

镉胁迫条件下大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 外周血微核标记及肝脏过氧化物酶标记的变化*

张春丹 黄福勇 李明云¹⁾ 陆孙杰 竺俊全 邬 勇
(宁波大学生命科学与生物工程学院 宁波 315211)

提要 采用静态毒性实验方法,研究重金属镉胁迫条件下大弹涂鱼外周血微核率和肝脏过氧化物酶活性的变化。结果表明,在 0.05mg/L Cd^{2+} 浓度组,10d 时检测到微核率极显著升高;0.5mg/L 和 5mg/L 组 5d 时就可检测到微核率极显著升高,到 10d 时微核率达到最高值;10d 时转入清洁海水后,3 个组在 15d 再次出现一个微核率的最高值。大弹涂鱼肝脏过氧化物酶标记包括谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽转硫酶 (GST)。3 个组的 GSH-Px 酶活性和 5mg/L 浓度组 GST 酶活性在 12h 后显示出极显著变化,3 个组 GST 酶活性在 24h 检测到极显著差异;在转入清洁海水 5d 时,3 个组 GSH-Px 酶活性和对照组相比可检测到极显著差异,而 3 个组的 GST 酶活性均无显著差异。研究结果表明,大弹涂鱼外周血微核标记和肝脏过氧化物酶标记能够灵敏地指示水环境中的镉污染;大弹涂鱼外周血微核标记和肝脏内过氧化物酶标记具有一定的互补作用。

关键词 镉,大弹涂鱼,微核,谷胱甘肽过氧化物酶,谷胱甘肽转硫酶

中图分类号 X503.225

大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 又名花跳、星跳、花弹涂鱼等,属鲈形目、快虎鱼亚目、弹涂鱼科、大弹涂鱼属。大弹涂鱼为沿岸暖水广温广盐性两栖鱼类,体内多项生理学指标对环境污染敏感(冯涛等, 2001; 黄福勇等, 2004; 赵卫红等, 2004), 在海洋环境监测,尤其是近岸养殖水体监测方面能够起到重要作用。镉是一种蓄积性元素,是 I A 级致癌物,具有致癌、致畸和致突变的三致作用,可对动物造成直接中毒和潜在中毒,我国多个海区重金属镉污染均有加大的趋势(贺广凯, 1996; 刘春颖等, 2001)。

鱼类的外周血微核,从性质上看,属于染色体畸变,可以用来监测水环境的污染,目前已经得到广泛应用 (Hoofman *et al* 1982; Kabil *et al* 1995; 李谷等, 2002)。鱼体内特定反应中的关键

酶也可以作为指示性标记来反映污染物的影响(徐立红等, 1995), 谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidases 简称 GSH-Px) 是清除 H_2O_2 和许多有机氢过氧化物的重要酶,谷胱甘肽转硫酶 (glutathione S-transferases 简称 GST) 也称为不含硒的谷胱甘肽过氧化物酶 (Non-Se-GSH-Px), 是一种多功能的酶,与肝脏的解毒功能密切相关,并能减轻脂类过氧化作用(方允中等, 1989; Elif *et al* 2002), 鱼类肝脏内这两种过氧化物酶也能用做生物标记来指示水体的污染情况 (Elif *et al* 2002)。作者对镉胁迫条件下大弹涂鱼外周血微核以及肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽转硫酶活性的变化进行了研究,为大弹涂鱼用作海洋环境尤其近岸海洋环境指示生物积累基础资料。

* 浙江省科技厅资助项目, 2005C32020 号。张春丹, 硕士, E-mail zhcd1982@163.com

1) 通讯作者: 李明云, 教授, E-mail linyun@nbip.net

收稿日期: 2005-01-05 收修改稿日期: 2005-06-02

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用野生大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*)捕自浙江宁波镇海沿海, 体长 10.8—13.5cm, 体重 8.4—11.8g 大弹涂鱼在实验室暂养 10d 后, 选取活泼、无病、表皮无损伤的个体进行染毒试验。

