引用格式:张欣羽,张思颖,王琪,等. 镉暴露对泥鳅卵巢抗氧化酶及其基因表达的影响[J]. 延安大学学报(自然科学版),2026,45(3):47-53. [ZHANG X Y,ZHANG S Y,WANG Q,et al. Effects of Cadmium exposure on antioxidant enzymes and gene expression in the ovaries of *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Journal of Yan'an University(Natural Science Edition),2026,45(3):47-53.] **DOI**:10.13876/J.cnki.ydnse.250071

镉暴露对泥鳅卵巢抗氧化酶及其基因表达的影响

张欣羽#,张思颖#,王　琪,明　艳,蔡　芸,雷　忻*

(延安大学 生命科学学院/延安市生态恢复重点实验室,陕西 延安 716000)

摘　要:为探究镉(Cd)对雌性鳅科鱼类性腺的氧化毒性效应,以泥鳅为受试动物,采用亚急性毒性方法分别将其置于0.005、0.05、0.5、5 mg/L 4个镉浓度组分别暴露15、30、45 d,采用邻苯三酚自氧法检测卵巢组织超氧化物歧化酶(SOD)活性、钼氨酸比色法检测过氧化氢酶(CAT)活性以及ELISA试剂盒检测细胞色素P450活性,并且使用实时荧光定量PCR检测基因*Cu/Zn-sod*、*cat3*的相对表达量。结果显示:卵巢SOD活性与镉浓度相关,呈现先升高后降低的趋势,在0.005 mg/L镉浓度组暴露15 d时SOD活性显著升高,其中在0.5 mg/L浓度组暴露30 d时SOD活性处于最高值,随后呈下降趋势;在镉胁迫下,CAT活性呈现先上升后下降趋势,其中在0.05 mg/L浓度组暴露15 d时CAT活性最高,30 d时0.005 mg/L浓度组活性达最高值,45 d时,活性在0.5 mg/L浓度组最高;CYP450活性在镉暴露15、30、45 d时,各浓度组其活性均显著高于对照组;*cat3*基因表达量与对照组相比,镉胁迫组均显著升高;镉胁迫15、30、45 d时,0.005 mg/L浓度组*Cu/Zn-sod*基因表达量均显著增加。上述结果表明,一定剂量镉可对泥鳅卵巢产生明显的氧化毒性效应,低剂量镉可激活SOD、CAT和CYP450以应对氧化损伤,较高剂量则可破坏酶活性或超过了承受阈值对酶活性产生抑制作用;镉可通过诱导*Cu/Zn-sod*、*cat3*基因转录水平表达来提高SOD和CAT活性。

关键词:镉;泥鳅;卵巢;抗氧化酶;细胞色素P450;基因表达

中图分类号:Q955　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-602X(2026)03-0047-07

重金属镉(Cadmium,Cd)是生物体内一种非必需的金属元素,对动物具有致癌、致畸和致突变的作用,被联合国环境规划署列为十二种全球性环境污染物之首[1-2]。镉可通过降水、废水排放和地表径流等不同方式进入水环境,具有难降解、易富集到生物体内的特点[3],可通过食物链和食物网的生物富集和生物放大效应,严重影响水生动物的生存、水产品安全和人类健康。有研究表明,镉污染可对鱼类氧化毒性,导致组织器官结构损伤、鱼类体内生殖和免疫系统发生异常[4]。肖衍等[5]研究发现镉在斑马鱼(*Danio rerio*)肝脏中的积累量最大,且对鳃和肠道等组织造成氧化损伤。镉对斑马鱼卵巢及胚胎发育产生影响[6]。黑头呆鱼(*Pimephales promelas*)幼鱼阶段接触镉后,其雌雄亲鱼产卵频率会显著下降[7]。镉不仅会阻碍卵母细胞的发生,使卵黄颗粒的数量下降,还会改变卵巢组织结构,导致卵泡发育障碍[8-10]。

在保护鱼类免遭活性氧危害方面,抗氧化酶起着关键作用。其中,超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)以及过氧化氢酶(Catalase, CAT)

收稿日期:2025-07-10

基金项目:陕西省自然科学基础研究计划面上项目(2025JC-YBMS-202);陕西省大学生创新创业训练计划项目(S202410719087)

