

DOI: 10.12264/JFSC2023-0052

低氧胁迫对大菱鲂血液学指标、肝脏抗氧化能力及鳃组织影响的性别差异

李飞霞^{1,2}, 高云涛¹, 王嘉伟¹, 谢婷¹, 张家荣¹, 贾玉东^{1,3}

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237

摘要: 为探究大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)对低氧环境的适应性及其在低氧胁迫下的生理反应是否具有性别差异, 本研究选取规格相似的雌性[(169.95±13.55) g]和雄性[(170.08±19.02) g]大菱鲂, 明确了其临界氧分压(critical oxygen tension, P_{crit})下水中的溶解氧浓度, 分析了低氧胁迫和恢复正常溶解氧条件下血液生理生化指标、肝脏抗氧化能力、气体交换率、呼吸频率和鳃组织形态学变化。结果显示, 雌雄大菱鲂在 P_{crit} 时溶解氧浓度分别为(3.34±0.23) mg/L 和(3.22±0.17) mg/L, 无显著性别差异($P>0.05$)。低氧胁迫 6 h 后, 雌雄大菱鲂血浆皮质醇(cortisol, COR)浓度, 肝脏超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量和雌性大菱鲂白细胞数目(white blood cell, WBC)均显著升高($P<0.05$), 且 CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量变化出现显著性别差异($P<0.05$), COR 浓度、CAT 与 GSH-Px 活性及 MDA 含量变化均与时间和性别存在显著交互作用($P<0.05$)。低氧胁迫 6 h 后, 雌雄大菱鲂的气体交换率、呼吸频率、鳃小片长度、间距和周长显著增加, 而鳃小片宽度显著减小($P<0.05$), 雌雄大菱鲂鳃小片末端杵状和基质增生变化显著增多($P<0.05$), 但无显著性别差异。恢复正常溶解氧 12 h 后, 上述各项检测指标逐渐恢复至对照水平($P>0.05$)。本研究表明, 在低氧胁迫条件下, 雌雄大菱鲂在血浆 CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量上存在显著的性别差异, 大菱鲂通过提高肝脏抗氧化酶活性来缓解机体因低氧胁迫导致的氧化应激损伤, 同时增加了呼吸频率和气体交换率, 并伴随着鳃组织形态学变化来提升机体对氧气的摄取和利用能力, 从而增强其对低氧环境的适应性, 且雄性大菱鲂较雌性更耐低氧。

关键词: 大菱鲂; 低氧胁迫; 血液生理生化; 抗氧化能力; 鳃组织形态; 性别差异

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)07-0878-13

溶解氧是水生生物赖以生存的重要环境因子之一, 直接影响其摄食、生长、繁育、代谢和免疫等, 当水体溶解氧含量无法满足鱼类正常生理需求时, 鱼体就会出现低氧应激反应^[1-4]。鱼类可通过逃离低氧水域、调整呼吸频率、调节血液生理生化 and 改变鳃组织形态等行为和生理性反馈调控, 形成不同的应答模式来适应环境溶解氧变

化^[5-7]。临界氧分压(critical oxygen tension, P_{crit})是鱼类能够维持机体正常代谢水平的最低溶解氧浓度, P_{crit} 越低, 鱼类低氧耐受能力越强。因此, P_{crit} 被广泛作为衡量鱼类低氧耐受能力的标准^[8-9]。不同种属和发育阶段的鱼, 对低氧环境的适应能力不同, 其 P_{crit} 存在显著差异^[10]。

当鱼类受外源性环境刺激时, 血液生理生化

收稿日期: 2023-03-21; **修订日期:** 2023-06-11.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31972811); 青岛海洋科学与技术试点国家实验室“十四五”重大项目课题(2022QNLM030001-4); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2023TD81).

作者简介: 李飞霞(1996–), 女, 硕士研究生, 研究方向为海水鱼类繁育与养殖. E-mail: 117320068238@163.com

通信作者: 贾玉东, 研究员, 研究方向为海水鱼类繁育与深远海养殖. E-mail: jiajd@ysfri.ac.cn

指标可用来直观地反映机体能量代谢、健康状况和对环境的适应能力。鲫(*Carassius auratus*)^[11]和斑石鲷(*Oplegnathus punctatus*)^[12]低氧胁迫的研究发现, 鱼体可通过增加红细胞(RBC)、白细胞(WBC)数目和提高皮质醇(COR)、葡萄糖(GLU)、血红蛋白(Hb)浓度来减缓低氧应激造成的机体损伤。杨凯^[13]研究发现, 黄颡鱼(*Pelteobagrus fuviraco*)受到高氧胁迫时, 通过降低肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和增加丙二醛(MDA)含量来缓解环境胁迫对其造成的氧化损伤。鳃作为鱼类的呼吸器官, 最先感知水体溶解氧的变化, 鱼类除了通过调节呼吸频率和气体交换率来增加溶解氧供应外, 还可利用鳃的可塑性来可逆地改变鳃结构形态。Boran 等^[14]研究发现, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)可通过增加鳃小片长度(secondary lamellar length, SLL)、间距(interlamellar distance, ID)、周长(perimeter)和减小鳃小片宽度(secondary lamellar width, SLW)等方式来增大鳃组织与氧气的接触面积, 使其在低溶解氧水体中摄取更多氧气, 增强自身的低氧耐受能力来应对环境溶解氧变化。这与 Bosch-Belmar 等^[15]对欧洲黑鲈(*Dicentrarchus labrax*)环境胁迫的研究结果相似。因此, 鱼类在应对低氧胁迫时, 可通过调整呼吸行为、调控生理生化指标、改变鳃组织形态等一系列应答机制来提高机体适应低氧环境变化的能力。

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲽形目(Pleuronectiformes)、鲆科(Bothidae)、菱鲆属(*Scophthalmus*), 冷水性深海底栖肉食鱼类, 营养价值高。目前大菱鲆主要采用工厂化循环水养殖, 同时通过南北接力的方式在福建等沿海省份逐步推广网箱养殖, 无论是化工厂化循环水养殖还是离岸网箱养殖, 维持养殖水体正常溶解氧含量, 已成为保障大菱鲆高密度养殖条件下生长和存活的关键^[16-17]。近年来, 大量研究已初步查明了大菱鲆在低氧条件下的生长性能、摄食行为、游泳性能和代谢变化规律^[18-20]。但是, 大菱鲆低氧耐受能力以及应对低氧胁迫后的行为和生理学变化是否存在性别差异, 目前尚

未见报道。基于此, 本研究通过测定雌雄大菱鲆幼鱼 P_{crit} , 明确其低氧耐受阈值, 分析其在低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程中的血液生理指标、抗氧化能力、气体交换率, 以及呼吸频率和鳃组织形态学变化, 查明大菱鲆在应对低氧胁迫生理响应过程中是否存在显著性别差异, 旨在为大菱鲆高效健康养殖和耐低氧品种选育提供理论依据和技术支撑, 同时也为研究其他鱼类低氧耐受适应性调控机制提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼大菱鲆由烟台开发区天源水产有限公司提供, 采用本实验室灯光投射无损检测法, 进行雌雄分选, 共 300 尾, 雌雄各 150 尾, 规格整齐、体质健康, 其基础生理数据如表 1 所示。大菱鲆暂养于工厂化循环水系统, 养殖水温(16.0±0.5)℃, 溶解氧浓度(8.38±0.19) mg/L, 盐度 30, pH 7.85±0.5, 总氨氮浓度小于 0.1 mg/L。暂养 2 周, 每日定时(9:00 和 16:00)投喂商品饲料(海童, 中国潍坊三通生物工程有限公司), 充分摄食后及时清除残饵和粪便, 实验前禁食 24 h。

