

## 臭氧对条石鲷幼鱼鳃组织结构和抗氧化系统的影响

刘伟成<sup>1,2</sup>, 冀德伟<sup>1,2</sup>, 单乐州<sup>1,2</sup>, 郑春芳<sup>1,2</sup>, 陈少波<sup>1,2</sup>,  
李尚鲁<sup>1,2</sup>, 闫茂仓<sup>1,2</sup>, 伍锦姑<sup>1,2</sup>, 谢起浪<sup>1,2</sup>, 周志明<sup>1,2\*</sup>

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005;

2. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江 温州 325005)

**摘要:** 臭氧(O<sub>3</sub>)在工厂化养殖水处理中有较高的应用价值,为了解臭氧对条石鲷幼鱼的影响,采用自制的臭氧毒性试验装置(授权利号:ZL 200920122441.3),对条石鲷幼鱼进行了不同质量浓度(0、0.08、0.13、0.17、0.22、0.28和0.32 mg/L)和不同时间(0.5、1、6、12、18和24 h)的急性胁迫试验,并分析了臭氧对条石鲷幼鱼的行为响应、半致死浓度、幼鱼鳃的组织形态学、酶活性等的影响。结果表明,随着臭氧胁迫浓度的升高,条石鲷幼鱼在水层中的分布位置逐渐上移,呼吸频率逐渐加快,受惊反应逐渐迟缓;条石鲷幼鱼的开始死亡时间与臭氧浓度负相关,12 h的半致死方程为 $Y = 16.8158 + 20.3405X$  ( $r = 0.9987$ ),半致死浓度为0.2625 mg/L;24 h的半致死方程为 $Y = 17.6141 + 17.8983X$  ( $r = 0.9500$ ),半致死浓度为0.1974 mg/L;条石鲷幼鱼鳃SOD和GPX活性与臭氧胁迫时间和胁迫浓度负相关,并都在胁迫24 h、质量浓度0.32 mg/L时降至谷值;MDA含量与臭氧胁迫时间和胁迫浓度正相关,并在胁迫24 h、质量浓度0.32 mg/L时达到峰值;在臭氧胁迫下,条石鲷幼鱼的鳃小片细胞排列不规则并萎缩,鳃小片上皮细胞脱落或粘滞于鳃小片间,鳃小片末端膨大,鳃丝血管固缩无腔或变空腔,管壁粗糙、干缩,血细胞固缩、坏死,零散分布或紧贴血管壁。

**关键词:** 条石鲷幼鱼;组织形态学;臭氧;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛  
**中图分类号:** S 942 **文献标志码:** A

目前,我国海水养殖业仍以低密度、高换水的传统养殖模式为主,由于大规模、粗放式养殖以及饲料无序投喂、渔药滥用等原因,使得养殖对象疾病频发,种质退化严重,养殖区及周边水体污染也日益严重。海水养殖业发展遭遇“瓶颈”,养殖效益“固化”。CRESSEY<sup>[1]</sup>认为,工厂化循环水养殖无论是成本上还是技术上都应成为当今和未来渔业的必然发展趋势,而养殖水的消毒杀菌和水质处理是工厂化循环水养殖的关键。臭氧(O<sub>3</sub>)作为强氧化剂,可以通过直接反应或产生自由基而氧化水体中的大部分有机物<sup>[2-6]</sup>,催化降解硫化物、氰化物和氨氮等<sup>[7-8]</sup>,杀灭致病菌和寄生虫孢子,并且O<sub>3</sub>分解作用时间快,在工厂化循环水

养殖中具有较高的应用价值。

条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*),属鲈形目(Perciformes),石鲷科(Oplegnathidae),石鲷属(*Oplegnathus*),自然分布于太平洋和印度洋沿岸,我国产于黄海、东海和台湾海峡<sup>[9]</sup>,系温热带沿近海鱼类,无明显盛渔业期。条石鲷肉质鲜美,营养丰富,是人工增殖、放流和休闲渔业的优良品种<sup>[10-11]</sup>。经过几年养殖试验发现,寄生虫是条石鲷养殖的主要危害。本研究采用自制的臭氧毒性试验装置,研究条石鲷幼鱼在不同臭氧胁迫时间、不同浓度的行为响应、半致死浓度,以及幼鱼鳃的超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性、丙二醛(MDA)含量和组织形态学变化,以期臭氧在条石