1.2 方法

1.2.1 染毒 先将氯化镉 ($CdCl_2$, Sigma) 配成 Cd^{2+} 浓度为 1mg/ml 0.1mg/ml 0.01mg/ml 的母液, 再用曝气 3d 的自来水兑海水至盐度为 17.65—18.30 然后用此兑换过的海水分别制成对照组、0.05mg/L 0.5mg/L 和 5mg/L 的 4 个浓度梯度的试验用水 (参考国家渔业水质标准中所规定的镉离子浓度为 0.005mg/L, 3 个浓度组分别为标准浓度的 10 倍、100 倍和 1000 倍), 每个浓度均设两个重复。试验用塑料箱规格为 60cm × 40cm × 40cm, 每个箱子装水 4L, 放 45 尾大弹涂鱼。每天更换相同 Cd^{2+} 浓度的海水, 水温保持 (20 ± 1) $^{\circ}C$, pH 值为 7.73 左右。试验期间每天投喂藻类。

1.2.2 试验取样 微核试验在染毒后 12h、24h 3d 5d 7d 10d 13d 16d 19d 取样, 染毒 10d 后每组取 15 尾大弹涂鱼转入清洁海水, 在镉污染解除后的 5d 10d 15d 20d 取样。

酶活性试验 3 个浓度组在染毒后 12h、24h、3d 5d 7d 10d 取样, 10d 后全部转入清洁海水, 在镉污染解除 5d 后取样, 对照组在染毒后 12h、7d 在镉污染解除后 5d 取样。

1.2.3 外周血微核制作与观察 从各处理组随机取鱼, 每次取 3 条, 尾动脉取血, 制作血涂片, 每条鱼做 3 个血涂片。大弹涂鱼外周血微核制作参考 Buckley (1977)、Hooffman 等 (1982) 方法略加改进, 微核的判断参照曹佳等 (2000) 的方法, 观察到的微核如图 1 所示。每组计数 3000 个血细胞, 每个微核须经两位实验人员确认。

1.2.4 酶活性测定 每次每组随机取 6 尾大弹涂鱼, 断尾放血后, 活体解剖取出肝脏, 迅速放入超低温冰箱 ($-71^{\circ}C$) 冷冻保存。样品在 24h 内完成测定。测定时, 取出肝脏称重后置于冰浴, 加 10 倍体积 (W/V) 预冷的匀浆缓冲液 (pH 7.4 0.01mol/L Tris-HCl 0.0001mol/L EDTA- Na_2 , 0.01mol/L 蔗糖, 0.8% 氯化钠溶液) 研磨。研磨后的匀浆 3000r/min 离心 15min 取上清液

用于酶活性测定。

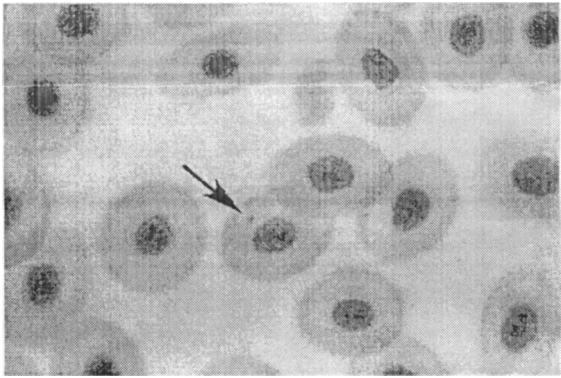


图 1 大弹涂鱼外周血微核观察图片

Fig 1 The photo with mic nuclei on erythrocyte of *B. pectinirostris*

注: ×2000 箭头示微核

蛋白质含量测定以及谷胱甘肽-过氧化物酶、谷胱甘肽-S 转移酶两种酶活性的测定均采用试剂盒完成 (均购自南京建成生物工程研究所), 具体操作按照试剂盒说明完成。GSH-Px 的活性定义为: 每毫克蛋白质, 每分钟扣除非酶反应的作用, 使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μ mol/L 为一个酶活力单位。GST 的活性定义为: 每毫克蛋白质, 在 37 $^{\circ}C$ 反应 1min 扣除非酶促反应, 使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μ mol/L 为一个酶活力单位。

