

汞镉联合暴露对斑马鱼性腺组织学和抗氧化酶基因表达的影响^{*}

梁晓敏¹, 曾 凤¹, 张群芳¹, 李英文¹, 田盛君², 陈启亮¹

(1. 重庆师范大学 生命科学学院 重庆市高校动物生物学重点实验室, 重庆 401331;

2. 重庆市长寿区水产技术推广站, 重庆 长寿 401220)

摘要:【目的】评估水体中汞镉联合暴露对斑马鱼性腺组织学和抗氧化酶基因表达的影响。【方法】设置3个组, 对照组中 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 质量浓度均为0, 其余两组中 Hg^{2+} 和 Cd^{2+} 质量浓度分别为 $5, 50 \mu g \cdot L^{-1}$ (低剂量联合暴露组) 及 $15, 150 \mu g \cdot L^{-1}$ (高剂量联合暴露组); 以此暴露成年斑马鱼21 d, 取性腺进行组织学观察及抗氧化酶基因表达分析。【结果】与对照组对应指标相比: 1) 汞镉联合暴露对雌鱼和雄鱼的体质量、成活率及雌鱼的性腺成熟系数(GSI)无明显影响, 但导致雄鱼的GSI明显降低; 2) 汞镉联合暴露导致卵巢和精巢组织结构出现明显的病理损伤; 3) 高剂量汞镉联合暴露上调了卵巢中 *sod1* 和 *gstr* 基因的表达水平, 但下调了 *cat1* 基因的表达水平; 4) 高剂量汞镉联合暴露上调了精巢中 *sod1* 和 *gpaxla* 基因的表达水平, 但对 *cat1* 和 *gstr* 基因的表达水平无统计学意义上的影响。【结论】汞镉联合暴露可诱导斑马鱼精巢和卵巢组织学损伤和氧化应激, 而抗氧化系统发挥了重要的保护作用。

关键词: 汞; 镉; 联合暴露; 氧化应激; 组织学; 抗氧化酶基因; 斑马鱼

中图分类号: Q175

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2018)03-0058-06

近些年来, 随着工农业的迅速发展, 大量含重金属的废水被排入水环境中, 导致水体重金属污染问题日益突出, 给鱼类的生存发展和人体健康构成了巨大威胁^[1-2]。汞和镉均为生物体非必需、难降解、易富集并具有“三致”作用的重金属^[3], 已被列入中国《“十三五”生态环境保护规划》重点防控的污染物名录。研究发现, 汞和镉不仅能在鱼类的鳃、肝脏、肾等组织蓄积, 也能进入鱼类的性腺并积累, 进而损伤性腺发育和生殖功能^[4-5]。然而, 目前的研究仅关注汞或镉单独暴露对鱼类性腺发育及生殖功能的影响^[6-7], 但水环境中汞和镉往往同时存在, 因此有必要研究汞和镉联合暴露对鱼类的生殖毒性。

氧化应激是指细胞内活性氧(ROS)水平升高而导致的抗氧化防御功能失调。鱼类暴露于重金属污染物中会产生氧化应激, 这是重金属发挥毒性效应的重要机制之一^[8-10]。ROS是自由基的一种, 它的少量存在对生物体有积极作用, 但过多时会损伤细胞中的脂质、蛋白质及DNA, 进而引起细胞凋亡或死亡, 导致疾病发生^[11-12]。为了清除体内过多ROS, 生物体发展了自我保护系统——抗氧化系统, 而抗氧化酶是该系统的重要组成部分, 包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽转硫酶(GST)等^[13-14]。尽管有报道了汞或镉暴露对这些抗氧化酶活性的影响^[15-16], 但其中的分子机制尚不完全清楚。

斑马鱼(*Danio rerio*)是一种产量大、饲养简单的小型热带鱼, 已成为毒理学研究的模式生物^[17]。本研究用不同剂量的汞镉联合暴露成年斑马鱼21 d, 分析它们对性腺组织学结构和抗氧化酶基因表达水平的影响, 初步探讨了汞镉联合暴露对鱼类的生殖毒性效应及毒理机制, 以期对水体重金属污染的风险评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验对象 成年斑马鱼(AB系, 120 d龄)购自国家斑马鱼资源中心。