作者简介:张欣羽(2002—),女,硕士研究生,主要从事动物生态毒理学研究。　　#共同第一作者

*通信作者　E-mail:leizz66@126.com

属于两类与氧化作用紧密相关的重要酶。SOD充当着抵御氧化损伤的首要防线,具备把超氧化物自由基转变为过氧化氢的能力,而CAT作为清除过氧化氢的重要酶,能够将过氧化氢分解成水和氧气。共同参与去除活性氧(Reactive Oxygen Species,ROS)的过程,从而减少对细胞造成的损伤[11-12]。雷忻等[13]研究表明,随着$CdCl_2$暴露时间延长和浓度增大时,雌、雄性泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)肝脏SOD、CAT活性呈现先升高后下降趋势,对肝脏产生明显的氧化毒性效应。刘洋等[14]研究表明镉暴露21 d后,斑马鱼卵巢组织各浓度组SOD活性随着镉浓度的增加呈极显著降低,CAT活性受到抑制并且导致卵巢和卵母细胞结构功能受到损伤。上述研究表明,镉暴露会导致鱼类肝脏和卵巢组织抗氧化酶活性降低,增加ROS水平,造成肝脏和卵巢组织的氧化损伤。

细胞色素P450(Cytochromes P450,CYP450)是一类血红素蛋白,能结合动物体内氧气并催化氧化反应[15],在解毒过程中发挥作用[16-17]。CYP450对污染物具有较高的敏感性,容易被诱导激活,是环境毒理学研究中重要的生物标记物之一[18]。有研究表明CYP450酶代谢活动可能通过产生ROS引发氧化应激且部分CYP450亚型可通过直接清除自由基或调控抗氧化通路减轻氧化损伤[19],目前关于CYP450的研究主要集中于各类动物整体毒性反应及肝脏、鳃的应激响应等方面,而对鱼类性腺的氧化毒理作用研究较少。

泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)是一类常见的小型鳅科鱼类,一般生活在水流缓慢、底质为砂质或淤泥的水体中,易于驯化养[20],对环境污染十分敏感,常用于生态毒理学研究,对水体环境污染评估具有十分重要的意义。本研究以泥鳅为实验动物,检测镉胁迫下卵巢SOD、CAT、CYP450活性的变化,测定*Cu/Zn-sod*、*cat3*基因mRNA相对表达量的变化,探究镉对雌性泥鳅性腺的氧化损伤效应,为镉污染治理和生态风险评估提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、药品和仪器

实验所用泥鳅均购于陕西生态泥鳅养殖基地,约为3-4月龄,平均体长为(6±1)cm。在镉暴露实验前,在实验室环境中将泥鳅置于用自然晾晒96 h的脱氯水驯养14 d,水中pH值调节至7.5,水温维持在(24±2)℃,保证正常的光照条件,并定期投喂适量饲料。在驯养结束后选择健康活泼、体型适中的雌性泥鳅进行实验。动物实验方案通过延安大学实验动物伦理委员会的批准(YAU-G20230040)。

氯化镉(西安化学试剂厂)、钼氨酸(天津市凯达化工厂)、邻苯三酚(天津博迪化工股份有限公司)。所有试剂均为分析纯。721BR12263凝胶成像仪(北京赛智创业科技有限公司)、KDC-160HR高速冷冻离心机(上海沪粤明科学仪器有限公司)、Thermal Cycler-2720 PCR仪(伯乐生命医学产品有限公司)、Step One Plus实时荧光定量PCR仪(赛默飞世尔科技公司)、UV-2600紫外可见分光光度计(日本岛津公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 染毒实验

参考国家渔业水质(GB11607-89)所规定的镉浓度为≤0.005 mg/L[21],采用亚急性毒性实验方法[22]。设置4个镉浓度组分别为0.005、0.05、0.5、5 mg/L,4个浓度组分别为规定浓度的1、10、100和1 000倍,同时设置镉浓度为0 mg/L为对照组,每组设3个平行,每个平行组8尾泥鳅,分别暴露15、30、45 d。每桶配置6 L的镉溶液,随机投放25尾大小相似、健康活泼的幼龄泥鳅,每隔24 h更换一次镉溶液,确保溶液浓度保持恒定。在染毒过程中,注意观察泥鳅状态,将死亡的泥鳅及时捞出。每天少量喂食泥鳅饲料,在实验前一天停止喂食。

在染毒第15、30、45 d时,从各浓度组中随机捞取4条雌性泥鳅进行解剖,取出卵巢,放置于-80 ℃冰箱中保存。

1.2.2 SOD、CAT、CYP450酶活性测定

将剖取的卵巢组织称重记录,按照比例0.1 g卵巢:900 μL生理盐水加入预冷为4 ℃的生理盐水进行处理,放入灭菌的离心管中研磨匀浆,整个过程在冰盒中进行以减少温度对酶活性的影响。研磨后取匀浆液2 mL在无酶无菌离心管中,以3 000 r/min转速离心,20 min后取上清,分别采用邻苯三酚自氧法、钼氨酸比色法、ELISA试剂盒检测SOD、CAT、CYP450酶活性[23-24]。SOD活性定义为:每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U)。CAT活性定义为:每毫克组织蛋白每秒钟分解1 μmol的H_2O_2的量为一个活力单位。