收稿日期:2011-02-21 修回日期:2011-06-20

资助项目:国家海洋公益性行业科研专项(200705024);浙江省重大科技攻关项目(2005C12006-02);浙江省科技厅创新团队建设与人才培养项目(2009F20009,2007F10011)

通讯作者:周志明,E-mail:zhou8899@126.com

鲷及其它海水鱼类工厂化养殖中的应用以及臭氧的毒理学研究提供理论基础和技术支撑。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料与设备

条石鲷幼鱼采自浙江省海洋水产养殖研究所清江基地,试验前先将幼鱼置于玻璃钢水槽(2 m × 1 m × 1 m)中暂养,一周后,待摄食与活动

趋于正常,选择大小均匀的健康条石鲷幼鱼[体长(9.0 ± 0.7) cm,体质量(13.4 ± 1.1) g]用于试验。试验鱼每天定时(08:00 和 17:00)适量投喂两次(福州海马牌全价配合膨化饲料),试验全程充气增氧,试验用水为二级沙滤水,pH(8.2 ± 0.3),盐度(23.3 ± 0.8),水温(26 ± 1) °C,溶解氧 5 mg/L 以上。试验采用自制的臭氧毒性装置(授权利号:ZL 200920122441.3)(图 1)。

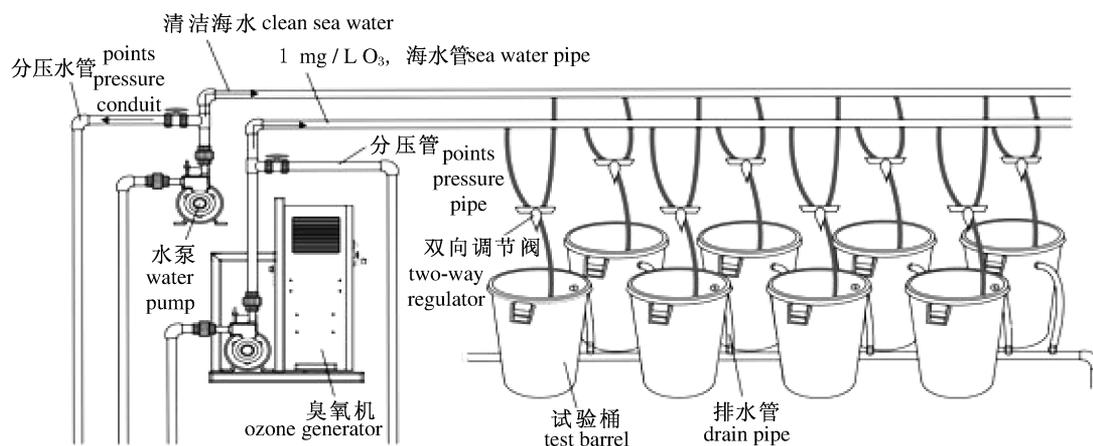


图 1 臭氧对条石鲷幼鱼的急性毒性试验装置

Fig.1 Equipment of O<sub>3</sub> acute toxicity to juvenile *Oplegnathus fasciatus*

### 1.2 臭氧对条石鲷幼鱼的急性毒性试验

调节臭氧试验装置中的双向调节阀,使各处理组中海水臭氧溶解浓度趋于稳定,1 h 后用碘量法(CJ/T 3028.2-94)标定试验海水臭氧浓度,并每天两次(08:00 和 17:00)检测修正试验海水中的臭氧浓度,同时利用 DPD 便携式臭氧比色计(中山大学生产)每 2 小时检测水体臭氧浓度,并利用碘量法标定 DPD 便携式臭氧比色计,使各处理组臭氧浓度保持稳定。臭氧试验设置 0.03、0.07、0.09、0.15、0.18、0.22、0.25 和 0.31 mg/L 共 8 个浓度组,O<sub>3</sub> 浓度波动幅度为 ±0.01,每个浓度组放入条石鲷幼鱼 30 尾,观察试验鱼的初始分布、开始死亡时间、12 和 24 h 死亡数量等情况,并用 LD<sub>50</sub> 软件(StatFi 2009 5.7.0.0)计算半致死浓度。

### 1.3 臭氧胁迫下条石鲷幼鱼鳃 SOD、GPX 活性、MDA 含量试验

根据臭氧对条石鲷幼鱼的急性毒性试验结果,设定 0.00、0.08、0.13、0.17、0.22、0.28 和 0.32 mg/L 共 7 个质量浓度组,O<sub>3</sub> 浓度波动幅度为 ±0.01。根据臭氧急性毒性试验结果,分别放

