

三丁基锡抑制雌性斑马鱼卵子发生*

肖伟洋, 李英文, 王雅琴, 刘智皓

(重庆师范大学 生命科学学院 重庆市高校生物活性物质工程研究中心 重庆市高校动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要:【目的】研究三丁基锡(Tributyltin, TBT)长期暴露对雌性斑马鱼(*Danio rerio*)卵子发生的影响。【方法】用 100,500 ng·L⁻¹的 TBT 连续暴露斑马鱼雌性成鱼 28 d, 设置无 TBT 暴露的对照组, 并用组织学的方法检测了 TBT 对斑马鱼卵子发育和卵子发生的影响; 同时采用定量 RT-PCR 方法研究了 TBT 影响斑马鱼卵子发生的分子机制。【结果】与对照组的情况相比: 1) TBT 降低了斑马鱼卵巢质量和性腺成熟系数(GSI), 导致早期卵母细胞增多、完全生长期卵母细胞减少和卵母细胞凋亡; 2) TBT 上调了 *20β-hsd*, *cyp17a2*, *fshr* 和 *lhr* 基因的表达量; 下调了孕激素膜受体合成相关基因 *mpra* 和雌激素合成主要基因 *cyp19a1a* 的表达量。【结论】TBT 可能通过抑制雌激素合成分泌, 造成卵子发育受阻; 并可能通过抑制孕激素膜受体合成和降低孕激素效应, 导致排卵受阻和成熟卵母细胞凋亡。

关键词:三丁基锡; 雌性斑马鱼; 卵子发生障碍; 基因表达

中图分类号: Q492.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2018)02-0045-06

大量调查研究发现, 人类活动产生的多种有机化合物能够造成动物内环境稳态失衡、内分泌紊乱、发育减缓、生殖障碍和行为异常等, 因而被称为内分泌干扰物^[1]。有机锡如三丁基锡(Tributyltin, TBT)和三苯基锡(Triphenyltin, TPT)是常用的大型海洋船防污剂和木材防腐剂^[2]。在船舶港口和通航量大的航道, 有机锡在底泥中的含量较高, 且不易降解^[2]。其中, TBT 半衰期较长, 难降解, 在淡水中降解周期为 42~150 d, 在底泥厌氧条件下的降解周期可达数十年。因此, 水环境中 TBT 的污染值得人们警惕^[2]。在全球近海海域, 港口海水中 TBT 平均质量浓度可达到 387.5 ng·L⁻¹, 底泥中可达到 14 000 ng·L⁻¹; 在中国天津港海域也检测出低质量浓度的 TBT 污染, 而上海黄浦江 TBT 质量浓度可达到 424.3 ng·L⁻¹^[3]。

有性生殖是包括人类在内的所有两性动物繁衍的基本手段。其中, 卵子发生受雌性动物体内多种激素的调控^[4]。大量研究发现雌激素和孕激素在卵子发生过程中起重要作用^[5]。有研究报道, TBT 具有芳香化酶(雌激素合成酶)抑制剂活性, 因此 TBT 暴露可改变内源雌激素水平, 造成腹足类(Gastropoda)动物的性畸变, 诱导雌性雄性化、卵子发生延迟、滤泡细胞凋亡等一系列生殖损伤, 严重干扰水生动物的繁殖^[6]。尽管 TBT 也能造成雌鱼第二性征退化, 导致鱼类产卵量下降等诸多繁殖损伤, 但内在机理不明。为此, 本研究以斑马鱼(*Danio rerio*)雌性成鱼为研究对象, 用质量浓度为 100,500 ng·L⁻¹的 TBT 分别对实验鱼进行 28 d 的浸浴处理, 通过组织切片检测 TBT 对斑马鱼卵子发生的影响, 并用定量 PCR(Quantitative RT-PCR, qRT-PCR)方法检测参与鱼类卵子发生相关基因 *cyp19a1a*, *cyp17a1*, *cyp17a2*, *20β-hsd*, *fshr*, *lhr*, *mpra* 和 *mprβ* 的表达变化, 以期揭示 TBT 损害斑马鱼雌性卵子发生的分子机理。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器

主要试剂: TBT(Sigma 公司); RNA 提取试剂、RNAisoplus 试剂盒(TaKaRa 公司)。

主要仪器: Eclipse 90i 型光学显微镜(Nikon 公司); CFX96 型实时定量 PCR 仪(Bio-Rad 公司); Nano-Drop 2000 型微量分光光度计(Thermo 公司)。