1.2.3　*Cu/Zn-sod*、*cat3* 基因表达量检测

采用 qRT-PCR 方法检测 *Cu/Zn-sod*、*cat3* 两种基因 mRNA 表达量，选择 *β-actin* 基因作为相对定量内参。依据 GeneBank 数据库及本实验室前期测的泥鳅基因序列，设计用于 PCR 扩增的特异性引物。上述引物由上海生工生物工程股份有限公司（西安分部）合成。引物序列下表 1 所示。

表 1　特异性引物

基因	引物序列（5′-3′）
cat3-F	CATTGCGGATGCCGACCT
cat3-R	CCAAGGACAACAACCTT
Cu/Zn-sod-F	TGCTCACTTCAACCCATTT
Cu/Zn-sod-R	TTGGCAACACCACTTTCA
β-actin-F	TCCATCGTCCACAGAAAG
β-actin-R	AAATGTCCTCCGCAAGCT

注：F 代表上游引物，R 代表下游引物。

利用 Trizol 试剂盒提取卵巢组织总 RNA，检测其 RNA 的浓度与质量。采用 Evo M-MLV 反转录试剂盒，先去除 gDNA，再通过反转录得到 cDNA。以该反转录产物为模板，采用 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒进行后续的荧光定量 PCR 实验。以 *β-actin* 作为相对定量内参，运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *Cu/Zn-sod*、*cat3* 的 mRNA 相对表达量，计算公式为：

$$2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-\left[\frac{(\text{处理组Ct值} - \text{处理组内参Ct值})}{(\text{对照组Ct值} - \text{对照组内参Ct值})}\right]}。$$

1.3　数据处理

用 SPSS 26.0 做统计分析，统计结果用 Origin 软件制图，用 Microsoft Excel 2003 处理数据。数据用平均数±标准差（Mean±SD）表示，分析各浓度组与对照组的差异显著性，差异性检验采用单因素方差分析（ANOVA）和 Tukey's HSD 多重比较检验。$P<0.05$ 时，具有显著性差异。

2　结果与分析

2.1　镉胁迫下泥鳅卵巢 SOD 活性变化

如图 1 所示，随镉浓度增加，各浓度组 SOD 活性呈先上升后下降趋势。与对照组相比，镉胁迫 15、30、45 d 时，4 个浓度组活性均显著高于对照组；胁迫 30 d 时，0.5 mg/L 浓度组活性最高，5 mg/L 浓度组活性下降；胁迫 45 d 时，0.05 mg/L 浓度组活性最高。

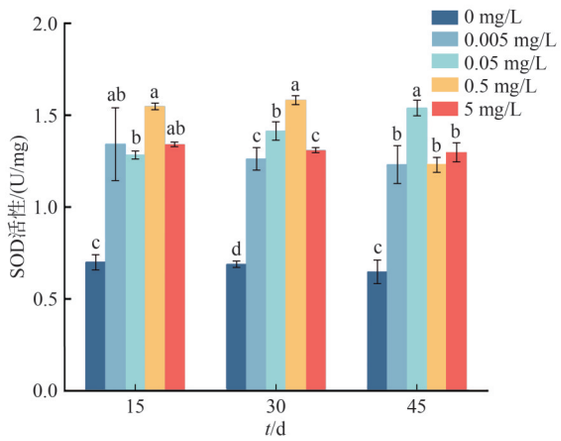


图 1　重金属镉对泥鳅卵巢 SOD 活性的影响

注：图中同一指标标注不同字母表示差异显著（$P<0.05$），相同字母表示差异不显著（$P>0.05$）；下同。

2.2　镉胁迫下泥鳅卵巢 CAT 活性变化

如图 2 所示，与对照组相比，胁迫 15 d 时，0.005 mg/L、0.05 mg/L 浓度组活性均显著高于对照组，其中 0.05 mg/L 浓度组活性达最高值；胁迫 30 d 时，0.005 mg/L 浓度组活性升至最高且显著高于对照组；胁迫 45 d 时，0.5 mg/L 浓度组活性显著高于对照组并活性最高，其余浓度组显著低于对照组。

