

# 水库鲮和罗非鱼谷胱甘肽转移酶基因 表达量与水中蓝藻含量的关系

李玺洋 梁旭方 程炜轩 瞿春梅 张进

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

**摘要** 采用荧光定量的方法对不同季节广州显岗水库鲮(*Cirrhinus molitorella*)和尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肝脏中去毒酶基因谷胱甘肽转移酶 GST 基因的表达情况,并结合不同季节鱼类摄入蓝藻量进行研究,旨在了解鱼体中 GST 基因的表达量与水体中蓝藻含量的内在联系。结果表明,4月份水库蓝藻暴发,也是鲮和尼罗罗非鱼摄食产毒蓝藻量最多的月份。GST 基因的表达情况是:4月份鲮 GST 基因表达量比其他月份低,可能与鲮对有毒蓝藻的敏感性和耐受力有关,4月份尼罗罗非鱼 GSTA 及 GSTR2 表达量最高;其他月份,鲮 GSTT 表达量最高,而 GSTK 表达量较低,尼罗罗非鱼 GSTA 及 GSTR2 表达量相对较低。结果表明鲮 GSTT 在去毒过程中起重要作用,但作为环境检测的生物标记,仅适用于环境中藻毒素较低的情况。尼罗罗非鱼 GSTA 和 GSTR2 的表达量与食物中的产毒蓝藻生物量多少成正比,因此,尼罗罗非鱼 GSTA 及 GSTR2 可作为环境中藻毒素的生物标记,且尼罗罗非鱼可摄入大量有毒蓝藻,通过 GST 基因去除有毒蓝藻毒性,可用于生物控藻,改善水质。

**关键词** 鲮; 尼罗罗非鱼; 产毒蓝藻; 谷胱甘肽 S 转移酶; 生物标记

**中图分类号** S 964.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)03-0364-07

广东省广州市显岗水库遇到高温干旱季节,藻类大量繁殖,其中蓝藻可产生微囊藻毒素(microcystins, MCs), MCs 进入鱼体后聚集肝中,造成鱼肝损伤、肝内出血甚至肝坏,还可以通过食物链进入人体,引发肝癌等疾病<sup>[1-2]</sup>。MCs 不易消除,在自然水体中相当稳定,不易沉淀或被吸附。水生生物肝脏中可溶性谷胱甘肽 S 转移酶(glutathione S-transferase, GST)与环境毒物结合形成亲水性物质,这一步是毒物去毒过程中的必经途径<sup>[3-5]</sup>。GST 基因在动物中有很多成员:GSTA, GSTM, GSTP, GSTT, GSTS, GSTO, GSTZ, 以及线粒体中的 GSTK, 微粒体中的 mGST<sup>[6]</sup>。另外,鱼类中独有的 GSTR 也可减轻有毒物质的危害。将去毒酶基因 GST 基因作为生物标记<sup>[7]</sup>可以弥补传统水质检测只能对污染物逐项检测的不足,可一次性检测出环境中是否存在毒物。

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)对 MCs 等藻毒素具有很强的耐受能力<sup>[8]</sup>。鲮(*Cirrhinus*

*molitorella*)喜刮食水底岩石等物体上的附着生物和淤泥中的有机物质,有利于其作为检测 MCs 的水生生物。

去毒酶基因检测法具有较好的应用前景,但是目前尚处于起步阶段,适合用作基因检测的水生生物、GST 基因的表达规律等尚不明了。本研究检测水库中罗非鱼和鲮 GST 基因不同季节的表达情况,并与其消化道内产毒蓝藻的多寡作比较,拟找出去毒基因与环境产毒蓝藻的内在联系,从而为去毒基因作为环境中毒素检测的应用提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样地点和样本采集

2007年10月至2008年7月采样于广州显岗水库上游约7000m处,设置迷魂阵捕鱼。统计捕捉到的鲮和尼罗罗非鱼数量及体长数据。立即解剖,肠道固定于75%乙醇中,分离出肝脏并全部浸泡在175 μL RNA Lysis Buffer (SV total RNA iso-

收稿日期: 2011-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670367)和广东省科技计划项目(2007B020701002)

