

文章编号: 1674-7054(2018)04-0388-05

铜离子对锦鲤 DNA 的损伤

刘秋妤¹ 陈 新^{1,2} 覃宗敏¹ 卓 文¹ 唐 敏^{1,2}

(1. 海南大学 材料与化工学院, 海口 570228; 2. 南海海洋资源利用国家重点实验室(海南大学) 海口 570228)

摘 要: 通过微核和彗星试验检测了铜离子胁迫下锦鲤(*Cyprinus carpio*) 外周血细胞 DNA 损伤情况。实验发现不同浓度铜离子胁迫 48 h 后, 锦鲤外周血细胞的彗星率(17.7%、44.4%、60.0%、88.9%) 和微核率(0.4‰、8.4‰、9.8‰、12.2‰) 与铜离子浓度呈正相关。细胞尾部 DNA 含量(2.91%、5.74%、8.43%、11.28%)、尾长(47.74、108、112 μm) 和 Olive 尾距(4.51、9.39、17.68、18.62) 也都随铜离子浓度升高而呈增长趋势, 而且 G2/G3 组均显著高于对照组($P < 0.05$)。2 种试验方法所获结果相互印证, 从不同角度揭示了铜离子对锦鲤外周血细胞的遗传毒性效应。特别是微核试验灵敏度较高, 步骤简捷, 成本低廉, 在生态遗传毒性检测应用推广方面具有较大优势。

关键词: 锦鲤; 铜胁迫; DNA 损伤

中图分类号: X 174 文献标志码: A DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.04.004

国家环境保护局统计资料显示, 全国 500 多条主要河流中, 约 80% 的水体都受到不同程度的污染^[1]。近年来, 我国加大了水环境污染治理力度, 在局部地区已取得显著成效, 同时促进了水生生物学毒性检测评价和生物监测研究工作^[2]。水体重金属污染不易发现, 难以治理, 经生物富集和食物链传递可严重危害生态系统, 甚至危及人类生命健康^[1,3]。其中重金属造成的遗传毒性效应引起了人们的重视。鱼类在水体食物链中常处于较高阶层, 对水环境变化反应灵敏, 是较理想的生物监测或检测对象^[4]。鲤是国际经济合作与发展组织(OECD)推荐的 7 种试验鱼类之一^[5], 在水生生态毒性检测领域应用较广, 在多种有机物和无机物的遗传毒性检测中都取得了良好效果^[6-12], 在复杂水样的毒性评价中也表现良好^[13]。这些研究主要采用了彗星试验和/或微核试验作为测定细胞 DNA 损伤的重要手段^[14]。这 2 种方法在试验结果显示和机理等方面具有各自的特点。彗星试验检测单细胞 DNA 链损伤以及被 DNA 修复系统移除的片段时^[8]所需细胞相对较少; 微核试验针对染色体断裂和纺锤体损伤进行研究^[15], 操作快速简捷。锦鲤(*Cyprinus carpio*) 易饲养, 较敏感, 是水生生态毒理研究和检测中常用的受试生物, 在急性毒性研究方面已积累了很多有价值的资料^[3,16-17]。本研究通过彗星试验和微核试验, 探索重金属铜对锦鲤外周血细胞 DNA 的损伤作用, 比较这两种方法在生态毒性检测研究中的适用特点; 同时, 期望从生态遗传毒性角度研究锦鲤对重金属铜胁迫的响应特点, 为水环境监测提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料 锦鲤购自海南源发锦鲤观赏鱼厂, 体长(10.93 ± 0.90) cm, 体质量(12.60 ± 2.28) g。配制铜离子溶液(CuSO_4 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、PBS 缓冲液(NaCl $137 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KCl $2.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2HPO_4 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 NaOH 溶液($0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、裂解液前体(NaCl $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2EDTA $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Tris $0.165 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH10)、裂解液(89 mL 裂解液前体, 10 mL DMSO, 1 mL Tri-X-100 , pH12), $\mu = 10\%$ 吉姆萨染液。所用化学试剂均为分析纯。

收稿日期: 2018-08-24

修回日期: 2018-10-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360105、31660128); 海南省研究生创新科研课题(Hys2018-68、Hys2018-67)

作者简介: 刘秋妤(1995-), 女, 海南大学材料与化工学院 2016 级硕士研究生, E-mail: 450347901@qq.com

通信作者: 唐敏(1972-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 水生生态学, E-mail: 1251054716@qq.com