表 1 正式实验用大菱鲆基础生理数据

Tab. 1 Basic physiological data of *Scophthalmus maximus*

$n = 90; \bar{x} \pm SD$

	体重/g body weight	体长/cm body length	全长/cm total length
雌 female	169.95±13.55	16.71±2.94	20.84±2.39
雄 male	170.08±19.02	16.92±2.61	20.95±2.34

1.2 实验设计与样品采集

1.2.1 大菱鲆低氧耐受实验 临界氧分压(critical oxygen tension, P_{crit})是指鱼类开始出现显著生理反应时的溶解氧浓度, 是衡量鱼体低氧耐受能力的重要指标。为明确雌雄大菱鲆 P_{crit} , 实验参考封闭静水式方法, 雌雄大菱鲆分别放入 90 L 的养殖桶内, 雌雄各 3 个桶(10 尾/桶), 共 60 尾进行预实验。实验前大菱鲆禁食 24 h, 实验开始时关闭循环水系统, 采用塑料薄膜对实验桶进行密封, 隔绝外界空气, 整个实验过程使用便携式溶解氧测量仪(台湾衡欣, AZ86031 型)监控, 实时测量并记录水体中溶解氧浓度变化, 根据水体溶解氧变化

与体重计算实验鱼代谢率 MO_2 [$mg/(kg \cdot h)$]。计算公式如下:

$$MO_2 = ([O_2]_{t1} - [O_2]_{t2}) \times \frac{V}{t} \times \frac{1}{BW}$$

式中, $[O_2]_{t1}$ (mg/L) 为取样时间点 t 时的溶解氧浓度; $[O_2]_{t2}$ 为下一个时间点的浓度; V 为呼吸室的总体积减去鱼的体积; t (h) 为时间点 t_1 和 t_2 的间隔; BW (kg) 为鱼的体重。

P_{crit} 测定: 代谢率和溶氧水平采用“双线法”作图, MO_2 随溶氧下降而出现显著下降拐点, 即为 P_{crit} 。

呼吸频率测定: 监测记录水体溶解氧浓度变化的同时, 观察实验鱼游泳和呼吸行为, 随机选取雌性和雄性大菱鲆各 3 尾, 记录每分钟实验鱼的鳃盖开合次数(1 次开合记为 1 次呼吸频率), 连续测量记录 5 分钟。以此来统计大菱鲆呼吸频率(次/min)。

1.2.2 低氧胁迫和恢复实验 在明确大菱鲆 P_{crit} 基础上, 预实验观察发现, 雌雄大菱鲆幼鱼在 P_{crit} 条件下, 呼吸频率显著升高, 在胁迫 6 h 后呼吸频率稳定, 恢复正常溶解氧 12 h 后, 雌雄大菱鲆行为和摄食恢复到正常状态, 基于此, 进行正式的低氧胁迫和恢复实验。设置 1 个对照组(Control)和 3 个处理组, 每组 3 个平行, 将雌雄大菱鲆分别放入 12 个养殖桶(90 L, 10 尾/桶)。处理组分别为 P_{crit} 条件下低氧胁迫 6 h (MH6)、恢复正常溶解氧水平 6 h (MR6) 和 12 h (MR12)。对照组保持正常流水, 处理组向水体通入氮气, 使水体溶解氧分别下降至雌雄大菱鲆 P_{crit} 时, 通过调控水体流速, 使水体溶解氧浓度稳定在雌雄大菱鲆 P_{crit} , 将雌雄大菱鲆放置于各自实验桶内进行实验。

1.2.3 样品采集 每个实验桶随机选取 6 尾鱼, 置于含 100 mg/L 的 MS-222 的海水中麻醉, 尾部静脉采血。血液样本一份直接保存于含 EDTA- Na_2 的抗凝管中, 用于检测血浆 RBC、WBC、Hb 和红细胞积压(Hct)。另一份静置后, 经 4 $^{\circ}C$ 、3000 r/min 离心 10 min 取上清, 保存于 -80 $^{\circ}C$, 用于检测血浆 COR 和 GLU 浓度。实验鱼采集血液完成后解剖取肝脏和鳃组织, 肝脏直接保存于 -80 $^{\circ}C$, 用于检测肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过

氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)含量, 鳃组织保存于 4%多聚甲醛(赛维尔生物科技有限公司, G1101), 用于制作鳃组织切片。同时解剖观察发现, 雌雄大菱鲆性别鉴定准确率 100%。

1.3 血液生理生化指标检测

RBC 和 WBC 数目、Hb 含量及 Hct, 采用迈瑞全自动血液细胞分析仪(BC-2800vet)检测。血浆 COR 含量采用放射性同位素免疫法(RIA), 试剂盒(KIPI28000)购自北京北方生物技术研究所。血浆 GLU 浓度采用氧化酶法, 试剂盒(F006-1-1)购自南京建成生物工程研究所, 具体操作步骤参照试剂盒说明书。

1.4 肝脏抗氧化指标检测

肝脏组织称重(g), 按重量(g): 体积(mL)=1:9 的比例加入 0.9%生理盐水, 冰水浴制备 10%的组织匀浆液, 经 3000 r/min 离心 10 min 后取上清液备用。肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)含量的检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。具体操作步骤参照试剂盒说明书。

1.5 鳃组织切片

取完整鳃组织置于 4%多聚甲醛保存固定 1 周, 100%、95%、85%、75%酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋(阔海医疗, KH-BL), 切片机(阔海医疗, KH-Q330)进行厚度为 5 μm 的连续切片, 二甲苯脱蜡, 100%、95%、80%、70%酒精梯度脱水和透明, 苏木精-伊红(索莱宝, G1120)进行 HE 染色, 中性树脂胶封片, 置于显微镜(LEICA, DM500)载物台观察并拍摄。随机选取 5 张图像采用测微尺测量鳃小片长度(SLL)、鳃小片宽度(SLW)、鳃小片间距(ID)、鳃小片基质厚度(BET)、鳃小片周长(perimeter); 同时计算鳃小片杵状、增生、肥大、坏死病变形态比例^[21]。通过测量数据计算出鳃小片气体交换率(PAGE)^[22]:

$$PAGE = \frac{SLL}{(SLL + BET)} \times 100\%$$

1.6 数据分析

实验结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。实验数据利用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析

(one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较, 采用双因素方差分析(two-way ANOVA)时间与性别之间的交互作用; 利用 GraphPad Prism 9 进行绘制图表, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 大菱鲆低氧耐受能力

结果表明, 大菱鲆正常代谢率范围为 56.13~71.59 mg/(kg·h), 使用“双线法”作图拟合, 雌雄大菱鲆变化趋势一致。雌性大菱鲆 P_{crit} 为 (3.34 ± 0.23) mg/L, 雄性大菱鲆 P_{crit} 为 (3.22 ± 0.17) mg/L, 二者无显著性差异($P > 0.05$, 图 1a 和 1b)。