* 收稿日期: 2017-05-31 修回日期: 2017-09-06 网络出版时间: 2018-03-23 15:54

资助项目: 重庆市基础科学与前沿技术研究专项基金(No. cstc2016jcyjA1032); 重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJ130622; No. KJ1600308); 重庆师范大学校级基金(No. 13XLZ08)

第一作者简介: 肖伟洋, 男, 研究方向为动物学, E-mail: xwyline@126.com; 通信作者: 刘智皓, 副教授, E-mail: minenut@163.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20180323.1553.014.html>

1.2 实验材料与处理

实验用野生型斑马鱼雌性成鱼(AB系,120 d龄)购自国家斑马鱼资源中心(武汉),平均体质量(0.45±0.05)g,在进行TBT暴露前于恒温循环水养殖系统驯养14d。驯养水温为(28±0.5)℃,光周期为14h光照:10h黑暗,水质参数如硝酸盐、亚硝酸盐、溶氧等物质的含量及pH都控制在正常范围内。

设置1个100 ng·L⁻¹的TBT暴露处理组(TBT-L)、1个500 ng·L⁻¹的TBT暴露处理组(TBT-H)和1个不含TBT仅含质量分数为0.05%的TBT助溶剂DMSO的对照组(CK)浸浴处理雌性斑马鱼,TBT质量浓度的梯度选择参照环境中TBT质量浓度^[3]。每组设置3个平行缸,每缸选取12尾鱼放入30L体积的玻璃缸内,加水25L,每日喂食3次,换水1次,保持氧气光照充足,连续暴露28d。处理结束后,首先在每缸中随机取3尾斑马鱼,测量体质量、体长;解剖后测定卵巢质量,并计算性腺质量与体质量的比值即性腺成熟系数(Gonadosomatic index,GSI)。然后,在每缸中再随机取3尾斑马鱼卵巢,波恩氏液固定后,用于组织学切片。最后,取出每缸中剩余6尾斑马鱼的卵巢,将每2尾鱼卵巢作为1个样品,由此每组有9个样品;将样品液氮速冻,于-80℃保存,用于总RNA的提取。

1.3 组织学观察

用质量分数为1%的MS-222麻醉斑马鱼后,迅速解剖取出卵巢,置于波恩氏液中固定24h。经不同体积分数梯度乙醇脱水 and 二甲苯透明后,石蜡包埋。以5μm的厚度进行组织切片,苏木素-伊红(HE)染色,中性树胶封片,用光学显微镜观察、拍照。

1.4 qRT-PCR

取斑马鱼卵巢,分别加入1.0 mL RNAisoplus于玻璃匀浆器中匀浆,提取总RNA。用质量分数为1%的琼脂糖凝胶电泳检测总RNA样品的完整性,并用微量分光光度计测定总RNA样品的纯度和浓度,260 nm/280 nm的OD值在1.8~2.0之间。取500 ng总RNA按照PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa)说明书去除基因组DNA,并进行反转录。合成的第一链cDNA稀释5倍后-20℃保存备用。

用在线引物设计软件(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)设计目的基因 *cyp19a1a*, *cyp17a1*, *cyp17a2*, *20β-hsd*, *fshr*, *lhr*, *mpra* 和 *mprβ* 和管家基因 *ef1α* 的定量PCR引物,引物信息如表1所示。定量PCR反应包含0.3 μmol·L⁻¹引物,1×Sybr Green master mix (TaKaRa),2 μL cDNA,反应