李玺洋, 硕士研究生, 研究方向: 分子生物学, E-mail: i.lovesandy@163.com

通讯作者: 梁旭方, 博士, 教授, 研究方向: 鱼类摄食与代谢机理及应用技术, E-mail: xfliang@mail.hzau.edu.cn

lation system, Promega 公司)中。

## 1.2 肠道分析

剪开肠道,取前肠(大概 10 cm)内容物放到浮游生物计数板上,加水使之悬浮,在解剖显微镜下观察。根据肠道内容物分类为:硅藻、绿藻、产毒蓝藻和其他绿藻。王晓辉<sup>[9]</sup>于 2007 年 9 月到 2008 年 5 月对广州显岗水库水体中浮游生物进行了研究,结果表明水体中蓝藻含量最低值出现在 2007 年 9 月,最高出现在 2008 年 4 月。此结果与本试验中尼罗罗非鱼和鲮肠道中产毒蓝藻含量一致(图 2),表明水体中蓝藻含量变化与鱼摄入产毒蓝藻量大小成正比。

## 1.3 扩增肝脏 GSTs 基因核心序列

将浸泡在 SV Total RNA Isolation System (Promega, USA)试剂中的鲮,尼罗罗非鱼肝脏各取 30 mg,总 RNA 提取与纯化按 Promega 公司的 SV Total RNA Isolation System 试剂盒推荐方法进行。提取的 RNA 可保存在  $-80^{\circ}\text{C}$ , 50  $\mu\text{L}$  RNase-free water 中备用。用 Eppendorf Biophotometer (Germany)定量分析浓度。

cDNA 第一链的合成分别以鲮和尼罗罗非鱼肝脏总 RNA 为模板,logo(dT)20 为反转录引物,按照 TaKaRa RNA LA PCR<sup>TM</sup> Kit (AMV) Ver. 1.1 试剂盒推荐方法操作,所得的 cDNA 保存于  $-20^{\circ}\text{C}$  备用。

尼罗罗非鱼 *GSTA*、*GSTR*、*GSTR*、*GSTM*、*GSTT* 基因核心序列已由笔者所在实验室克隆<sup>[10]</sup>。鲮的 6 对简并引物根据已发表的脊椎动物 *GSTR*、*GSTM*、*GSTT*、*GSTP*、*GSTK*、*mGST3* 氨基酸序列的保守区域设计合成(表 1)。用 *TaqDNA* 聚合酶 (TaKaRa)进行 PCR 扩增,扩增条件为:  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min,  $94^{\circ}\text{C}$  1 min,  $40^{\circ}\text{C}$  1 min,  $72^{\circ}\text{C}$  1 min, 共 30 个循环,最后  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。预期扩增鲮 *GSTA* 核心片段为 206 bp, *GSTR* 为 183 bp, *GSTT* 为 193 bp, *GSTM* 为 217 bp, *GSTP* 为 185 bp, *GSTK* 为 225 bp, *mGST3* 为 212 bp 和  *$\beta$ actin* 为 215 bp。

PCR 产物经质量分数为 2.0% 琼脂糖电泳纯化。H. Q. & Q. Gel Extraction Kit II (U-gene)回收后克隆至 pMD19-T 载体 (Takara, Japan),热冲击转化到感受态 *E. coli* DH5 $\alpha$ , M13 正反向引物,通过 PCR 反应检测阳性克隆,将阳性克隆送至上海英俊生物技术有限公司测序。测序结果用 BLAST (<http://www.Ncbi.Nlm.Nih.gov/BLAST/>)和软

件 vector NT I suite 6.0 进行序列分析。CLUSTAL A 1.81 软件序列比对排列后,用 Mega3.0 软件采用邻接法 (N-J method) 构建系统树,分析蛋白序列种系。

## 1.4 不同季节肝脏 GSTs 的 mRNA 表达量

分别根据已发表在 GenBank 中的鲮 *GSTA*、*GSTR*、*GSTM*、*GSTT*、*GGTP*、*GSTK*、*mGST3* 和 *beta-actin* 基因(表 1)以及尼罗罗非鱼 *GSTA*、*GSTR*、*GSTR*、*GSTM*、*GSTT* 和  *$\beta$ actin*(表 1) 基因核苷酸序列共设计 14 对特异引物,引物均由上海生物工程技术有限公司合成。

