

## 微囊藻毒素对大鳞副泥鳅胚胎和幼鱼的毒性效应

李效宇<sup>1,2</sup> 刘永定<sup>1</sup> 宋立荣<sup>1</sup> 雷腊梅<sup>1</sup> 王山杉<sup>1</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 河南师范大学生命科学院, 新乡 453002)

### THE TOXICITY OF MICROCYSTINS TO EMBRYO AND LARVAE OF LOACH (*PARAMISGURNUS DABRYANUS SAUVAGE*)

LI Xiaoyu<sup>1,2</sup>, LIU Yongding<sup>1</sup>, SONG Lirong<sup>1</sup>, LEI Laimei<sup>1</sup> and WANG Shan Shan<sup>1</sup>

(1. Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453002)

关键词: 微囊藻毒素; 大鳞副泥鳅; 胚胎发育; 毒性; 发育毒理学

Key words: Microcystins; *Paramisgurnus dabryanus Sauvage*; Embryo larval toxicity; Developmental toxicology

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 1009-3207(2003)03-0318-02

微囊藻毒素(Microcystins, MC)是一类单环七肽的生物毒素, 它主要由淡水藻类铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)产生, 由于MC的作用靶器官为肝脏, 故又称肝毒素。它通过肝细胞膜上的胆汁酸转运系统进入肝细胞, 专一性地抑制蛋白磷酸酶I和蛋白磷酸酶2A而导致肝细胞损伤, 诱发肝炎并促发肝癌<sup>[1]</sup>。关于微囊藻毒素的肝细胞毒理学研究已有较多的报道<sup>[2]</sup>, 但MC的发育毒理学国内外相关的报道极少, 仅Oberemm等研究了MC对斑马鱼胚胎发育的影响<sup>[3]</sup>。近年来, 微囊藻水华在富营养化湖泊频繁发生, 不仅导致湖泊旅游景观的破坏, 而且湖泊中的生物多样性明显减少。因此, 研究MC的发育毒理学可以从一个方面揭示湖泊生物多样性下降的原因。

#### 1 材料和方法

**1.1 材料** MC用常规方法制备<sup>[4]</sup>, 所得MC纯度用HPLC测定, 然后用灭菌的双蒸水配成母液, -20℃保存备用。大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus Sauvage*)胚胎采用人工受精方法获得, 孵化液为无菌的Holtfreter液(3.5g·L<sup>-1</sup>NaCl, 0.1g·L<sup>-1</sup>CaCl<sub>2</sub>, 0.05g·L<sup>-1</sup>KCl), 溶氧5mg/L, pH7.0±0.5。

**1.2 毒性试验方法** 实验容器为直径9cm和12cm的培养皿, 每皿放100个受精卵, 对照和MC处理组均设3个平行。实验温度22℃, 光暗比为16:8, 每日更换一次试验溶液。大鳞副泥鳅的胚胎发育分期按梁秩等<sup>[5]</sup>的报道确定。依照MC在胚胎发育不同阶段处理而将试验分为3组: 第一组,

MC在卵裂期处理(32细胞期); 第二组, 在胚孔封闭期处理; 第三组, MC在孵化出苗期(幼鱼刚孵出)处理。泥鳅胚胎发育过程用倒置显微镜观察、拍照, 同时记录各组孵化率、畸形率和幼鱼存活率, 依此进行统计学分析和处理。

#### 2 结果

##### 2.1 MC在卵裂期处理对大鳞副泥鳅胚胎发育的影响

MC在卵裂期处理对大鳞副泥鳅胚胎发育的影响如图1, 随着MC浓度的升高, 胚胎孵化率下降, EC<sub>50</sub>=299.1μg/L; 同时, MC对大鳞副泥鳅胚胎有明显的致畸效应, 胚胎畸形率随MC浓度升高而上升, EC<sub>50</sub>=138.9μg/L(图1)。主要的畸形症状表现为卵黄吸收少、卵黄膨大以致崩解; 心脏肿大、心跳过慢或搏动微弱; 身体向一侧弯曲或腹部弯曲及弯尾等。

