

文章编号: 1674-7054(2018)03-0267-07

多杀菌素和乙基多杀菌素对斑马鱼 胚胎发育的影响

孔伟浩 高薇珊 范咏梅

(海南大学 热带农林学院 海口 570100)

摘要: 本实验以斑马鱼胚胎为模型,测试多杀菌素和乙基多杀菌素对鱼类等水生脊椎动物胚胎发育的影响。经过预实验确定正式试验多杀菌素浓度为120,151,190,240,302,380,480 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;乙基多杀菌素浓度为0.60,1.80,5.45,16.40,49.40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。实验按照OECD标准进行。结果表明:在斑马鱼的胚胎受精96 h后,多杀菌素的 LC_{50} 为242.27 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;乙基多杀菌素的 LC_{50} 为9.713 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。2种药剂对胚胎孵化后24 h 1 min内自主运动频率、48 h 20 s内的心跳率、96 h的体长均不存在剂量-效应关系;药剂对胚胎72 h畸形表现为脊椎弯曲,2种药剂畸形率与浓度均存在剂量-效应关系。多杀菌素和乙基多杀菌素均属低毒,但在高浓度条件下,多杀菌素比乙基多杀菌素对鱼类更友好。

关键词: 多杀菌素;乙基多杀菌素;斑马鱼;胚胎发育;毒性;

中图分类号: Q 954.4 文献标志码: A DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.03.001

与其他脊椎动物相比较,斑马鱼具有繁殖速度较快、饲养管理简单便捷、全年产卵量较大、胚胎发育的整个过程透明清晰可见等优点^[1-3],为此斑马鱼已成为环境毒性试验的模式动物。近年来,斑马鱼胚胎发育的毒性实验越来越受到重视。农药能随着土壤表层径流进入到水体环境^[4],其对于植物与动物生存的环境产生的毒性已经成为备受关注的问题。多杀菌素与乙基多杀菌素是一种新式的生物农药,具有对环境安全、杀灭害虫高效等特点,在我国广泛被使用^[5-11]。许迪等的研究结果^[12]表明,多杀菌素对斑马鱼成鱼毒性为低毒,但没有进行多杀菌素对斑马鱼胚胎毒性试验。乙基多杀菌素对水生生物的影响并未见详细报道。目前,多杀菌素和乙基多杀菌素的毒性研究已取得了一定的成果^[13-15]。为此,笔者研究这2种生物农药对斑马鱼胚胎各项生理指标及发育状态的影响,为多杀菌素和乙基多杀菌素的生物安全评价提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 供试药剂 25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多杀菌素悬浮剂(美国陶氏益农公司);60 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙基多杀菌素悬浮剂(美国陶氏益农公司);氯化钠、磷酸二氢钾、碳酸氢钠、硫酸镁、无水氯化钙、氯化钾(均为分析纯,西陇化工股份有限公司);无水磷酸氢二钾(分析纯,广州化学试剂厂)。

1.2 实验器材 5,1 mL移液枪;5,1 mL移液枪头;250 mL锥形瓶;24孔细胞培养板;50 mL量筒;培养皿;250 mL容量瓶;小型产卵鱼缸;2 000 mL烧杯;计时器。

1.3 实验动物斑马鱼及鱼卵收集方法 野生型AB品系斑马鱼(*Danio rerio* AB)引自国家斑马鱼中心,试验所用斑马鱼由北京爱生科技发展有限公司的5层斑马鱼养殖系统养殖到第5代,饲养系统: pH 6.5~7.5,

收稿日期: 2018-03-16

修回日期: 2018-06-26

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31860514)

作者简介: 孔伟浩(1993-),男,海南大学热带农林学院2015级硕士研究生, E-mail: 494412612@qq.com

通信作者: 范咏梅(1968-),女,硕士,教授,研究方向: 农药毒理与安全, E-mail: yongmeifan@126.com

含氧量 >85% ,水温 28 ℃ 电导率(500 ±50) $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$,光暗比(14 h:10 h) 。养殖期间自然死亡率 <1% ,每天饲喂丰年虫(*Artemia salina*) 2 次 ,饲喂总质量为斑马鱼体质量(5 ±1) % 。斑马鱼胚胎获取方法 晚上将性成熟 8 个月的斑马鱼按雌雄比 1:2 放入产卵缸内 ,并用隔板雌雄分开 ,控制光暗比 14 h:10 h 。次日移去隔板 ,斑马鱼自然交配 ,在斑马鱼产卵的 30 min 内收集鱼卵 ,用新配置的 10% Hank's 孵化液清洗鱼卵 3 次 ,然后进行染毒。