表1 引物及其序列

Tab. 1 Primers and their sequences

| 引物名称 | 引物序列 | Genbank 序列号 |
|--------------------|-------------------------------|-------------|
| <i>cyp19a1a</i> -F | 5'-CGGATCGGGTCTCTCGGTTCGT-3' | KF296362 |
| <i>cyp19a1a</i> -R | 5'-CGGCTGCTGCGACAGGTTGT-3' | |
| <i>cyp17a1</i> -F | 5'-TCTGATGAGCCTGGTGAG-3' | KJ905722 |
| <i>cyp17a1</i> -R | 5'-ATGAGCAGTTTGTGGGAG-3' | |
| <i>cyp17a2</i> -F | 5'-GCAAAGAGGGTCAGGTGG-3' | XM017353614 |
| <i>cyp17a2</i> -R | 5'-AGCAGGAACGCTATGGTC-3' | |
| <i>20β-hsd</i> -F | 5'-TCGTTTCATTCGTTGGGATA-3' | EU918603 |
| <i>20β-hsd</i> -R | 5'-TGCCCTCTCTGAAGC-3' | |
| <i>fshr</i> -F | 5'-TCTGATGAGCCTGGTGAG-3' | AY278107 |
| <i>fshr</i> -R | 5'-GTACACGAAGACTGAATCAACCC-3' | |
| <i>lhr</i> -F | 5'-AAGGACGAGTCGCTGAAAC-3' | AY714133 |
| <i>lhr</i> -R | 5'-GATTCATTGTGGCGTATTCA-3' | |
| <i>mpra</i> -F | 5'-CATAATCACGGGCTACAGGC-3' | NC_007127 |
| <i>mpra</i> -R | 5'-TCGCAGGAAGTCTACGGTTT-3' | |
| <i>mprβ</i> -F | 5'-AGTGGAGTTTTGGGTCTTTG-3' | NC_007131 |
| <i>mprβ</i> -R | 5'-TGACATTGGAAGAGGCTACAGA-3' | |
| <i>ef1α</i> -F | 5'-ACAACCCTGCCAGTGTTC-3' | AY422992 |
| <i>ef1α</i> -R | 5'-GTACCGCTAGCATTACCCT-3' | |

体积为20 μL。定量PCR反应参数为:95℃预变性30s;95℃变性5s,40个循环;60℃退火30s;72℃延伸10s。反应时,同时做阴性对照并检测溶解曲线,以保证每个样品中仅有1个PCR产物,且cDNA未受污染。在

实验前,本研究已确认 *eflα* 基因的表达不受所用药物影响。随后,用 qRT-PCR 的方法检测上述基因的相对表达水平变化。本研究所用引物的扩增效率总体相似,约为 96.3%~105.1%。目的基因与 *eflα* 基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法进行计算^[11]。

1.5 数据统计

实验结果用 SPSS 13 软件进行统计分析,当 $p < 0.05$ 时,统计结果具有统计学意义。柱形图用 GraphPad Prism 6(San Diego, CA)进行绘制。

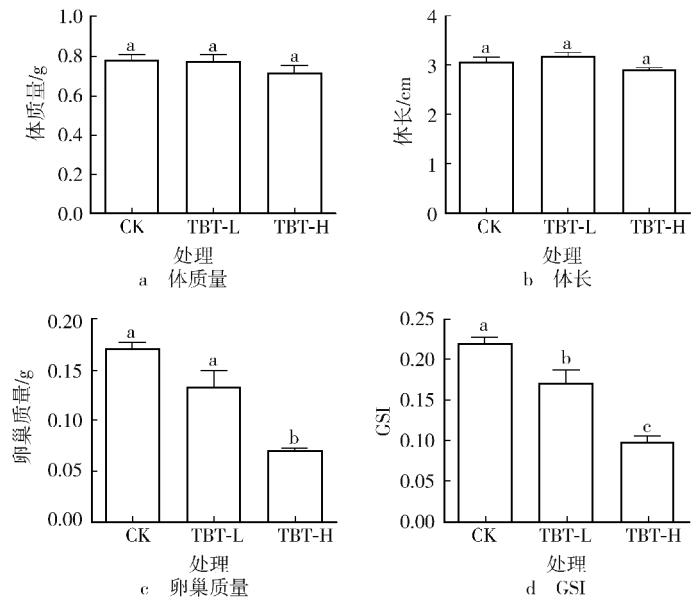
2 结果

2.1 对体质量、体长、卵巢质量和 GSI 的影响

图 1a-b 显示,3 个处理组的斑马鱼雌性成鱼的体质量和体长差异均不具有统计学意义。与 CK 的卵巢质量相比,TBT-L 和 TBT-H 的卵巢质量呈剂量依赖性下降;其中 TBT-H 的卵巢质量与 CK 的卵巢质量相比差异具有统计学意义($p < 0.05$)(图 1c)。与 CK 的 GSI 相比,TBT-L 和 TBT-H 组的 GSI 也呈剂量依赖性下调,且与 CK 的 GSI 差异均具有统计学意义($p < 0.05$)(图 1d)。