1.2 实验方法

1.2.1 锦鲤驯养 锦鲤的实验室适应性驯化培养,驯养期间持续适量充气。隔日清理水体中的残渣和排泄物,半量换水。每日定期观察锦鲤生活状况和行为。驯养期间锦鲤的生长及摄食等行为表现正常,死亡率低于5%。

1.2.2 曝毒试验 经预实验及《渔业水质标准》^[18]确定铜离子质量浓度范围,设置对照组和实验组,其中对照组加入10 L充分曝气的自来水,实验组 G1、G2 和 G3 铜离子质量浓度分别为 0.100、0.160、0.256 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每个质量浓度梯度,放入随机选取的10条健康锦鲤,毒物暴露48 h。每组设3个平行。

1.2.3 彗星试验 采用尾静脉取血法^[19]取锦鲤外周血。细胞计数后,PBS缓冲液调整细胞密度($10^5 \sim 10^8$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$),用于彗星试验。参考文献[20-21]在洁净的磨砂载玻片表面铺3层琼脂糖凝胶,第1层取质量分数为1%琼脂糖;第2层为细胞液与质量分数为0.8%低熔点琼脂糖的混合液;第3层为低熔点琼脂糖。待凝胶固化后,4℃条件下裂解1 h,电泳(20 V,300 mA)20 min。随后将玻片放入低温 Tris-HCl 溶液中和、蒸馏水润洗、乙醇脱水,自然晾干,SYBR Green 染色,在荧光显微镜(OLYMPUS BX51)下观察。

1.2.4 微核试验 取锦鲤外周血制作涂片,甲醇溶液固定,吉姆萨染液避光染色,润洗后自然晾干。显微镜(SA3300PL)下检测微核。每组随机统计2 000个左右的红细胞,计数出现微核的细胞,观察结果以微核率(%)表示。

$$\text{微核率}(\%) = \frac{\text{出现微核的细胞数量}}{\text{观察的细胞总数}} \times 1000。$$

1.3 数据统计与分析 采用 CASP 软件测量和分析彗星试验各参数,以尾部 DNA 含量(%)、尾长、Olive 尾矩为指标^[22-23]对细胞 DNA 损伤程度进行分级和评价^[24]。根据尾部 DNA 含量(%)判断损伤等级:0 级损伤 < 5%;5% ≤ I 级损伤 < 20%;20% ≤ II 级损伤 < 40%;40% ≤ III 级损伤 ≤ 95%;全损伤 > 95%;各组彗星率为损伤细胞占总观察细胞的百分比。采用 SPSS 18.0 对彗星试验和微核试验结果进行单因素方差分析(One-way ANOVA)($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 彗星试验结果 显微镜下对照组细胞呈圆形,荧光亮度强,极少部分呈短尾的彗星状(图1 A);而3个曝毒组细胞的荧光强度相对较弱,出现彗星的细胞数较多,且随着 Cu^{2+} 浓度增大,彗星细胞呈逐渐增多的趋势,彗星头部荧光亮度也减弱,尾长逐渐增加(图1 B、C、D)。结果分析表明,彗星率随 Cu^{2+} 浓度的增加呈上升趋势(图2),G2 组(60.0%)与对照组(17.7%)呈现显著差异, $P < 0.05$;高浓度 G3 组(88.9%)与对照组呈极显著差异, $P < 0.01$ 。用 CASP 软件分析的结果发现,G2、G3 组细胞尾部 DNA 含量(%)、尾长和 Olive 尾矩均极显著高于对照组, $P < 0.01$ (表1)。随着铜离子浓度的增大,各组细胞尾部 DNA 含量(%)、尾长和 Olive 尾矩也都相应呈增长趋势。

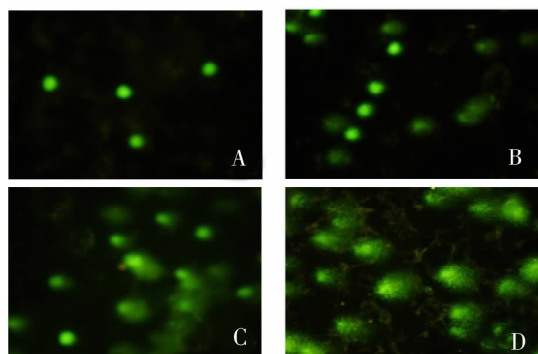


图1 锦鲤外周血细胞的彗星图像

A—空白对照组;B、C、D 分别为实验组 G1、G2、G3 (铜离子质量浓度分别为 0.100、0.160 和 0.256 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