以  $\beta$ -肌动蛋白为外参照,采用实时荧光定量 PCR 方法,测定鲮和尼罗罗非鱼 *GSTR*、*GSTM*、*GSTT*、*GSTP*、*GSTK* 和 *mGST3* 基因的 mRNA 表达水平。具体操作方法按照 Flash SYBR Green qPCR (Finnzymes, Finland) 试剂盒说明书在 AB17300 荧光定量 PCR 上进行。每个样品设 3 个重复,PCR 总体系:  $2\times$  Master 混合物 10  $\mu\text{L}$ , 正反向引物 20  $\mu\text{mol/L}$  各 0.5  $\mu\text{L}$ ,  $50\times$  ROX 染料 0.3  $\mu\text{L}$ , 加双蒸水至 20  $\mu\text{L}$ 。反应循环为 40, PCR 扩增条件:  $95^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min,  $95^{\circ}\text{C}$  20 s,  $55^{\circ}\text{C}$  20 s,  $72^{\circ}\text{C}$  35 s。扩增产物结束后,用软件 Opticon Monitor 2.03 Version (MJ research, USA) 量值 delta Ct 方法进行溶解曲线分析。以  $\beta$ -肌动蛋白表达量校正目的基因的相对表达量,鲮和尼罗罗非鱼肝脏 GSTs cDNA 表达量分别用 GSTs/ $\beta$ -actin mRNA 比值表示。采用统计软件 SPSS13.0 分析不同月份鲮和尼罗罗非鱼肝脏 *GSTR*、*GSTM*、*GSTT*、*GSTP*、*GSTK*、*mGST3* mRNA 相对表达水平平均值,标本重复性及组间差异,所有结果以平均数 $\pm$ 标准差表示,并进行单因素分析,采用 LSD 方法进行组间分析。若  $P < 0.05$ , 表明有显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 鲮和尼罗罗非鱼食物的季节性变化

鲮和尼罗罗非鱼的采样时间为 2007 年 10 月到 2008 年 7 月,表 2 显示采样月份、采得的鱼数量和体长。将这 2 种鱼的前肠中发现的藻类分为 4 类:硅藻、绿藻、产毒蓝藻和其他绿藻,产毒蓝藻包括微囊藻、鱼腥藻、颤藻及念珠藻等<sup>[11]</sup>。鲮、尼罗罗非鱼 4 月肠道藻类几乎都是产毒蓝藻,含量高达 100% 和 91.7%。相比之下,鲮 10 月肠道中几乎都是其他蓝藻,产毒蓝藻降为最低,而尼罗罗非鱼 10 月肠道中

表 1 鲮和尼罗罗非鱼 GSTs PCR 引物和荧光定量 PCR 引物

Table 1 PCR primers and RT-PCR primers sequences of mud carp and Nile tilapia GSTs gene