1.4 毒性实验

1.4.1 正式实验 本实验共进行 8 次预实验 ,最终确定了正式实验中多杀菌素和乙基多杀菌素浓度范围。设置多杀菌素实验的梯度浓度为 120 ,151 ,190 ,240 ,302 ,380 ,480 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;设置乙基多杀菌素梯度浓度为 0.6 ,1.8 ,5.45 ,16.4 ,49.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,2 种杀菌素实验浓度均用 10% Hank's 孵化液稀释。选用受精 0.5 h 胚胎染毒 ,

在 24 孔板中每个浓度组放入 20 枚胚胎(另 4 孔放入对照胚胎) ,每孔加 2 mL 稀释后的药剂 ,对照胚胎用 10% Hank's 孵化液。盖好培养板后 ,恒温培养 26 ℃ ±1 ℃ ,光暗比为 14 h:10 h ,染毒至 96 h 。10% Hank's 孵化液配置方法见表 1。

1.4.2 阳性对照 以 3,4-二氯苯胺药剂作为阳性对照 ,染毒 96 h ,记录死亡率与 OECD 标准进行对比。

1.5 观察与记录 分别在胚胎发育的 1 ,1.5 ,4.7 ,5.3 ,24 ,48 ,72 ,96 h 用显微镜进行形态观察并拍照 ,每 24 h 进行数据观察并统计不同浓度组胚胎处理的死亡情况、畸形情况、孵化情况 ,并计算其死亡率、孵化率和畸形率。

1.5.1 自主运动次数(摆尾) 、心率、孵化率、体长测量 染毒并待胚胎发育至 24 h ,通过显微镜观察并记录斑马鱼胚胎 1 min 内的自主运动频率 ,随机选取 5 个胚胎取均值。染毒 48 h 通过显微镜观察 ,计数统计胚胎在 20 s 的心跳次数 ,每个浓度随机选取 5 个胚胎取均值。记录染毒 72 h 后 ,对照组和各个浓度组鱼胚胎的孵化数量 ,计算孵化率。斑马鱼胚胎发育至 96 h ,测量存活已孵化斑马鱼胚胎的体长 ,应用 Image2.0 图像分析软件 ,取存活的已孵化胚胎测量体长 ,每个浓度随机选 5 条测量体长取均值。统计 96 h 对照组和各浓度组的死亡率 ,以卵凝结、畸形、无生命迹象(如: 无心跳等) ,作为观测终点 ,计算死亡率。

$$\text{孵化率}\% = \frac{\text{已孵化胚胎数}}{\text{胚胎总胎}} \times 100 ;$$

$$\text{死亡率}\% = \frac{\text{死亡胚胎总数}}{\text{胚胎总数}} \times 100 \%。$$

1.5.2 胚胎发育观察 使用 SBI 专业数码成像系统分别为胚胎 8 个时段照相(1 ,1.5 ,4.7 ,5.3 ,24 ,48 ,72 ,96 h) ,进行胚胎发育速度比较。

1.5.3 畸形率 通过显微镜观测胚胎形态 ,记录脊椎弯曲等畸形胚胎的数量 ,计算畸形率。

$$\text{畸形率}\% = \frac{\text{畸形胚胎数}}{\text{胚胎总胎}} \times 100 。$$

1.6 数据处理 所取得数据使用 SPSS 20.0 统计软件处理 ,差异显著性水平设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 阳性对照 用 3,4-二氯苯胺作阳性对照 ,染毒 96 h 后 ,胚胎死亡率为 40% (OECD 标准为 >30%) 。

2.2 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎的 LC_{50} 染毒 96 h 后 ,对照组 24 个胚胎全部存活 ,死亡率为 0。多杀菌素和乙基多杀菌素的 LC_{50} 分别为 242.27(218.43 ~ 268.96) ,9.71(7.07 ~ 13.53) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 2) 。