2.2 对卵巢结构的影响

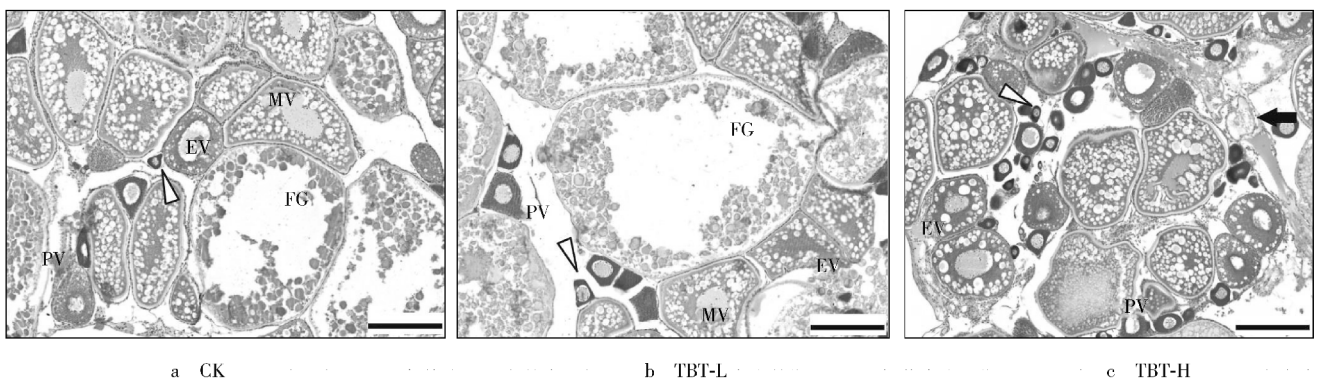
CK 卵巢内具有发育不同时期的卵母细胞,成熟卵母细胞相对较多(图 2a)。与 CK 相比,TBT-L 卵巢内卵黄生成前期(PV)卵母细胞数量有增多的趋势(图 2b)。TBT-H 卵巢内初级生长期(PG)和 PV 期卵母细胞数量均有增多的趋势,未发现完全生长期(FG)卵母细胞,且出现凋亡的卵母细胞(图 2c)。



注:不同字母表示差异具有统计学意义($p < 0.05$)。

图 1 TBT 处理对雌性斑马鱼体质量、体长、卵巢质量和 GSI 的影响

Fig. 1 Influences of TBT exposures on the body mass, body length, ovary mass, and GSI of zebrafish females



注:白色箭头:初级生长期卵母细胞;黑色箭头:凋亡的卵母细胞;PV:卵黄生成前期;EV:卵黄生成早期;MV:卵黄生成中期;FG:完全生长期。标尺长度为 50 μm 。

图 2 TBT 对斑马鱼雌性成鱼卵巢结构的影响

Fig. 2 Influences of TBT exposures on ovarian structures of zebrafish adults

2.3 对卵巢类固醇合成酶的影响

图 3 显示:1) TBT-L 和 TBT-H 与 CK 相比,前两者的 *cyp17a1* 和 *mprβ* 基因相对表达水平有下调趋势,但与后者的这两个指标相比均无统计学意义上的差异。2) TBT-L 和 TBT-H 的 *cyp17a2*、*20β-hsd*、*fshr*、*lhr* 基因相对表达水平较 CK 的这几项指标而言均有明显上调,且差异均具有统计学意义($p < 0.05$)。3) TBT-L 和

TBT-H 的 *cyp19a1a* 基因相对表达水平呈剂量依赖性下降,3 个处理组的该项指标差异均具有统计学意义上的差异($p < 0.05$)。4) TBT-L 和 TBT-H 与 CK 相比,前两者的 *mpra* 基因相对表达水平有所下调,与后者的该项指标差异具有统计学意义($p < 0.05$),但 TBT-L 和 TBT-H 的该项指标无统计学意义上的差异。