入 40、40、40、50、60、90 和 120 尾试验鱼。分别于 0.5、1、6、12、18 和 24 h 取 6 尾条石鲷幼鱼,断尾放血后每尾取鳃 0.1 g,迅速放入 -70 °C 超低温冰箱冻存,并在 24 h 内完成测定。鳃称重后加 10 倍体积(W/V)预冷的匀浆缓冲液(0.01 mol/L Tris-HCl,0.000 1 mol/L EDTA-Na<sub>2</sub>,0.01 mol/L 蔗糖,0.8% 氯化钠溶液,pH 7.4)冰浴研磨。研磨后的匀浆 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液用于测定。SOD、GPX 活性和 MDA 含量测定参照 LOWRY 等<sup>[12]</sup>的方法,并均采用试剂盒检测(南京建成生物工程研究所)。

### 1.4 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃组织学的影响试验

在进行臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃 SOD、GXP 活性和 MDA 含量试验的同时,每次每尾条石鲷幼鱼取 1~2 片鳃片用于组织学观察。样品用 Bouin 氏液固定;70% 酒精置换;4 °C 保存。切片前,将样品用梯度酒精脱水;二甲苯透明;石蜡包埋;金华益迪 YD-1508A 型切片机连续切片,切片厚度约 5 μm;苏木精-伊红染色;中性树胶封片;

在显微镜下观察并拍照。

### 1.5 数据处理与分析

试验数据采用 SPSS 11.0 进行统计分析,用 Student-Newman-Keuls 检验进行组间差异比较。

## 2 结果

### 2.1 条石鲷幼鱼对急性臭氧胁迫的响应

条石鲷幼鱼在低于 0.15 mg/L 的低质量浓度臭氧胁迫条件下,多分布于水体中段,鳃盖开合(呼吸)频率正常,受惊反应灵敏;当高于 0.18 mg/L 时,条石鲷幼鱼在水体中的分布开始上移,

同时呼吸频率加快,到质量浓度为 0.31 mg/L 时,条石鲷幼鱼多分布于水面,呼吸急促,受惊反应迟缓;条石鲷幼鱼在臭氧胁迫条件下的死亡情况见表 1。条石鲷幼鱼的开始死亡时间与臭氧浓度反相关,浓度越高,条石鲷幼鱼的开始死亡时间就越短。根据 12 h 条石鲷幼鱼的死亡情况,得到条石鲷幼鱼的半致死方程: $Y = 16.8158 + 20.3405X (r = 0.9987)$ ,12 h 的半致死浓度  $LD_{50} = 0.2625$  mg/L;条石鲷幼鱼 24 h 的半致死方程: $Y = 17.6141 + 17.8983X (r = 0.9500)$ ,24 h 的半致死浓度为  $LD_{50} = 0.1974$  mg/L。

表 1 臭氧对条石鲷幼鱼的急性毒性试验  
Tab.1 Acute toxicity of O<sub>3</sub> to juvenile *O. fasciatus*

	臭氧浓度/(mg/L) O <sub>3</sub> concentration							
	0.03	0.07	0.09	0.15	0.18	0.22	0.25	0.31
开始死亡时间/h time of begin to die	0.0	37.0	34.0	23.5	22.0	11.0	9.5	2.0
12 h 死亡数量/尾 time of death after 12 h	0	0	0	0	0	2	9	28
24 h 死亡数量/尾 time of death after 24 h	0	0	0	1	3	26	30	30

### 2.2 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃的 SOD、GXP 活性、MDA 含量的影响

臭氧胁迫下条石鲷幼鱼鳃 SOD 和 GPX 活性及 MDA 含量的变化见图 2~4。单位时间内,随臭氧胁迫浓度的升高,SOD 和 GPX 活性趋势相似,都呈下降趋势,并呈现较强的剂量效应关系;在单位臭氧浓度时,条石鲷幼鱼鳃 SOD 和 GPX 活性也随臭氧胁迫时间延长而呈下降趋势,且呈现时间效应关系,并在胁迫 24 h、质量浓度 0.32 mg/L 时分别达到 SOD[(28.54 ± 1.15) U/mg],