表 1 胚胎孵化液配方(10 % Hank's 孵化液)
Tab.1 Preparations of embryo medium (10% Hank's solution)

储备液 Stock solution	溶质组分/g Reagents/g	去离子水/mL Deionized water/mL
1	8.00 NaCl, 0.40 KCl	100
2	0.35 Na ₂ HPO ₄ , 0.60 KH ₂ PO ₄	100
3	0.72 CaCl ₂	50
4	1.23 MgSO ₄ ·7H ₂ O	50
5	0.35 NaHCO ₃	10

表 2 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎的毒力方程
Tab.2 Equation of toxicity of pleocidin and spinetoram to zebrafish embryos

供试药剂 Reagents	毒力回归方程 Toxicity regression equation	X^2	P	LC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	LC_{50} 的 95% 置信区间 The 95% confidence interval of LC_{50}
多杀菌素 Pleocidin	$Y = 5.94X - 14.163$	3.256	0.983	242.27	(218.43 ~ 268.96)
乙基多杀菌素 Spinetoram	$Y = 2.97X - 2.932$	2.751	0.929	9.713	(7.07 ~ 13.53)

2.3 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎自主运动、内心率、孵化率及其体长的影响 多杀菌素与乙基多杀菌素斑马鱼胚胎自主运动、内心率、孵化率及斑马鱼体长的影响见表 3。表 3 表明,染毒 24 h 后,对照组自主运动(摆尾)的均值为 $7.6 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$;多杀菌素与乙基多杀菌素各浓度胚胎自主运动的频率与对照组并无明显差异。染毒 48 h 后 20 s 内对照组内心率为 36 次,多杀菌素与乙基多杀菌素各处理组胚胎内心率与对照组并无明显差异。染毒 72 h 后的孵化率随药剂浓度的不断增加而减少,呈现逐步降低的趋势,说明多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎的孵化率存在明显的剂量-效应关系。染毒 96 h 后,多杀菌素 $480 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的胚胎全部死亡,乙基多杀菌素 $49.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的胚胎全部死亡。对照组斑马鱼 96 h 体长为 3.713 mm ,多杀菌素对斑马鱼胚胎 96 h 体长无明显影响,乙基多杀菌素对胚胎 96 h 体长存在剂量-效应关系。

表 3 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎自主运动、内心率、孵化率及其体长的影响
Tab.3 Effects of pleocidin and spinetoram on zebrafish embryos of voluntary swing, heart rate, hatching rate and body length

药剂名称 Reagents	浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Concentration	24 h 摆尾次数/ ($\text{次} \cdot \text{min}^{-1}$) 24 h voluntary swing/ ($\text{time} \cdot \text{min}^{-1}$)	48 h 内心率/ ($\text{次} \cdot 20 \text{ s}^{-1}$) 48 h heart beat rate/ ($\text{time} \cdot 20 \text{ s}^{-1}$)	72 h 斑马鱼胚胎孵化率% 72 h hatching rate %	96 h 体长/mm 96 h body length
对照 Control	0	7.6	36	50	3.713
	120	7.8	37	50	3.775
多杀菌素 Pleocidin	151	7.8	39	45	3.675
	190	6.6	39	40	3.490
	240	6.6	37	15	3.651
	302	6.8	38	5	3.464
	380	7.2	36	0	3.711
	480	6.6	37	0	
乙基多杀菌素 Spinetoram	0.6	7.2	39	55	3.639
	1.8	7.8	37	45	3.548
	5.45	8	36	20	3.498
	16.4	8	39	15	3.372
	49.4	7.4	37	5	

2.4 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼发育的影响 斑马鱼胚胎产出后到成鱼,整个发育过程要经过 8 个时期,不同时期的发育特征不同,易辨认。染毒 1 h 胚胎处于卵裂期,染毒 1.5 h 胚胎已进入囊胚期,染毒 4.7 h 胚胎处于囊胚期与原肠期之间,染毒 5.3 h 胚胎进入原肠期。染毒 24 h 时,多杀菌素 120 、 $151 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎与对照胚胎相比,发育速度无差异,且处理与对照的胚胎均已进入体节期的后期; 190 、 240 、 302 、 $380 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎处于体节期的中期,尾部尚未伸出; $480 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎未进入体节期。染毒 24 h 时,乙基多杀菌素 0.6 、 $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎进入体节期的中期,体节未完全分化; 5.45 、 16.4 、 $49.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处