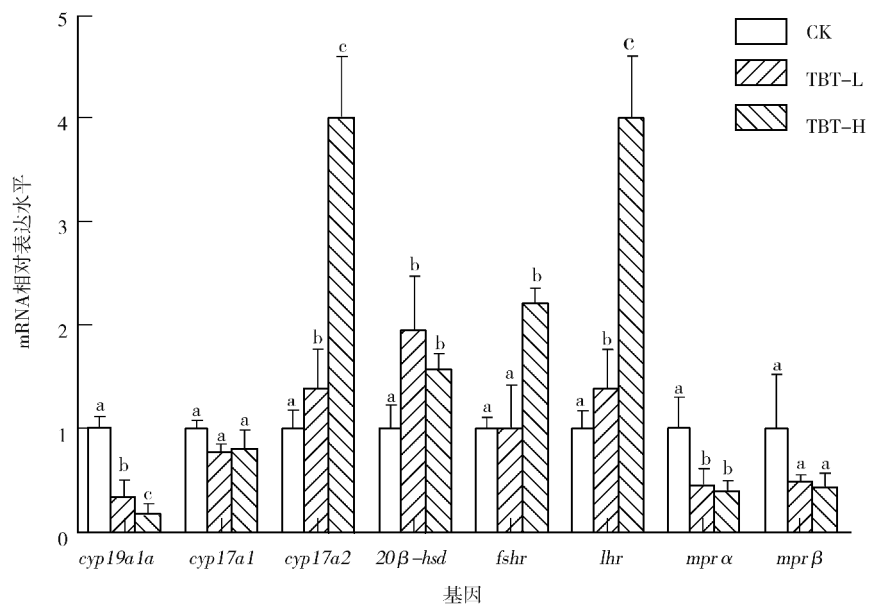
3 讨论与结论

本研究中,不同质量浓度的 TBT 暴露对斑马鱼体质量和体长均无统计学意义上的影响,其中原因可能是所用实验鱼为成鱼,已经生长发育完全。不同质量浓度的 TBT 暴露均降低了斑马鱼性腺质量和 GSI,表明 TBT 能明显损害斑马鱼的卵巢发育和卵子发生,这与对其他鱼类的研究结果一致^[2-14]。与之相对应的是,在 TBT 暴露后,斑马鱼雌性卵巢中早期卵母细胞有增多的趋势,而且在 TBT-H 中,FG 的卵母细胞完全消失,并出现凋亡的卵母细胞。上述结果表明,TBT 暴露可能阻碍卵母细胞的早期发育和生长,并导致卵母细胞的最后发育和成熟,从而抑制斑马鱼卵巢发育和卵子发生。

性类固醇激素尤其是雌激素

和孕激素在鱼类卵子发生中起重要作用^[15]。雌二醇(17 β -estrodial, E2)和二羟黄体酮(17 α , 20 β -DP, DHP)分别是大多数鱼类(包括斑马鱼)主要的雌激素和孕激素^[16]。有研究发现,E2 主要在卵巢合成,而 *cyp17a1* 和芳香化酶(*cyp19a1a*)是合成 E2 的关键酶^[17]。本研究发现:在 TBT 暴露后,尽管 *cyp17a1* 基因相对表达水平没有明显变化,但与 CK 的 *cyp19a1a* 基因相对表达水平相比,两个 TBT 暴露处理组的该指标有统计学意义上的下调($p < 0.05$),暗示 TBT 可能抑制斑马鱼雌鱼卵巢中 E2 的合成。这与其他相关研究的结果一致^[2-14],也与本研究组织学切片中显示的 TBT 暴露处理组的早期卵母细胞增多(细胞生长和发育受阻)一致。DHP 是鱼类主要的孕激素,参与生殖细胞的成熟、排卵和排精^[17]。DHP 的合成需要卵巢中 *cyp17a2* 和 20 β -HSD 的参与。本研究发现,两个 TBT 暴露处理组的 *cyp17a2* 和 20 β -*hsd* 基因相对表达水平与 CK 的这两项指标相比有统计学意义上的上调($p < 0.05$),暗示两个 TBT 暴露处理组卵巢 DHP 合成能力的增强。与 DHP 合成酶相关基因表达上升不同,两个 TBT 暴露处理组中孕激素膜受体 *mpra* 基因相对表达水平与 CK 的相比则有统计学意义上的下调($p < 0.05$)。由于 DHP 促进鱼类卵母细胞成熟和排卵必须有 *mpra* 基因的参与^[18],因此在本研究中尽管 TBT 暴露导致 DHP 的合成增强,但由于它的受体水平下降,最终可能导致卵母细胞成熟及排卵受阻,长期排卵受阻则造成细胞凋亡^[19-20]。这也与本研究发现在 TBT-H 卵巢中卵母细胞凋亡的情形完全一致。