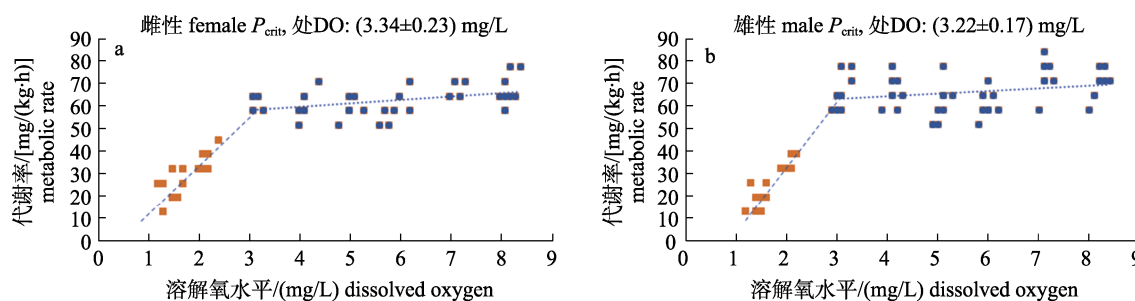


图 1 雌性(a)和雄性(b)大菱鲆临界氧分压

Fig. 1 Critical oxygen tension of male (a) and female (b) *Scophthalmus maximus*

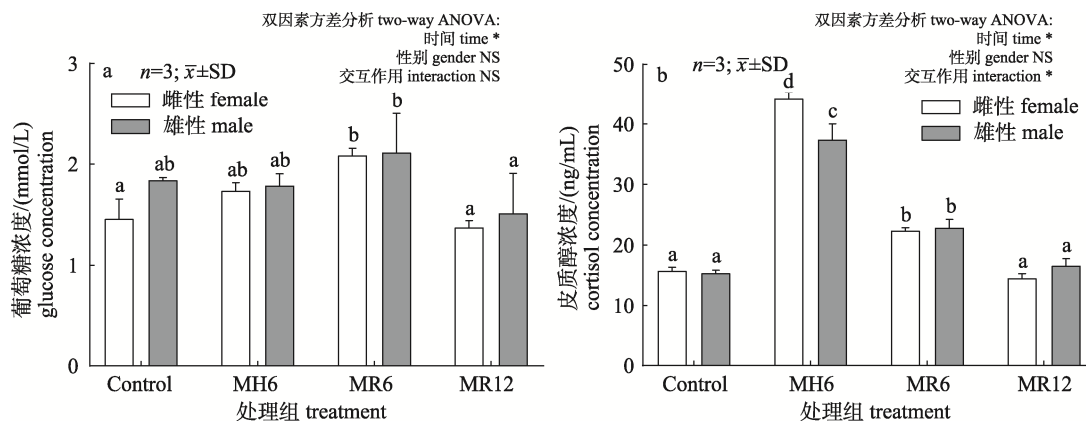


图 2 低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程雌雄大菱鲆葡萄糖(a)与皮质醇(b)浓度的变化

Control: 对照组; MH6: 低氧胁迫 6 h; MR6: 恢复溶解氧 6 h; MR12: 恢复溶解氧 12 h; *表示双因素方差分析差异显著 ($P < 0.05$); NS 表示双因素方差分析差异不显著($P > 0.05$); 柱形图不同

小写字母表示同性别组间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 2 Changes in glucose (a) and plasma cortisol (b) concentration of male and female *Scophthalmus maximus* during hypoxia and reoxygenation

MH6: hypoxic 6 h; MR6: reoxygenation 6 h; MR12: reoxygenation 12 h; * denotes significant effect in two-way ANOVA ($P < 0.05$); NS denotes no significant effect in two-way ANOVA ($P > 0.05$); different letters on the column indicate significant difference between groups of the same sex ($P < 0.05$).

2.2 低氧胁迫对大菱鲆血液皮质醇、葡萄糖的影响

低氧胁迫过程, 雌雄大菱鲆血浆 GLU 浓度无显著变化($P > 0.05$, 图 2a), 而雌鱼在恢复溶解氧 6 h 后显著升高($P < 0.05$, 图 2a), 雄鱼无显著变化($P > 0.05$)。雌雄大菱鲆血浆 COR 浓度显著升高($P < 0.05$, 图 2b), 胁迫 6 h 后, 雌鱼 COR 浓度显著高于雄鱼且达最大值($P < 0.05$, 图 2b)。恢复溶解氧 12 h 后, 雌雄大菱鲆 GLU 与 COR 浓度与对照组无显著差异($P > 0.05$, 图 2a 和 2b), 血浆 GLU 浓度与时间和性别无显著交互作用($P > 0.05$, 图 2a), 而 COR 浓度与时间和性别有显著交互作用 ($P < 0.05$, 图 2b)。

2.3 低氧胁迫对大菱鲆血液生理生化指标的影响

低氧胁迫 6 h 时, 雌性大菱鲆的 WBC 数目显著增加($P<0.05$, 图 3a), 恢复正常溶解氧 12 h 后 WBC 数目与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 3a), 雄性大菱鲆 WBC 数目在低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程中无显著变化($P>0.05$, 图 3a)。雌雄大菱鲆 RBC 数目和 Hb 浓度在低氧胁迫 6 h 后呈升高

趋势, 但差异不显著($P>0.05$), 恢复溶解氧 12 h 后与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 3b 和 3c)。Hct 在低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程中与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 3d)。大菱鲆 WBC 数目、RBC 数目、Hb 浓度和 Hct 与时间和性别无显著交互作用, 且无显著性别差异($P>0.05$, 图 3a, 3b, 3c 和 3d)。

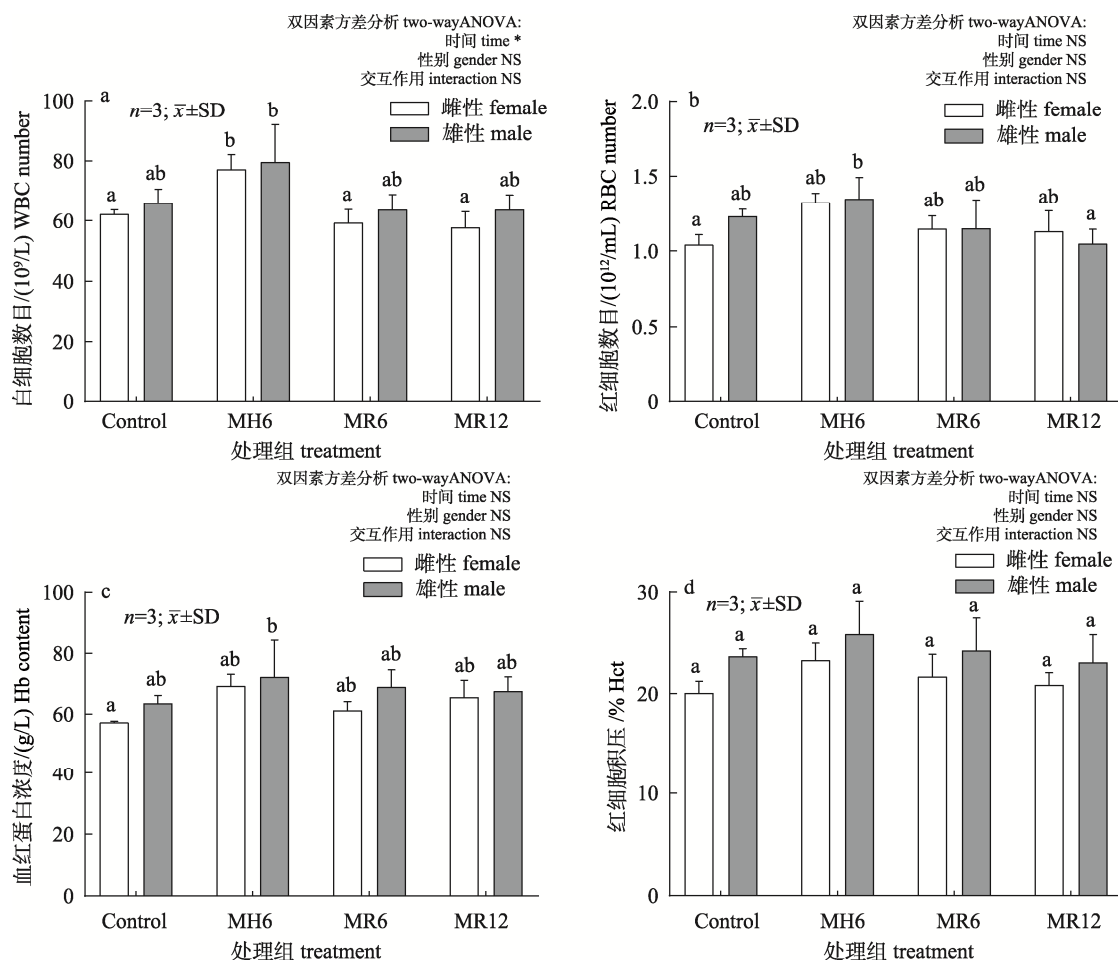


图 3 低氧胁迫对雌雄大菱鲆白细胞数目(a)、红细胞数目(b)、血红蛋白浓度(c)和红细胞压积(d)的影响

Control: 对照组; MH6: 低氧胁迫 6 h; MR6: 恢复溶解氧 6 h; MR12: 恢复溶解氧 12 h;

*表示双因素方差分析差异显著($P<0.05$); NS 表示双因素方差分析差异不显著($P>0.05$);

柱形图不同小写字母表示同性别组间差异显著($P<0.05$).