Fig. 1 The peripheral blood cells and comets of *Cyprinus carpio*
A: The blank; B: G1 (Cu^{2+} 0.100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C: G2 (Cu^{2+} 0.160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); D: G3 (Cu^{2+} 0.256 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

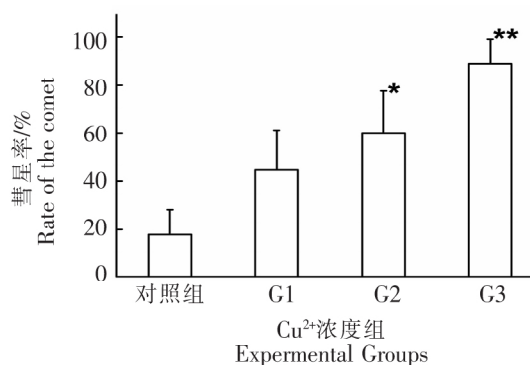


图2 对照组和各实验组的彗星率

* 和 ** 分别表示与对照组相比显著差异 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$
Fig. 2 The rate of comet in the control and the experimental groups
* and ** indicate significant difference between the experimental groups and the control group at the levels of $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively

实验发现对照组、实验组 G1 和 G2 的 DNA I 级损伤率分别是 17.7%、44.4% 和 60.0%。G3 的 DNA 损伤率是 88.9% 其中 I 级损伤约占 85.0% II 级损伤约占 15.0%。

2.2 微核试验结果 显微镜下观察血涂片,可见细胞核及其微核都呈紫色(图 3)。统计锦鲤外周血细胞总数和出现微核的细胞数,以此计算各组的微核率。可见,随着 Cu^{2+} 浓度增加,微核率呈逐渐升高的趋势(图 4)。G1、G2 和 G3 的微核率,均与对照组呈现极显著差异($P < 0.01$)。

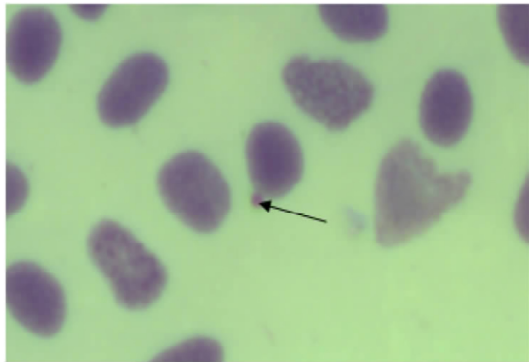


图 3 锦鲤外周血细胞微核($\times 1\,000$)
微核如箭头所示

Fig.3 The peripheral blood cells and micronucleus of *Cyprinus carpio* ($\times 1\,000$)
Arrow points to micronucleus

3 讨论

铜离子对水生动物和两栖动物的遗传毒性作用已有相关报道,小锯盖鱼(*Centropomus parallelus*) 在含铜离子 $13\,26\,\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时胁迫 30 d 和 60 d,其血细胞微核率与对照组均出现显著性差异($P < 0.05$)^[25]。Guaribas 河中野生罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) 的血细胞彗星损伤指数(index of damage) 与水体中重金属含量和水温呈正相关^[26]。条纹鲮脂鲤(*Prochilodus lineatus*) 暴露于铜质量浓度为 $5\,9\,20\,\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液 96 h 后 DNA 损伤程度与对照组产生差异,其中高浓度组 44% 的细胞尾长超过直径的 2 倍^[27];本实验中 G1、G2、G3 组的彗星率均高于对照组,且随铜离子质量浓度增加,血细胞 DNA 损伤程度加重。可见,水环境中一定浓度的铜会造成多种水生动物遗传物质损伤。目前,铜对动物细胞 DNA 损伤的分子机理尚不清楚,有试验^[28] 推测铜造成 DNA 损伤可能是 DNA 受脂质过氧化过程中产生的 MDA 和中等反应活性的脂自由基等的攻击;另有试验^[29] 显示铜可抑制 DNA 的修复。