1.2.5 数据处理 应用 SPSS 软件 (9.0 for Windows) 进行数据计算和分析, 表 1—表 4 中数值均用平均值 ± 标准方差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示, 用单因素方差分析方法分析镉所引起的处理组和对照组的差异, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 外周血微核测定结果

2.1.1 染毒期间外周血微核测定结果 染毒期间大弹涂鱼外周血微核率的测定结果如表 1 所示, 0.05mg/L Cd^{2+} 组 (以下简称低浓度组) 和对照组比较, 10d 时微核率极显著差异, 19d 时没有显著差异; 0.5mg/L Cd^{2+} 组和 5mg/L Cd^{2+} 组 (以下简称中浓度组和高浓度组) 和对照组比较, 都是在 5d 时显示极显著差异, 中浓度组 19d 时没有显著差异, 而高浓度组在 19d 时仍有显著差异。3 个浓度组的外周血微核率测定结果显示, 在 10d 时, 3 个浓度组的微核率均达到最大值。

表 1 染毒期间外周血微核率测定结果 (%)
Tab. 1 The measurement results of micronuclei frequency in the course of toxicosis (%)

染毒时间	组 别			
	对照组	0.05mg/L Cd ²⁺ 组	0.5mg/L Cd ²⁺ 组	5mg/L Cd ²⁺ 组
12h	0.4445±0.3849	0.3333±0.3334	0.3333±0.3334	0.2222±0.1924
24h	0.3333±0.3334	0.3333±0.3334	0.5556±0.6939	0.4444±0.5092
3d	0.3333±0.5774	0.7778±0.5092	1.0000±0.3333	1.4444±0.1925
5d	0.2222±0.3849	1.0000±0.3333	1.8889±0.1924 ^a	3.2222±0.8389 ^b
7d	0.5555±0.3849	1.3333±0.6667	2.1111±0.1924 ^a	3.0000±1.0000 ^b
10d	0.6667±0.3334	4.0000±1.0000 ^b	2.6667±0.8819 ^b	3.3333±0.3334 ^b
13d	0.2222±0.1924	2.7778±0.6939 ^b	2.3333±0.3334 ^b	3.0000±0.3333 ^b
16d	0.5556±0.1925	1.8889±0.1924 ^b	1.6667±0.3334 ^b	2.2222±0.1924 ^b
19d	0.6667±0.3334	1.2222±0.1924	0.7778±0.1924	1.5556±0.5092 ^a

注: 上标 a表示差异显著 ($P < 0.05$); b表示差异极显著 ($P < 0.01$)。测定数值用平均值 ±标准方差表示。下同

2.1.2 镉污染解除后外周血微核率测定结果

镉污染解除后大弹涂鱼外周血微核率的测定结果如表 2所示,当转移到清洁海水 5d后,3个浓度组的微核率均显著下降,分别下降到染毒 10d 时微核率的 25%、50%和 50%。3个浓度组中,只有高浓度组和对照组比较差异显著,但之后各个组微核率均持续上升,和对照组微核率测定结果

比较,差异极显著。在恢复 15d时,3个组微核率达到最大值,低浓度组微核率是染毒 10d时的 81%,中浓度组和高浓度组的微核率分别是染毒 10d时微核率的 133%和 153%。之后 3个组微核率下降,恢复 20d时,低浓度组和中浓度组微核率和对照组相比无显著差异,高浓度组和对照组相比仍然有极显著差异。

表 2 镉污染解除后外周血微核率测定结果 (%)
Tab. 2 The measurement results of micronuclei frequency after cadmium removed (%)