##### 2.2 MC在胚孔封闭期处理对大鳞副泥鳅胚胎发育的影响

当MC在胚孔封闭期处理时, MC对胚胎孵化率基本无影响(图2), 但其致畸效应依然存在(EC<sub>50</sub>=83.0μg/L), 主要畸形症状和卵裂期无大差异。

##### 2.3 MC对大鳞副泥鳅幼鱼的毒性效应

MC在幼鱼刚孵出时处理, 幼鱼死亡率随MC浓度升高而上升(图3)。

当浓度为333.3μg/L时, 可导致所有的鱼苗在2d内全部死亡, LC<sub>50</sub>=164.3μg/L。除致死作用外, MC对幼鱼仍有很强的致畸作用, 主要畸形症状和胚胎期处理时相似, 即围心腔水肿膨大, 管状心脏, 心跳过缓, 血流速度慢或局部停止, 弯

收稿日期: 2002-02-06; 修订日期: 2002-12-21

基金项目: 国家科技部重点项目“滇池蓝藻水华污染控制技术研究”(K99-05-35-01)资助; 中国科学院武汉分院情报信息中心资助

作者简介: 李效宇(1965—), 河南省新蔡人; 博士; 从事藻类学研究。感谢刘同明博士和张维昊博士对本实验的帮助

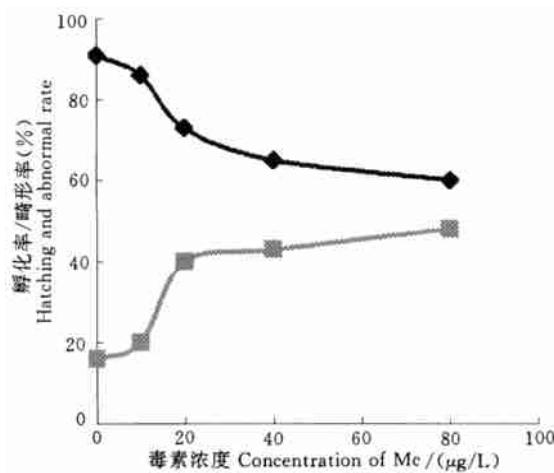


图 1 微囊藻毒素对大鳞副泥鳅胚胎孵化率的影响及其致畸效应(卵裂期处理)

Fig. 1 Effects of MC on loach embryos hatching rate (◆) and abnormal rate (■) of larvae Hatching

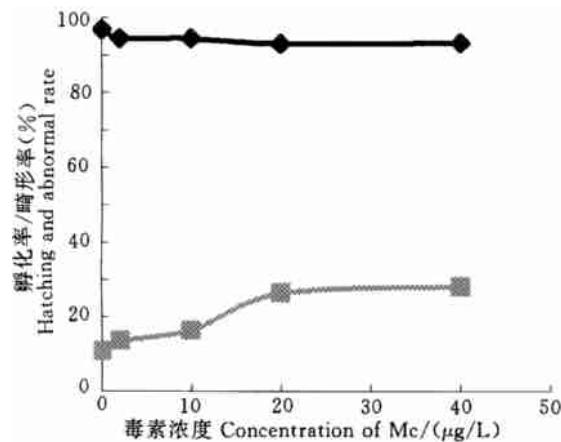


图 2 微囊藻毒素对大鳞副泥鳅胚胎孵化率的影响及其致畸效应(胚孔封闭期处理)

Fig. 2 Effects of MC on the loach embryo hatching rate and abnormal rate (◆) Hatching rate; (■) Abnormal rate

