

文章编号: 1674-5566(2011)06-0808-06

低氧和高氧对大菱鲆幼鱼红细胞核异常及氧化抗氧化平衡的影响

吴志昊^{1,2}, 尤 锋¹, 王英芳³, 文爱韵^{1,2}, 马得友^{1,2}, 徐永立¹, 张培军¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039; 3. 青岛科技大学 化工学院, 山东 青岛 266042)

摘 要: 研究了极低氧(0.2、1.0、2.0 mg/L)、低氧(3.0、5.0 mg/L)和高氧(11.0、14.0 mg/L)处理28 d期间,大菱鲆幼鱼外周血红细胞核异常以及血清超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活力和肝脏丙二醛(MDA)含量等氧化抗氧化平衡中参数的变化。结果显示,极低氧条件下,0.2、1.0和2.0 mg/L组的实验鱼分别在处理2 h、1 d和2 d内全部死亡,其余各组则没有出现死亡现象。溶解氧(DO)对大菱鲆核异常包括微核及总核异常率的影响表现出明显的时间和剂量累积效应,到28 d时才在5.0、14.0 mg/L组和对照组中(正常充气,约7.0 mg/L)观察到微核现象。恢复正常充氧14 d后,高氧组和对照组中仍有微核现象出现。2 h时极低氧组 SOD 活力较高。其他各处理时间时,SOD 活力在各组之间差异显著。各组 CAT 活力在2 h时未发生明显变化,在7、28和42 d时差异显著($P < 0.05$)。极低氧组大菱鲆肝脏 MDA 含量较低,低氧组和高氧组 MDA 含量均随着处理时间的延长逐渐降低。恢复后低氧组 MDA 含量显著升高($P < 0.05$)。研究还发现,对照组大菱鲆也会受到过氧化的胁迫作用,而5.0 mg/L组的总核异常率和所测氧化还原指标在整个实验期间均未发生明显变化。

研究亮点: 首次对从极低氧到高氧的溶氧浓度范围下大菱鲆幼鱼红细胞核异常的变化进行了研究,结合氧化抗氧化平衡的相关指标的测定,全面分析了不同溶氧条件下大菱鲆的氧化抗氧化平衡状态和过氧化损伤情况,为大菱鲆的养殖中最适溶氧浓度的确定提供了理论依据。

关键词: 大菱鲆幼鱼; 溶解氧; 核异常; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 丙二醛

中图分类号: S 917

文献标志码: A

水中的溶解氧(DO)浓度是鱼类养殖中重要的限制因子之一^[1]。随着鱼类工厂化养殖的发展,养殖密度逐渐增大,普通的充气方式往往不能满足养殖中鱼类对溶解氧的需要,使这些鱼处于缺氧的状态。因此很多工厂化养殖企业通过充纯氧来提高水中的DO,这种方式常常会使养殖水体中的DO浓度达到过饱和水平^[2]。研究表明,缺氧与氧过饱和均可导致鱼体内氧化抗氧化平衡改变,使超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶和抗氧化剂组成的抗氧化系统发生作用;并会引发脂质过氧化损伤,形成丙二醛(MDA)等氧化产物^[3];或造成DNA损伤,致使微核和核异常等现象出现^[4]。目前缺氧与

氧过饱和对鱼类影响的研究主要集中在呼吸、摄食、生长和代谢等方面。如低DO浓度下,欧洲海鲈(*Dicentrarchus labrax*)的摄食减少、生长减慢^[5],黄尾平口石首鱼(*Leiostomus xanthurus*)鳃组织中超氧化物歧化酶和与无氧代谢有关的乳酸脱氢酶的活力也会上升^[6]。同样,过饱和的DO会降低大西洋鲑(*Salmo salar*)的呼吸频率,使其体内酸碱平衡发生紊乱^[1],并使金鱼(*Carassius auratus*)肝脏等组织中脂质过氧化物含量升高^[7],还可能引起虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)鳃的组织结构发生改变^[8]。但目前为止,对于缺氧情况下鱼类核异常和氧化抗氧化平衡变化的研究还较少,过饱和DO对鱼类微核和核异常的影