对照组[(100.90 ± 0.90) U/mg]和 GPX[(418.92 ± 7.03) U/mg],对照组[(844.72 ± 10.73) U/mg]的活性极小值;与 SOD 和 GPX 活性趋势相反,MDA 含量与臭氧胁迫浓度和胁迫时间正相关。在单位时间内随臭氧浓度的升高呈上升趋势,呈现剂量效应关系;臭氧浓度恒定时,条石鲷幼鱼鳃 MDA 含量随臭氧胁迫时间延长而呈上升趋势,也呈现时间效应关系,并在胁迫 24 h、质量浓度 0.32 mg/L 时达到峰值[(42.81 ± 1.44) mmol/mL],对照组[(30.09 ± 0.10) mmol/mL]。

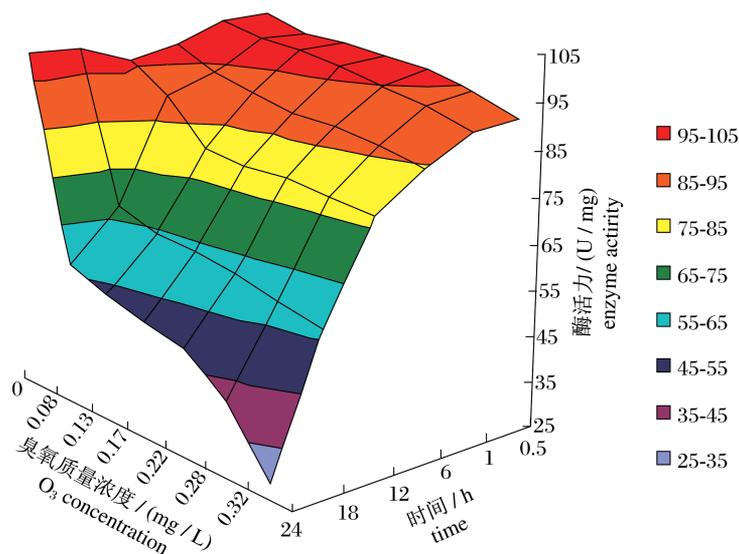


图 2 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃 SOD 活性的影响

Fig.2 Effects of different O<sub>3</sub> concentrations on SOD activities in juvenile *O. fasciatus* gill

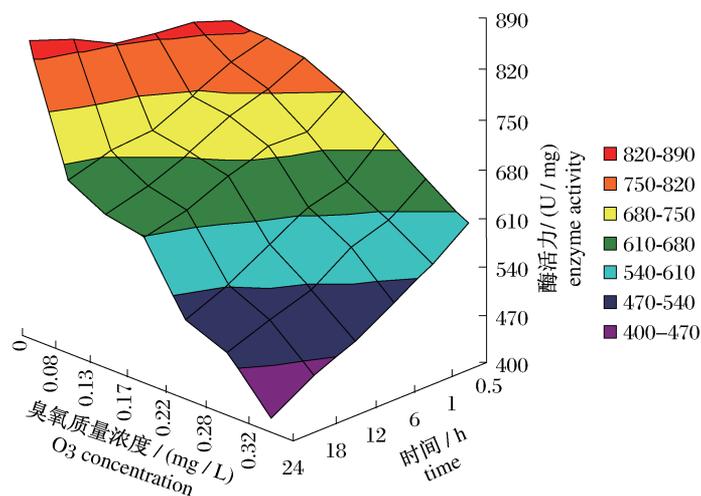


图3 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃 GPX 活性的影响

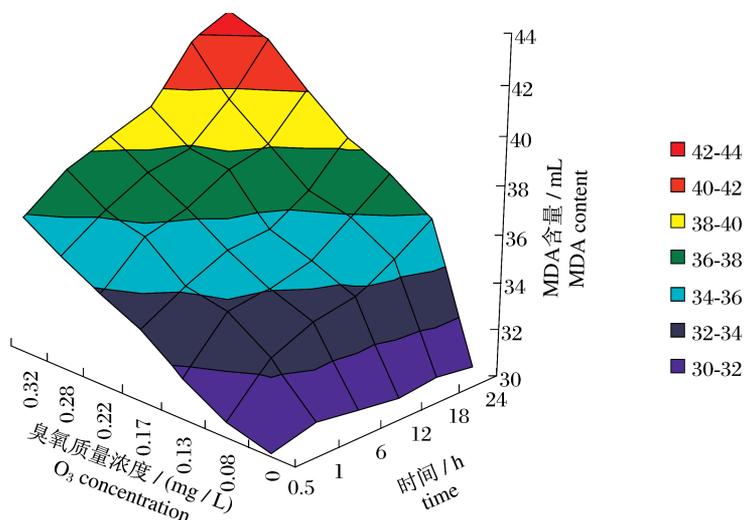
Fig. 3 Effects of different O<sub>3</sub> concentrations on GPX activities in juvenile *O. fasciatus* gill