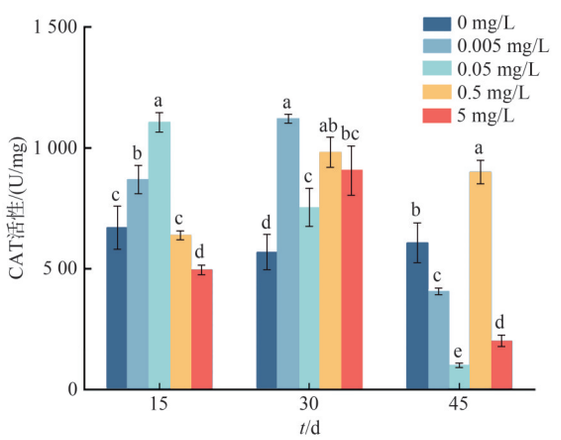


图 2　重金属镉对泥鳅卵巢 CAT 活性的影响

2.3　镉胁迫下泥鳅卵巢 CYP450 活性变化

图 3 中，在胁迫时长达到 30 d 时，0.05 mg/L 浓度组在 15、30、45 d 时浓度组 CYP450 活性均显著高于对照组。0.5 mg/L 浓度组在 15、45 d 时 CYP450 活性最高，而 5 mg/L 浓度组 CYP450 活性出现了下降趋势；胁迫 30 d 时，0.05 mg/L 浓度组活性活性处于最高状态，且显著高于对照组，0.5 mg/L 和 5 mg/L 浓度组 CYP450 活性下降。CYP450 活性呈现先升高后降低的趋势。

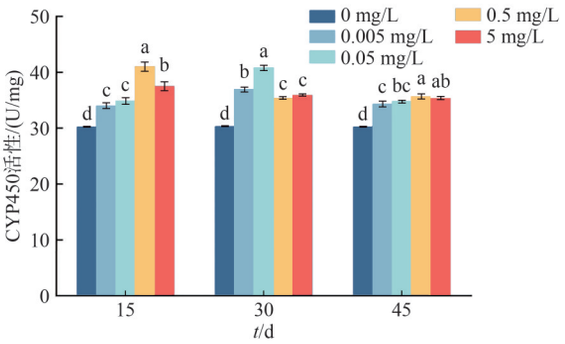


图3 重金属镉对泥鳅卵巢CYP450活性的影响

2.4 镉胁迫下泥鳅卵巢 *Cu/Zn-sod* 基因表达量变化

图4中,与对照组相比,胁迫15 d时,4个浓度组 *Cu/Zn-sod* 基因表达量均显著增加;胁迫30 d时,*Cu/Zn-sod* 基因在0.005 mg/L浓度组的表达量达最高值,随后0.05 mg/L、0.5 mg/L、5 mg/L浓度组表达量下降;胁迫45 d时,0.5 mg/L浓度组基因表达量最高,0.5 mg/L浓度组表达量下降。

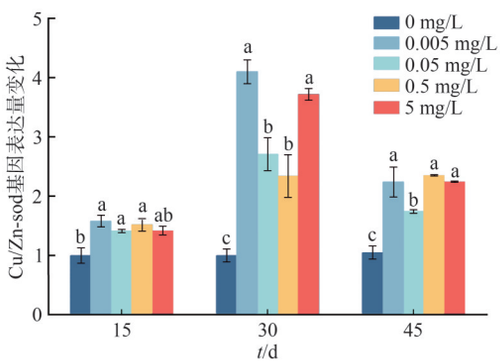


图4 重金属镉对泥鳅卵巢 *Cu/Zn-sod* 基因表达量的影响

2.5 镉胁迫下泥鳅卵巢 *cat3* 基因表达量变化

如图5所示,与对照组相比,胁迫15、30、45 d时,各浓度组均显著高于对照组。胁迫15 d时,5 mg/L浓度组 *cat3* 基因表达量最高;胁迫30 d时,0.005 mg/L浓度组表达量达最高值,0.05 mg/L、0.5 mg/L和5 mg/L浓度组表达量下降;胁迫45 d时,0.5 mg/L浓度组 *cat3* 基因表达量最高。

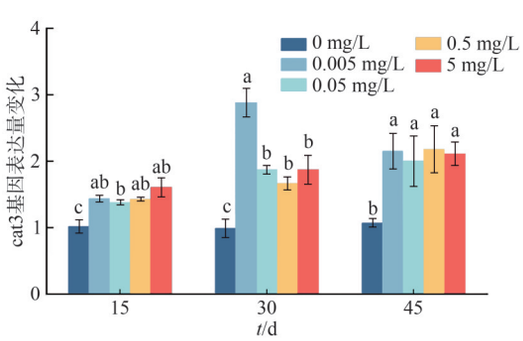


图5 重金属镉对泥鳅卵巢 *cat3* 基因表达量的影响

3 讨论

3.1 镉对雌性泥鳅抗氧化酶及CYP450活性的影响

结合本研究不同镉浓度对泥鳅卵巢SOD、CAT活性的影响差异,本实验设置的镉浓度梯度(0.005、0.05、0.5、5 mg/L)与水环境镉污染实际特征及生态风险评估需求明确相关[25]。最低浓度0.005 mg/L与我国《渔业水质标准》GB 11607-89镉限值(≤0.005 mg/L)一致,可评估达标水质对泥鳅卵巢的潜在影响,0.05 mg/L可模拟轻度污染场景,0.5 mg/L为水生生物亚慢性毒性研究典型浓度,5 mg/L用于解析高剂量镉急性毒性机制[26]。此浓度梯度可清晰揭示镉对泥鳅卵巢氧化毒性的剂量效应关系,为不同污染程度水体鱼类繁殖风险评估提供科学依据。