镉污染解除时间 (d)	组 别			
	对照组	0.05mg/L Cd ²⁺ 组	0.5mg/L Cd ²⁺ 组	5mg/L Cd ²⁺ 组
5	0.4444±0.1925	1.0000±0.6667	1.3333±0.3334	1.6667±0.3334 ^a
10	0.3333±0.3334	1.8889±0.1924 ^b	1.4444±0.1925 ^b	4.0000±0.6667 ^b
15	0.7778±0.1924	3.2222±0.6939 ^b	3.5556±0.6939 ^b	5.1111±0.1924 ^b
20	0.5556±0.6939	1.3333±0.6667	1.6667±0.3334	2.6667±0.5774 ^b

2.1.3 谷胱甘肽过氧化物酶活性测定结果

大弹涂鱼谷胱甘肽过氧化物酶活性测定结果如表 3所示,在镉胁迫条件下,3个浓度组的 GSH-Px活性迅速降低,在 12h时的活性和对照组相比已经表现出了极显著差异,之后酶活性迅速升高。整个试验处理期间,低浓度组在 7d时达到酶活性最高,中浓度组 10d时酶活性最高,而高浓度组在 5d 时浓度最高。转入清洁海水 5d后,各浓度组 GSH-Px酶活性和对照组相比,仍然表现出极显著差异。

2.1.4 谷胱甘肽转硫酶活性测定结果

大弹涂鱼谷胱甘肽转硫酶活性测定结果如表 4所示,和对照组比较,只有高浓度组 GST酶活性升高,在 12h时表现出极显著差异,之后降低,在 3d时,和对照组相比无显著差异,之后酶活性升高并在 5d 达到最高;低浓度组和中浓度组在 24h时的 GST酶活性和对照组相比差异极显著,之后酶活性持续增高,整个试验处理期间 10d时活性最高。转入清洁海水后,3个浓度组 GST酶活性均降低,镉污染解除后 5d时,3个浓度组的酶活性和对照组比较无显著差异。

表 3 谷胱甘肽过氧化物酶活性测定结果

Tab. 3 The measurement results of GSH-Px

时间	组 别			
	对照组	0. 05mg/L Cd ²⁺ 组	0. 5mg/L Cd ²⁺ 组	5mg/L Cd ²⁺ 组
12h	93. 3667±2. 9479	24. 2950±0. 7808 ^b	41. 9380±3. 3709 ^b	70. 2200±4. 5550
24h	—	92. 3217±3. 4608	21. 1350±3. 2805 ^b	30. 1967±4. 1862 ^b
3d	—	124. 5531±7. 0375 ^b	34. 7803±6. 3444 ^b	105. 0321±3. 8751 ^b
5d	—	202. 8224±3. 9651 ^b	97. 5133±2. 3820	187. 6333±4. 6855 ^b
7d	90. 1829±2. 0347	389. 1206±9. 0481 ^b	216. 9246±7. 5955 ^b	114. 8800±5. 3483 ^b
10d	—	333. 2740±9. 3888 ^b	276. 4132±6. 9376 ^b	171. 2536±4. 8811 ^b
镉污染解除 后 5d	89. 9310±4. 3455	146. 2500±7. 0958 ^b	221. 0705±3. 8701 ^b	147. 1033±2. 6112 ^b