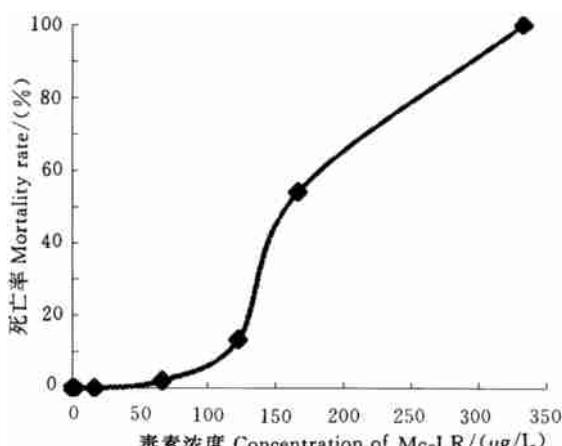


图 3 微囊藻毒素对仔鱼的毒性(孵化期处理)

Fig. 3 Toxicity of MC to loach larvae (7 day exposure to MC after hatching)

体、弯尾、体浑浊、幼体瘦弱等。

### 3 讨论

从实验结果可以看出, MC 在大鳞副泥鳅胚胎发育不同阶段处理, 对孵化率影响不同。在卵裂期处理, 幼鱼孵出延迟, 出膜困难, 孵化率明显降低; 但在胚孔封闭期处理, 对孵化率无影响, 其原因尚不清楚, 有可能是胚胎发育不同时期对 MC 吸收方式或吸收率有差异, 亦或是敏感性不同。值得注意的是, MC 在不同发育时期处理时, 致畸效应及畸形症状都相似, 这很难从胚胎对 MC 吸收差异方面解释。

以往的大量研究工作证明, 胚胎发育期对大多数毒物的敏感性较幼鱼为低<sup>[6]</sup>, 这与卵膜和卵周液对毒物的天然屏障作用有关, 但不同的毒物对鱼类胚胎的毒性影响也有差异。实验结果表明, MC 是属于对鱼类胚胎毒性较大的毒素, 即 MC 对胚胎的毒性高于对幼鱼的毒性。另外, 该实验结果还表明, MC 对大鳞副泥鳅的致畸症状主要为卵黄吸收少, 卵黄膨大、崩解; 心包肿大、管状心脏, 心跳过缓或局部停止; 弯体或弯尾等, 这与其他毒物的致畸效应基本相似。

在富营养化的湖泊中, 微囊藻水华大量消解时, 常能释放出很高浓度的微囊藻毒素, 这必然影响湖泊中鱼类的生长、繁殖和种群扩大。本实验结果在一个方面解释了微囊藻水华大量发生的湖泊, 其生物多样性常较低的原因。同时, 该结果对于制定湖泊、水库等水体中微囊藻毒素的环境安全浓度允许范围也有一定的参考价值。

### 参考文献:

- [1] Li X Y, Song L R, Liu Y D. The production, detection and toxicology of microcystins[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(5): 517—523. [李效宇, 宋立荣, 刘永定. 微囊藻毒素的产生、检测和毒理学研究[J]. 水生生物学报, 1999, 23(5): 517—523]
- [2] Xu L H, Zhang Y Y. Recent developments in the study of the molecular intoxication mechanism of microcystins[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, 17(4): 365—374. [徐立红, 张甬元. 微囊藻毒素分子致毒机理研究进展[J]. 水生生物学报, 1993, 17(4): 365—374]
- [3] Oberemm A, Fastner J, Steinberg C E W. Effects of microcystin LR and cyanobacterial crude extracts on embryo and larval development of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Wat. Res.*, 1997, 31(11): 2918—2921
- [4] Wat anabe M F, Harada K I, Carmichael W W, et al. *Toxic Microcystis* [M]. New York: CRC Press, 1996, 103—148
- [5] Liang Z X, Liang J Y, Chen C, et al. The embryonic development and fingerling culture of loach, *Paramisgurnus dabryanus* Sauvage[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1988, 12(1): 27—42. [梁秩、梁坚勇、陈朝等. 大鳞副泥鳅的胚胎发育及鱼种培养[J]. 水生生物学报, 1988, 12(1): 27—42]
- [6] Villalobos S A, Hamm J T, Teh S J, et al. Thiobencarb induced embryotoxicity in medaka (*Oryzias latipes*): stage specific toxicity and the protective role of chorion[J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 48: 309—326