图4 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of different O<sub>3</sub> concentrations on MDA content in juvenile *O. fasciatus* gill

### 2.3 臭氧胁迫对条石鲷幼鱼鳃组织的影响

正常状态下,条石鲷幼鱼鳃丝由鳃小片、鳃丝血管和结缔组织等组成,鳃小片由上皮组织、结缔组织和毛细血管等构成。鳃小片排列均匀,鳃小片上皮组织中扁平细胞单层有序排列,细胞核明显,呈圆或椭圆形;鳃丝血管管壁平滑,血管内充满血细胞,血细胞分布均匀、饱满。臭氧胁迫下条石鲷幼鱼的鳃小片细胞排列不整齐并萎缩(图 5-2~8);鳃小片上皮细胞脱落,粘滞于鳃小片间(图 5-4,7),鳃小片末端膨大(图 5-6);鳃丝血管固缩无腔或变空腔,管壁粗糙、干缩(图 5-3~5,7),血管内血细胞固缩、坏死,零散分布或紧贴管

壁(图 5-3,5,7,8)。

### 3 讨论

条石鲷幼鱼对臭氧胁迫的生理响应与褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)幼鱼<sup>[13]</sup>(平均体长 7 cm)和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鱼种<sup>[14]</sup>[全长(7.11±1.10) cm,体质量(7.30±1.50) g]相似,但条石鲷幼鱼的 24 h 半致死浓度(0.197 4 mg/L)远低于褐牙鲈幼鱼(0.33 mg/L)和草鱼鱼种(0.653 mg/L),并且淡水鱼类高于海水鱼类,这可能与种间差异或海淡水鱼类的生理差异有关。宫小明等<sup>[15]</sup>证明,臭氧在 0.73 mg/L 维持



图5 臭氧胁迫条件下条石鲷幼鱼鳃的组织学观察(400×)

Fig. 5 Histological observation of juvenile *O. fasciatus* gill under  $O_3$  stress(400×)

1. 0 mg/L; 2. 0.08 mg/L 18 h; 3. 0.22 mg/L 0.5 h; 4. 0.28 mg/L 0.5 h; 5. 0.32 mg/L 0.5 h; 6. 0.28 mg/L 6 h; 7. 0.28 mg/L 18 h; 8. 0.28 mg/L 24 h.

24 h 时卤虫 (*Artemia salina*) 无节幼体的成活率仍高达 99% ; 中国对虾 (*Penneropenaeus chinensis*) 在高于 1 mg/L 的海水中存活超过 48 h<sup>[13]</sup>。据已知资料, 甲壳类的半致死浓度远高于鱼类, 可能是因为鱼类和甲壳类鳃结构的差异造成的。甲壳类的鳃覆被惰性的几丁质外壳, 同时还具有膜层结构保护, 对臭氧的抗氧化效果明显, 而鱼类没有几丁质外壳和鳃膜, 臭氧直接损害鳃瓣上皮细胞, 对鱼类的正常生理活动造成影响。

臭氧能与水反应生成具有氧化作用的超氧自由基和羟基自由基<sup>[16-17]</sup>, 而 SOD 是生物机体抗氧化防御体系中清除活性氧自由基催化活性、使细胞免受氧化损伤的关键酶之一, 与机体的抗外源胁迫密切相关<sup>[18]</sup>。研究表明, 在外源环境因子胁迫下, SOD 活性通常表现为显著升高<sup>[14, 18, 20]</sup>, STEBBING<sup>[21]</sup>将这种现象称为“毒物兴奋效应”, 即生物机体内活性氧产生和抗氧化系统的酶反应对活性氧清除存在着动态平衡, 但是随着环境胁迫的压力增加或时间延长, 抗氧化防御系统的动态平衡被打破, SOD 等抗氧化酶由于底物浓度的升高而被诱导<sup>[22]</sup>。草鱼鱼种鳃的 SOD 活性仅在低浓度组 (0.14 mg/L) 臭氧胁迫 6 h 时即出现“毒物兴奋效应”<sup>[14]</sup>, 说明 SOD 的“毒物兴奋效应”具有剂量和时间范围, 而臭氧胁迫条石鲷幼