收稿日期: 2011-04-03 修回日期: 2011-09-12

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAD13B04)

作者简介: 吴志昊(1983—),男,博士,研究方向为水产动物遗传育种及生理学研究。E-mail: wzhwhz0123@163.com

通讯作者: 尤 锋, E-mail: youfeng@qdio.ac.cn

响也未见报道。

大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 是我国重要的海水养殖鱼类,多采用工厂化养殖的方式进行高密度养殖,在其养殖过程中也会遇到缺氧和氧过饱和的情况。目前相关研究主要集中在 DO 对大菱鲂呼吸、摄食和生长的影响等方面^[2,5]。而不同浓度的 DO 对大菱鲂氧化抗氧化平衡以及细胞核形态学影响的研究还未见报道。本文通过研究大菱鲂幼鱼红细胞核异常以及血清 SOD、CAT 活力和肝脏 MDA 含量在极低、低和高 DO 浓度下的变化,系统评估 DO 对大菱鲂的氧化损伤和氧化抗氧化平衡的影响,以期为大菱鲂养殖中最适 DO 浓度的确定提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与培育

大菱鲂幼鱼购自烟台百佳水产养殖公司,暂养 7 d 后开始实验,初始体重为 (16.2 ± 2.6) g。整个实验期间,采用自然光照,水温、pH 和盐度分别为 $17 \sim 20$ °C, $7.4 \sim 7.8$ 和 35。每天投喂适口的大菱鲂饵料(山东升索渔用饲料研究中心)2 次,吸底、换水各 2 次。

1.2 实验设计

实验设 0.2、1.0、2.0 mg/L 3 个极低氧组,3.0、5.0 mg/L 2 个低氧组和 11.0、14.0 mg/L 2 个高氧组。各组通过向水中充入纯氧(高氧组)或氮气(极低氧和低氧组)使 DO 浓度达到预设值。对照组为正常充气组(DO 浓度在 7.0 mg/L 左右),所有实验组及对照组均设置了 1 个重复。每组 21 尾鱼,养殖在 80 L 水体的水族箱中。实验持续 28 d 后,进行 14 d 的恢复实验(正常充气)。各组实验中实际 DO 浓度见表 1。

1.3 血液及肝脏样品采集

在实验的第 2 小时及第 7、28、42 天,每组随机抽取实验鱼 3 条。用纱布擦干后,进行尾静脉采血。采血后,解剖取肝脏组织, -80 °C 保存备用。

1.4 血涂片、血清及肝脏样品制备

血涂片:取少许血液用肝素钠抗凝后涂在洁净的载玻片上。待血液涂片自然晾干 12 h 后,用无水乙醇固定 30 min,5% Giemsa 染液染色 20 min,蒸馏水冲洗,晾干。

血清:其余血液,放入 1.5 mL 离心管中,4 °C

静置 6 h,3 000 r/min 离心 5 min 后,取上清 -20 °C 保存备用。

表 1 各实验组及对照组溶解氧浓度

Tab.1 The dissolved oxygen concentration in experiment and control groups

| DO 水平 | DO 浓度/(mg/L) | | |
|-------|--------------|------------------|-----------------|
| | 预设浓度 | 实测浓度 (处理期间) | 实测浓度 (恢复期间) |
| 极低氧 | 0.2 | 0.19 ± 0.01 | - |
| | 1.0 | 1.12 ± 0.14 | - |
| | 2.0 | 2.03 ± 0.17 | - |
| 低氧 | 3.0 | 2.95 ± 0.21 | 7.01 ± 0.15 |
| | 5.0 | 5.27 ± 0.35 | 6.85 ± 0.17 |
| 对照 | 正常充气 | 6.96 ± 0.36 | 7.13 ± 0.21 |
| 高氧 | 11.0 | 11.33 ± 0.47 | 7.05 ± 0.17 |
| | 14.0 | 14.30 ± 0.41 | 6.98 ± 0.23 |