重金属暴露会引起鱼类体内产生大量的活性氧和自由基,进而对机体造成氧化损伤,在抵御氧化损伤过程中,CAT和SOD是抵抗活性氧自由基的主要酶类,对维持鱼体内环境稳定起关键作用[1]。MENG等[27]探究灭多威可对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)精巢组织的作用时发现低剂量灭多威可SOD活性产生诱导效应,高剂量则SOD活性受到抑制。有研究表明镉可通过竞争或非竞争替代作用,置换出细胞内金属依赖性酶类的活性辅助因子(金属离子),镉的替代会降低酶的活性[28]。本研究发现镉暴露下泥鳅卵巢SOD活性在15、30、45 d呈先升高后下降趋势,这可能是由于低浓度镉诱导卵巢细胞生成大ROS,卵巢组织通过上调SOD活性增强超氧阴离子(O_2^-)清除能力,激活抗氧化系统以应对氧化损伤,这与镉暴露使斑马鱼卵巢Cu/Zn-SOD活性升高的结论相符[29]。镉随暴露时间延长,镉通过竞争SOD活性中心金属辅基Cu和Zn、氧化酶蛋白巯基破坏其功能,导致SOD活性下降。研究表明,在镉胁迫下中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)卵巢CAT活性呈先升后降趋势[30]。本研究中,镉胁迫15、30 d时低浓度镉对CAT有诱导作用,而高浓度则会产生抑制作用,这可能是由于氧化过程中产生的应激反应,CAT活性在短时间内升高,但随着胁迫时间延长和镉浓度升高,大量的ROS被诱发产生而不能被及时清除,则酶的合成途径被阻断或者其亚单位间的装配发生了改变,从而导致CAT的活性开始下降直至被抑制[31-32],也可能是由于镉竞争CAT活性中心金属辅基Fe^{3+},从而使CAT的活性中心缺乏Fe^{3+},酶活性随之下降。

CYP450在外源物质的代谢和解毒方面起重要作用。苯并(a)芘暴露下蚯蚓(*Earthworm*)内脏CYP450含量以诱导效应为主[33]。恩诺沙星可以增加猪肝微粒体的CYP450含量[34]。目前对CYP450的研究主要集中在肝脏等内脏中,而对鱼类性腺氧化损伤效应未见报道。本研究中,镉胁迫15、30、45 d时卵巢CYP450活性呈先升高后降的趋势,这可能是由于短期低浓度镉暴露可能通过激活CYP450酶系统增强外源污染物代谢能力,试图通过上调CYP450活性,加速镉的代谢解毒进程,从而维持体内氧化-抗氧化平衡。随着镉浓度和暴露时间的增加,金属离子直接与CYP450蛋白的血红素基团结合,阻断电子转移,导致酶活性受抑[35]。也可能是由于过高浓度或过长时间的镉胁迫会破坏CYP450正常功能,扰乱氧化代谢途径,导致ROS等氧化产物积累,引发氧化损伤,进而破坏卵巢组织。后续可深入探究CYP450活性变化与氧化损伤相关的分子机制。