鱼试验并未呈现毒性兴奋响应, 原因可能与不同鱼类对臭氧的耐受性有关, 条石鲷幼鱼的臭氧耐受性较低, 可能在试验的最小时间梯度内已经出现“毒性兴奋效应”, 效应可能在 0.5 h 内出现。

GPX 作为生物机体一种重要的过氧化物分解酶, 能在谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 的催化作用下, 与外源性污染物及代谢产生的亲电中间体结合, 以降低生物毒性, 同时作为抗氧化剂, 在清除活性氧如过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 以及羟基自由基 ( $\cdot OH$ ) 的过程中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。研究表明, GPX 会因环境胁迫而产生适应性诱导, 也会由于污染的毒性作用而产生中毒反应<sup>[24-25]</sup>。鳃作为条石鲷幼鱼的臭氧胁迫响应器官, 对臭氧的浓度敏感。胁迫试验发现, 即使在低浓度 (0.08 mg/L) 下, 臭氧诱导产生的活性氧也会在较短时间 (0.5 h) 内打破条石鲷幼鱼的抗氧化酶系统的平衡, 导致细胞对自由基及其产物的清除能力下降, 使得条石鲷幼鱼鳃受到损伤, 可能与条石鲷幼鱼对臭氧胁迫的响应较弱有关。

膜脂过氧化物是反映机体氧化损伤的主要指标之一, 而 MDA 含量高低能间接地反映细胞损伤的程度<sup>[26]</sup>。试验表明, 臭氧胁迫下条石鲷幼鱼鳃的 MDA 的含量即使在短时间 (0.5 h) 低浓度组 (0.08 mg/L) 也显著升高, 这与臭氧胁迫条件

下草鱼[体长(8.75 ± 1.03) cm, 体质量(8.63 ± 1.02) g]鱼种血液 MDA 的变化趋势一致<sup>[27]</sup>。以多价不饱和脂肪酸为主的磷脂是细胞膜的主要组分, 磷脂结构中酯化脂肪酸的长链不饱和烃对调节细胞膜的功能具有重要作用。臭氧胁迫试验中, 条石鲷幼鱼随着胁迫时间延长和胁迫浓度升高, 胁迫环境的变化超过了试验鱼机体的自身调节能力, 鱼体累积的臭氧分解成的自由基与细胞膜磷脂的多价不饱和脂肪酸共价键上发生自由基氧化反应, 生成脂质过氧化物(LPO)和各种自由基, LPO 最后断链生成 MDA, 试验表现为 MDA 浓度陡然升高。随着对细胞膜脂质过氧化链式反应的增强, 必然导致细胞膜的结构和功能的改变, 最终使膜失去生理功能, 严重影响细胞的正常代谢活动<sup>[28-29]</sup>。MDA 既是脂质过氧化的产物同时又可与蛋白质的游离氨基作用, 引起蛋白质分子内和分子间交联, 导致细胞损伤<sup>[30]</sup>, 试验表现为条石鲷幼鱼呼吸频率加快, 组织切片下鳃组织细胞的损伤。

当条石鲷幼鱼养殖水体中存在臭氧时, 臭氧分解成的自由基可能会在特定剂量和时间内刺激 SOD 和 GPX 等抗氧化酶的活性的升高; 但随着臭氧胁迫浓度的升高和胁迫时间的延长, 条石鲷幼鱼细胞的抗氧化系统平衡被打破, 抗氧化酶活性被抑制, 细胞内的自由基不能被有效清除; 自由基与机体膜脂中的不饱和脂肪酸反应, 形成膜脂过氧化物和 MDA, 而 MDA 又引起蛋白分子内和分子间的交联。这进一步破坏了细胞膜的流动性、通透性和完整性, 使得细胞膜的主动运输与渗透压调节等功能出现障碍, 机体细胞的正常生理功能被破坏; 鳃是鱼类重要的呼吸器官和排泄器官, 臭氧形成的自由基首先破坏了条石鲷幼鱼鳃组织细胞的正常功能, 使得气体交换和氨氮排泄受阻。而鳃生理功能的弱化导致鱼机体细胞缺氧和氨氮累积中毒, 表现为条石鲷幼鱼上浮, 由于缺氧和氨氮中毒导致呼吸加快, 反应迟缓; 当臭氧胁迫浓度或胁迫时间超过一定限度时, 最终导致了试验鱼的死亡。

#### 参考文献:

- [1] CRESSEY D. Future fish[J]. Nature, 2009, 458: 398-400.
- [2] AMAT A M, ARQUES A, MIRANDA M A, *et al.* Use of ozone and/or UV in treatment of effluents

from board paper industry[J]. Chemosphere, 2005, 60(8): 1111-1117.