注:数据为 $\bar{x} \pm SD$,下同。

肝脏:将肝脏组织用 0.9% 生理盐水冲洗、滤纸吸干后进行称重,然后按肝脏和生理盐水质量比 1:9 加入 0.9% 的生理盐水,用玻璃匀浆器研磨制备 10% 肝脏匀浆,4 °C 冷冻离心(3 000 r/min)10 min,取上清液加入 0.9% 的生理盐水配成 1% 的肝脏匀浆样品,立即用于分析。

1.5 血细胞核异常分析

将血涂片置于 Leica 显微镜油镜(10 × 100)下观察。每尾鱼观察 1 000 个红细胞,分别记录微核和核异常细胞数。红细胞及细胞核形态正常与否的判断参照 JIRAUNGKOORSKUL 等的方法^[9],正常红细胞为椭圆形,具细胞核;微核是边缘清晰的小核,为圆形或椭圆形,直径小于主核的 1/3;核异常包括核质外凸、核质内凹和双核等。统计微核细胞与总核异常细胞(包括微核细胞)的细胞数目,结果以千分率(‰)表示。

1.6 酶活力及 MDA 含量检测

采用购自南京建成生物公司的检测试剂盒对血清中 SOD 和 CAT 活力及肝脏中 MDA 含量进行测定。按照试剂盒中的说明,血清 SOD 活力的测定是采用黄嘌呤氧化酶法,血清 CAT 活力是用钼酸铵显色法测定,而血浆 MDA 含量则用硫代巴比妥酸法测定,相应操作步骤参照试剂盒说明书。

1.7 数据统计

应用 SPSS 15.0 进行单因素方差分析,并采用 Duncan 多重比较法分析实验数据的差异显著性($P < 0.05$)。数据以平均值 \pm 标准差来表示。

2 结果

2.1 不同 DO 水平对大菱鲆生长、存活的影响

实验期间,极低氧条件下 0.2、1.0、2.0 mg/L 组分别在 2 h、1 d、2 d 内全部死亡,其余各实验组与对照组的大菱鲆均未出现死亡现象,其游泳与摄食也未出现异常。实验组大菱鲆幼鱼的生长与对照组相比未观察到明显差异。

2.2 不同 DO 水平对大菱鲆外周血红细胞核异常的影响

红细胞血液涂片的显微观察结果(图 1)发现,极低氧组总核异常细胞率在 2 h 时略低于对照组;而低氧组在整个实验期间与对照组并无显著差异;恢复 14 d 后,5.0 mg/L 组与 28 d 时相比略有上升。高氧组总核异常率在 2 h 和第 7 天时与对照组无显著差异,而在第 28 天时高于对照组,其中 14.0 mg/L 组与对照组差异显著($P < 0.05$);恢复 14 d 后,各组均有所下降,但仍略高于对照组。

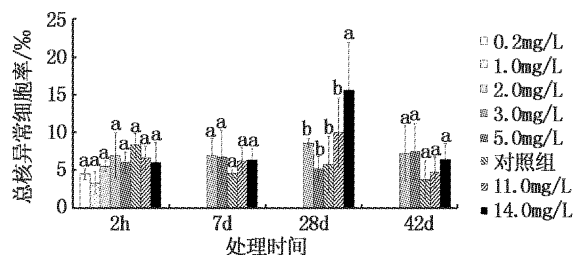


图 1 不同处理时间各实验组及对照组大菱鲆红细胞的总核异常率

Fig. 1 Frequencies of total nucleus anomalies in *Scophthalmus maximus* of experiment and control groups

注:1. 同一处理时间相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$); 2. 2 h、7 d、28 d 为各溶氧浓度组的不同处理时间;42 d 为各组处理 28 d 后,恢复正常充氧的第 14 d,为合计时间。下同。