1.1.2 实验试剂 氯化汞、氯化镉及其他化学试剂均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; RNAiso Plus,

^{*} 收稿日期: 2017-06-30 修回日期: 2018-04-12 网络出版时间: 2018-05-22 10:02

资助项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJ1500331); 重庆市基础与前沿研究计划项目(No. cstc2015jcyjA80012); 重庆师范大学校级基金项目(No. 15XLB012; No. YKC17009)

第一作者简介: 梁晓敏, 女, 研究方向为水生毒理学, E-mail: 742155337@qq.com; 通信作者: 陈启亮, 男, 副教授, 博士, E-mail: xncql@126.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20180522.1001.022.html>

PrimeScript®RT Reagent Kit 和 SYBR Premix Ex Taq™等分子生物学试剂均购自 TaKaRa 公司。

1.1.3 实验仪器 切片机和光学显微镜购自 Nikon 公司;Nanodrop ND-2000 分光光度计购自 Thermo 公司;CFX96 实时定量 PCR 仪和凝胶成像系统购自 Bio-Rad 公司;离心机购自 Eppendorf 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验鱼暴露处理及取样 将实验鱼置于室内循环水养殖系统中暂养 14 d,饲养水温控制在 28 ℃左右,光周期为 14 h 光照:10 h 黑暗。

实验开始时,选取大小一致的健康雌鱼和雄鱼各 72 尾,其中雌鱼平均体质量为(0.80±0.05) g,雄鱼平均体质量为(0.48±0.02) g,将它们放入 18 个缸中且雌鱼和雄鱼分开,每缸 8 尾实验鱼。设置 3 个处理组,每组设 3 个平行,每缸盛水 20 L。其中,对照组不加入已配好的氯化汞和氯化镉母液,Hg²⁺和 Cd²⁺质量浓度均为 0;低剂量联合暴露组中 Hg²⁺和 Cd²⁺质量浓度分别为 5 和 50 μg·L⁻¹;高剂量联合暴露组中 Hg²⁺和 Cd²⁺质量浓度分别为 15 和 150 μg·L⁻¹。两个汞镉联合暴露组中 Hg²⁺和 Cd²⁺的质量浓度设置参考相关研究报道^[18-20]。

实验期间,每日向所有处理组定时投喂 3 次商业饲料,日投喂量为鱼体质量的 3%,每日换掉缸内 50%体积的水,并补充氯化汞和氯化镉母液,使缸中 Hg²⁺和 Cd²⁺的质量浓度维持设定值。

汞镉联合暴露 21 d 后取材。首先,对各缸鱼进行计数以获得成活率。然后,将实验鱼麻醉并测定体质量,解剖取出卵巢或精巢并测定质量,以计算性腺成熟系数(GSI,性腺质量与体质量的比值)。将取出的卵巢和精巢样品分成两份:一份置于 Bouin's 试液中固定 24 h,用于组织学分析;另一份置于 EP 管中,液氮速冻后保存在-80 ℃冰箱用于基因表达检测。

1.2.2 组织学分析 组织学分析参照 Zhang 等人^[6]的方法。将固定后的样品经脱水、透明后,进行石蜡包埋。将包埋材料切成厚度为 5 μm 的薄片,用 HE 染色后观察并拍照。

1.2.3 基因表达分析 基因的表达水平采用荧光定量 PCR(qPCR)方法检测。使用 RNAiso Plus 从样品中提取总 RNA,具体步骤按说明书进行。经 Nanodrop ND-2000 分光光度计检测总 RNA 的浓度和 OD260/OD280 后,取 1 μg 总 RNA 用 PrimeScript®RT 试剂盒进行逆转录。qPCR 在 CFX96 实时定量 PCR 仪上进行,反应体系为 10 μL,包含 SYBR Premix Ex Taq™5 μL,10 μmol·L⁻¹正反向引物各 0.4 μL,10 倍稀释的 cDNA 模板 1 μL,以及 RNase-free H₂O 3.2 μL。引物序列见表 1。qPCR 的扩增条件为:95 ℃预变性 30 s;95 ℃变性 5 s;60 ℃退火 30 s,72 ℃延伸