理的胚胎处于体节期的前期,尾部尚未伸出,此时随着药剂浓度的增大,胚胎的发育速度渐慢。染毒 48 h 时,多杀菌素 120,151 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎的发育状态和对照一样,进入咽囊期,眼睛、耳囊发育完全,背部和腹部色素条纹加深,两条侧纹尚不明显;190,240,302 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎发育状态处于咽囊期早期,色素不深,条纹不全,尾芽分离;380,480 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎发育状态滞后,处于体节期。染毒 48 h 时,乙基多杀菌素 0.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎发育状态和对照一样,进入咽囊期,眼睛、耳囊发育完全,背部和腹部色素条纹加深,2 条侧纹尚不明显;1.8,5.45,16.4,49.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的胚胎发育状态处于咽囊期中期,色素不深,条纹不全,尾芽分离。染毒 48 h 时,多杀菌素和乙基多杀菌素各处理组胚胎发育速度随质量浓度增大而变慢(图版 1 2)。

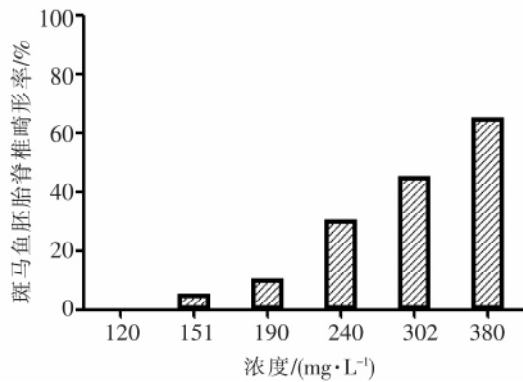


图 1 多杀菌素对斑马鱼胚胎脊椎畸形影响(96 h)
Fig.1 Vertebral malformation of zebrafish embryos induced by pleocidin (96 h)

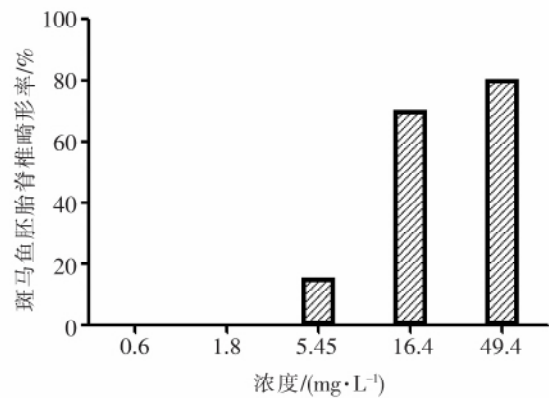


图 2 乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎脊椎畸形影响(96 h)
Fig.2 Vertebral malformation of zebrafish embryos induced by spinetoram(96 h)