综上所述,本研究用 TBT 暴露处理雌性斑马鱼成鱼 28 d,导致斑马鱼卵子发生严重障碍。qRT-PCR 的结果显示:与 CK 相比,TBT 暴露导致雌激素合成酶基因 *cyp19a1a* 相对表达水平有统计学意义上的下降($p < 0.05$),从而抑制雌激素的合成,并导致早期卵母细胞数量增多;相反,与 CK 相比,导致孕激素合成酶基因 *cyp17a2* 和 20 β -*hsd* 相对表达水平有统计学意义上的上升($p < 0.05$),可能导致孕激素合成分泌的增强;然而,TBT 暴露导致在孕激素发挥促卵母细胞成熟中起重要作用的受体 *mpra* 基因相对表达水平与 CK 的该指标相比有统计学意义上的下调($p < 0.05$),从而降低了孕激素的效应。TBT 暴露后的上述基因相对表达水平变化可能导致卵母细胞成熟延滞及排卵受阻,致使成熟卵泡数量减少,且发生卵母细胞凋亡。



注:不同字母表示某一基因在不同处理组的相对表达水平差异具有统计学意义($p < 0.05$)

图 3 TBT 处理对斑马鱼雌性成鱼卵子发生相关基因的影响

Fig. 3 Influences of TBT exposures on the expressions of oogenesis related genes in zebrafish females

参考文献:

- [1] MERLO E, PODRATZ P L, SENA G C, et al. The environmental pollutant tributyltin chloride disrupts the hypothalamic-pituitary-adrenal axis at different levels in female rats [J]. *Endocrinology*, 2016, 157(8): 2978-2995.
- [2] 刘刚. 孕激素(DHP)在硬骨鱼类减数分裂启动过程中的作用机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
LIU G. Study on mechanisms of progestin (DHP) actions in the meiotic initiation in the teleosts [D]. Chongqing: Southwest University, 2014.
- [3] TIAN H, WU P, WANG W, et al. Disruptions in aromatase expression in the brain, reproductive behavior, and secondary sexual characteristics in male guppies (*Poecilia reticulata*) induced by tributyltin [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 162: 117-125.
- [4] 孙红文, 黄国兰, 李书霞, 等. 三苯基锡和三丁基锡对大型蚤(*Daphnia magna*)的毒性作用研究[J]. *环境化学*, 2000, 19(3): 235-239.
SUN H W, HUANG G L, LI S X, et al. Study on toxic effects of triphenyltin and tributyltin on *Daphnia magna* [J]. *Environmental Chemistry*, 2000, 19(3): 235-239.
- [5] LEE P Y, LINC Y, CHEN T H. Environmentally relevant exposure of 17 α -ethinylestradiol impairs spawning and reproductive behavior in the brackish medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 85(2): 338-343.
- [6] SI J, LI P, XIN Q, et al. Perinatal exposure to low doses of tributyltin chloride reduces sperm count and quality in mice [J]. *Environmental Toxicology*, 2015, 30(1): 44-52.
- [7] DEVLIN R H, NAGAHAMA Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences [J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3/4): 191-364.
- [8] MORTENSEN A S, ARUKWE A. Modulation of xenobiotic biotransformation system and hormonal responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) after exposure to tributyltin (TBT) [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 2007, 145(3): 431-441.
- [9] 米兆娟, 李杰. 三丁基氯化锡对哺乳动物生殖毒性及作用机制[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(3): 364-366.
MI Z J, LI J. Tributyltin chloride on mammals reproductive toxicity and mechanism of action [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2007, 23(3): 364-366.
- [10] 张纪亮. 三丁基锡对褐菖鲉性腺发育影响及其机制的初步研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2007.
ZHANG J L. Effect of Tributyltin on the development of gonad in *Sebastes armatus* and potential mechanism [D]. Xiamen: Xiamen University, 2007.
- [11] 张纪亮, 孙平, 郭黛健, 等. 三丁基锡对褐菖鲉胚胎卵黄囊吸收的影响[J]. *海洋渔业*, 2012, 34(2): 195-201.
ZHANG J L, SUN P, GUO D J, et al. Effects of tributyltin on the absorption of yolk sac in *Sebastes marmoratus* embryos [J]. *Marine Fisheries*, 2012, 34(2): 195-201.
- [12] BRANDER S M, CONNOR R E, HE G, et al. From 'omics to otoliths: responses of an estuarine fish to endocrine disrupting compounds across biological scales [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74251.
- [13] 徐文菊. 三丁基锡和非对鱼类的毒性效应研究[D]. 汕头: 汕头大学, 2008.
XU W J. The toxic effects of tributyltin and phenanthrene on fish [D]. Shantou: Shantou university, 2008.
- [14] 饶剑军, 李英文, 张群芳, 等. 睾酮与 TBTC 抑制斑马鱼卵巢发育的分子机制[J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2016, 33(2): 32-36.
RAO J J, LI Y W, ZHANG Q F, et al. Mechanisms involved in the inhibition of zebrafish (*Danio rerio*) ovarian development by testosterone and tributyltin chloride [J]. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)*, 2016, 33(2): 32-36.
- [15] 史熊杰, 刘春生, 余珂, 等. 环境内分泌干扰物毒理学研究[J]. *化学进展*, 2009, 21(2): 340-349.
SHI X J, LIU C S, YU K, et al. Toxicological research on environmental endocrine disruptors [J]. *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2): 340-349.
- [16] 赵春刚, 范鹏, 刘奕, 等. 甲基睾酮对雌性斑马鱼性腺发育的抑制作用[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 41(12): 70-74.
ZHAO C G, FAN P, LIU Y, et al. Inhibiting effect of methyltestosterone on gonad development of female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2011, 41(12): 70-74.
- [17] 蔡婕. 卵泡刺激素受体在脂肪组织和卵巢颗粒细胞的表达及其功能[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
CAI J. Follicle stimulating hormone receptor in regulation of adipocyte differentiation and ovarian response [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [18] 曾怀才, 贺庆芝, 贺性鹏. 氯化三丁基锡对斑马鱼胚胎发育的影响[J]. *中国职业医学*, 2010(1): 26-28.
CENG H C, HE Q Z, HE X P. Effects of tributyltin chloride on embryo development of zebrafish [J]. *China Occupational Medicine*, 2010(1): 26-28.