30 s,40 个循环。选取 *eflα* 作为内参基因,目的基因与 *eflα* 的相对表达水平用 2-ΔΔCt 公式计算。

1.3 统计分析

实验数据用“平均值±标准差”表示。用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析和 Tukey 多重比较;当 *p*<0.05 时,分析结果具有统计学意义。柱形图用 Graph Pad Prism 6 软件绘制。

表 1 qPCR 引物

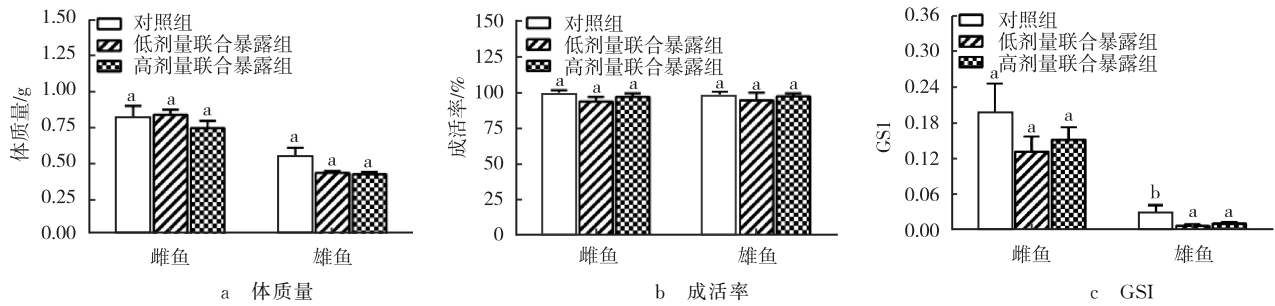
Tab.1 Primers used for qPCR

基因名称	引物序列	Genbank 序列号
<i>catl</i>	F: 5'-CAAGGTCTGGTCCCATAAA-3'	BC051626
	R: 5'-TGACTGGTAGTTGGAGGTAA-3'	
<i>sod1</i>	F: 5'-GTCCGCACTTCAACCCTCA-3'	BC055516
	R: 5'-TCCTCATTGCCACCCTTCC-3'	
<i>gpx1a</i>	F: 5'-AGGCACAACAGTCAGGGATT-3'	BC083461
	R: 5'-CAGGAACGCAAACAGAGGG-3'	
<i>gstr</i>	F: 5'-CCAACATTCAAGCACGGAG-3'	NM001045060
	R: 5'-GCACAAGCCAATCATAAAAGG-3'	
<i>eflα</i>	F: 5'-GATCACTGGTACTTCTCAGGCTGA-3'	FJ915061
	R: 5'-GGTGAAAGCCAGGAGGGC-3'	

2 结果

2.1 体质量、成活率及 GSI

图 1 显示:两个汞镉联合暴露组雌雄实验鱼的体质量、成活率以及雌鱼的 GSI 与对照组的这 3 个指标相比都不具有统计学意义上的差异;两个汞镉联合暴露组雄鱼的 GSI 均低于对照组雄鱼的 GSI,差异具有统计学意义(*p*<0.05)。



注:不同字母表示不同处理组间数据差异具有统计学意义($p < 0.05$),下同。

图 1 汞镉联合暴露对成年斑马鱼体质量、成活率及 GSI 的影响

Fig. 1 Effects of combined exposure to Hg and Cd on body weight, survival rate, and GSI in adult zebrafish