- [3] SARASA J, CORTES S, OSMAD P, *et al.* Study of the aromatic by-products formed from ozonation of anilines in aqueous solution[J]. Water Research, 2002, 36(12): 3035-3044.
- [4] 何志桥, 宋爽, 周华敏, 等. 臭氧/超声联合降解水中对氨基苯酚的动力学[J]. 化工学报, 2006, 57(12): 2964-2968.
- [5] BRADY J E, HUMISTON G E. General chemistry principles and structure[M]. New York: John Wiley and Sons, 1978: 56-57.
- [6] 张翼, 马军, 胡兵, 等. 多相催化-臭氧氧化法处理模拟有机磷农药废水[J]. 环境污染治理技术与设备, 2005, 6(11): 51-55.
- [7] 刘永, 曹广斌, 蒋树义, 等. 冷水性鱼类工厂化养殖中臭氧催化氧化降解氨氮[J]. 中国水产科学, 2005, 12(6): 790-791.
- [8] LIN S H, WU C L. Removal of nitrogenous compounds from aqueous solution by ozonation and ion exchange[J]. Water Research, 1996, 30(8): 1851-1857.
- [9] 朱元鼎. 东海鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1963: 350-352.
- [10] 常抗美, 毛建平, 吴剑锋, 等. 条石鲷胚胎及仔稚鱼的发育[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(4): 401-405.
- [11] 武云飞, 门强, 康斌. 两种珍稀鱼类的形态学和生态学的补充研究[J]. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 1999, 29(4): 581-585.
- [12] LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, *et al.* Protein measurement with the Folin measurement with the Folin-phenol reagent[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1951, 193: 265-275.
- [13] 姜国良, 刘云, 刘栋, 等. 用臭氧处理海水对鱼虾的急性毒性效应研究[J]. 海洋科学, 2001, 25(3): 11-13.
- [14] 马广智, 徐军, 方展强, 等. 臭氧对草鱼鱼种超氧化物歧化酶和 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 活性的影响[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 575-581.
- [15] 宫小明, 刘淇, 王群, 等. 臭氧在卤虫卵孵化中的应用效果研究[J]. 海洋科学, 2002, 26(3): 68-711.
- [16] 邹祖全, 刘燕楠, 吴瑛, 等. 臭氧对胎牛血清氧化损伤的表面增强拉曼光谱[J]. 光谱学与光析, 2007, 27(6): 1140-1142.
- [17] LIVINGSTONE D R, ARCHIBALD S, CHIPMAN K L, *et al.* Antioxidant enzymes in liver of dab

- Limanda limanda* from the North Sea [J]. Marine Ecology Progress Series, 1992, 91(1-3): 97-104.
- [18] 刘伟成, 李明月, 黄福勇, 等. 镉胁迫对大弹涂鱼肝脏黄嘌呤氧化酶和抗氧化酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(7): 1310-1314.
- [19] 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.
- [20] BEAUMONT A R, NEWMAN P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae [J]. Marine Pollution Bulletin, 1986, 17(10): 457-461.
- [21] STEBBING A R D. Hormesis-the stimulation of growth by low levels of inhibitions [J]. The Science of the Total Environment, 1982, 22(1): 213-234.
- [22] SHARMA Y K, DAVIS K R. Ozone-induced expression of stress-related genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiology, 1994, 105(4): 1069-1096.
- [23] 李庆祥, 王燕申. 臭氧治疗学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2006.
- [24] DIGUILIO R T, WASHBURN P C, WENNING R J. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1989, 8(12): 1103-1123.
- [25] 刘信勇, 朱琳, 黄碧捷, 等. 多壁碳纳米管对斑马鱼体组织内酶活性的影响[J]. 环境科学研究, 2009, 22(7): 838-842.
- [26] 方允中, 李文杰. 自由基与酶[M]. 北京: 科学出版社, 1989: 42-371.
- [27] 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: 自然科学版, 2004, (2): 110-113.
- [28] 赵竹玲, 白云安. 应用促红细胞对慢性肾功能衰竭长期血液透析患者的疗效观察[J]. 潍坊医学院学报, 2001, 23(4): 319-332.
- [29] 王强, 孙淑清. 大鼠肾组织包膜下与皮下种植治疗肾性贫血的实验研究[J]. 山西医科大学学报, 2002, 33(3): 204-205.
- [30] 陈瑗, 周政. 自由基医学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 42-371.