Fig. 3 Changes in WBC number (a), RBC number (b), Hb concentration (c) and Hct (d) of male and female *Scophthalmus maximus* during hypoxia and reoxygenation

MH6: hypoxic 6 h; MR6: reoxygenation 6 h; MR12: reoxygenation 12 h; * denotes significant

effect in two-way ANOVA ($P<0.05$); NS denotes no significant effect in two-way ANOVA ($P>0.05$); different letters on the column indicate significant difference between groups of the same sex ($P<0.05$).

2.4 低氧胁迫对大菱鲆肝脏抗氧化能力的影响

低氧胁迫过程中, 雌雄大菱鲆肝脏 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量显著升高($P<0.05$,

图 4a, 4b, 4c 和 4d)。SOD、CAT 和 GSH-Px 活性在恢复溶解氧 6 h 后与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 4a, 4b 和 4c), MDA 含量在恢复 12 h 后与对照

组无显著差异($P>0.05$, 图 4d)。大菱鲆 CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量变化均与时间和性别有显著交互作用, 且存在显著性别差异($P>0.05$, 图 4b, 4c 和 4d), 而 SOD 活性与时间和性别无显著交互作用($P>0.05$, 图 4a)。

2.5 低氧胁迫对大菱鲆呼吸和鳃组织的影响

低氧胁迫过程中, 雌雄大菱鲆气体交换率和呼吸频率在胁迫 6 h 时显著升高($P<0.05$, 图 5a 和 5b), 恢复溶解氧 12 h 后, 雌性大菱鲆气体交换率与对照组有显著差异($P<0.05$, 图 5a), 雄性大菱鲆与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 5a); 而两者

的呼吸频率均与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 5b)。大菱鲆气体交换率和呼吸频率受时间的影响显著($P<0.05$, 图 5a 和 5b), 而气体交换率和呼吸频率与时间和性别无显著交互作用, 且无显著性别差异 ($P>0.05$, 图 5a 和 5b)。

大菱鲆正常状态下的鳃小片呈柳叶状向鳃丝两侧伸展(图 6a)。雌雄大菱鲆受低氧胁迫 6 h 后鳃小片 SLL、ID 和鳃小片周长显著增加($P<0.05$, 图 6b, 6d 和 6e), 而鳃小片 SLW 显著减小($P<0.05$, 图 6c)。恢复溶解氧 12 h 后, 雌性大菱鲆 SLL、SLW、ID 和鳃小片周长与对照组存在显著差异($P<0.05$,

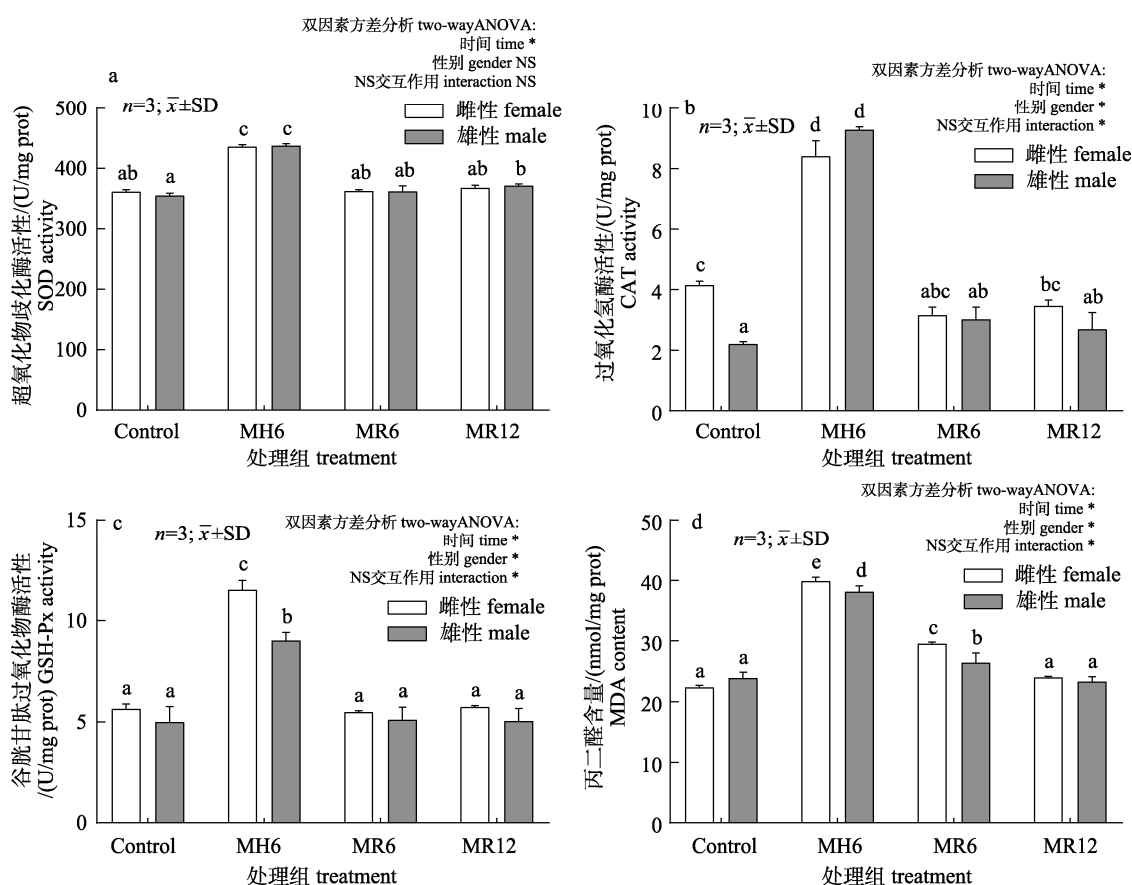


图 4 低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程雌雄大菱鲆肝脏超氧化物歧化酶(a)、过氧化氢酶(b)、谷胱甘肽过氧化物酶(c)活性和丙二醛(d)含量变化

Control: 对照组; MH6: 低氧胁迫 6 h; MR6: 恢复溶解氧 6 h; MR12: 恢复溶解氧 12 h; *表示双因素方差分析差异显著 ($P<0.05$); NS 表示双因素方差分析差异不显著 ($P>0.05$); 柱形图不同小写字母表示同性别组间差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 4 Changes of hepatic SOD (a), CAT (b), GSH-Px (c) activity and MDA (d) content of male and female *Scophthalmus maximus* during hypoxia and reoxygenation
MH6: hypoxic 6 h; MR6: reoxygenation 6 h; MR12: reoxygenation 12 h; * denotes significant effect in two-way ANOVA ($P<0.05$); NS denotes no significant effect in two-way ANOVA ($P>0.05$); different letters on the column indicate significant difference between groups of the same sex ($P<0.05$).

