

微囊藻毒素-LR 对罗非鱼鳃组织活性氧自由基含量 及相关抗氧化酶活性的影响

宋超¹, 胡庚东¹, 瞿建宏¹, 孟顺龙¹, 范立民¹, 陈家长^{1,2*}

1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心//中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要:应用腹腔注射的方式,研究了微囊藻毒素 MC-LR 对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)鳃组织活性氧自由基含量(ROS)及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果表明:在 MC-LR 的胁迫下,罗非鱼鳃组织产生了大量的 ROS,并引起了 SOD 和 CAT 2 种抗氧化酶活性的变化。SOD 和 CAT 在清除过量的 ROS 时表现出的动态变化过程不同,SOD 的变化曲线是多阶段的,而 CAT 则表现为先诱导后恢复的趋势。SOD 和 CAT 在变化趋势上有所不同,但均表现为明显的时间与效应的正相关关系和剂量与效应的正相关关系。这也为将鳃组织中 SOD 和 CAT 作为抗氧化生物标志物来监测微囊藻毒素对罗非鱼胁迫作用提供了一定的参考。试验为研究微囊藻毒素对罗非鱼的生态毒理学作用提供相应的资料,并为罗非鱼质量安全问题的研究打下一定的基础。

关键词:微囊藻毒素;罗非鱼;急性毒性;鳃;活性氧自由基;过氧化氢酶;超氧化物歧化酶

中图分类号:X171.5

文献标识码:A

文章编号:1674-5906(2010)10-2430-05

随着城镇工业化的发展和人口数量的迅速增长,环境问题日益严重。部分湖泊、池塘等水体由于氮、磷的负荷过重已严重富营养化,蓝藻水华现象经常发生。国内外学者在寻求多元化水华控制技术方面的脚步从来就没有停止过。20 世纪 70 年代,Shapiro 提出了生物操纵理论^[1]。但由于该方法局限于小型封闭水域,见效时间长,有时甚至长达一二十年,在国内并没有得到推广。到了 90 年代,刘建康^[2]在总结武汉东湖蓝藻水华消失之谜时发现,通过直接放养滤食性的鲢鳙鱼来摄食水体内的藻类就可能达到控藻的效果,并在此基础上提出了非经典生物操纵理论。虽然说鲢鳙鱼在忍耐和代谢由蓝藻爆发时产生的微囊藻毒素时有极强的能力^[3],但是滤食性的鲢鳙鱼对蓝藻的消化率并不高,鱼体排泄的粪便中存在大量未消化的蓝藻,这些蓝藻很快回到系统中重新参与增殖作用。针对非经典生物操纵控制水华碰到的问题,近几年来,陆开宏等^[4]利用杂食性的罗非鱼对摄食后的蓝藻表现出优于鲢鳙鱼的消化能力,进行了罗非鱼控藻的相关试验,取得了很好的效果。

罗非鱼控藻效果虽好,但是也碰到了 2 个难题。其一,鉴于罗非鱼超强的自繁能力和不耐低温的特性,应考虑放养罗非鱼存在的生态风险;其二,蓝藻在水华时会产生代谢产物—微囊藻毒素,该毒素结构

稳定,毒性大。在微囊藻毒素对罗非鱼的毒性效应和氧化胁迫作用机制方面虽有一定的研究,但研究仅选取一个或两个时间点,不能很好地反应活性氧自由基及其相关酶活性的动态变化过程。这也使得微囊藻毒素对罗非鱼的生态毒理学知识缺乏足够的资料^[5]。