注: 表中数据单位为酶活力单位 (μmol/L), 表 4同

表 4 谷胱甘肽转硫酶活性测定结果

Tab. 4 The measurement results of GST

时间	组 别			
	对照组	0. 05mg/L Cd ²⁺ 组	0. 5mg/L Cd ²⁺ 组	5mg/L Cd ²⁺ 组
12h	25. 3517±2. 4087	17. 6931±3. 5722	23. 3526±2. 4087	40. 1275±1. 9767 ^b
24h	—	17. 1433±4. 0266 ^b	14. 6908±5. 0226 ^b	14. 7746±0. 6535 ^b
3d	—	38. 4529±2. 2845 ^b	34. 4529±2. 2845 ^b	24. 6731±0. 6674
5d	—	39. 1709±1. 1575 ^b	34. 1701±3. 1575 ^b	43. 1600±0. 9537 ^b
7d	23. 8719±1. 9355	60. 8117±0. 8866 ^b	54. 8191±0. 8836 ^b	37. 5764±1. 3529 ^b
10d	—	75. 3869±0. 5719 ^b	75. 3847±2. 7033 ^b	37. 3944±1. 7656 ^b
镉污染解除 后 5d	27. 2305±2. 2145	24. 9346±1. 3081	25. 0150±0. 5225	24. 9273±0. 3558

3 讨论

3. 1 镉污染解除后大弹涂鱼外周血微核率的变化及其产生机理

在应用重金属镉对大弹涂鱼染毒期间,大弹涂鱼外周血微核率表现为上升的趋势,并在 10d 时达到最高值。在转入清洁海水后,3个浓度组大弹涂鱼外周血微核率下降,但之后再度上升,并在恢复 15d时达到峰值,3个组的微核率分别是 10d时微核率的 81%、133% 和 153%。作者推测这是鱼类的初次免疫应答和再次免疫应答在外周血微核监测中的体现。硬骨鱼类体液免疫系统已经具有 IgM 抗体 (Rudloff S *et al*, 1970),当 Cd²⁺ 进入鱼体内时,会刺激机体免疫系统,产生免疫活性介质,这就是初次免疫应答过程。Cd²⁺ 和免疫活性介质能够引起血液红细胞染色体的异常,从而产生微核,由于 Cd²⁺ 能抑

制免疫活性介质的活性,所以 Cd²⁺ 仍然是产生微核的主导因素;当大弹涂鱼被转移到清洁海水后,由于机体免疫系统的清除作用,血液中 Cd²⁺ 迅速下降,表现为外周血微核率迅速下降,此时同样由于机体的清除作用,其他组织和器官中的 Cd²⁺ 也得到清除并释放到血液,这些少量的 Cd²⁺ 进入血液会刺激大弹涂鱼免疫系统,产生再次免疫应答过程,产生大量的免疫活性介质,这些免疫活性介质也可以引起染色体的异常,并使外周血微核率上升到一个较高的水平。一般来说,再次免疫应答比较激烈,甚至能够产生超敏反应造成机体病理损伤 (陶义训, 1989),而鱼类的再次免疫应答往往需要较长的反应时间 (Rijkers *et al*, 1980),本文研究结果与此一致,鱼类存在再次免疫应答,且反应时间较长,也使应用鱼类外周血微核监测海洋环境污染方法具有了更长的

效应时间, 对海洋环境监测具有重要的理论和实际应用价值。

3.2 两种过氧化物酶的测定

肝脏是鱼类重要的解毒器官, 也是鱼类在重金属镉胁迫中毒的重要的靶器官 (吕景才等, 2002), 测定镉胁迫条件下大弹涂鱼肝脏谷胱甘肽-过氧化物酶和谷胱甘肽-S转移酶活性, 结果表明, 重金属镉污染能够对这两种酶活性产生显著影响。染毒 24h 时, 大弹涂鱼 3 个浓度组肝脏 GSH-Px 酶的活性和对照组比较都有极显著差异, 而低浓度组和中浓度组的 GST 酶活性和对照组比较都无显著差异, 只有高浓度组 GST 酶活性显著升高, 说明肝脏中 GSH-Px 酶活性变化更敏感。染毒试验期间, GSH-Px 酶活性变化较复杂, GST 酶活性大致呈先下降再升高的趋势, 酶活性随染毒的持续进行持续升高, 10d 时活性最高。当转入清洁海水 5d 时, 肝脏中两种酶的活性都呈下降的趋势。转入清洁海水后 20h GSH-Px 酶活性酶活性仍然极显著高于对照组, 说明 GSH-Px 酶较 GST 酶对重金属镉污染有更长的效应时间。