本实验中锦鲤曝毒 48 h 后,其外周血红细胞的微核率与铜离子浓度呈正相关,当铜离子质量浓度为 $0.100\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的微核率为 8.2‰,显著高于对照组($P < 0.01$)。有文献表明,鲫(*Carassius auratus*) 在铜离子质量浓度为 $0.02\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时胁迫 7 d,其外周血红细胞微核率达到 41.7‰,与对照组(6.6‰) 呈显著差异^[30]。随着铜离子质量浓度从 $0.012\,5\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 升高到 $1.0\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,鲫的微核率、核异常率与总核异常率都呈上升趋势^[31];中国花鲈(*Lateolabrax japonicus*) 幼鱼^[32] 在铜离子质量浓度分别为 0.21 和 $0.28\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时胁迫 96 h,其血细胞微核率分别为 0.40‰和 0.34‰,与对照组(0.09‰) 无显著差异,仅在铜离子质量浓度为 $0.42\,\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时微核率(0.75‰) 显著高于对照组($P < 0.05$)。为此,从鱼外周血红细胞的微核试验结果可知,不同种类的鱼对铜离子造成的遗传毒性敏感度是不同的。此外,本实验中锦鲤红细胞的微核率呈现的正相关剂量效应与王利等^[33] 的研究结果相符,但是在相同浓度下,本实验锦鲤普遍表现出较高的微核率,推测这可能与试验中所用鱼的体质质量有关,本实验中鱼的平均体质质量约为王利等试验鱼的

表 1 彗星试验结果

Tab.1 The result of the comet experiments

组别 Group	尾部 DNA 含量/% Tail DNA content	尾长/ μm Tail length	Olive 尾矩 Olive tail moment
对照组 Control	2.91	47	4.51
G1	5.74*	74	9.30
G2	8.43**	109**	17.67**
G3	11.28**	113**	18.62**

注:* 和 ** 分别表示与对照组相比呈显著差异 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$

Note: * and ** indicate significant difference between the experimental groups and the control group at the levels of $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively

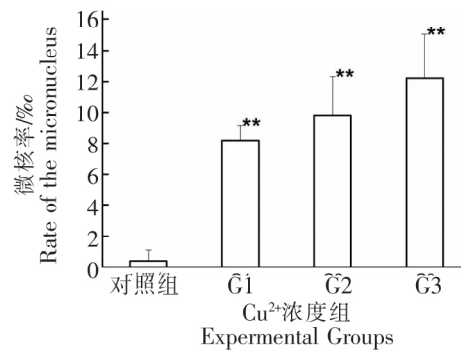


图 4 对照组和各实验组的微核率

** 表示与对照组相比呈极显著差异 $P < 0.01$
Fig.4 The permillage of micronucleus in control group and experimental groups
** indicates significant difference between the experimental groups and the control group at $P < 0.01$

1/5,可能在微核试验中对铜离子的遗传毒性胁迫表现得更敏感。因此,建议在选取试验动物时要关注鱼体的指标特征,特别在制定相关标准时对此应有一定的要求。

笔者发现G1组(铜离子质量浓度 $0.100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)锦鲤彗星试验的各项指标与对照组无显著差异,但在微核试验中微核率出现极显著差异($P<0.01$)。与本研究结果相似,Tolga^[34]研究发现金鱼(*Carassius auratus*) 在除草剂 Gesaprim 质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时胁迫6 d血细胞的彗星试验遗传损伤指数($\text{GDI}=1.05$)与阴性对照组($\text{GDI}=0.20$)出现极显著差异($P<0.01$),而微核率(4.20%)与阴性对照组的微核率(2.44%)出现显著差异($P<0.05$)。比较彗星试验和微核试验的结果可见,不同检测方法的结果呈现一定的差异,因此需根据实验目的和试验条件,选择适宜的检测方法进行分析,以对实验结果进行准确评价。

在彗星实验技术方面,尽管有研究表明乙醇脱水干燥法保存琼脂片具有稳定性^[35],但本实验用密封袋封装的琼脂片在 4°C 下保存28 h后,观察过程中发现部分样品背景存在大量微小荧光点,干扰分析。推测这可能是样品在脱水后保存过程中受到了污染。为了尽量避免污染影响实验结果,样品在脱水后应尽快进行镜检。

本实验采用的微核试验和彗星试验具有不同的检测终点和机制^[13],都可显示 Cu^{2+} 对锦鲤外周血细胞的遗传效应,2种方法获得的实验结果有较好的相互印证作用,都可应用于水环境重金属的遗传毒性检测和监测。特别是微核试验灵敏度较高,步骤简捷,成本低廉,在遗传毒性检测方面具有较大的优势。

致谢:徐利婷、毋越等同学,海南大学分析测试中心对本实验给予了大力支持和帮助,一并致谢!