近年来,从抗氧化防御系统的角度来研究微囊藻毒素对罗非鱼的毒性作用机制是一个备受关注的问题^[6]。鱼类由于外来物质的侵入,机体组织会产生过量的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS),这些组织包括肝脏、鳃、肾脏。肝脏作为微囊藻毒素作用于罗非鱼的靶器官^[7],是抗氧化作用发生的重要部位,但是鳃被认为是抗氧化作用最弱的部位^[8],从鳃组织来考察微囊藻毒素对罗非鱼的氧化胁迫,一直被忽视。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)作为重要的抗氧化酶,在清除机体内过多的 ROS 时必不可少。本试验通过研究微囊藻毒素对罗非鱼鳃组织 ROS 含量及相关抗氧化酶(SOD 和 CAT)活性的影响,为研究微囊藻毒素对罗非鱼的生态毒理学作用提供相应的资料,并为罗非鱼质量安全问题的研究打下一定的基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

试验用 MC 的一种亚型结构 MC-LR(纯度

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(nycytx-48)

作者简介:宋超(1985年生),男,研究实习员,硕士,从事生态环境方面工作。E-mail: songc@ffrc.cn

*通信作者:陈家长(1964年生),男,研究员,硕士,主要从事环境方面的研究工作。E-mail: chenjz@ffrc.cn

收稿日期:2010-09-25

95%, by HPLC), 购自 ZEN-U Biotechnology Co.,LTD(台湾)公司;超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化氢酶(CAT)试剂盒,考马斯亮兰总蛋白试剂盒和标准蛋白均由南京建成生物工程研究所提供;活体组织氧化应激活性氧(ROS)初级绿色荧光测定试剂盒由上海杰美基因医药科技有限公司提供。其他试剂为分析纯,为上海化学试剂厂产品。

仪器为 721 分光光度计,荧光分光光度计(Cary Eclipse, VARIAN),组织匀浆机(model PRO 200, Proscientific Inc Oxford, CT USA),恒温水浴锅,低温冷冻高速离心机(Sigma2-16K),超低温冰箱(Thermo Fisher scientific)。

1.2 试验鱼类和试验用水

试验用鱼为尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*),由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南京养殖场提供,平均体长为 8.5 cm,平均体质量为 40 g。试验前经筛选并在水族箱中驯养 10 d 以上,没有出现异常死亡情况,驯养期间每日定时投自制的颗粒饵料。为防止饵料与试验物质反应,试验前 1 d 开始禁食。

试验用水为曝气 7 d 后除氯的自来水,具体水质参数见表 1。

表 1 试验期间试验用水的相关参数
Table 1 Parameters of water in experiment

参数	数值	参数	数值
pH	6.85~7.05	$\rho(\text{Fe})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	0.05
总硬度/(德国度)	7.85~8.10	$\rho(\text{Pb})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	未检出
$\rho(\text{溶解氧})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	>5	$\rho(\text{Cu})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	未检出
$\rho(\text{Zn})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	0.02	$\rho(\text{Cd})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	未检出
$\rho(\text{COD})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	2.25~2.45	水温/ $^{\circ}\text{C}$	20±1

1.3 腹腔注射

试验用 5 个水族箱,每个水箱有 15 条鱼,其中 4 个水箱中的鱼用来注射 MC-LR,注射剂量分别为 50、100、250、500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,注射体积为 0.2 mL,MC-LR 溶于 $w(\text{盐}):v(\text{水})=0.9\%$ 的生理盐水中;剩余 1 个水箱中的鱼用来做对照,每条鱼只注射 0.2 mL 的生理盐水。上述试验做 1 次平行。

注射剂量的选择是根据文献所报道的引起罗非鱼急性毒性效应的 MC-LR 的剂量。试验期间未发现鱼死亡^[9]。

1.4 鱼体取样及组织前处理

取样时间分别为 2、12、24、36、84 h。每个时间点取样时从对照组和 4 个处理组中各取出 3 条鱼,连同平行实验中的鱼,每组一共有 6 条鱼。MS-222 麻醉后,用纱布擦干鱼体表面,并取出鳃组织。将组织(约 0.2 g)放入冰冷的生理盐水中漂洗,