3.2　镉对雌性泥鳅抗氧化酶相关基因表达的影响

*Cu/Zn-sod*作为调控SOD的基因,其转录水平表达的改变可调控SOD活性的变化,进而反映出生物体的毒性变化趋势[36]。*cat3*作为调控CAT酶活性的基因亚型之一,其转录水平表达的变化与CAT活性的改变也紧密相关[37]。镉离子暴露导致斑马鱼卵巢*Cu/Zn-SOD*的表达显著上升[38]。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor，Nrf2)作为调控抗氧化反应的关键转录因子,可借助与抗氧化剂反应元件(ARE)在靶基因增强子区域进行结合的方式,实现对基因转录的控制。有研究表明在Zn^{2+}胁迫下,花斑裸鲤(*Gymnocypris ecklon*)鳃、肾脏和肝脏核转录因子Nrf2上调,导致下游靶基因*Cu/Zn-sod*的表达量升高,SOD活性也相应升高[39]。本研究中,*Cu/Zn-sod*基因相对表达量与SOD活性的改变基本一致,15、30、45 d时,0.005 mg/L、0.05 mg/L浓度组镉暴露下*Cu/Zn-sod*基因表达上调,SOD活性也相应升高,但在5 mg/L浓度组镉暴露下,两者均呈现下降趋势。这可能是由于镉诱导细胞产生轻度氧化应激,激活Nrf2-ARE信号通路,进而上调*Cu/Zn-sod*基因的转录,导致SOD活性显著提升[40]。随镉浓度升高或胁迫时间延长,过量ROS可能损伤*Cu/Zn-sod*基因转录调控区(如启动子甲基化)或降解mRNA抑制基因表达,导致SOD活性下降,损伤卵巢并可能影响生殖功能。氟化钠会显著下调小鼠睾丸组织*cat3*表达,抑制CAT活性[41]。在对花斑裸鲤鳃和肝脏的研究中发现Nrf2微量上调正是借助细胞信号通路,使得*CAT*的表达量也出现了明显上调的现象[39]。本研究中*cat3*基因表达量与CAT活性变化基本一致,在一定时间和浓度内,*cat3*基因表达量均高于对照组,表明镉通过诱导*cat3*基因表达对CAT活性产生影响,这可能也是由于镉暴露激活抗氧化酶系统,通过Nrf2-ARE信号通路,上调*cat3*基因表达量,进而提高CAT活性。随着时间延长和镉浓度升高,镉强烈抑制线粒体电子传递链,导致电子无法正常传递至接受体,而是传递至氧原子,从而产生大量ROS,抑制Nrf2活性,导致*cat3*基因转录受阻,CAT活性随之下降,引起机体氧化损伤。有趣的是,当镉胁迫45 d时,*cat3*基因表达量与CAT活性出现不一致的现象,这可能是由于这类抗氧化酶由多个亚型基因编码所致,或者与转录和翻译之间的时滞效应以及翻译后的修饰有关[42-43]。因此,后续研究可聚焦Keap1-Nrf2-ARE通路关键分子与相关抗氧化酶基因转录活性的关联性验证,同时结合转录组筛选通路上下游潜在调控因子,并通过通路抑制剂干预实验,明确该通路在镉诱导卵巢氧化损伤中的核心调控作用,进一步完善重金属生殖毒性的分子机制网络。

4　结论

在镉胁迫下,一定剂量镉浓度对泥鳅卵巢SOD和CAT的活性有明显诱导作用,而高镉浓度反而有一定的抑制作用;一定剂量镉浓度可增强泥鳅卵巢CYP450活性,高浓度镉会产生氧化毒性进一步降低CYP450活性。因此,镉对泥鳅卵巢可产生明显的氧化毒性效应。在镉胁迫下,*Cu/Zn-sod*和*cat3*基因表达量变化与SOD、CAT活性变化趋势基本一致,且对两种酶活性影响显著。一定浓度镉胁迫一定时间可通过诱导*Cu/Zn-sod*、*cat3*基因表达来增强SOD、CAT活性,从而激活机体的抗氧化系统以应对氧化损伤。

参考文献:

[1]高金伟,吴浩,李绍明,等. 氨氮和镉胁迫对芙蓉鲤鲫抗氧化系统和免疫机能的影响[J]. 水生生物学报,2022,46(4):448-456.

[2]MOON S, LEE J, YU J M, et al. Association between environmental cadmium exposure and increased mortality in the U. S. National Health and Nutrition Examination Survey (1999-2018)[J]. Journal of Exposure Science & Environmental