2.2 卵巢和精巢的组织学观察

在对照组卵巢中可见不同发育时期的卵母细胞,它们的数量及形态结构均表现正常(封二彩图 2a);在两个汞镉联合暴露组卵巢中,出现了卵母细胞膜与滤泡细胞层分离的现象(封二彩图 2b-c)。在对照组精巢中,可见精小管数量多,且精小管内充满了精原细胞和大量的次级精母细胞及精子(封二彩图 2d);在两个汞镉联合暴露组精巢中,均可观察到精子数量减少、无序排列、空腔出现、早期生殖细胞增多等现象;而且,上述损伤随着水体中汞镉质量浓度的升高有加重的趋势(封二彩图 2e-f)。

2.3 抗氧化酶基因表达水平

图 3a 显示:高剂量联合暴露组卵巢中 *sod1* 和 *gstr* 基因的表达水平较对照组卵巢中这两个基因的表达水平有所上调,但前者 *cat1* 基因表达水平较后者有所下调,上述比较结果均具有统计学意义($p < 0.05$)。此外,3 个处理组的 *gpxla* 基因表达水平没有统计学意义上的差异。图 3b 显示:高剂量联合暴露组精巢中 *sod1* 和 *gpxla* 基因的表达水平均较对照组精巢中这两个基因的表达水平有所上调,且差异均具有统计学意义($p < 0.05$)。而 3 个处理组的 *cat1* 和 *gstr* 基因表达水平的差异无统计学意义。

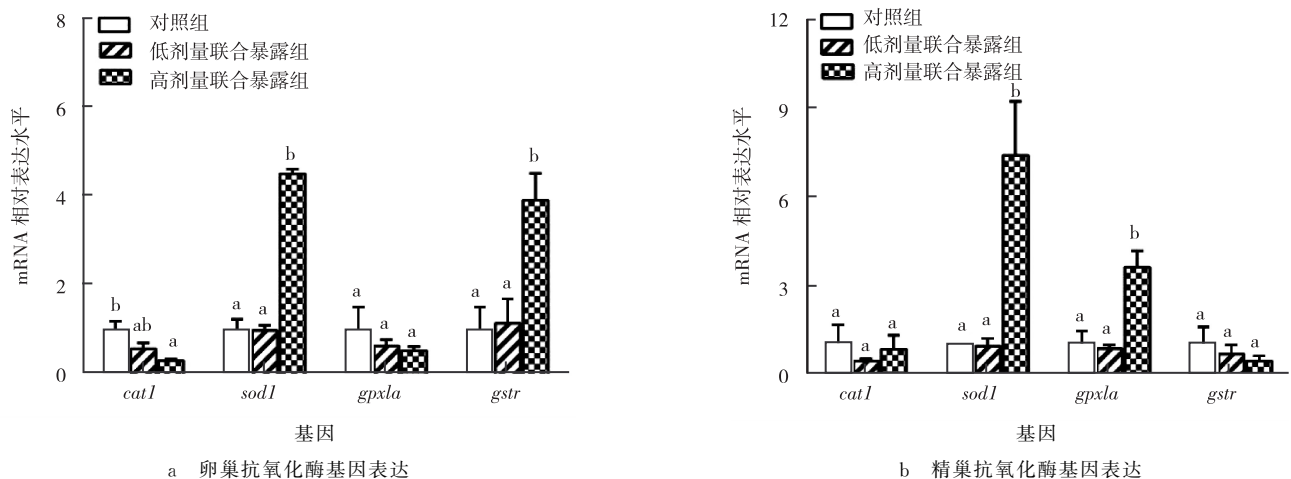


图 3 汞镉联合暴露对成年斑马鱼卵巢和精巢组织学的影响

Fig. 3 Effects of combined exposure to Hg and Cd on histology of the ovary and testis in adult zebrafish

3 讨论与结论

本研究中,汞镉联合暴露对斑马鱼的体质量和成活率均无统计学意义上的影响,这可能与实验鱼已经成年、暴露时间较短、汞镉暴露的质量浓度相对较低等因素有关。相似地,Zhang 等人^[6]发现,成年斑马鱼在汞暴露 30 d 后,体质量和成活率也均无统计学意义上的变化。此外,尽管本研究中雌鱼的 GSI 无统计学意义上的变化,但两个汞镉联合暴露组雄鱼的 GSI 相比于对照组雄的鱼 GSI 均有统计学意义上的降低($p < 0.05$)——这一方面表明斑马鱼雄鱼对汞与镉的毒性反应较雌鱼更敏感,另一方面也暗示汞镉联合暴露可能损伤了斑马鱼的精巢发