各实验组及处理组在第 2 小时和第 7 天均未观察到微核现象。处理到第 28 天时,微核现象才在 5.0、14.0 mg/L 组及对照组中被观察到。恢复 14 d 后,在高氧组及对照组中仍观察到微核现象。但在整个实验期间,各组大菱鲆红细胞微核细胞率之间无显著差异(表 2)。

表 2 不同处理时间各实验组和对照组大菱鲆红细胞的微核细胞率

Tab. 2 Frequencies of micronucleus in erythrocytes of *S. maximus* in experiment control groups %

| DO 水平 | 预设浓度/(mg/L) | 处理时间 | | | |
|-------|-------------|------|----|-------------|-------------|
| | | 2h | 7d | 28d | 42d |
| 极低氧 | 0.2 | 0 | - | - | - |
| | 1.0 | 0 | - | - | - |
| | 2.0 | 0 | - | - | - |
| 低氧 | 3.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 0 | 0 | 0.40 ± 0.55 | 0 |
| 对照 | 正常充气 | 0 | 0 | 0.60 ± 0.55 | 0.20 ± 0.45 |
| 高氧 | 11.0 | 0 | 0 | 0 | 0.25 ± 0.50 |
| | 14.0 | 0 | 0 | 1.60 ± 1.52 | 0.60 ± 0.55 |

注:“0”表示未检出微核细胞;“-”表示该组鱼在此处理时间内均已死亡,没有进行检测。

2.3 不同 DO 水平对大菱鲆抗氧化酶活力以及 MDA 含量的影响

抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活力及 MDA 含量的检测结果见图 2。极低氧组 SOD 活力在 2 h 时显著高于对照组($P < 0.05$),而 CAT 活力与对照组无显著差异。低氧组 SOD 活力在 2 h 和第 7 天时与对照组无显著差异,在 28 d 时高于对照组,其中 5.0 mg/L 组与对照组差异显著($P < 0.05$),恢复 14 d 后 SOD 活力又有所下降;低氧组 CAT 活力在 28 d 的处理期间无明显变化,恢复 14 d 后略有下降。高氧组 SOD 活力在 2 h 和第 28 天时与对照组无显著差异,第 7 天时 14.0

mg/L 组 SOD 活力显著低于对照组($P < 0.05$);高氧组 CAT 活力在第 7 天时明显升高,到第 28 天时又下降到初始水平,恢复 14 d 后,14.0 mg/L 组 CAT 活力又有所上升。对于大菱鲆肝脏 MDA 含量,极低氧组在 2 h 时处于较低水平,其中 0.2 和 1.0 mg/L 组 MDA 含量显著低于对照组($P < 0.05$)。低氧组 MDA 含量在第 7 天时显著低于对照组,恢复 14 d 后又显著升高($P < 0.05$)。高氧组中,11.0 mg/L 组 MDA 含量在第 7 天时显著低于对照组($P < 0.05$),而恢复 14 d 后,14.0 mg/L 组 MDA 含量却显著高于对照组($P < 0.05$)。值得注意的是,对照组 CAT 活力在实验

期间有一些波动,在第 7 天时显著上升($P < 0.05$);而对照组 MDA 含量在期间也发生一些变化,第 28 天和恢复 14 d 时与 2 h、第 7 天时相比都有显著降低($P < 0.05$)。