除去血液,滤纸拭干后称质量,放入离心管中,用眼科剪刀尽快剪碎组织(室温大于 25 $^{\circ}\text{C}$ 时操作应在冰水浴中进行)。准确加入 0.9% 的生理盐水(生理盐水的体积总量应是组织质量的 9 倍)于离心管中,随后用微量组织匀浆机(量程为 300~5 000 μL)使组织匀浆化。将制备好的 10% 匀浆离心(3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 15 min),取上清液放入 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,测定时取出。

1.5 分析方法

将匀浆从 10% 稀释为 1%,采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定鱼体鳃组织中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,并用考马斯亮兰总蛋白试剂盒和标准蛋白测定组织的蛋白质含量,测试方法均为比色法。SOD 和 CAT 活性的单位均为 $\text{U}\cdot\text{mg}\cdot\text{prot}^{-1}$,U 的定义为:每 mg 蛋白,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1 min,扣除非酶促反应,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为一个酶活力单位;在测定组织中 ROS 含量时,将鳃组织匀浆稀释到最佳浓度,稀释倍数为 25 倍。随后用杰美基因提供的试剂盒进行测定,方法为荧光分光光度计比色法(激发波长:490 nm,散发波长:520 nm),结果均为相对值(RFU),处理组比色值若高于空白组,则为 ROS 升高并成正相关,反之亦然。实验最后的结果采用单因素方差分析和 LSD 法对数据进行多重比较(只做了在同一注射时间下的各处理组与对照组之间的比较)。 $P<0.05$ 为差异显著,用*表示; $P<0.01$ 为差异极显著,用**表示。

2 结果与分析

2.1 不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织 ROS 含量的变化

图 1 表示了不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织 ROS 含量的变化。从该图可以看出,对照液中生理盐水的注射也使鳃 ROS 含量在 12 h 起得到显著地升高,在 84 h 时恢复到原来的水平。当低剂量(50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)注射 MC 时,虽然随着注射时间的推移,鳃 ROS 含量有一定的升高并最后得到恢复,但是与同一注射时间的对照组相比,鳃 ROS 含量并没有显著变化。也就是说,在产生 ROS 的作用强度上,低剂量的 MC-LR 与生理盐水相同。但是当 MC-LR 注射剂量达到 100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 及以上时,鳃 ROS 含量的变化与对照组相比有很大差异。在 24~36 h 间,高剂量的 MC-LR(100~500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)比同一时间的对照组能更显著地诱导 ROS 产生,在 24 h 时,对于同一对照组,100、250 和 500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组 ROS 含量分别上升了 4.51%、15.60% 和 20.10%,而在 36 h 时,对于此时的对照组,100、250 和 500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组 ROS 含量分别上升了 39.06%、49.47% 和

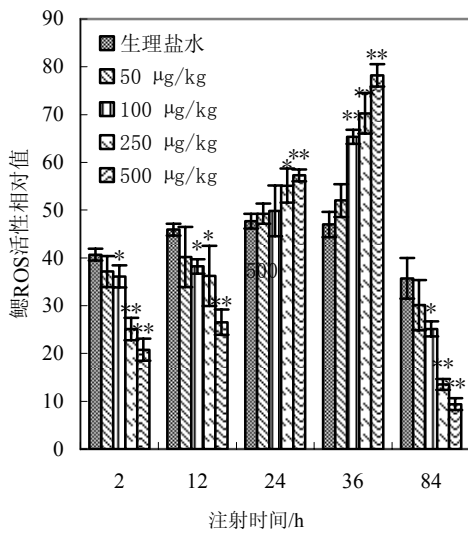


图 1 不同注射剂量下罗非鱼鳃 ROS 活性随时间的变化
Fig.1 Dose – and time – dependent alteration of reactive oxygen species (ROS) in gill