育和精子发生。

本研究还观察到汞镉联合暴露导致了斑马鱼成鱼性腺的组织学病变。两个汞镉联合暴露组卵巢中均出现了卵母细胞膜与滤泡细胞层分离的现象,这与斑马鱼汞单独暴露后观察到的结果一致^[6]。已有研究表明,汞或镉暴露能够引起鱼类卵巢的组织学病变,进而可能导致卵巢发育迟缓甚至影响排卵和受精过程^[21-22]。在进行汞镉联合暴露后,还可观察到实验鱼精巢中精子数量减少、无序排列、空腔出现、早期生殖细胞增多等变化,这与 Liao 等人^[4]在用甲基汞处理青鳉(*Oryzias latipes*)后所观察到的现象一致。这些变化可能导致精子发生障碍。此外,本研究还发现实验鱼精巢和卵巢的组织损伤均随水体中汞和镉质量浓度的升高而加重,从而反映了组织损伤的剂量依赖性。

重金属污染会导致鱼体产生过多的 ROS,如超氧阴离子和过氧化氢等,进而引起鱼体氧化损伤^[23]。SOD 是抗氧化防御系统的第一道防线,它使超氧阴离子发生歧化反应转化为过氧化氢和氧分子,而过氧化氢又在 CAT 和 GPX 的作用下转化为水和氧分子^[24-25]。所以 SOD, CAT 和 GPX 具有清除 ROS 并使鱼体免受氧化损伤的作用。本研究中高剂量联合暴露组卵巢和精巢的 *sod1* 基因表达水平较对照组性腺的 *sod1* 基因表达水平而言均有统计学意义上的上调($p < 0.05$);这可能是因为该处理组的汞和镉的质量浓度较高,导致机体产生了过多的超氧阴离子,从而诱导了 *sod1* 基因表达明显上调以清除多余的超氧阴离子。本研究的这一结果与 Zhang 等人^[6]的研究结果较为相似。有研究表明, CAT 和 GPX 能共同作用清除过氧化氢^[26]。在本研究中,高剂量联合暴露组卵巢 *cat1* 基因表达水平与对照组该项指标相比有统计学意义上的降低($p < 0.05$),且 *gp1a* 基因表达水平的变化也有类似的下降趋势,但差异不具有统计学意义。这可能反映了在高质量浓度汞和镉暴露下,实验鱼卵巢内产生了过多的过氧化氢并超出了机体的清除能力,从而抑制了相关基因的表达。有趣的是,在高剂量联合暴露组的精巢中, *gp1a* 基因表达水平较对照组该项指标有统计学意义的上调($p < 0.05$),而 *cat1* 基因表达水平在各组间均无统计学意义上的差异。这可能暗示在雄性斑马鱼精巢中主要由 GPX 而非 CAT 来清除过氧化氢。GST 具有解毒和抑制脂质过氧化作用, *gstr* 基因则是鱼类特有的 GST 同工酶基因^[27]。在本研究中,与对照组相比,高剂量联合暴露组卵巢 *gstr* 基因表达水平具有统计学意义的上调($p < 0.05$)。这暗示机体可能通过加强 *gstr* 基因表达来产生更多的 GST,以便清除积累的自由基。然而,本研究的 3 个处理组精巢的 *gstr* 基因表达水平尽管无统计学意义上的差异,但随着汞和镉质量浓度上升,该基因的表达水平有下降的趋势。这可能是由于过量的自由基产生抑制了该酶的活性。综合以上研究结果,本研究推测,汞镉联合暴露诱导了斑马鱼成鱼性腺中 ROS 的产生,而抗氧化系统在清除 ROS 方面则发挥了重要作用。