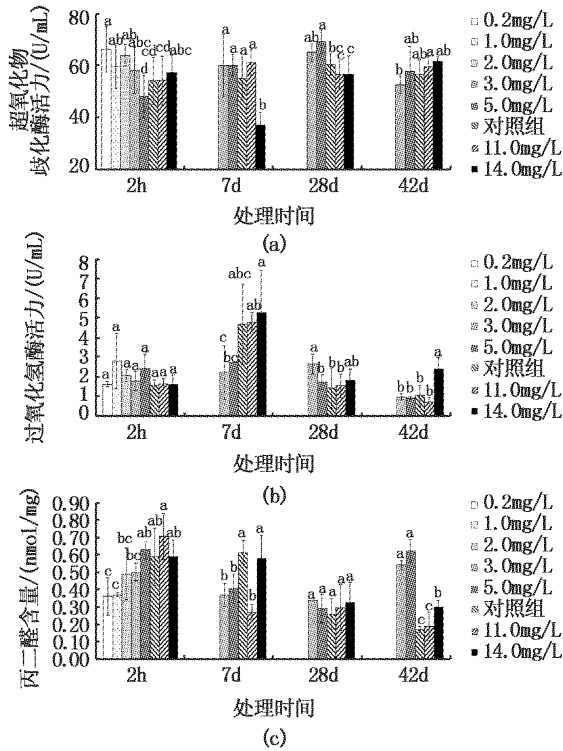


图 2 DO 对大菱鲆幼鱼血清 SOD(a)、CAT(b)活力及肝脏 MDA(c)含量的影响

Fig.2 Effects of DO on SOD (a) and CAT (b) activities in serum and MDA (c) in liver of juvenile turbot (*S. maximus*)

3 讨论

3.1 不同 DO 水平对大菱鲆核异常的影响

微核和核异常主要是由于一些污染物或重金属等外界理化因素作用细胞后导致细胞染色体丢失或断裂产生的^[10]。如甲醇会引起泥鳅红细胞出现核异常现象,且其微核率和核异常率随甲醇浓度和染毒时间增加而增加^[11]。高浓度的铅和长时间的处理也会使黄河鲤红细胞微核率和核异常率上升^[4]。这也说明甲醇和铅等毒性物质对鱼类核异常的影响具有时间和剂量累积效应,当处理时间和浓度超出一定的限度后,这些影响才会表现出来。本研究中,当处理时间达到 28 d 时,微核现象才在低氧组中的 5.0 mg/L 组、高氧组中的 14.0 mg/L 组和对照组中出现,

且微核细胞率随着 DO 浓度的升高而增加。尽管 11.0 mg/L 组未发现微核现象,但总核异常率的结果显示高浓度 DO(11.0 和 14.0 mg/L)长时间的处理(28 d)也会对大菱鲆红细胞核 DNA 造成损伤。因此,低氧和高氧也会像污染物或重金属一样导致大菱鲆出现核异常现象,并且这种影响同样呈现出时间和剂量累积效应。停止处理 14 d 后,高氧组总核异常率恢复到与对照组无显著差异,这说明高浓度 DO 引起的大菱鲆核异常的增加是可以恢复的。而对于极低氧组大菱鲆来说,由于缺氧导致其在较短时间内死亡,因此极低浓度 DO 对大菱鲆核异常的影响尚未表现出来。

3.2 不同 DO 水平对大菱鲆 SOD、CAT 活力以及 MDA 含量的影响

本研究中,SOD 和 CAT 活力在整个实验期间的变化并未表现出明显规律。2 h 时,各实验组和对照组的 SOD 活力间有显著差异,极低氧组显著高于对照组($P < 0.05$)。而各实验组和对照组的 CAT 活力在 2 h 时并未发生明显变化,到第 7 天时才出现显著差异($P < 0.05$)。这说明大菱鲆 SOD 和 CAT 活力对 DO 变化的响应存在差异,SOD 比较迅速,而 CAT 则有一定的滞后。SOD、CAT 作为氧化抗氧化平衡中的关键酶,其活力的上升往往意味着鱼体受到了过氧化的胁迫,而这种胁迫一般是由于体内过多的氧自由基导致的^[6]。因此,SOD 和 CAT 活力对不同浓度 DO 响应速度的差异可能与体内氧自由基的代谢途径有关:SOD 是生物体内唯一以自由基为底物的酶,催化超氧阴离子发生歧化反应,转变为 H_2O_2 和 O_2 ^[12]。随后由 CAT 催化 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ^[13]。研究发现,苯并芘等化学物质同样会诱导大弹涂鱼体内产生过量的自由基,这些自由基在 3 d 内就会使大弹涂鱼肝脏 SOD 活力显著增加($P < 0.05$),而对 CAT 活力无明显影响^[14],这与本文结果十分相似。MDA 是自由基攻击膜不饱和脂肪酸的产物,其含量能够反映细胞受到过氧化损伤的程度。对大菱鲆肝脏 MDA 含量检测发现,极低氧条件下 MDA 的含量下降,鱼体受到过氧化损伤的程度减轻。这可能是由于极低氧条件下 SOD 活力处于较高水平,消除了一部分氧自由基,使脂质的过氧化损伤减轻。低氧、高氧组及对照组的 MDA 含量在 2 h 时处于较高水平,随