肝脏内上述两种过氧化物酶的变化规律是同它们清除自由基及解毒的机理密切相关的。谷胱甘肽-过氧化物酶的主要功能就是清除各种过氧化物, 在镉胁迫条件下, 体内各种脏器内过氧化物的量直接影响 GSH-Px 酶的浓度; 谷胱甘肽-S转移酶的功能则复杂得多, 它除了具有清除有机氢过氧化物的功能外, 更主要的还是可以和许多亲电性药物结合发挥解毒作用, 而且由于在动物肝脏、肾脏等脏器中含量较高 (方允中等, 1989), 所以能比较迅速地调节到正常水平。大弹涂鱼肝脏过氧化物酶标记对水体中镉污染具有十分灵敏的反应, 经深入研究后有可能用作海洋环境污染监测的生物标记。

3.3 大弹涂鱼外周血微核标记和过氧化物酶标记相结合用于海洋环境监测

重金属镉对大弹涂鱼外周血微核和两种过氧化物酶均能产生显著影响, 本文研究结果表明, 它们在用作海洋环境污染监测的指示性标记方面具有重要的研究价值。但针对不同的污染物, 其变化规律及反应机理还需要进一步研究。相比较而言, 大弹涂鱼的外周血微核标记和两种过氧化物酶标记在用于海洋环境监测时各有优缺点。外周血微核的长处在于操作简单, 能

够开展野外作业, 能够对水体做现场检测; 缺点在于和酶活性标记相比仍不够灵敏, 过氧化物酶活性标记的优点在于灵敏度较高, 缺点是操作需要在实验室进行, 试验步骤较繁琐。综上所述, 大弹涂鱼的外周血微核标记和两种过氧化物酶活性标记具有明显的互补性, 在实际应用中, 如何将两种试验手段相结合, 全面评估环境污染物对指示生物的影响, 是一个有价值的研究方向。

大弹涂鱼可以用作海洋环境监测的指示生物, 除了它体内多项生理生化指标对环境污染敏感外, 还具有其他一系列的优势: 分布区域广、外形容易辨认、易取材、易运输、易养活、能够直观地反映近岸养殖水体的水质变化; 大弹涂鱼以底栖硅藻为食, 食物链较短, 环境的变化能够较快地在体内各项指标内检测到; 近年来大弹涂鱼作为养殖鱼类发展也很快, 取得的研究成果可以直接用于指导生产。

致谢 本院朱艺峰副教授和徐同成同学在饵料藻类培育过程中给予了指导和帮助, 焦海峰同学在数据统计分析方面做了大量工作, 谨致谢忱。

参 考 文 献

方允中, 李文杰, 1989. 自由基与酶. 北京: 科学出版社, 111—133
冯涛, 郑微云, 洪万树等, 2001. 苯并 (a) 芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化酶活性影响的初步研究. 应用生态学报, 12 (3): 422—424
吕景才, 宋晓阳, 王凡等, 2002. 镉污染对鲢抗氧化防御系统影响研究. 西南农业大学学报, 24 (6): 491—505
刘春颖, 张正斌, 刘莲生等, 2001. 大亚湾珊瑚礁痕量金属的研究. 青岛海洋大学学报, 31 (4): 559—565
李谷, 程晓莉, 陈丹等, 2002. 鱼微核试验筛检水体诱变物的应用与研究. 水生生物学报, 26 (1): 74—81
赵卫红, 洪万树, 张其永等, 2004. 中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 和大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 成熟产卵过程中 17 α -羟基孕酮和前列腺素水平的研究. 海洋与湖沼, 35 (1): 69—73
贺广凯, 1996. 黄渤海沿岸经济贝类体中重金属残留量水平. 中国环境科学, 16 (2): 96—100
徐立红, 张甬元, 陈宜瑜, 1995. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义. 水生生物学报, 19 (2): 171—185
陶义训, 1989. 免疫学和免疫学检验. 北京: 人民卫生出版社, 72—74