引物名称 Name of primer	引物序列 Sequence of primer (GenBank ID.)
GSTR01F	5'- TGGAGGGTGTATGATCGCGCTGGA(A/G)GA(A/G)AA(A/G)-3'
GSTR02R	5'- CGTGTCTGGACCCCTCAGG(T/G)TT(T/C)TCCA(A/G)CCA-3'
GSTM01F	5'-GAATACACTGGTACTAAGTA(T/C)GA(A/G)GA(A/G)AA-3'
GSTM02R	5'-CAACAACCTACATCATGATGAA(A/G)TC(T/C/A/G)AC(A/G)AA-3'
GSTT01F	5'-CGCTCTGTTTACATTTTGC(T/C/A/G)AA(A/G)AA(A/G)AA-3'
GSTT02R	5'-CCACGCCCTGAGCTTGGGTCTGTT(T/C)TC(A/G)AA(T/C/A/G)AC-3'
GSTP01F	5'-TGCTCTTTGGACAGTTGCC(T/C/A/G)AA(A/G)TT-3'
GSTP02R	5'-CAGAAGGTGCAACAGGTTGTA(A/G)TC(T/C/A/G)GC(A/G)AA-3'
GSTK01F	5'-CGCACCGTGGAGCTCTT(T/C)TA(T/C)GA(T/C)GT-3'
GSTK02R	5'-GGAGGTACAGGGCCCATCCA(T/C)TT(T/C)TC-3'
mGST301F	5'-GTGATGT/CTA/G/C/TATGTATCTC/TGG-3'
mGST302R	5'-CCAGTGTAGTATCCCCA(T/C/A/G)GC(A/G)TA-3'
FQCM-GSTA01F	5'-AAGACCTTAAAGAACGGGC-3' (EF100906)
FQCM-GSTA02R	5'-GCTCAACTGGTTTCCAC-3'
FQCM-GSTR01F	5'-CTGAACAAGCGCTCATCT-3' (FJ436068)
FQCM-GSTR02R	5'-CCATCTTCTCCAAGTATCC-3'
FQCM-GSTM01F	5'-GGTACTAAGTACGAGGAG-3' (FJ436073)
FQCM-GSTM02R	5'-CTCTCGTCTGCTCTTCTT-3'
FQCM-GSTT01F	5'-GGCTGAGAAGTTCCACAC-3' (FJ436070)
FQCM-GSTT02R	5'- CTCTACTGCATTGTCCAT-3'
FQCM-GSTP01F	5'-GTCTGTGAGGCTTCTCGT-3' (FJ436072)
FQCM-GSTP02R	5'-TCACCAACTAGGAATCCA-3'
FQCM-GSTK01F	5'-TGCTGTGTCGCTATAGAA-3' (FJ436074)
FQCM-GSTK02R	5'-TCGCAATTCAATGAGCCTT-3'
FQCM-mGST301F	5'-TAGGTGGTGCACGGAAGA-3' (FJ436075)
FQCM-mGST302R	5'-CCACGCGTAAGAGAACCT-3'
FQCM-ACT01F	5'-CGTGACATCAAGGAGAAG-3' (DQ365852)
FQCM-ACT02R	5'-GAGTTGAAGGTGGTCTCAT-3'
FQON-GSTA01F	5'-GCAATCCTGAATTACATCG-3' (EU234530)
FQON-GSTA02R	5'-ACACAGGAAGGTAGCGCTC-3'
FQON-GSTR01F	5'-CTTCACTCTCAGTTGTAAG-3' (EU107284)
FQON-GSTR02R	5'-TTGAATGTTGGAAGCTGTC-3'
FQON-GSTR201F	5'-GGTTGTCTCCAGAGCGTT-3' (FJ436092)
FQON-GSTR02R	5'-GCTGCTCTGTCAATTATGC-3'
FQON-GSTM01F	5'-GGTACTAAGTATGAGGAG-3' (FJ231879)
FQON-GSTM02R	5'-AGTCTCTCCACACATGTT-3'
FQON-GSTT01F	5'-GATGCACGGCTCCAAGAT-3' (FJ177522)
FQON-GSTT02R	5'-CCACAATGGCGACCAGAT-3'
FQON-ACT01F	5'-AGAAGCTGTGCTACGTCG-3' (AB037865)
FQON-ACT02R	5'-ATGATGCTGTTGTAGGTG-3'

表 2 鲮和尼罗罗非鱼数量、体长及水质参数

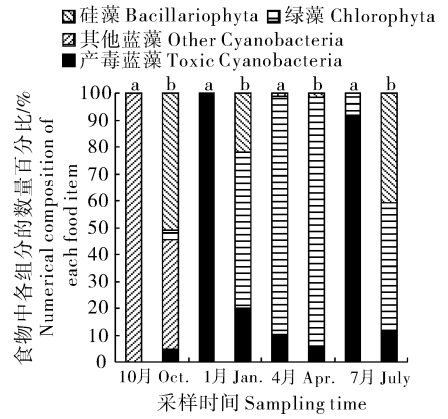
Table 2 Number, total length of mud carp and Nile tilapia, and water quality parameters

时间 Date	鲮 Mud carp		尼罗罗非鱼 Nile tilapia		温度/℃ Temp.	DO/ (mg/L)	pH
	数量 Number	体长/cm TL	数量 Number	体长/cm TL			
Oct.	4	23.375±0.473	6	18.58±0.93	25.4	8.77	7.54
Apr.	5	32.750±1.289	5	18.75±0.75	25.9	8.77	8.66
July	6	21.783±1.395	4	15.63±1.38	30.4	11.80	8.33
Jan.	6	24.833±0.691	6	21.92±0.55	13.8	10.99	8.64