Epidemiology,2023,33(6):874-882.
[3]韩云艳.镉暴露对斑马鱼幼鱼发育和性别分化的毒性效应[D].太原:山西大学,2024.
[4]LIU Y N, CHEN Q Q, LI Y Q, et al. Toxic effects of cadmium on fish[J]. Toxics,2022,10(10):622.
[5]肖衍,靖静,武娜,等.铜、镉及其联合毒性对唐鱼肝脏CYP3A基因表达影响[J].湖北农业科学,2013,52(10):2439-2442.
[6]邢胜男.斑马鱼胚胎发育毒性试验评价重金属联合生物毒性[D].上海:上海师范大学,2016.
[7]SELLIN M K, KOLOK A S. Cadmium exposures during early development: Do they lead to reproductive impairment in fathead minnows? [J]. Environmental Toxicology and Chemistry,2006,25(11):2957-2963.
[8]SOARES S S, MARTINS H, GUTIÉRREZ-MERINO C, et al. Vanadium and cadmium *in vivo* effects in teleost cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers[J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology,2008,147(2):168-178.
[9]吴思英.镉的生殖毒性流行病学研究进展[J].现代预防医学,2002,29(3):396-397.
[10]刘洋.镉暴露对斑马鱼卵巢的毒性效应及机理研究[D].太原:山西大学,2017.
[11]王素静.磷酸三(1,3-二氯异丙基)酯在辽东湾海洋生物中的累积、毒性和生态风险[D].长春:吉林大学,2024.
[12]纪凯.重金属铜、镉单独或联合暴露对乌苏里白鲑(*Coregonus ussuriensis* berg)的毒性效应研究[D].上海:上海海洋大学,2023.
[13]雷忻,屈蓉,杜妙柔,等.镉胁迫对泥鳅氧化毒性及肝组织损伤效应[J].延安大学学报(自然科学版),2023,42(2):65-69.
[14]刘洋,王兰,孙敏.慢性镉暴露对斑马鱼卵巢组织的氧化损伤和子代发育的母源影响[J].生物技术通讯,2017,28(3):301-307.
[15]PODGORSKI M N, AKTER J, CHURCHMAN L R, et al. Engineering peroxygenase activity into cytochrome P450 monooxygenases through modification of the oxygen binding region[J]. ACS Catalysis,2024,14(10):7426-7443.
[16]ESTEVES F, RUEFF J, KRANENDONK M. The central role of cytochrome P450 in xenobiotic metabolism-a brief review on a fascinating enzyme family [J]. Journal of Xenobiotics,2021,11(3):94-114.
[17]VEITH A, MOORTHY B. Role of cytochrome p450s in the generation and metabolism of reactive oxygen species[J]. Current Opinion in Toxicology,2018,7:44-51.
[18]邓爱萍.弓背青鳉基因组及细胞色素P450基因家族分析[D].湛江:广东海洋大学,2023.
[19]ZHANG W X, CHEN W F, LI Z F, et al. Identification and characterization of three new cytochrome P450 genes and the use of RNA interference to evaluate their roles in antioxidant defense in *Apis cerana cerana* Fabricius [J]. Frontiers in Physiology,2018,9:1608.
[20]DERAKHSHESH N, SALAMAT N, MOVAHEDINIA A, et al. Exposure of liver cell culture from the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, to benzo [a] *Pyrene* and light results in oxidative damage as measured by antioxidant enzymes[J]. Chemosphere,2019,226:534-544.
[21]国家环境保护局.渔业水质标准:GB 11607—1989[S].北京:中国标准出版社,1990.
[22]李政,何欢祺,张天旭,等.典型底栖生物泥鳅的急性毒性物种敏感性评价[J].生态与农村环境学报,2019,35(3):392-397.
[23]马万里.菲对泥鳅幼体的氧化毒性[D].延安:延安大学,2019.
[24]王琪.镉对雄性泥鳅HPG轴生殖内分泌干扰及cyp19a甲基化调控[D].延安:延安大学,2024.
[25]中华人民共和国生态环境部.淡水水生生物水质基准技术报告—镉[R].北京:中国环境科学出版社,2020.
[26]广西壮族自治区高级人民法院.(2013)河市民初字第1号广西龙江河镉污染案判决书[EB/OL]. https://www.chinacourt.cn/index.shtml.
[27]MENG S L, CHEN X, SONG C, et al. Effect of chronic exposure to pesticide methomyl on antioxidant defense system in testis of *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) and its recovery pattern[J]. Applied Sciences,2021,11(8):3332.
[28]王秋实,李霞,李丽萍.镉对中间球海胆性腺脂质过氧化的影响[J].大连水产学院学报,2007,22(4):270-272.
[29]蔡荣,郭赛男,郑家浪.Cd^{2+}暴露对斑马鱼肝脏和卵巢抗氧化和免疫系统的影响及蓝LED光预暴露的保护作用[J].生态毒理学报,2018,13(1):169-178.
[30]陈润琦,叶方源,林锦煌,等.镉、汞暴露在中华绒螯蟹卵巢中的富集及其氧化应激反应[J].水生生物学报,2019,43(3):554-562.
[31]林灵,高玲玲,徐凯云,等.联苯菊酯对褐菖鲉卵巢脂质过氧化的诱导[J].宁德师范学院学报(自然科学版),2015,27(4):398-402.
[32]ZHENG J L, YUAN S S, LI W Y, et al. Positive and negative innate immune responses in zebrafish under light emitting diodes conditions[J]. Fish & Shellfish Immunology,2016,56:382-387.
[33]王磊,宋玉芳,张薇,等.蚯蚓(*Eisenia fetida*)细胞色素P450及抗氧化酶系对环境浓度苯并(a)芘的响应[J].农业环境科学学报,2009,28(2):337-342.