- [19] ZHOU C H, LI M L, QIN A L, et al. Reduction of fibrosis in dibutyltin dichloride-induced chronic pancreatitis using rat umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly[J]. *Pancreas*, 2013, 42(8): 1291-1302.
- [20] 谭燕, 李远友, 杜永兵, 等. 三丁基锡对孔雀鱼的毒性效应

研究[J]. *环境化学*, 2006, 5(3): 315-319.

TAN Y, LI Y Y, DU Y B, et al. Acute and chronic toxic effect of tributyltin on the guppies (*Poecilia reticulata*) [J]. *Environmental Chemistry*, 2006, 5(3): 315-319.

Animal Sciences

Tributyltin Inhibited Oogenesis of Female Zebrafish

XIAO Weiyang, LI Yingwen, WANG Yaqin, LIU Zhihao

(Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substances, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To investigate effects of long-term tributyltin (TBT) exposure on oogenesis of female zebrafish. [Methods] Adult zebrafish (*Danio rerio*) females were continuously exposed to two doses of TBT (TBT-low: $100 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$; TBT-high: $500 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) and control group (unexposed to TBT) for 28 days. The effects of TBT on oogenesis and egg production of zebrafish detected by histological, and RT-PCR was adopted to study the molecular mechanism of TBT impact the oogenesis of zebrafish. [Findings] Results revealed that, TBT caused decreased ovary weight and gonadosomatic index (GSI), as well as various impairments in ovaries (such as enhanced number of early oocytes, decreased full grown oocytes and apoptotic oocytes). TBT also increased the expressions of *20 β -hsd*, *cyp17a2*, *fshr* and *lhr*, suppressed the expressions *mpra*, and *cyp19a1a* in ovary. [Conclusions] TBT might, on the one hand, suppressed the expressions of *cyp19a1a*, resulting in decreased production of estrogen and the subsequent arrested oocyte development; on the other hand, inhibit the expressions of *mpra*, leading to declined effects of progestins and subsequent delayed oocyte maturation and enhanced apoptosis.

Keywords: tributyltin; female zebrafish; impaired oogenesis; gene expression

(责任编辑 方 兴)