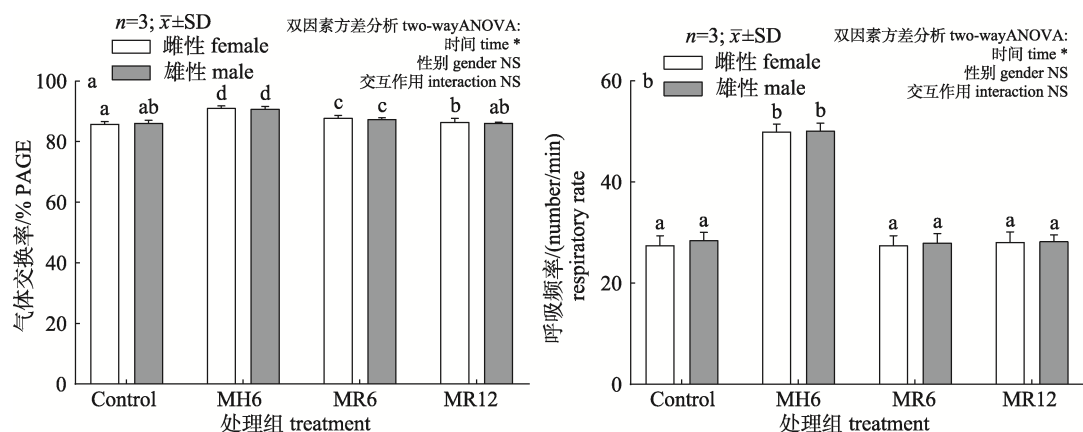


图 5 低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程雌雄大菱鲂气体交换率(a)与呼吸频率(b)的变化
Control: 对照组; MH6: 低氧胁迫 6 h; MR6: 恢复溶解氧 6 h; MR12: 恢复溶解氧 12 h; *表示双因素方差分析差异显著 ($P < 0.05$); NS 表示双因素方差分析差异不显著 ($P > 0.05$); 柱形图不同小写字母表示同性别组间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 5 Changes in PAGE (a) and respiratory rate (b) of male and female *Scophthalmus maximus* during hypoxia and reoxygenation

MH6: hypoxic 6 h; MR6: reoxygenation 6 h; MR12: reoxygenation 12 h; * denotes significant effect in two-way ANOVA ($P < 0.05$); NS denotes no significant effect in two-way ANOVA ($P > 0.05$); different letters on the column indicate significant difference between groups of the same sex ($P < 0.05$).

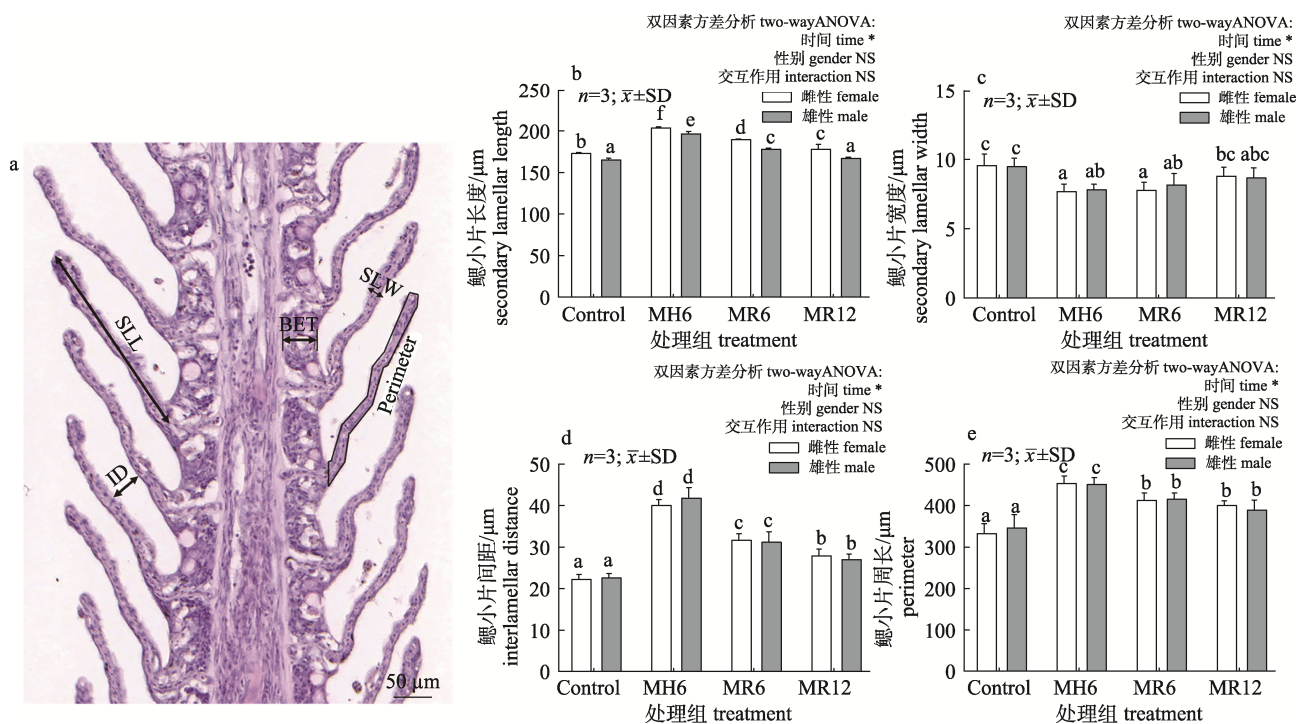


图 6 低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程雌雄大菱鲂鳃组织形态变化

a. 鳃组织形态; b-e. 分别表示鳃小片长度、宽度、间距和周长变化; Control: 对照组; MH6: 低氧胁迫 6 h; MR6: 恢复溶解氧 6 h; MR12: 恢复溶解氧 12 h; *表示双因素方差分析差异显著 ($P < 0.05$); NS 表示双因素方差分析差异不显著 ($P > 0.05$); 柱形图不同小写字母表示同性别组间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 6 Changes in gill histomorphology of male and female *Scophthalmus maximus* during hypoxia and reoxygenation
a. Gill histomorphology; b-e. Changes in SLL, SLW, ID and Perimeter of gill lamellae, respectively; MH6: hypoxic 6 h; MR6: reoxygenation 6 h; MR12: reoxygenation 12 h; * denotes significant effect in two-way ANOVA ($P < 0.05$); NS denotes no significant effect in two-way ANOVA ($P > 0.05$); Different letters on the column indicate significant difference between groups of the same sex ($P < 0.05$).

图 6b, 6c, 6d 和 6e); 雄性大菱鲆 SLL、SLW 与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 6b 和 6c), 而鳃小片 ID 和 Perimeter 与对照组有显著差异($P<0.05$, 图 6d 和 6e)。大菱鲆 SLL、SLW、ID 和 Perimeter 与时间和性别均无显著交互作用, 且无显著性别差异($P>0.05$, 图 6b, 6c, 6d 和 6e)。

大菱鲆正常鳃小片形态呈柳叶状(图 7a); 低氧胁迫过程中, 雌雄大菱鲆鳃组织出现鳃小片末端杵状、基质增生、肥大和坏死四种不同程度的病理形态(图 7a)。低氧胁迫 6 h 时, 雌雄大菱鲆鳃小片末端杵状和基质增生比例显著增加($P<0.05$, 图 7b 和 7c), 其肥大和坏死与对照组差异不显著($P>0.05$, 图 7b 和 7c); 恢复溶解氧 6 h 后, 雌雄大菱鲆鳃小片杵状增加比例仍与对照组有显著差异($P<0.05$, 图 7b 和 7c), 而恢复 12 h 后, 其鳃小片末端杵状、基质增生、肥大和坏死均与对照组无显著差异($P>0.05$, 图 7b 和 7c)。