主要是绿藻，产毒蓝藻很少(图 1)，这结果与王晓辉<sup>[9]</sup>所得出的显岗水库水体中产毒蓝藻含量在 9 月最低、4 月最高相符。4 月是显岗水库蓝藻暴发的时候，因此，4 月鲮和尼罗罗非鱼肠道中产毒蓝藻含量最高。

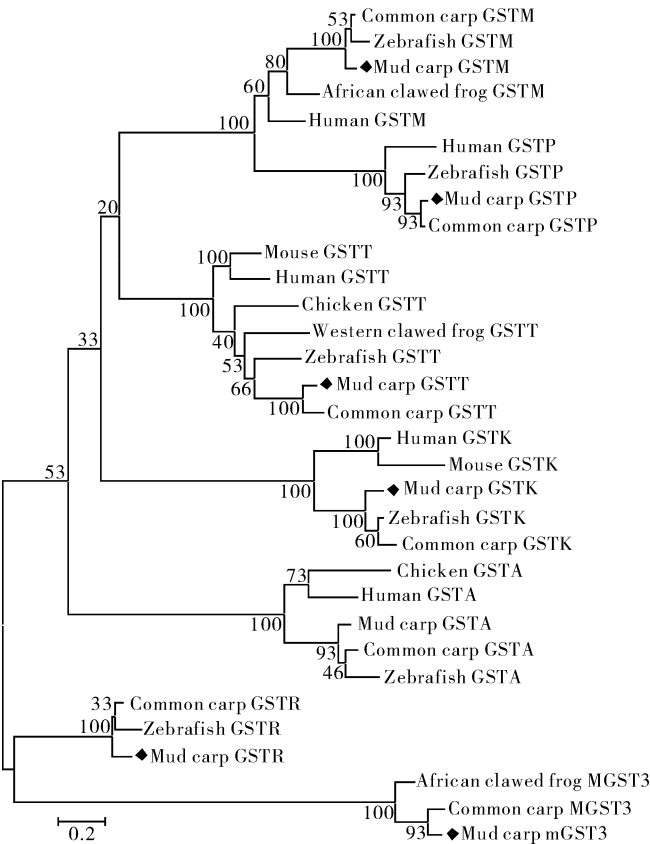
### 2.2 鲮鱼肝脏 GSTs 部分 cDNA 的克隆和进化树分析

用邻接法构建进化树，显示鲮 GSTs 家族在种系进化中的位置(图 2)。图中 GSTs 家族分为 7 个种群，已经克隆所得的鲮 GSTs 家族分别分为 *rho*、*pi*、*mu*、*theta*、*kappa* GSTs 和 mGST3，这和其他鱼类、两栖动物和哺乳动物相类似，且与其他鱼类，如斑马鱼、鲤 GSTs 聚成一簇，证明所克隆的鲮 GSTs 都属于 GST 家族，为目的序列。



a. 鲮 Mud carp; b. 尼罗罗非鱼 Nile tilapia.

图 1 不同季节鲮鱼(a)和尼罗罗非鱼(b)食物组成及数量  
Fig. 1 Numerical composition of species and quantity of each food item of mud carp(a) and Nile tilapia (b) in different seasons



人类 Human(*Homo sapiens*):CAA46642 GSTA, NP\_000844 GSTT, CAA30894 GSTP, AAH58881 GSTM, AAF65506 GSTK; 鼠 Mouse (*Mus musculus*):NP\_598755 GSTT, NP\_083831 GSTK; 鸡 Chicken(*Gallus gallus*):NP\_990149 GSTA, NP\_990696 GSTT; 斑马鱼 Zebrafish (*Danio rerio*):XP\_692427 GSTT, NP\_001018349 GSTP, NP\_001038525 GSTR, NP\_997841 GSTM, NP\_001002560 GSTK; 鲤 Common carp (*Cyprinus carp*): ABD67512 GSTT, ABF57552 GSTP, ABD67511 GSTR, ABD67509 GSTM, ABD67508 GSTK, ABD67515 MGST3; 西部爪蛙 Western clawed frog (*Xenopus tropicalis*): AAH87825 GSTT, NP\_001080840 GSTM, NP\_001091371 mGST3。鲮 GST(mud carp GST)用黑色菱形表示。单位比值=0.2。比值表示 2 组的进化距离。The mud carp glutathione S-transferase(mud carp GST) is highlighted by black diamond. Bar scale=0.2. The scale bar indicates the evolutionary distance between the groups.