总之,本研究表明,汞镉联合暴露 21 d 能引起成年斑马鱼性腺组织学损伤和氧化应激,而抗氧化系统发挥了重要的保护作用。同时,汞镉联合暴露对斑马鱼性腺的影响表现出一定性别差异性。

参考文献:

- [1] CHEN Q L, LUO Z, PAN Y X, et al. Differential induction of enzymes and genes involved in lipid metabolism in liver and visceral adipose tissue of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* exposed to copper[J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 136/137: 72-78.
- [2] CHEN Q L, GONG Y, LUO Z, et al. Differential effect of waterborne cadmium exposure on lipid metabolism in liver and muscle of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 142/143: 380-386.
- [3] JARUP L. Hazards of heavy metal contamination [J]. *British Medical Bulletin*, 2003, 68(1): 167-182.
- [4] LIAO C Y, FU J J, SHI J B, et al. Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity-alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal exposure to methylmercury chloride[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2006, 22(2): 225-233.
- [5] HOLLIS L, HOGSTRAND C, WOOD C M. Tissue-specific cadmium accumulation, metallothionein induction, and tissue zinc and copper levels during chronic sublethal cadmium exposure in juvenile rainbow trout[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, 41(4): 468-474.
- [6] ZHANG Q F, LI Y W, LIU Z H, et al. Reproductive toxicity of inorganic mercury exposure in adult zebrafish: histological damage, oxidative stress, and alterations of sex hormone and gene expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis[J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 177: 417-424.
- [7] 徐晓辉, 樊廷俊, 景毅, 等. 氯化镉对斑星鲷卵巢细胞的毒性作用及其机理研究[J]. *山东大学学报(理学版)*, 2013, 48(11): 1-6.

- XU X H, FAN T J, JING Y, et al. The cytotoxic effects of cadmium on barfin flounder ovary cells and its mechanism study[J]. Journal of Shandong University (Natural Science), 2013, 48(11): 1-6.
- [8] 曾艳艺, 赖子尼, 杨婉玲, 等. 广东鲂幼鱼对铜、镉胁迫的氧化应激响应及其指示意义[J]. 生态环境学报, 2014, 23(12): 1972-1979.
- ZENG Y Y, LAI Z N, YANG W L, et al. Responses towards oxidative stress of juvenile Guangdong bream *Megalobrama terminalis* to Cu^{2+} and Cd^{2+} exposure[J]. Ecology and Environment, 2014, 23(12): 1972-1979.
- [9] NISHI Y. The chemical process of oxidative stress by copper (II) and iron (III) ions in several neurodegenerative disorders[J]. Monatshefte Für Chemie-Chemical Monthly, 2011, 142(4): 375-384.
- [10] LUSHCHAK V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101(1): 13-30.
- [11] VALKO M, LEIBFRIE D, MONCOL J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, 39(1): 44-84.
- [12] ELIA AC, GALARINI R, TATICCHI M I, et al. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melasunder* mercury exposure[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, 55(2): 162-167.
- [13] SUN Y, YIN Y, ZHANG J, et al. Bioaccumulation and ROS generation in liver of freshwater fish, goldfish *Carassius auratus* under HC orange No. 1 exposure[J]. Environmental Toxicology, 2007, 22(3): 256-263.
- [14] LIVINGSTONE D R. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and agriculture[J]. Revue de Medecine Veterinaire, 2003, 154(6): 427-430.
- [15] HUANG W, CAO L, LIU J, et al. Short-term mercury exposure affecting the development and antioxidant biomarkers of Japanese flounder embryos and larvae[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(8): 1875-1883.
- [16] LIU J, QU W, KADIISKA M B. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2009, 238(3): 209-214.
- [17] SEGNER H. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism for investigating endocrine disruption[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2009, 149(2): 187-195.
- [18] HORVAT M, NOLDE N, FAJON V, et al. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China[J]. Science of the Total Environment, 2003, 304(1): 231-256.
- [19] 张晓华, 肖邦定, 陈珠金, 等. 三峡库区香溪河中重金属元素的分布特征[J]. 长江流域资源与环境, 2002, 11(3): 269-273.
- ZHANG X H, XIAO B D, CHEN Z J, et al. Characteristics of the distribution of Cu, Pb, Cd, Cr, Zn in Xiangxi river[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2002, 11(3): 269-273.
- [20] MA W, WANG L, HE Y, et al. Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in freshwater crab *Sinopotamon henanense* during acute exposure to waterborne cadmium[J]. Environmental Toxicology, 2008, 23(3): 393-400.
- [21] KIRUBAGARAN R, JOY K P. Toxic effects of mercuric chloride, methylmercuric chloride, and emisan 6 (an organic mercurial fungicide) on ovarian recrudescence in the catfish *Clarias batrachus*, (L.) [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1988, 41(4): 902-909.
- [22] CHOUCHE L, BANNI M, KERKENI A, et al. Cadmium-induced ovarian pathophysiology is mediated by change in gene expression pattern of zinc transporters in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemico-biological Interactions, 2011, 193(2): 172-179.
- [23] FAROMBI E O, ADELOWO O A, AJIMOKO Y R. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun river[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2007, 4(2): 158-165.
- [24] PANDEY S, PARVEZ S, SAYEED I, et al. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.) [J]. Science of the Total Environment, 2003, 309(1): 105-115.
- [25] DIANA A M, FRANCISCO T R, ANA L K. Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829) [J]. Ecotoxicology, 2010, 19(1): 105-123.
- [26] 刘硕, 周启星. 抗氧化酶诊断环境污染研究进展[J]. 生态学杂志, 2008, 27(10): 1791-1798.
- LIU S, ZHOU Q X. Research advances in antioxidant enzymes for diagnosing environmental contamination [J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(10): 1791-1798.
- [27] KONISHI T, ARAKI T, SHIRAKI K, et al. A new class of glutathione S-transferase from the hepatopancreas of the red sea bream *Pagrus major* [J]. Biochemical Journal, 2005, 388(1): 299-307.