3 讨论

P_{crit} 是衡量鱼体低氧耐受能力的重要指标, 可直接反映机体对溶解氧的需求^[23-24]。 P_{crit} 值越低, 表明鱼体的低氧耐受能力越强^[25]。因此, 查明鱼类 P_{crit} 值有利于养殖过程中保证机体健康和提高养殖效率。有学者对 206 种水生生物低氧耐受的研究发现, 鱼类致死溶氧浓度为 (1.54 ± 0.07) mg/L^[26], 而大菱鲆在水体溶解氧小于 2.0 mg/L 时出现死亡^[27]。本研究发现, 雌性和雄性大菱鲆 P_{crit} 分别为 (3.34 ± 0.23) mg/L 和 (3.22 ± 0.17) mg/L, 且无显著性别差异。有研究发现, 马口鱼(*Opsariichthys bidens*)^[28]和宽鳍鱲(*Zacco platypus*)^[29]均属于低氧耐受鱼类, 其 P_{crit} 分别为 (1.86 ± 0.10) mg/L 和 (2.44 ± 0.20) mg/L。在许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*)^[30]的研究中发现其 P_{crit} 值为 3.96 mg/L, 斑石鲷 P_{crit} 为 3.15 mg/L^[12]。说明

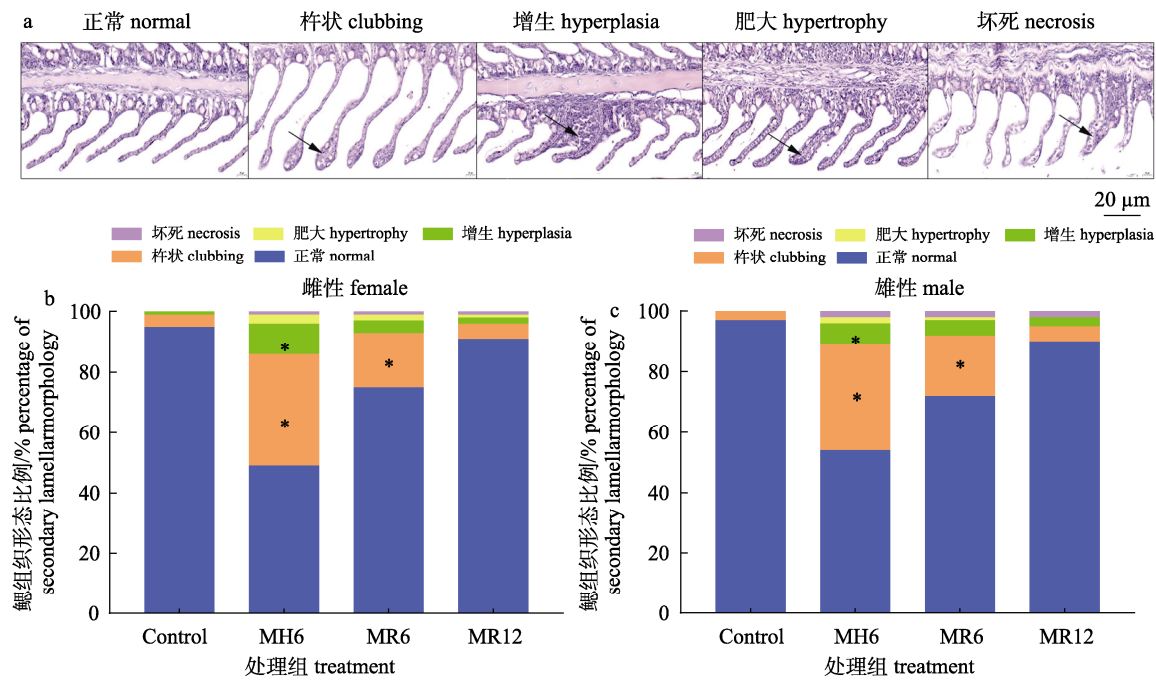


图 7 低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程大菱鲆鳃组织形态比例

a. 大菱鲆鳃组织形态; b. 雌性大菱鲆大菱鲆鳃组织形态比例; c. 雄性大菱鲆大菱鲆鳃组织形态比例;
*表示鳃组织形态比例组间差异显著($P<0.05$).

Fig. 7 Proportion of gill tissue morphology during hypoxia and reoxygenation in male and female *Scophthalmus maximus*
a. Gill tissue morphology of turbot; b. Proportion of gill tissue morphology in female turbot; c. Proportion of gill tissue morphology in male turbot, * denotes significant difference in the proportion of gill histomorphology between groups ($P<0.05$).

不同种属和不同性别鱼类的 P_{crit} 不同。

皮质醇是反映鱼体应激程度的重要指标^[31], 在能量代谢和免疫调控方面发挥着重要作用。本研究发现, 大菱鲆低氧胁迫 6 h 后, 血浆 COR 含量显著升高。这一结论与 Pichavant 等^[32]的研究结果相一致, 即在水体溶解氧分压下降至 30 mm Hg (DO=2.6 mg/L) 时, 大菱鲆血浆 COR 浓度也显著升高。在低氧胁迫对团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[33] 生理生化影响的研究中也得到类似结果。同时, GLU 作为鱼类重要的能源物质, 对溶氧等环境因子的刺激异常敏感^[34]。本研究发现, 雌雄大菱鲆受低氧胁迫 6 h 时, 其血浆 GLU 含量呈升高趋势, 与对照组相比, 雌鱼 GLU 含量在恢复溶解氧 6 h 后显著升高, 12 h 后恢复至正常水平。前人研究发现, 缺氧会导致鲤 (*Cyprinus carpio*)^[35]、虹鳟^[14] 和欧洲川鲈 (*Platichthys flesus*)^[36] 等鱼体内血浆 GLU 含量急剧上升, 说明鱼体通过升高 GLU 含量来满足低氧导致的能量需求, 而恢复溶解氧后, 由于鱼体长期处于低氧应激而无法立即恢复正常状态, 因此鱼体通过持续升高 GLU 含量以维持机体稳态。这一结论与急性低氧对鲫血液基础指标的影响研究结果^[37] 相一致。以上研究表明, 大菱鲆通过提高 COR 和 GLU 浓度来满足低氧胁迫后鱼体的能量代谢需求。血液作为鱼类循环系统重要的组成部分, 其生理生化指标被广泛应用于评估机体生理健康和鱼类对环境的适应能力^[38]。本研究发现, 雌雄大菱鲆在低氧胁迫下 RBC 数目、Hb 浓度和 Hct 呈上升趋势, 与对照组相比, 均没有显著差异, 且不具有显著性别差异。而本研究中雌性 WBC 数目在低氧胁迫 6 h 后显著增加, 雄性大菱鲆 WBC 数目在低氧胁迫和恢复正常溶解氧过程中均无显著变化。与此类似的是, 暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*)^[39] 在低氧和复氧条件下 RBC 数目和 Hb 浓度均呈现上升状态; 同样在星斑川鲈 (*Platichthys stellatus*)^[40] 和半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*)^[41] 等鲆鲷类的血液指标研究中也得出相似结果。说明雌雄大菱鲆受低氧胁迫时, 其通过增加 WBC 数目、RBC 数目、Hb 浓度和 Hct 来增强携氧能

力以维持机体正常新陈代谢和稳态。以上研究结果表明, 雌雄大菱鲆为应对低氧环境开启免疫和防御屏障, 通过提高血浆 COR 和 GLU 含量, 以及增加 WBC 数目、RBC 数目、Hb 浓度和 Hct 来提高血液携氧能力, 进而满足机体基础代谢需求, 但大菱鲆在低氧胁迫条件下, 以上血液生理指标无显著性别差异。