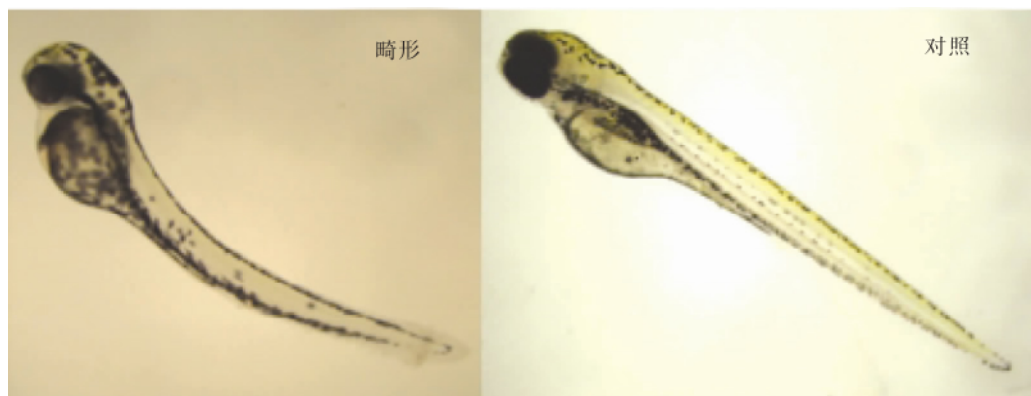


图 3 斑马鱼脊椎畸形与对照组
Fig 3 Zebrafish vertebral malformation and the control

2.5 多杀菌素与乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎脊椎弯曲畸形率的影响 实验中观察并分别记录了染毒组和对照组胚胎发育形态的情况,多杀菌素和乙基多杀菌素高浓度组均表现出脊椎弯曲的症状(图 1-3)。对照组的胚胎发育正常。多杀菌素处理组(120,151,190,240,302,380 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的脊椎畸形率依次为 0, 5%, 10%, 30%, 45%, 65%, 处理组 480 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 未孵化全部死亡。乙基多杀菌素处理组(0.6, 1.8, 5.45, 16.4, 49.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的畸形率依次为 0, 15%, 70%, 80%。乙基多杀菌素处理组 0.6, 1.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中无畸形现象,高质量浓度组的畸形率随药剂质量浓度的增加而增多。

3 结 论

本研究结果表明,在低质量浓度下,多杀菌素和乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎的自主运动、心跳率和体长不存在剂量-效应关系;在高质量浓度下剂量-效应关系较为明显。其中,多杀菌素 LC_{50} 为 242.27 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,

属低毒;乙基多杀菌素 LC_{50} 为 $9.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 属中毒。

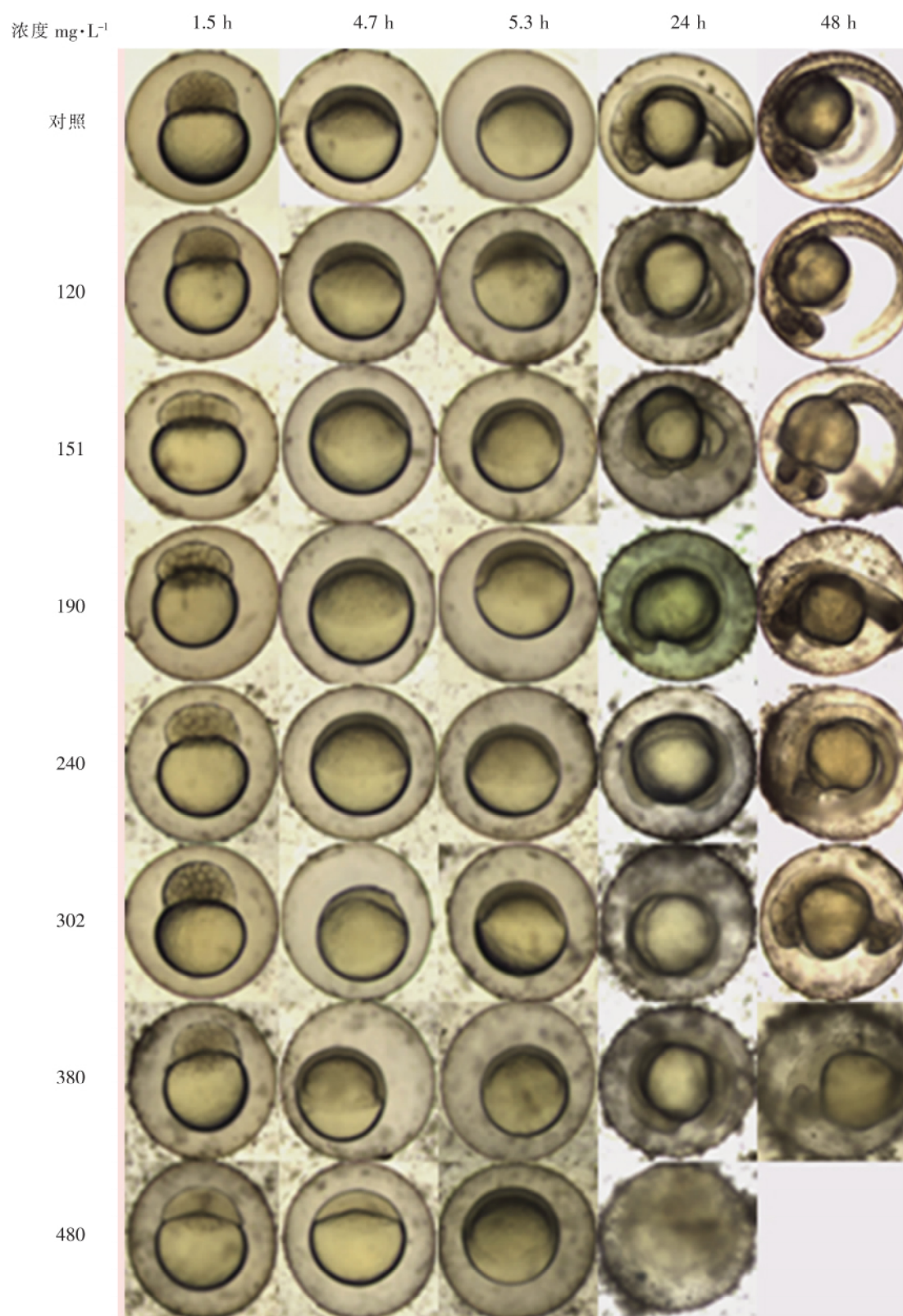
在染毒 72 h 时,多杀菌素和乙基多杀菌素高质量浓度会致使胚胎孵化率下降,还使胚胎的发育速度和体长的生长随质量浓度的增大而变慢,这 3 种生理发育的毒理学终点,都是生长发育过程中发育迟缓的现象。此次实验未从分子水平上测试药剂对胚胎生长发育的毒性作用机制,但由实验数据可知 2 种药剂对胚胎发育具有毒性,对斑马鱼胚胎脊椎畸形存在剂量-效应关系。