图 2 进化树显示鲮 GST 和其他 GSTs 家族的关系

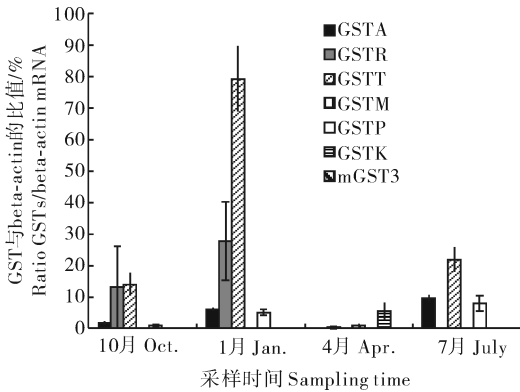
Fig. 2 A phylogenetic tree showing the relationship of mud carp glutathione S-transferase (mud carp GST) with other classes of GSTs

## 2.3 不同季节鲮与尼罗罗非鱼肝脏中 GSTs mRNA 表达量的变化

不同季节鲮肝脏 GSTs/ $\beta$ -actin mRNA 比值见图 3。鲮 *GSTM* 在 1、7、10 月的表达量要低于 4 月的表达量, 4 月的表达量高达 90.2, 10 月最低。*GSTT* 的 mRNA 的表达量在 1 月达到最高(79.4), 4 月表达量最低;*GSTA* 的表达量在 10 月最高, 4 月最低;*GSTR* 的表达量在 1 月最高, 7 月最低;*GSTP* 的表达量在 7 月最高, 在 4 月最低, *mGST3* 的表达

量在 7 月表达量最高, 10 月最低, *GSTK* 的表达量在 4 月最高, 其他月份都很低。

图 4 显示不同季节尼罗罗非鱼肝脏 GSTs/ $\beta$ -actin mRNA 比率。尼罗罗非鱼在 1 月和 10 月 *GST* mRNA 的表达量比 4、7 月高。*GSTA* 和 *GSTR2* mRNA 的表达量在 4 月时是一年中最高的, 在 10 月是最低的。*GSTR1* 表达量在 7 月最高, 1 月最低;*GSTT* 的表达量在 7 月最高, 4 月最低, *GSTM* 的表达量在 7 月最高, 10 月最低。



柱形图代表不同季节 GSTs 值, 线条表示误差。下同。Columns represent the means of GSTs in different seasons. Bars represent the SE. The same as below.

图 3 2007 年 10 月到 2008 年 7 月采集的鲮肝脏 GSTs/ $\beta$ -actin mRNA 表达比值

Fig. 3 Ratio GSTs/ $\beta$ -actin mRNA abundance in the liver of mud carp from Oct. 2007 to July 2008

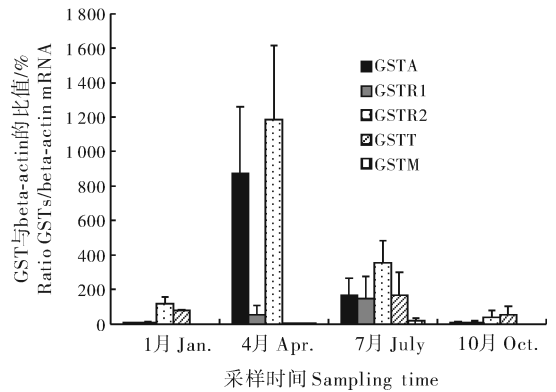


图 4 2007 年 10 月到 2008 年 7 月采集的尼罗罗非鱼肝脏 GSTs/ $\beta$ -actin mRNA 表达比值

Fig. 4 Ratio GSTs/ $\beta$ -actin mRNA abundance in the liver of Nile tilapia from Oct. 2007 to July 2008