鱼类受到环境胁迫时, 机体进行新陈代谢产生的活性氧自由基 (ROS) 会在体内过量聚集引起机体氧化, 使体内抗氧化酶活性发生变化, 其氧化还原平衡遭到破坏, 机体产生一系列的应激反应^[42]。而 SOD、CAT、GSH-Px 对清除氧化过程所产生的活性氧自由基起着决定性作用, SOD 活性反映机体清除氧自由基的能力, MDA 是氧自由基攻击生物膜而产生的脂质过氧化物, 是衡量机体氧化应激程度的重要指标^[43]。本研究中, 雌雄大菱鲆受低氧胁迫时, 肝脏 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量显著升高。这与对黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[13] 进行低氧胁迫时, 其体内氧自由基和脂质过氧化物大量累积, 机体抗氧化酶活性增加的研究结果类似。同时, 本研究发现, 大菱鲆 CAT 和 GSH-Px 活性及 MDA 含量具有显著性别差异, 且与时间和性别有显著交互作用, 该结果可能是由于雌雄大菱鲆供能消耗的不同所导致。这与邱小龙等^[44] 对雌雄罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 进行低氧胁迫时, 雌雄虾对能量分配和供应不同的研究结果相一致。以上结果表明, 雌雄大菱鲆受到低氧胁迫时, 机体通过提高体内抗氧化酶活性激活体内抗氧化防御系统来抵抗和适应低氧环境, 从而保护和缓解机体因低氧导致的氧化损伤。

溶解氧是影响鱼类气体交换率和呼吸频率的主要因素之一, 呼吸频率反映水体溶解氧含量和鱼体耗氧量^[45]。鱼类呼吸频率受种属、体重、溶氧、水温和 pH 等各种因素的影响^[46]。本研究发现, 低氧胁迫时, 雌雄大菱鲆的气体交换率和呼吸频率均显著升高, 且无显著性别差异。该发现与对黄颡鱼^[13] 和大黄鱼 (*Larimichthys scrocea*)^[47] 进行低氧胁迫的研究结果相一致, 表明大菱鲆受

低氧胁迫时可通过提高呼吸频率和气体交换率来增加机体对氧气的摄入, 提高耐低氧能力, 从而维持鱼体的正常代谢水平。鳃作为鱼类呼吸的主要器官且具有可塑性^[48]。本研究中, 雌雄大菱鲃受低氧胁迫后, 其鳃小片 SLL、ID 和鳃小片直径显著增加, SLW 显著减小。在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[49] 和 尼 罗 罗 非 鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[50] 的研究中也得出类似结论, 说明大菱鲃鳃小片具有延展性和可塑性。表明低氧胁迫下, 雌雄大菱鲃可通过增加鳃小片 SLL、ID、鳃小片直径和减小鳃小片 SLW 来增大鳃小片与氧气的接触面积, 提高机体对氧气的摄取能力, 从而提高鱼体低氧耐受能力。而当鱼类受环境胁迫时会导致鳃组织产生直接损伤和防御性损伤两种不同类型的损伤^[51]。本研究发现, 处于低氧胁迫下的雌雄大菱鲃鳃小片杵状和基质增生的比例显著增加, 同时出现鳃小片坏死等病变特征, 恢复正常溶解氧后, 鳃小片杵状和基质增生的比例显著减少, 逐渐恢复至正常形态, 且大菱鲃鳃组织形态变化无显著性别差异。这与大黄鱼^[47]和团头鲂^[49]在低氧环境中出现鳃小片杵状、基质增生等防御性损伤和坏死等直接损伤的研究结果相一致。以上研究表明, 雌雄大菱鲃受低氧胁迫时, 可通过改变鳃组织形态来增加鱼体对水体溶解氧的摄取, 以应对低氧胁迫对机体造成的损伤, 且鳃组织形态变化和病变特征不具有明显的性别差异。

综上所述, 本研究明确了大菱鲃临界氧分压时的溶解氧浓度, 发现雌雄大菱鲃通过升高血浆 GLU、COR 和 Hb 浓度, 增加 Hct 与 WBC、RBC 数目来满足机体在应对低氧胁迫时的能量代谢需求, 同时通过提高其肝脏 SOD、CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量来增强机体抗氧化能力, 且发现雌雄大菱鲃 CAT、GSH-Px 活性和 MDA 含量变化有显著性别差异, 而血浆 GLU、COR 与 Hb 浓度、WBC 与 RBC 数目、Hct 和肝脏 SOD 活性无显著性别差异。雌雄大菱鲃还可通过提高其呼吸频率和气体交换率, 以及改变鳃组织形态来提高机体对氧气的摄取能力, 从而增强其对低氧环境的适应性。相关结果可为大菱鲃精准化养殖和良种选育提供理论依据, 为后续大菱鲃低氧应答

机制研究提供基础数据支撑。

参考文献:

- [1] Wu C B, Zheng G D, Zhao X Y, et al. Hypoxia tolerance in a selectively bred F4 population of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) under hypoxic stress[J]. *Aquaculture*, 2020, 518: 734484.
- [2] Mu J L, Jin F, Zhao H D, et al. Early-life exposure to hypoxia altered growth, sex ratio, and reproduction in medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017 12(2): 137-146. [穆景利, 靳非, 赵化德, 等. 水体低氧的早期暴露对青鳉 (*Oryzias latipes*) 后期的生长、性别比和繁殖能力的影响[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(2): 137-146].
- [3] Kramer D L. Dissolved oxygen and fish behavior[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1987, 18(2): 81-92.
- [4] Abdel-Tawwab M, Monier M N, Hoseinifar S H, et al. Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(3): 997-1013.
- [5] Pichavant K, Person-Le-Ruyet J, Le-Bayon N, et al. Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot[J]. *Aquaculture*, 2000, 188(1): 103-114.
- [6] Hu G H, Sun G H, Zhu S C, et al. Effects of hypoxia on the rate of oxygen consumption of respiratory metabolism of northern sheatfish[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2002, 37(2): 46-48. [胡国宏, 孙广华, 朱世成等. 低溶氧对怀头鲂呼吸代谢耗氧率的影响[J]. *动物学杂志*, 2002, 37(2): 46-48].
- [7] Mallekh R, Lagardère J P. Effect of temperature and dissolved oxygen concentration on the metabolic rate of the turbot and the relationship between metabolic scope and feeding demand[J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, 60(5): 1105-1115.
- [8] Seibel B A, Andres A, Birk M A, et al. Oxygen supply capacity breathes new life into the critical oxygen partial pressure (P_{crit})[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2021, 224(8): 1-12.
- [9] Ultsch G R, Boschung H, Ross M J. Metabolism, critical oxygen tension, and habitat selection in darters (*Etheostoma*) [J]. *Ecology*, 1978, 59(1): 99-107.
- [10] Zhang A J, Cao Z D, Fu S J, et al. Comparison of hypoxia tolerance and locomotor performance in two cyprinids with incompletely overlapped habitat[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(20): 5860-5867. [张安杰, 曹振东, 付世建. 生境不完全重叠的两种鲤科鱼类耐低氧及运动能力比较[J]. *生态学报*, 2014, 34(20): 5860-5867].
- [11] Zhang Q, Huang J Q, Quan J Q, et al. Effects of acute hypoxia stress and reoxygenation on oxidative stress in