66.40%。从 ROS 上升的趋势来看,此注射阶段剂量与效应之间存在明显的正相关。

在这段时间之前和之后,相对于同一时间的对照组,高剂量的 MC-LR 抑制了鳃 ROS 的产生。在 2 h 时,与此时对照组相比,100、250 和 500 µg·kg⁻¹ 剂量组 ROS 含量分别下降了 11.12%、38.23%和 48.88%。在 12 h 时,与此时对照组相比,100、250 和 500 µg·kg⁻¹ 剂量组 ROS 含量分别下降了 16.75%、21.11%和 42.17%。在 84 h 时,与此时对照组相比,100、250 和 500 µg·kg⁻¹ 剂量组 ROS 含量分别下降了 29.62%、62.15%和 73.68%。从 ROS 含量下降的数据中可以看出,当注射剂量越大(达到 500 µg·kg⁻¹ 时),鳃 ROS 受到的抑制就越明显。

2.2 不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织 SOD 活性的变化

图 2 表示在不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织 SOD 活性的变化。从该图可以看出,对照组中注射生理盐水一组鳃组织 SOD 变化平稳,没有出现显著地差异。注射不同剂量 MC-LR 的 4 个处理组中,鳃组织 SOD 活性发生了明显的变化,所呈现的变化曲线是多阶段的。具体表现为在 12 和 36 h,注射 MC-LR 的 4 个处理组与对照组相比,鳃 SOD 活性呈现明显的诱导作用,在 12 h 时,相对于同一对照组,50、100、250 和 500 µg·kg⁻¹ 剂量组 SOD 活性分别上升了 500.76%、500.96%、600.12%和 600.44%。在 36 h,比对于同一对照组,50、100、250 和 500 µg·kg⁻¹ 剂量组 SOD 活性分别上升了 100.50%、200.47%、200.61%和 200.80%。

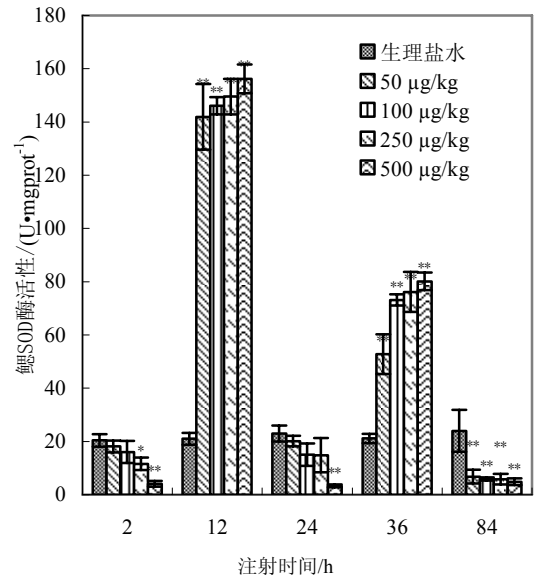


图 2 不同注射剂量下罗非鱼鳃 SOD 酶活性随时间的变化
Fig.2 Dose – and time – dependent alteration of superoxide dismutase (SOD) in gill

从 SOD 活性上升的趋势可以看其受诱导的强度与剂量存在明显的正相关。而在其它注射时间表现为不同程度的抑制作用,当注射剂量达到 500 µg·kg⁻¹ 时,在 2、24 和 84 h,相比同一对照组,SOD 活性分别下降了 80.12%、85.35%和 79.77%。此剂量下 SOD 受到了最大的抑制。从 SOD 活性变化的整体趋势来看,当注射剂量越大(达到 500 µg·kg⁻¹),SOD 活性变化的多阶段趋势也就越明显。

2.3 不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织 CAT 活性的变化

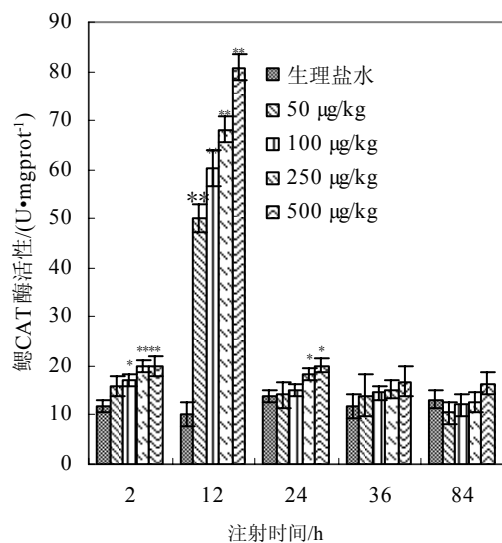


图 3 不同注射剂量下罗非鱼鳃 CAT 酶活性随时间的变化
Fig.3 Dose – and time – dependent alteration of catalase (CAT) in gill