多杀菌素在虹鳉鱼和红鲈的毒理实验中 LC_{50} 分别为 30.0 、 $7.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[16];多杀菌素对斑马鱼成鱼的毒性 LC_{50} 为 $23.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12]。本实验结果表明,多杀菌素和乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎死亡率存在剂量-效应关系,多杀菌素对斑马鱼胚胎的 LC_{50} 为 $242.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,说明多杀菌素对斑马鱼胚胎毒性较低。本实验结果还表明,乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎的 LC_{50} 为 $9.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,由此可见,多杀菌素相对乙基多杀菌素对环境更友好,因此,建议在靠近水源的地区能用多杀菌素时应尽量避免使用乙基多杀菌素。

有关马钱子碱及生物转化氮氧化物的资料表明,其对斑马鱼胚胎发育形态有一定的影响,其中,个别胚胎会出现黑色素少、心包水肿、脊柱弯曲等现象^[17]。在磺胺二甲嘧啶对斑马鱼的胚胎发育研究中,亦有体节弯曲等现象,但未说明是否存在剂量-效应关系^[18]。多杀菌素和乙基多杀菌素会使斑马鱼胚胎形成脊椎弯曲,且存在剂量-效应关系。

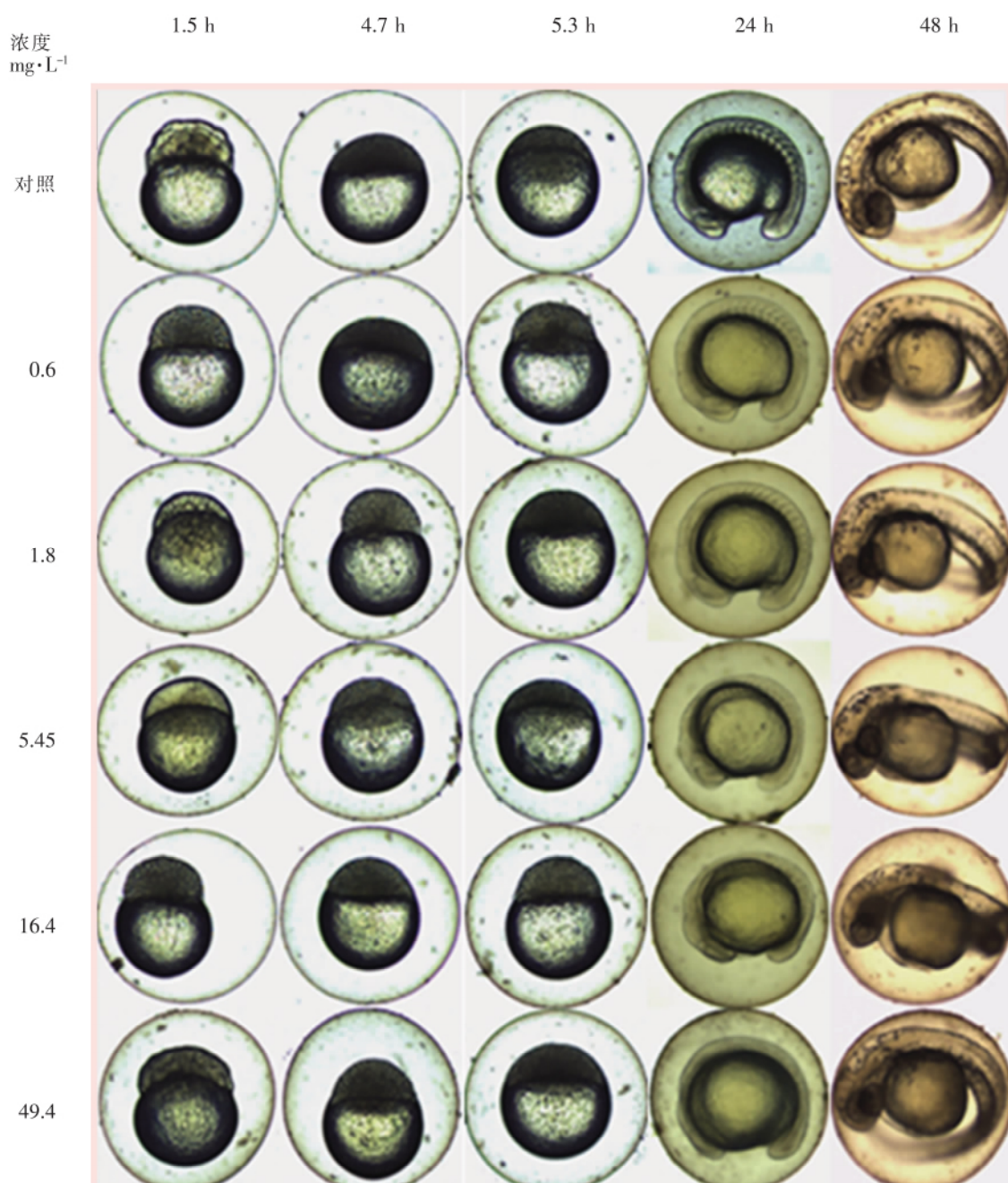
参考文献:

- [1] Teraoka H, Dong W, Hiraga T. Zebrafish as a novel experimental model for developmental toxicology [J]. Congenit Anom Kyoto, 2003, 43: 23–32.
- [2] Dong W, Teraoka H, Yamazaki K, et al. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in the zebrafish embryo: local circulation failure in the dorsal midbrain is associated with increased apoptosis [J]. Toxicol Sci, 2002, 69(1): 191–201.
- [3] 董武,魏强,寺冈宏树,等. 二噁英诱发斑马鱼初期胚的循环系统障碍 [J]. 中国实验动物学报, 2002, 10(2): 67–69.