## 欢迎订阅 2012 年《上海海洋大学学报》

《上海海洋大学学报》为上海海洋大学主办, 面向全国的以海洋、水产科学技术为主的综合性学术刊物。主要刊登研究论文, 少量刊登综述、评述、简讯, 并酌登学术动态和书刊评介等。目前学报是《中国科学引文数据库》来源期刊, 《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊, 《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊, 万方数据-数字化期刊群全文收录期刊, 中国科技论文统计源核心期刊, 水产渔业类中文核心期刊, RCCSE 中国核心学术期刊。

本刊为双月刊, 大 16 开, 国内外公开发行。每期单价: 10.00 元。国际标准刊号: ISSN 1674-5566, 国内统一刊号: CN 31-2024/S。邮发代号: 4-604, 国外发行号: 4822Q。读者可在当地邮局订阅, 也可直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址: 上海市临港新城沪城环路 999 号, 上海海洋大学 201 信箱

邮政编码: 201306

联系人: 郭丰红

联系电话: 021-61900229, 传真: 021-61900227

E-mail: xuebao@shou.edu.cn

Website: www.shhydxxb.com

## Effects of ozone on the histological structure and the antioxidant systems in gills of juvenile *Oplegnathus fasciatus*

LIU Wei-cheng<sup>1,2</sup>, JI De-wei<sup>1,2</sup>, SHAN Le-zhou<sup>1,2</sup>, ZHENG Chun-fang<sup>1,2</sup>, CHEN Shao-bo<sup>1,2</sup>,  
LI Shang-lu<sup>1,2</sup>, YAN Mao-cang<sup>1,2</sup>, WU Jin-gu<sup>1,2</sup>, XIE Qi-lang<sup>1,2</sup>, ZHOU Zhi-ming<sup>1,2\*</sup>

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Wenzhou 325005, China)

**Abstract:** Ozone ( $O_3$ ) was frequently used in water treatment for industrial aquaculture. Therefore, in order to understand the impacts to ozone on aquaculture species *Oplegnathus fasciatus*, acute exposure of ozone on juvenile was conducted using self-designed ozone toxicity experimental set-up (authorized Patent Number: ZL 200920122441.3) with various exposure doses (0, 0.08, 0.13, 0.17, 0.22, 0.28 and 0.32 mg/L) and durations (0.5, 1, 6, 12, 18 and 24 h). The impacts of ozone on behavioral responses, mortality, gill histomorphology, and antioxidant enzyme activities were investigated in present study. The results showed the distribution of juvenile *O. fasciatus* tends to move up to upper layer with increasing ozone exposure doses, in the meanwhile, the respiration rate was sped up and the startle response was slowed down. Moreover, evident dose-response relationship was found between mortality and ozone concentration. The regression equations between mortality and ozone dose at 12 and 24 hours were  $Y = 16.8158 + 20.3405X$  ( $r = 0.9987$ ) and  $Y = 17.6141 + 17.8983X$  ( $r = 0.9500$ ), respectively. The half-lethal concentration ( $LD_{50}$ ) at 12 and 24 hours were 0.2625 and 0.1974 mg/L, respectively. Compared to control, with the increase of ozone exposure dose and duration, the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in gills of juvenile *O. fasciatus* were downgraded, while the quantity of malonaldehyde (MDA) was upgraded in experimental trials. Under ozone exposure stress, the gill lamella of juvenile *O. fasciatus* was shown to be in irregular array and some necrosis phenomenon was detected. Shedding epithelial cells from gill lamella were also observed. The vessel of gill filaments was pycnosis or even became cavum. The vessel wall was found to be rough and shrunk, with pyknotic and necrotic blood cells attached.

**Key words:** juvenile *Oplegnathus fasciatus*; histomorphology; ozone; superoxide dismutase (SOD); glutathione peroxidase (GPX); malondialdehyde (MDA)

**Corresponding author:** ZHOU Zhi-ming. E-mail: zhou8899@126.com