图3表示了在不同注射时间和注射剂量下罗非鱼鳃组织CAT活性的变化。从该图可以看出,鳃组织中CAT活性的变化态势较为明显,总体表现为先诱导后恢复的趋势,在12h时,CAT活性达到诱导的高峰,此时,对比同一对照组,50、100、250和500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组CAT活性分别上升了300.92%、400.89%、500.68%和600.91%。从CAT活性上升的趋势看出这种诱导作用与剂量存在明显的正相关。

3 讨论

在研究者们揭开了东湖蓝藻水华消失之谜后,鲢鳙鱼在非经典生物操纵理论控制蓝藻中的地位就被明确了^[2]。关于鲢鳙鱼对蓝藻水华产生的微囊藻毒素的残留代谢研究随后也进行了大量报道并得到了大致相同的结论,即不论以何种方式(腹腔注射或者投喂)试验,鲢鳙鱼对微囊藻毒素均具有极强的忍耐力和较高的代谢能力^[3]。在将非经典生物操纵理论推广到罗非鱼后,虽然发现罗非鱼具有强于鲢鳙鱼对蓝藻的消化能力,但是由于时间太短,罗非鱼对微囊藻毒素的忍耐力还未见到具体的评价。Prieto在总结对其他鱼类的研究中所用的MC剂量后,用500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的MC-LR和MC-RR做这2种MC亚型结构对罗非鱼毒性的比较试验时,并没有发现鱼的死亡^[8],我们的试验据此剂量进行腹腔注射,试验中也没有发现鱼的死亡。

近年来,有很多研究者将微囊藻毒素对罗非鱼的毒性作用研究从对蛋白磷酸酶的特异性抑制作用转到氧化胁迫机制上来。氧化胁迫机制是基于这样一个理论前提,即外源性物质进入到生物体,会导致过量活性氧自由基(ROS)的产生。适量的ROS在细胞信号传导方面发挥着重要的生理功能,但是ROS一旦过量会使得机体组织产生氧化损伤,严重者甚至会导致生物体死亡^[10]。

鱼体产生ROS的部位一般是线粒体比较活跃的组织,这其中包括肝脏、肾脏和鳃。因为研究一直认为肝脏是微囊藻毒素对罗非鱼产生毒性作用的靶器官^[7]。所以研究者们更愿意将研究肝脏中的各种抗氧化酶的变化作为重点。确有研究总结,鳃组织在抗氧化防御能力方面发挥着最弱的作用^[7]。Prieto等^[11]通过对罗非鱼直接喂食有毒蓝藻的试验中也得出类似的结论。但这些结论并不意味着罗非鱼鳃组织在微囊藻毒素的作用下不会产生过量的ROS。本试验可看出,生理盐水与MC-LR共同作用使外源性物质进入到罗非鱼体内,使罗非鱼鳃组织产生了氧化损伤。不仅生理盐水的注射会使鳃组织产生过量的ROS,注射越大剂量的MC-LR,会使鳃产生越多的ROS。试验中,在36h时,当

注射剂量达到500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,ROS含量与此时对照组相比就上升了66.40%。