- [4] 肖春艳,邵超,赵同谦,等. 降雨中有机氯农药土壤-水界面迁移过程的实验模拟 [J]. 环境化学, 2012, 31(12): 1953–1959.
- [5] 贾蕊,陆迁,何学松. 我国农业污染现状、原因及对策研究 [J]. 中国农业科技导报, 2006, 8(1): 59–63.
- [6] 沈佐民. 中国茶叶质量安全问题的分析与对策 [J]. 南京农业大学学报, 2005(4): 56–60.
- [7] 罗小勇. 农药残留及其对策 [J]. 科学通报, 2009, 25(18): 344–347.
- [8] EC. Commission regulation (EC) No822/2009 [EB/OL]. Brussels: 2009 [2009-10-09]. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?Uri=OJ:L:2009:239:0005:0045:EN:PDF>.
- [9] 杜顺堂,朱明军,梁世中. 生物农药多杀菌素的研究进展 [J]. 农药, 2005, 44(10): 441–451.
- [10] 伍一军,冷欣夫. 杀虫药剂的神经毒理学研究进展 [J]. 昆虫学报, 2003, 46(3): 382–389.
- [11] 沈登荣,何超,曾通明,等. 乙基多杀菌素与 4 种杀虫剂复配对普通大蓟马的毒力测定 [J]. 西南师范大学学报, 2017, 42(12): 1297–1304.
- [12] 许迪,潘竟林,王会利. 多杀菌素、阿维菌素乳油和高效氯氰菊酯 3 种农药对环境生物的安全性评价 [J]. 生态毒理学报, 2013, 8(6): 897–902.
- [13] 王彦华,王鸣华. 多杀菌素的作用机理及其抗药性的研究进展 [J]. 农药科学与管理, 2006, 25(11): 12–15.
- [14] 黄凯,林匡飞,张卫. 水溶性 CdTe 量子点对斑马鱼胚胎发育的影响 [J]. 环境科学学报, 2011, 31(4): 854–859.
- [15] 于永利,杨景峰,董武. 高残留农药福美双对斑马鱼胚胎脊索的特异性影响 [J]. 环境科学研究, 2011, 24(11): 1297–1304.
- [16] 张文吉,陈隆智,高仁君. 多杀菌素对中国人群的膳食风险评估研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2007.
- [17] 张启春,杨雨微,卞慧敏. 马钱子碱及生物转化氮氧化物对斑马鱼胚胎毒性的研究 [J]. 2011(10): 1664–1665.
- [18] 刘丽丽,吕鹏,闫润春. 磺胺二甲嘧啶对斑马鱼胚胎的急性毒性作用 [J]. 中国渔业质量与标准, 2018, 8(1): 34–39.