Animal Sciences

Effects of Combined Exposure to Mercury and Cadmium on Histology and the Expression of Antioxidative Enzyme Genes in Gonads of Zebrafish

LIANG Xiaomin¹, ZENG Feng¹, ZHANG Qunfang¹, LI Yingwen¹, TIAN Shengjun², CHEN Qiliang¹

(1. Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, School of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;

2. Fisheries Technology Extension Station of Changshou District, Changshou, Chongqing 401220, China)

Abstract: [Purposes] To assess the effects of combined exposure of mercury and cadmium on histology and the expression of antioxidative enzyme genes in gonads of zebrafish. [Methods] Adult zebrafish were exposed to $0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+} + 0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ (control group), $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+} + 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ (low dose combined exposure group) and $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+} + 150 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ (high dose combined exposure group) for 21 days, and then gonads were sampled for histological observation and analysis of antioxidant enzyme gene expression. [Findings] Compared with the control group: 1) combined exposure to mercury and cadmium had no significant effect on the body weight and survival rate of females and males as well as the gonadosomatic index (GSI) of females, while GSI of males was significantly decreased; 2) ovaries and testes in combined exposure groups showed obvious pathological lesions; 3) in ovaries, high dose combination exposure up-regulated the expression of *sod1* and *gstr*, while down-regulated the expression of *cat1*; 4) in the tests, the expression levels of *sod1* and *gpxla* were significantly increased in the high dose group, while the mRNA expression of *cat1* and *gstr* showed no statistically significant difference among groups. [Conclusions] Combined exposure to mercury and cadmium can induce histological damage and oxidative stress in the testis and ovary of zebrafish, and the antioxidant defense system plays an important protective role against oxidative damage.

Keywords: mercury; cadmium; combined exposure; oxidative stress; histology; antioxidative enzyme genes; zebrafish

(责任编辑 方 兴)

图2 汞镉联合暴露对成年斑马鱼卵巢和精巢组织学的影响
Fig. 2 Effects of combined exposure to Hg and Cd on histology of the ovary and testis in adult zebrafish