着处理时间的延长,这些组的MDA含量先后下降。与本文结果类似,臭氧对草鱼的血液MDA含量影响的研究中同样发现,0.118 mg/L的臭氧就会导致草鱼体内产生过量的自由基,这些自由基可造成草鱼血液中MDA含量显著升高($P < 0.05$)。而随着处理时间的延长,MDA含量又有所下降。徐军和马广智通过对谷胱甘肽浓度和谷胱甘肽过氧化物酶活性的研究认为,MDA含量随处理时间延长而下降可能是由于体内积累的过量氧自由基诱导了体内的抗氧化系统发生作用,进而减轻了脂质过氧化的程度所致^[15]。

3.3 大菱鲆养殖中适宜DO范围的探讨

值得注意的是对照组大菱鲆也会出现微核现象,CAT活力在第7天时也处于较高水平。此外,低氧5.0 mg/L组恢复到正常充气(7.0 mg/L)14 d后,总核异常率和MDA含量都明显升高,这说明7.0 mg/L浓度的DO可能也会使大菱鲆受到过氧化胁迫作用的影响。相比较来看,当DO浓度为5.0 mg/L时,除28 d时有微核出现外,总核异常率和SOD、CAT活力以及MDA含量在整个处理期间均未发生明显变化。因此,对大菱鲆来说,适宜的DO浓度可能在5.0 mg/L左右,而不是通常认为的普通充气状态。这也许与大菱鲆活动量小、耗氧量低的底栖生活习性有关^[16]。本文的研究结果提示,在大菱鲆生产中DO浓度的适当降低可能会减轻大菱鲆的氧化压力,而有利于大菱鲆的健康养殖。不过,也有研究表明,略高的DO浓度(9.0~12.0 mg/L)会使大菱鲆的生长速度和饵料利用效率均上升^[2],DO浓度降低则会减慢大菱鲆的生长速度^[5],类似现象在虹鳟等其他鱼类中也有出现^[17]。所以,常规大菱鲆养殖的适宜DO浓度范围还需要综合各方面的考虑,进一步地研究探讨。

参考文献:

- [1] HOSFELD C D, HANDELAND S O, FIVELSTAD S. Physiological effects of normbaric environmental hyperoxia on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) psmolts [J]. *Aquaculture*, 2010, 308(1/2): 28-33.
- [2] 高晓田,马爱军,陈超,等. 纯氧充气对大菱鲆生长及水质指标的影响[J]. *海洋水产研究*, 2007, 28(4): 110-117.
- [3] 王琨,韩英. 唑乙醇和分子氮对鲤幼鱼血清SOD和MDA的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2007, 38(2): 206-210.
- [4] 张红梅. 铅长期暴露对黄河鲤红细胞微核率、核异常率的影响[J]. *动物医学进展*, 2009, 30(8): 38-40.
- [5] PICHAVANT K, PERSON-LE-RUYET J, BAYON N L, et al. Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European sea bass [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 59(4): 875-883.
- [6] COOPER R U, CLOUGH L M, FARWELL M A, et al. Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2002, 279: 1-20.
- [7] LUSHCHAK V I, BAGNYUKOVA T V, HUSAK V V, et al. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(8): 1670-1680.
- [8] GOSS G G, WOOD C M, LAURENT P, et al. Morphological responses of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill to hyperoxia, base (NaHCO₃) and acid (HCl) infusions [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1994, 12(6): 465-477.
- [9] JIRAUNGKOORSKUL W, SAHAPHONG S, KANGWANRANGSAN N, et al. The protective influence of ascorbic acid against the genotoxicity of waterborne lead exposure in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Journal of Fish Biology*, 2008, 73(2): 355-366.
- [10] 张红梅. 巯基乙酸对中华蟾蜍红细胞核异常的影响[J]. *四川动物*, 2009, 28(3): 431-434.
- [11] 赵晋,林琼,吴修磊,等. 甲醇对泥鳅红细胞微核和核异常的影响[J]. *福建农业科技*, 2008(4): 75-77.
- [12] MCCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. *Journal of Experimental Biology*, 1969, 244(6): 49-55.
- [13] FILHO D W. Fish antioxidant defenses: a comparative approach [J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 1996, 29(12): 1735-1742.
- [14] 冯涛,郑微云,洪万树,等. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏抗氧化酶活性影响的初步研究[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(3): 422-424.
- [15] 徐军,马广智. 臭氧对草鱼鱼种血液MDA GSH浓度以及GPX活性的影响[J]. *华南师范大学学报*, 2004(2): 110-113.
- [16] JONES A, BROWN A G, DOUGLAS M T, et al. Progress towards developing methods for the intensive farming of turbot *Scophthalmus maximus* in cooling water from a nuclear power station [C]//Proceedings of World Symposium on Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems. Rome: FAO European inland Fisheries Commission, 1981: 481-496.
- [17] 吴垠,张洪,赵慧慧,等. 在循环养殖系统中不同溶氧量对虹鳟幼鱼代谢与水平的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16(5): 437-442.

The effects of hypoxia and hyperoxia on nucleus anomaly, SOD, CAT activities and MDA content in juvenile turbot *Scophthalmus maximus*

WU Zhi-hao^{1,2}, YOU Feng¹, WANG Ying-fang³, WEN Ai-yun^{1,2}, MA De-you^{1,2}, XU Yong-li¹, ZHANG Pei-jun¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, Shandong, China; 2. Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, Shandong, China)

Abstract: The effects of different dissolved oxygen (DO) concentrations, including severe hypoxia (0.2, 1.0, 2.0 mg/L), hypoxia (3.0, 5.0 mg/L), normoxia (normal aeration as control, about 7.0 mg/L) and hyperoxia (11.0, 14.0 mg/L), on nucleus anomaly in erythrocytes, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) activities in serum and malondialdehyde (MDA) concentration in liver were studied in juvenile turbot *Scophthalmus maximus*. Fish mortality was only observed in the 0.2, 1.0 and 2.0 mg/L groups, in which all fish died in 2 h, 24 h and 48 h, respectively. The effects of DO on nucleus anomalies were shown with obvious time-cumulative effects and dose-cumulative effects in the 28-day experiment. The micronuclei were first observed in the 5.0, 14.0 mg/L and control groups on day 28. They were still found in hyperoxia and control groups after recovery for 14 days. The SOD activities in different groups showed significant difference at each sampling time ($P < 0.05$). The difference in CAT activities among experiment groups was significant only after 7-day exposure ($P < 0.05$). The MDA concentration increased with the increasing concentration at 2 h. The MDA concentration in hypoxia and hyperoxia groups decreased with time duration. After 14-day recovery, the MDA concentration in hypoxia groups was significantly higher compared with those in control groups ($P < 0.05$). Additionally, the oxidative stresses were also found in control groups. No obvious changes on the total nucleus anomalies and other anti-oxidative index were found in 5.0 mg/L groups.

Key words: juvenile turbot *Scophthalmus maximus*; dissolved oxygen; nucleus anomaly; superoxide dismutase activities; catalase activities; malondialdehyde content