图版 1 多杀菌素对斑马鱼胚胎发育速度的影响

Plate 1 Effect of pleocidin on zebrafish embryonic development rate



图版2 乙基多杀菌素对斑马鱼胚胎发育的影响

Plate 2 Effect of spinetoram on zebrafish embryo development

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Cerasus serrulata* var. *lannesiana* ‘Sirotae’

LU Lu ,JIANG Xiwang

(College of Life Science ,Jiangnan University , Wuhan , Hubei 430056 ,China)

Abstract: The stem of *Cerasus serrulata* var. *lannesiana* ‘Sirotae’ with buds were used as explants ,sterilized and cultured on mediums with various combinations and concentrations of plant growth regulators for rapid propagation. The explants were cultured in a medium of MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to induce shoots. The shoots were then subcultured in the medium of MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and then transferred onto the medium of MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2-IPD $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for proliferation. The proliferation coefficient was 4.2 under these mediums. The plantlets were cultured on a rooting medium of 1/2MS + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the rooting rate was 93.63% . The rooted plantlets were transplanted in the substrate which was composed of perlite ,peat and vermiculite at a ratio of 1:1:1 , and their survival rate was up to 80% after they hardened off outdoor for 30 d.

Keywords: *Cerasus serrulata* var. *lannesiana* ‘Sirotae’ ; tissue culture; rapid propagation; phytohormone

(责任编辑: 叶 静)

(上接第 271 页)

Effects of Pleocidin and Spinetoram on the Development of Zebrafish Embryos

KONG Weihao ,GAO Weishan ,FAN Yongmei

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry , Hainan University , Haikou , Hainan 570100 , China)

Abstract: Zebrafish (*Danio rerio* AB) was treated with pleocidin and spinetoram at different concentrations (120 , 151 , 190 , 240 , 302 , 380 , 480 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for pleocidin , and 0.6 , 1.8 , 5.45 , 16.4 and 49.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for spinetoram) to observe the effect of the two chemicals on the embryo development of zebrafish. The test followed strictly the OECD guidelines for testing of fish embryo acute toxicity (FET) . The results showed that the median lethal concentration (LC_{50}) for zebrafish embryos exposed to pleocidin after 96 h of fertilization was $242.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and $9.713 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ when exposed to spinetoram. Pleocidin and spinetoram had no dosage-response relationships in the frequency of spontaneous movement in 1 min after 24 h of fertilization , the frequency of heart beat in 20 s after 48 h of fertilization , and the body length after 96 h of fertilization. Pleocidin and spinetoram showed a dosage-response relationship in the frequency of spinal curvature after 72 h of fertilization. These two chemicals were all low in toxicity , and in high concentrations , pleocidin is more friendly to Zebrafish than spinetoram.

Keywords: pleocidin; spinetoram; zebrafish; embryonic development; toxicity

(责任编辑: 叶 静)