在抵抗氧化损伤时,抗氧化防御系统应运而生。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)作为众多抗氧化酶中比较关键的2种,在清除过多的ROS时发挥着重要的作用。试验中,在高剂量的MC作用下,与同一时间的对照组相比,ROS含量呈现先受到抑制后诱导再恢复到抑制状态,出现了一个ROS含量突变的过程,可能是因为ROS产生的机制比较复杂。在SOD和CAT发生抗氧化作用时,CAT在清除过量ROS时表现平稳,先诱导后恢复,而SOD则出现多阶段的清除曲线。联系到SOD主要作用是将超氧阴离子催化为过氧化氢,而CAT是将过氧化氢催化为水和氧气^[12],从而可看出,SOD与CAT在催化机制上的不同,或者超氧阴离子与过氧化氢产生的机制多样,使得SOD与CAT在活性变化趋势上的不一致。

将这2种抗氧化酶作为生物标志物来指示机体受到污染物的胁迫已有很多报道^[13]。总结相关报道中这2种酶在机体受到污染物胁迫作用时的动态变化过程可以发现,酶的变化曲线大部分是多阶段的^[14]。这也反映了现实中污染物对机体产生氧化胁迫作用的复杂性。在上述提及的Prieto等^[11]的试验中,他发现72与24h时SOD和CAT这2种抗氧化酶在不同时间与各自的对照组比较,均未发现显著差异。本试验的结果却发现了这2种酶的显著变化。但这并不能说明2个结论不相吻合。本试验首次研究了在微囊藻毒素胁迫下罗非鱼鳃组织中SOD和CAT活性的动态变化过程。若从某个时间上来比较,例如,在84h,剂量组CAT活性与对照组相比并没有显著差别,结果还是比较一致的,再者,试验方式也不一样。

研究者考虑将抗氧化酶作为生物标志物来对待时,多认可在污染物胁迫下存在剂量与效应之间的正相关性以及时间与效应之间的正相关性^[15]。从本试验的结果可以看出,虽然SOD与CAT酶活性在变化趋势上是多阶段的,但还是可以明确的观察到剂量与效应的正相关关系以及时间与效应的正相关关系。这也证明了,将SOD与CAT这2种酶作为生物标志物来监测微囊藻毒素对罗非鱼的毒性作用不仅可以从肝脏、肾脏来考虑,也可以从鳃组织上来进行。

4 结论

本试验结果表明,在微囊藻毒素MC-LR胁迫下,罗非鱼鳃组织中产生了大量的ROS,并引起了SOD和CAT2种抗氧化酶活性的变化。

SOD 和 CAT 在清除过量的 ROS 时所表现出来的动态变化过程不同, SOD 酶的变化曲线是多阶段的, 而 CAT 酶则表现为先诱导后恢复的趋势。这可能是因为这 2 种酶在清除 ROS 的种类和机制上有所不同。

试验结果表明, SOD 与 CAT 酶在变化趋势上有所不同, 但均表现出明显的剂量与效应之间的正相关性和时间与效应之间的正相关性。这也为将鳃组织中 SOD 和 CAT 作为抗氧化生物标志物来监测微囊藻毒素对罗非鱼胁迫作用提供了一定的参考。

参考文献:

- [1] SHAPIRO J, LAMARRA V, LYNCH M. Biomanipulation: An Ecosystem Approach to Lake Restoration[C]//BREZONIK D L, FOX J L. Water Quality Management Through Ways. Gainesville: University Press of Florida, 1975: 85-86.
- [2] 刘建康, 谢平. 揭开武汉东湖蓝藻水华消失之谜[J]. 长江流域资源与环境, 1999, 8(3): 312-319.
LIU Jiankang, XIE Ping. Unraveling the enigma of the disappearance of water bloom from the east lake (Lake Donghu) of Wuhan[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 1999, 8(3): 312-319.
- [3] 谢平. 水生动物体内的微囊藻毒素及其对人类的潜在威胁[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 62-72.
XIE Ping. Microcystin in Aquatic Animals with Potential Risk to Human Health[M]. Beijing: Science Press, 2006: 62-72.
- [4] 陆开宏, 金春华, 王扬才. 罗非鱼对蓝藻的摄食消化及富营养化水体水华的控制[J]. 水产学报, 2005, 29(6): 811-818.
LU Kaihong, JIN Chunhua, WANG Yangcai. Control of cyanobacterial blooms in eutrophication lakes by tilapia[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29 (6): 811-818.
- [5] 陈家长, 宋超, 胡庚东, 等. 微囊藻毒素 MC-LR 对罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 肝脏谷胱甘肽含量及其相关酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(9): 1670-1674.
CHEN Jiazhang, SONG Chao, HU Gengdong. The effect of MC-LR on glutathione concentration and its related enzymes activity in liver of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(9): 1670-1674.
- [6] FISHER W, DIETRICH D R. Pathological and biochemical characterization of microcystin-induced hepatopancreas and kidney damage in carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2000, 164(1): 73-81.
- [7] 谢平. 水生动物体内的微囊藻毒素及其对人类健康的潜在威胁[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 7-8.
XIE Ping. Microcystin in Aquatic Animals with Potential Risk to Human Health[M]. Beijing: Science Press, 2006: 7-8.
- [8] MOLINA R, MORENO L, PICHARDO S, et al. Acid and alkaline phosphatase activities and pathological changes induced in tilapia fish (*Oreochromis sp.*) exposed sub-chronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions[J]. Toxicon, 2005, 46: 725-735.
- [9] PRIETO A I, JOS A, PICHARDO S, et al. Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis sp.*) [J]. Aquatic Toxicology, 2006, 77: 314-321.
- [10] HALLIWELL B, GUTTERIDGE J M C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease[J]. Biochemistry, 1984, 219(1): 1-14.
- [11] PRIETO A I, ANGELES J. Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis sp.*) [J]. Aquatic Toxicology, 2006, 77(3): 314-321.
- [12] BENZIE I R S. Evolution of antioxidant defence mechanisms[J]. European Journal of Nutrition, 2000, 39(2): 53-61.
- [13] 陈家长, 孟顺龙, 胡庚东, 等. 低浓度阿特拉津对鲫鱼过氧化氢酶 (CAT)活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1151-1156.
CHEN Jiazhang, MENG Shunlong, HU Gengdong, et al. Effects of low concentration of atrazine on catalase activity in *Carassius auratus* [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(3): 1151-1156.
- [14] 李效宇, 刘永定, 宋立荣, 等. 鲤肝细胞抗氧化系统对微囊藻毒素毒性的反应[J]. 水生生物学报, 2003, 27(5): 472-475.
LI Xiaoyu, LIU Yongding, SONG Lirong, et al. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(5): 472-475.
- [15] LAM P K S, GRAY J S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes[J]. Marine Pollution Bulletin, 2003, 46: 182-186.

The effect of MC-LR on reactive oxygen species and its related enzymes activity in gill of tilapia (*Oreochromis niloticus*)

SONG Chao¹, HU Gengdong¹, QU Jianhong¹, MENG Shunlong¹, FAN Limin¹, CHEN Jiazhang^{1,2*}

1. Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081; 2. Wuxi Fishery college, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China

Abstract: This experiment focused on the effect of microcystin-LR on reactive oxygen species and its related enzymes activity (superoxide dismutase, SOD and catalase, CAT) in gill of tilapia (*Oreochromis niloticus*). The results showed that surplus ROS, inducing the variation of antioxidant enzymes SOD and CAT was generated in gill by the stress of microcystin-LR. SOD and CAT had different dynamic processes, especially, the activity of SOD had multistage curves, but the activity of CAT was inhibited firstly, and induced afterwards. Although the trends of SOD and CAT were different, time-depend and dose-depend effects had been displayed evidently. These results showed that they were maybe biomarkers to monitor the toxicology of microcystin-LR to tilapia fish. By the experiment, more details would be provided to study the ecotoxicology and quality safety of microcystin-LR to tilapia.

Key words: microcystin; tilapia; acute toxicology; gill; reactive oxygen species; catalase; superoxide dismutase