[34]牟月. 恩诺沙星对猪肝蛋白质表达及CYP450与抗氧化系统的影响研究[D]. 上海：上海交通大学，2017.
[35]GUENGERICH F P. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by drugs-molecular basis and practical applications [J]. Biomolecules & Therapeutics，2022，30(1)：1-18.
[36]凌晨，张美东，沙航，等. 低氧胁迫对鲢抗氧化酶活性及SODs基因表达的影响[J]. 淡水渔业，2021，51(3)：53-59.
[37]刘品，王文博，罗然丹，等. 硫辛酸对大口黑鲈氧化应激相关酶活性的影响[J]. 水产养殖，2021，42(2)：7-12.
[38]蔡荣. 蓝LED适应对缓解Cd^{2+}胁迫斑马鱼抗氧化能力和非特异性免疫的影响[D]. 舟山：浙江海洋大学，2017.
[39]冉凤霞，金文杰，端智卓玛，等. Zn^{2+}胁迫对花斑裸鲤抗氧化关键基因表达和抗氧化酶活性的影响[J]. 大连海洋大学学报，2021，36(3)：406-413.
[40]张美东，凌晨，沙航，等. 低氧-复氧胁迫对鲢抗氧化酶活性及Cu/Zn-SOD和Mn-SOD基因表达的影响[J]. 水生生物学报，2022，46(4)：498-506.
[41]SUN Z L，LI S J，GUO Z Z，et al. Effects of fluoride on SOD and CAT in testis and epididymis of mice [J]. Biological Trace Element Research，2018，184(1)：148-153.
[42]HOU J，LI L，XUE T，et al. Damage and recovery of the ovary in female zebrafish i. p. -injected with MC-LR [J]. Aquatic Toxicology，2014，155：110-118.
[43]ZHENG J L，ZENG L，SHEN B，et al. Antioxidant defenses at transcriptional and enzymatic levels and gene expression of Nrf2-Keap1 signaling molecules in response to acute zinc exposure in the spleen of the large yellow croaker Pseudosciaena crocea [J]. Fish & Shellfish Immunology，2016，52：1-8.

[责任编辑　李晓霞]

Effects of Cadmium exposure on antioxidant enzymes and gene expression in the ovaries of *Misgurnus anguillicaudatus*

ZHANG Xinyu#，ZHANG Siying#，WANG Qi，MING Yan，CAI Yun，LEI Xin*

（School of Life Sciences，Yan'an Key Laboratory of Ecological Restoration，Yan'an University，Yan'an 716000，China）

Abstract：To explore the oxidative toxic effects of cadmium（Cd）on the gonads of female *Misgurnus anguillicaudatus*，the *Misgurnus anguillicaudatus* was used as the test animal. Subacute toxicity methods were adopted to expose them to four Cd concentration groups of 0.005，0.05，0.5 and 5 mg/L for 15，30 and 45 days respectively. The superoxide dismutase（SOD）activity in the ovarian tissue was detected by the pyrogallol autoxidation method，the catalase（CAT）activity was detected by the molybdate colorimetric method，and the cytochrome P450 activity was detected by the ELISA kit. The relative expression levels of the *Cu/Zn-sod* and *cat3* genes were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The results showed that the SOD activity in the ovaries was related to the Cd concentration，showing a trend of first increasing and then decreasing. The SOD activity was significantly increased in the 0.005 mg/L Cd concentration group after 15 days of exposure，and the highest SOD activity was observed in the 0.5 mg/L concentration group after 30 days of exposure，followed by a downward trend. Under Cd stress，the CAT activity showed a trend of first increasing and then decreasing. The highest CAT activity was observed in the 0.05 mg/L concentration group after 15 days of exposure，and the highest activity in the 0.005 mg/L concentration group was observed after 30 days of exposure. After 45 days of exposure，the highest activity was observed in the 0.5 mg/L concentration group. The CYP450 activity in all concentration groups was significantly higher than that of the control group after 15，30 and 45 days of Cd exposure. The expression levels of the cat3 gene in the Cd stress groups were significantly higher than those in the control group. After 15，30 and 45 days of Cd stress，the expression levels of the *Cu/Zn-sod* gene in the 0.005 mg/L concentration group were significantly increased. The above results indicate that a certain dose of Cd can cause obvious oxidative toxic effects on the ovaries of loach. Low-dose Cd can activate SOD，CAT and CYP450 to cope with oxidative damage，while higher doses can disrupt enzyme activity or exceed the tolerance threshold and inhibit enzyme activity. Cd can increase the activities of SOD and CAT by inducing the transcriptional expression levels of the *Cu/Zn-sod* and *cat3* genes.

Key words：Cadmium；*Misgurnus anguillicaudatus*；ovary；antioxidant enzymes；cytochrome P450；gene expression