## 3 讨论

从鲮及尼罗罗非鱼消化道内容物来看, 鲮及尼罗罗非鱼都能摄食大量产毒蓝藻, 且 4 月蓝藻暴发时也是 2 种鱼摄入有毒藻类最多的月份。根据王晓辉<sup>[9]</sup>、孙育平<sup>[12]</sup>同时期对显岗水库水中浮游植物的调查结果, 4 月份, 水中蓝藻生物量较大, 其他月份, 蓝藻的生物量则较小。由此可见, 鲮及尼罗罗非鱼对水中蓝藻的摄食量与水中蓝藻生物量的大小相关, 且成正比。

当鱼摄入产毒蓝藻, 产毒蓝藻会产生毒素, Xie 等<sup>[13]</sup>通过慢性供给毒素试验证实, 微囊藻毒素在鱼体内吸收并经胃肠道消化吸收后, 通过血液循环运输至肝脏、肌肉、肠道等器官聚集, 鱼肝脏中的去毒酶基因即被激活, GST 基因被认为是去毒过程中起

重要作用的 II 相去毒酶基因<sup>[14]</sup>。4 月份, 鲮及尼罗罗非鱼都摄食了大量产毒蓝藻, 但是其去毒酶基因 GST 的表达水平显示出很大差异。4 月鲮各类型 GST 中除 *GSTK* 和 *GSTM* 外表达水平均较低; Liao 等<sup>[15]</sup>指出, 尼罗罗非鱼对微囊藻毒素的耐受性强于鲮, 本文尼罗罗非鱼各类型 GST 在 4 月表达水平最高, 其中 *GSTA* 和 *GSTR2* 表达水平最高, 与 Liao 等<sup>[15]</sup>的结果相符, 由于去毒酶基因在 4 月表达量较高, 尼罗罗非鱼对微囊藻毒素耐受性较强。因此, *GSTK* 和 *GSTM* 可能在鲮去毒过程中起重要作用, 而 *GSTA* 和 *GSTR2* 在尼罗罗非鱼去毒过程中起重要作用。而造成这 2 种不同去毒模式的原因可能跟这 2 种鱼对有毒蓝藻的耐受能力不同有关。4 月份鲮摄入的微囊藻毒素含量可能超过鲮的耐受能力, GST 的表达受到抑制。抑制 GST mRNA 表达的

物质包括脂多糖[lipopolysaccharide (LPS)]等内毒素, LPS 同样由蓝藻产生<sup>[16]</sup>, 可干扰 GST 的从头合成<sup>[17]</sup>, 并抑制 GST 基因的表达水平。

其他月份, 2 种鱼对产毒蓝藻的摄食量不大, 而 GST 基因的表达水平也各异, 鲮 GSTT 基因在 1 月、7 月和 10 月对产毒蓝藻摄食量不高的情况下, 其表达量高于其他型 GST 基因, 而 GSTK 除了在 4 月份鲮摄食产毒蓝藻量较大时的表达量较高外, 其他月份表达量均较低, 因此, 食物中产毒蓝藻生物量较小时, 鲮 GSTT 在去毒过程中起重要作用, 而要作为环境检测指标, 也仅适用于环境中藻毒素较低的情况。而尼罗罗非鱼 GSTA 和 GSTR2 的表达量与食物中的产毒蓝藻生物量大小成正比, 因此, 尼罗罗非鱼 GSTA 及 GSTR2 可作为检出环境中藻毒素的生物标记。