黄福勇, 李多云, 竺俊全等, 2004. 急性镉中毒对大弹涂鱼血细胞同工酶表达的影响. 上海水产大学学报, 16(4): 289—292

曹 佳, 林 真, 余争平, 2000. 微核试验——原理、方法及其在人群监测和毒性评价中的应用. 北京: 军事医学科学出版社, 58—67

Buckley J A, 1977. Heinz body hemolytic anemia in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated wastewater. J Fish Board Can. 34: 215—224

Elif Özcan Onu, Nevin Ünür. 2002. Marker enzyme assessment in the liver of *Cyprinus carpio* (L.) exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. J Biochem and Molecular Toxicology, 16(4): 182—188

Hoofman N, de Raat W K, 1982. Induction of nuclear anomalies (micronuclei) in the peripheral blood erythrocytes of the eastern mudminnow *Umbra pugnata* by ethylmethanesulphonate. Mutation Res, 104: 147—152

Kabil A+Sabti, Chris D Metcalfe, 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. Mutation Research, 343: 121—135

Rijkers G T, Teunissen A C, Van Oosterom R, 1980. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.), Aquaculture, 19(2): 177—189

Rudolf S Voss E W, Singel M W, 1970. Biological and chemical properties of natural antibodies in the nurse shark. Immunol, 105(6): 1344—1352

CADMIUM-INDUCED CHANGES IN THE MARKERS OF ERYTHROCYTE MICRONUCLEI AND PEROXYDASES IN LIVER OF *BOLEOPHTHALMUS PECTINIROSTRIS*

ZHANG Chun-Dan, HUANG Fu-Yong, LIM ing-Yun, LU Sun-Jie, ZHU Jun-Quan, WU Yong

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211)

Abstract The potential utility of erythrocyte micronuclei (MN) and peroxidases in liver as indicators of exposure to cadmium chloride with the toxic effects in marine fish *Boleophthalmus pectinirostris* were evaluated. Three concentration groups (0.05 mg/L, 0.5 mg/L and 5 mg/L) of Cd^{2+} and a control group were enacted, and each group repeats it for another two times. The erythrocyte MN of *B. pectinirostris* in the first group (0.05 mg/L) of Cd^{2+} increased significantly up to 10d while the erythrocyte MN of *B. pectinirostris* in the latter two groups increased significantly in the fifth day and reached to maximum up to 10d and then declined. The fish of three concentration groups were moved into clean seawater after 10-day exposure, and another maximum of the MN frequency would appear 15 days later. The peroxidases in the liver of *B. pectinirostris*, including the glutathione peroxidases (GSH-Px) and glutathione S-transferases (GST), were more sensitive than the marker of erythrocyte MN when the water area was polluted by the heavy metal of cadmium. GSH-Px activity of the three concentration groups would display extremely significant change compared with controls when the fish were exposed to the toxicant for 12h, and the change can be examined even the fish had recovered for 5 days in clean water. GST activity showed extreme significantly increase compared with control groups none but the 5mg/L groups. All the three concentration groups can be detected for significant decrease at 24h, and when the fish had been recovered for 5 days, all the three groups show no significant difference compared with the controls. The results show that the markers of erythrocyte micronuclei and peroxidase in liver of marine fish *B. pectinirostris* can denote the cadmium pollution sensitively in seawater. Its immunological memory responses bring out the maximum of MN frequency after cadmium removed. The diversification curve of the marker of peroxidases in liver is correlated tightly with the mechanism of the two peroxidases in eliminating free radicals and toxicants. *B. pectinirostris* may be a valuable biomarker in water pollution examination, and how to integrate the markers of erythrocyte micronuclei and peroxidase in liver to shape a new way to monitor marine environment is an interesting field for the two markers each has its pros and cons.

Key words Cadmium, *Boleophthalmus pectinirostris*, Micronuclei, The glutathione peroxidases, The glutathione S-transferases