbon metabolism diversity of soil microbial communities in subtropical area, southern China	CHEN Falin, ZHENG Hua, YANG Bosu, et al (3027)
Spatiotemporal heterogeneity of topsoil nutrients in Karst Peak-Cluster depression area of Northwest Guangxi, China	LIU Shujuan, ZHANG Wei, WANG Kelin, et al (3036)
Effects of cadmium stress on the activities of antioxidant enzymes, digestive enzymes and the membrane lipid peroxidation of the mangrove mud clam <i>Geloina coaxans</i> (Gmelin)	LAI Tinghe, HE Binyuan, FAN Hangqing, et al (3044)
The edge effects on tree-liana relationship in a secondary natural forest in Bawangling Nature Reserve, Hainan Island, China	WU Yuna, TAO Jianping, XI Weimin, et al (3054)
Soilwater deficit under different artificial vegetation restoration in the semi-arid hilly region of the Loess Plateau	YANG Lei, WEI Wei, MO Baoru, et al (3060)
The diurnal trends of sensible and latent heat fluxes of a subtropical evergreen coniferous plantation subjected to seasonal drought	HE Youwei, WANG Qiubing, WEN Xuefa, et al (3069)
Ecological adaptability of photosynthesis and water use for <i>Tamarix ramosissima</i> in the southern periphery of Gurbantungut Desert, Xinjiang	WANG Shanshan, CHEN Xi, WANG Quan, et al (3082)
Estimation of leaf area index of cotton using digital Imaging	WANG Fangyong, WANG Keru, LI Shaokun, et al (3090)
Different response of photosynthetic apparatus between wild soybean (<i>Glycine soja</i>) and cultivated soybean (<i>Glycine max</i>) to NaCl stress	XUE Zhongcai, GAO Huiyuan, LIU Jie (3101)
Effects of water and phosphorus supply on morphology and structure of special root hairs on nodal roots of wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	ZHANG Jun, HE Dexian, DUAN Zengqiang (3110)
Applications of species indicator for analyzing plant community types and their biodiversity at Kunyushan National Forest Reserve	SUN Zhiqiang, ZHANG Xingyao, ZHU Yanpeng, et al (3120)
Societal metabolism for chinese provinces based on multi-scale integrated analysis of societal metabolism (MSIASM)	LIU Ye, GENG Yong, ZHAO Hengxin (3133)
Comparative gene expression analysis for leaf trichomes of tobacco grown in two different regions in China	CUI Hong, JI Hao, YANG Huijuan, et al (3143)
Performance evaluation of B biotype whitefly, <i>Bemisia tabaci</i> on 23 host plants	AN Xincheng, GUO Qiang, HU Qiongbo (3150)
Studies of hemocytes DNA damage by two pesticides acetamiprid and chlorpyrifos in predaceous spiders of <i>Pardosa astrigera</i> Koch	LI Rui, LI Shengcai, LIU Jia, (3156)
Effects of the fungicide prochloraz on the rotifer <i>Brachionus calyciflorus</i>	LI Daming, LU Zhenghe, FENG Qi, et al (3163)
Effects of long- and short-term successive parthenogenesis on life history and genetics characteristics of <i>Brachionus calyciflorus</i>	GE Yali, XI Yilong (3170)
Review and Monograph	
Review of the relationship between regional landscape pattern and surface water quality	ZHAO Jun, YANG Kai, TAI Jun, et al (3180)
Review of dew action effect on plants	YE Youhua, PENG Shaolin (3190)
Advances in Botryosphaeriaceae: identification, phylogeny and molecular ecology	CHENG Yanlin, LIANG Jun, LÜ Quan, et al (3197)
Advances in research on the mechanisms of age-related productivity decline of planted forests	MAO Peili, CAO Banghua, TIAN Wenxia, et al (3208)
The application of tree-ring on forest disturbance history reconstruction	FENG Xiaohui, CHENG Ruimei, XIAO Wenfa, et al (3215)
Research advances on stress responsive WRKY transcription factors in plants	LI Ran, LOU Yonggen (3223)
Scientific Note	
The soil microbial activities and microbial biomass in Sanjiangyuan Alpine grassland	REN Zuohua, ZHANG Yuguang, LI Diqiang, et al (3232)
The differences of water use efficiency (WUE) among three <i>Populus deltoids</i> clones, and the cloning and characterization of related gene, <i>PdERECTA</i>	GUO Peng, XIA Xinli, YIN Weilun (3239)
Arthropod community reestablishment and niche of the main groups in kiwifruit orchards	DU Chao, ZHAO Huiyan, GAO Huanhuan, et al (3246)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 11 期 (2011 年 6 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 11 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元