### 参 考 文 献

- [1] 徐立红, 陈国胜, 陈加平, 等. 微囊藻毒素对鱼肝的毒性效应[J]. 水生生物学报, 1998, 22(4): 378-379.
- [2] 陈刚, 俞顺章, 卫国荣, 等. 肝癌高发区不同饮用水类型微囊藻毒素含量调查[J]. 中华预防医学杂志, 1996, 30(1): 6-9.
- [3] PFLUGMACHER S, WIEGAND C, OBEREMM A, et al. Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: the first step of detoxication[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 1998, 1425(3): 527-533.
- [4] TAKENAKA S. Covalent glutathione conjugation to cyanobacterial hepatotoxin microcystin LR by F344 rat cytosolic and microsomal glutathione S-transferases [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2001, 9(4): 135-139.
- [5] BEATTIE K A, RESSLER J, WIEGAND C, et al. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina* [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 62(3): 219-226.
- [6] HAYES J D, FLANAGAN J U, JOWSEY I R. Glutathione transferases [J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2005, 45: 51-88.
- [7] ONDREJ A, RADOVAN K, KLÁRA H, et al. Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2007, 26(12): 2687-2693.
- [8] WANG L, LIANG X F, LIAO W Q, et al. Structural and functional characterization of microcystin detoxification-related liver genes in a phytoplanktivorous fish, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2006, 144(3): 216-227.
- [9] 王晓辉. 以鱼类和浮床植物为核心的水质改善措施对热带水库浮游动物群落结构的影响: 大型实验研究 [D]. 广州: 暨南大学图书馆, 2009.
- [10] 黄燕, 梁旭方, 王琳, 等. 3 种淡水鱼 GSTR 的 cDNA 克隆与肝脏组成型表达比较 [J]. 暨南大学学报, 2008, 29(5): 522-527.
- [11] SIVONEN K, JONES G. Cyanobacteria toxins [M]//CHORUS I, BARTRAM J. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequence, monitoring and management. London: E and FN Spon, 1999: 41-111.
- [12] 孙育平. 营养盐加富、滤食性鱼类和浮游动物对水库浮游植物群落结构的影响 [D]. 广州: 暨南大学图书馆, 2010.
- [13] XIE L Q, XIE P. Dynamics of microcystin-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment [J]. Environmental Pollution, 2004, 123(3): 431-439.
- [14] WIEGAND C, PFLUGMACHER S, OBEREMM A, et al. Uptake and effects of microcystin-LR on detoxication enzymes of early life stages of the zebra fish (*Danio rerio*) [J]. Environmental Toxicology Special Issue: special, 1999, 14(1): 89-95.
- [15] LIAO W Q, LIANG X F, WANG L, et al. Molecular cloning and characterization of alpha-class glutathione S-transferase gene from the liver of silver carp, bighead carp, and other major Chinese freshwater fishes [J]. Biochem Mol Toxicol, 2006, 20(3): 114-126.
- [16] BEATTIE K A, RESSLER J, WIEGAND C, et al. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina* [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 62(3): 219-226.
- [17] GEHRINGER M M, SHEPHARD E G, DOWNING T G, et al. An investigation into the detoxification of microcystin-LR by the glutathione pathway in Balb/c mice [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2004, 36(5): 931-941.

**Relationship between *GST* gene expression of mud carp  
(*Cirrhina molitorella*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)  
and composition of algae in Xiangang Reservoir**

LI Xi-yang LIANG Xu-fang CHENG Wei-xuan QU Chun-mei ZHANG Jin  
*College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*

**Abstract** To study the relationship and the intrinsic link between the expression of liver GST (glutathione S-transferases) gene in mud carp (*Cirrhinus molitorella*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the amount of cyanobacteriad, the expression of liver *GST* gene from the two fishes were analyzed using real-time RT-PCR and the amount of cyanobacteria intake of fish were determined in Xiangang Reservoir in different seasons. The results showed that April was the time that cyanobacteria bloomed, and simultaneously, mud carp and Nile tilapia intake the largest amount of toxic cyanobacteria. The *GST* genes in mud carp were expressed significantly lower in April than the rest time of the year, which suggested that mud carp may be resistant or tolerant to toxic cyanophyta. Both *GSTA* and *GSTR2* genes in Nile tilapia had the highest expression in April. However, in the other months, the expression of *GSTT* was significantly high but *GSTK* was low in mud carp. While *GSTA* and *GSTR2* expressed relatively low in Nile tilapia. It was obvious that *GSTT* of mud carp played an important role in detoxication process, but as biomarkers for the identification of toxic, it could be used only in low concentration of microcystin. The expression of *GSTA* and *GSTR2* were positively related to the quantity of toxic algae intake in Nile tilapia. Therefore, the expression of *GSTA* and *GSTR2* in Nile tilapia can be used as biomarkers to detect toxic algae. As Nile tilapia can consume large amounts of toxic algae, and its *GST* gene can detoxify toxic algae, Nile tilapia was able to be used to biologically control of alga and finally improve water quality.

**Key words** mud carp; Nile tilapia; produce toxic algae; glutathione S-transferase; biomarker

(责任编辑:边书京)