参考文献:

- [1] 姜旭萌,赵咏梅,金荔红. 彗星实验在水污染遗传毒性监测中的应用[J]. 陕西农业科学, 2013, 59(6): 137-139.
- [2] 李丽君,刘振乾,徐国栋,等. 工业废水的鱼类急性毒性效应研究[J]. 生态科学, 2006, 25(1): 43-47.
- [3] 张海瑞,许晓曦. 重金属离子铜、铅在锦鲤鱼幼鱼体内积累的研究[J]. 食品工业科技, 2009(7): 276-278.
- [4] 罗福广,黎娅,黄杰,等. 麦穗鱼在硫酸铜药效评估中的应用[J]. 南方农业学报, 2016, 47(3): 494-499.
- [5] 宫本纯之,泷本善之,沈俭. OECD 化学品试验法准则介绍(上)[J]. 世界农药, 1982(4): 13-21.
- [6] 南平,王君,豆晓飞,等. 8-羟基喹啉对锦鲤遗传毒性和生理毒性的研究[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(1): 116-119.
- [7] 燕帅国,南平,张玉玲,等. 氯化1-辛基-3-甲基咪唑对锦鲤的急性毒性和遗传毒性[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(1): 137-139.
- [8] OROZCOHERNÁNDEZ L, GUTIÉRREZGÓMEZ A A, SANJUANREYES N, et al. 17β -Estradiol induces cyto-genotoxicity on blood cells of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Chemosphere, 2017, 191: 118-127.
- [9] WANG C, HARWOOD J D, ZHANG Q. Oxidative stress and DNA damage in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to the herbicide mesotrione [J]. Chemosphere, 2017, 193: 1080-1086.
- [10] 王伟琴,金永堂,吴斌,等. 水源水中微囊藻毒素的遗传毒性与健康风险评价[J]. 中国环境科学, 2010, 30(4): 468-476.
- [11] GARCÍA-MEDINA S, GALAR-MARTÍNEZ M, GÓMEZ-OLIVÁN L M, et al. Relationship between genotoxicity and oxidative stress induced by mercury on common carp (*Cyprinus carpio*) tissues [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 192: 207-215.
- [12] 韩杰,许人骥,于慧慧,等. 镉对鲤遗传毒性和外周血细胞数量的影响[J]. 淡水渔业, 2010, 40(1): 16-20.
- [13] 龙静,张迎梅,朱丽娜,等. 利用微核试验和彗星电泳试验评价黄河兰州段水质致遗传毒性作用[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(1): 59-63.
- [14] ŠRUT M, TRAVEN L, ŠTAMBUK A, et al. Genotoxicity of marine sediments in the fish hepatoma cell line PLHC-1 as assessed by the Comet assay [J]. Toxicology in Vitro, 2011, 25(1): 308-314.
- [15] 陶核,吴南翔. 鱼类体内微核试验在水环境毒理学研究中的应用[J]. 国外医学:卫生学分册, 2009(4): 225-229.
- [16] GÓMEZOLIVÁN L M, MENDOZAZENIL Y P, SANJUANREYES N, et al. Geno-and cytotoxicity induced on *Cyprinus carpio* by aluminum, iron, mercury and mixture thereof [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2017, 135: 98-105.
- [17] 沈洪艳,曹志会,赵月,等. 抗生素药物诺氟沙星对锦鲤的毒性效应[J]. 安全与环境学报, 2015, 15(4): 380-385.
- [18] 国家环境保护局. GB11607-1989 渔业水质标准[S]. 1989.
- [19] 何斌,陈先均,李孟均. Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 对淡水石斑鱼仔鱼的急性毒性研究[J]. 水产养殖, 2006, 27(2): 1-3.
- [20] 林爱军,张旭红,张增利,等. 利用不同植物进行DNA损伤彗星实验的方法比较[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(2): 165-171.
- [21] SINGH N P, MCCOY M T, TICE R R, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual

- cells [J]. *Experimental Cell Research*, 1988, 175(1): 184–191.
- [22] 乔琰, 鲁志松, 姚汉超, 等. 彗星试验分析指标的进展和应用 [J]. *卫生毒理学杂志*, 2004, 18(3): 190–192.
- [23] 卞方杰, 邢美燕, 杨健, 等. 彗星试验技术在水生与土壤环境中的毒理学应用 [J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(3): 63–70.
- [24] ANDERSON D, YU T W, PHILLIPS B J, et al. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay [J]. *Mutat Res*, 1994, 307(1): 261–271.
- [25] OSS R N, KAMPKE E H, CHIPPARIGOMES A R, et al. The effects of subchronic exposure to copper in fat snook (*Centro-pomus parallelus*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 177: 441–445.
- [26] JM D C E S, PERON A P, DA S F, et al. Physico-chemical and genotoxicity analysis of Guaribas river water in the Northeast Brazil [J]. *Chemosphere*, 2017, 177: 334–338.
- [27] SIMONATO J D, MELA M, DORIA H B, et al. Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 170: 31–41.
- [28] 贾秀英, 施蔡雷. 水体二价铜离子致蟾蜍蝌蚪 DNA 损伤和氧化损伤 [J]. *环境科学学报*, 2008, 28(10): 2095–2100.
- [29] GUECHEVA T, HENRIQUES J A P, ERDTMANN B. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater *planarian* in vivo, studied with the single-cell gel test (comet assay) [J]. *Mutation Research*, 2001, 497(1/2): 19–27.
- [30] 王世锋, 徐萍, 古丽米热·安外尔, 等. 甘草对铜胁迫下鲫鱼肝胰脏的抗氧化酶活性及血液红细胞中微核数量的影响 [J]. *水产科学*, 2014(11): 713–717.
- [31] 南旭阳. 部分除草剂、重金属离子对鲫鱼遗传与生理毒性的研究 [D]. 重庆: 西南师范大学, 2001.
- [32] 朱友芳, 洪万树, 林金忠. 铜离子对中国花鲈幼鱼的毒性研究 [J]. *生态毒理学报*, 2011, 6(3): 331–336.
- [33] 王利, 汪开毓. 硫酸铜诱发鲤鱼红细胞微核和核异常的研究 [J]. *湖北农业科学*, 2008, 47(11): 1336–1337.
- [34] CAVAS T. In vivo genotoxicity evaluation of atrazine and atrazine-based herbicide on fish *Carassius auratus* using the micronucleus test and the comet assay [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(6): 1431–1435.
- [35] 牛勇, 冷曙光, 潘祖飞, 等. 乙醇脱水干燥法彗星实验琼脂糖凝胶片保存时间的研究 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2003, 21(4): 304–305.

DNA Damage of Cu^{2+} to *Cyprinus carpio*

LIU Qiuyu¹, CHEN Xin^{1,2}, QIN Zongmin¹, ZHUO Wen¹, TANG Min^{1,2}

(1. College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

2. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea (Hainan University), Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Common carp (*Cyprinus carpio*) was cultured and exposed to different concentrations of Cu^{2+} , and the DNA damage of the peripheral blood cells of *C. carpio* was analyzed by using the micronucleus test and the comet assay. The results showed that the rates of comet (17.7%, 44.4%, 60.0%, 88.9%) and micronucleus (0.4‰, 8.4‰, 9.8‰, 12.2‰) of the peripheral blood cells of *C. carpio* in the control, G1, G2 and G3 were positively correlated with the concentration of Cu^{2+} after *C. carpio* were exposed to Cu^{2+} for 48 hrs. Under the stress of Cu^{2+} for 48h the tail DNA content (2.91%, 5.74%, 8.43%, 11.28%), tail length (47, 74, 108, 112 μm) and Olive tail moment (4.51, 9.39, 17.68, 18.62) in the control, G1, G2 and G3 all tended to increase with the rise of Cu^{2+} concentration and they were significantly higher in the groups G2 and G3 than in the control group ($P < 0.05$). The results of either the micronucleus test or the comet assay corroborated the genetic damage by Cu^{2+} to the peripheral blood cells of *C. carpio* from different aspects. In particular, the micronucleus test was high in sensitivity, low in cost, and simple in steps and will have a high potential of application and extension in the test of ecogenotoxicity.

Keywords: *Cyprinus carpio*; Cu^{2+} stress; DNA damage

(责任编辑: 叶 静)