- Crucian carp *Carassius auratus*[J]. Fisheries Science, 2020, 39(05): 649-656. [张倩, 黄进强, 权金强, 等. 急性低氧胁迫和复氧对鲫鱼氧化应激的影响[J]. 水产科学, 2020, 39(5): 649-656].
- [12] Gao Y T, Gao Y H, Li M Y, et al. Hypoxia tolerance and alternation of blood physiological and biochemical indexes in spotted knifejaw *Oplegnathus punctatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(6): 79-88. [高云涛, 高云红, 李明月等. 斑石鲷低氧耐受能力及血液生理生化指标变化研究[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(6): 79-88].
- [13] Yang K. Effects of dissolved oxygen on the growth, metabolism and oxidative stress of *Pelteobagrus fulvidraco* richardson[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. [杨凯. 溶氧水平对黄颡鱼生长、代谢及氧化应激的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010].
- [14] Boran H, Altinok I, Capkin E. Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Tissue and Cell, 2010, 42(3): 158-164.
- [15] Bosch-Belmar M, Giomi F, Rinaldi A, et al. Concurrent environmental stressors and jellyfish stings impair caged European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) physiological performances[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 27929.
- [16] Jia Y D, Lei J L. Molecular function of gonadotrophins and their receptors in the ovarian development of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. General and Comparative Endocrinology, 2019, 277: 17-19.
- [17] Guan C T, Yang Z Y, Wang Q Y, et al. Turbot industry development report[J]. China Fisheries, 2021, 1: 22-35. [关长涛, 杨正勇, 王启要, 等. 大菱鲆产业发展报告[J]. 中国水产, 2021, 1: 22-35.]
- [18] Zhang Z, Li R, Guo H, et al. Effects of different dissolved oxygen levels on growth and muscle biochemical components in turbot intensively cultured[J]. Fisheries Science, 2014, 33(8): 516-519. [张钊, 李荣, 郭惠, 等. 不同溶解氧水平对工厂化养殖大菱鲆生长及肌肉生化组分的影响[J]. 水产科学, 2014, 33(8): 516-519.]
- [19] Xu Y, Qu K M, Ma S S. Effects of hyperoxic dissolved oxygen levels on growth and digestive enzyme of turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. Fishery Modernization, 2008, 35(4): 24-27. [徐勇, 曲克明, 马绍赛. 过饱和溶氧对大菱鲆生长及消化酶的影响[J]. 渔业现代化, 2008, 35(4): 24-27.]
- [20] Yu J, Wang Y, Xiao Y, et al. Investigating the effect of nitrate on juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) growth performance, health status, and endocrine function in marine recirculation aquaculture systems[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 208: 111617.
- [21] Nero V, Farwell A, Lister A, et al. Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 63(3): 365-377.
- [22] Jia Y D, Gao Y T, Wan J M, et al. Altered physiological response and gill histology in black rockfish, *Sebastes schlegelii*, during progressive hypoxia and reoxygenation[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2021, 47(4): 1133-1147.
- [23] Bergstedt J H, Pfalzgraff T, Skov P V. Hypoxia tolerance and metabolic coping strategies in *Oreochromis niloticus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2021, 257: 110956.
- [24] Kelly T, Johnsen H, Burgerhout E, et al. Low oxygen stress during early development influences regulation of hypoxia-response genes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. G3-Genes Genomes Genetics, 2020, 10(9): 3179-3188.
- [25] Herbert N A, Skjæraasen J E, Nilsen T, et al. The hypoxia avoidance behaviour of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) depends on the provision and pressure level of an O₂ refuge[J]. Marine Biology, 2011, 158(4): 737-746.
- [26] Vaquer-Sunyer R, Duarte C M. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(40): 15452-15457.
- [27] Wu Z H, You F, Wang Y F, et al. The effects of hypoxia and hyperoxia on nucleus anomaly, SOD, CAT activities and MDA content in juvenile turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(6): 808-813. [吴志昊, 尤锋, 王英芳, 等. 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[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(6): 808-813.]
- [28] Neuenfeldt S, Andersen K H, Hinrichsen H H. Some Atlantic cod *Gadus morhua* in the Baltic Sea visit hypoxic water briefly but often[J]. Journal of Fish Biology, 2009, 75(1): 290-294.
- [29] Flik G, Klaren P H M, Van Den Burg E H, et al. CRF and stress in fish[J]. General and Comparative Endocrinology, 2006, 146(1): 36-44.
- [30] Gao Y T, Gao Y H, Li M Y, et al. Hypoxia tolerance and alternation of hematology and gill morphology in black rockfish *Sebastes schlegelii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(9): 40-51. [高云涛, 高云红, 李明月, 等. 许氏平鲷低氧耐受能力及血液学和鳃组织学变化[J]. 水产学报, 2023, 47(9): 40-51.]
- [31] Ruan W, Ji W, Zheng L, et al. On hypoxia stress in fish and

- its nutritional regulation and response[J]. Marine Fisheries, 2020, 42(6): 751-761. [阮雯, 纪炜炜, 郑亮, 等. 鱼类低氧胁迫及营养调控和应对研究进展[J]. 海洋渔业, 2020, 42(6): 751-761.]
- [32] Pichavant K, Maxime V, Thébault M T, et al. Effects of hypoxia and subsequent recovery on turbot *Scophthalmus maximus*: Hormonal changes and anaerobic metabolism[J]. Marine Ecology Progress Series, 2002, 225: 275-285.
- [33] Wang Y W. Effects of hypoxia and culture density on physiological and biochemical indexes and tissue structure of *Megalobrama amblycephala*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019. [王焱伟. 低氧、养殖密度对团头鲂生理生化指标和组织结构的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.]
- [34] Candebat C L, Booth M, Williamson J E, et al. The critical oxygen threshold of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)[J]. Aquaculture, 2020, 516: 734519.
- [35] Van Raaij M, Van Den Thillart G, Vianen G J, et al. Substrate mobilization and hormonal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.) and common carp (*Cyprinus carpio* L.) during deep hypoxia and subsequent recovery[J]. Journal of Comparative Physiology B, 1996, 166(7): 443-452.
- [36] Jørgensen B J, Mustafa T. The effect of hypoxia on carbohydrate metabolism in flounder (*Platichthys flesus* L.)-I. Utilization of glycogen and accumulation of glycolytic end products in various tissues[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 1980, 67(2): 243-248.
- [37] Zhang X, Fu S J, Peng J L, et al. The effect of acute hypoxia on blood parameters of juvenile *Crucian* Carp[J]. Journal of Chongqing Normal University (Natural Science), 2011, 28(4): 19-22. [张曦, 付世建, 彭姜岚, 等. 急性低氧对鲫幼鱼血液基础指标的影响. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2011, 28(4): 19-22.]
- [38] Wang P. Study on physiological response and transcriptomic analysis of *Exopalaemon carinicauda* to hypoxia-reoxygenation stress[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021. [王盼. 脊尾白虾对低氧-复氧胁迫的生理响应及其转录组学分析研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021.]
- [39] Li X R. Effects of hypoxia stress on energy metabolism, blood indexes and gene expression of *Takifugu* puffer[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2018. [李欣茹. 低氧胁迫对暗纹东方鲀能量代谢、血液指标及基因表达的影响[D]. 南京: 南京师范大学, 2018.]
- [40] Hong Z Y. Effects of salinity on growth and feeding of juvenile Starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J]. Bulletin of Marine Science, 2013, 15(1): 66-75.
- [41] Wang Z S, Qi Z T, Tian J Y, et al. Cloning of hemoglobin- α 1 from half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) and its expression under short-term hypoxia[J]. Zoological Research, 2011, 32(6): 641-646.
- [42] Shi B M, Chi Z H. Research progress on harm of free radical to animals and its elimination technology[J]. Feed Industry, 2021, 42(9): 1-6. [石宝明, 迟子涵. 自由基对动物的危害及消除技术研究进展[J]. 饲料工业, 2021, 42(9): 1-6.]
- [43] Du S N, Mahalingam S, Borowiec B G, et al. Mitochondrial physiology and reactive oxygen species production are altered by hypoxia acclimation in killifish (*Fundulus heteroclitus*)[J]. Journal of Experimental Biology, 2016, 219(8): 1130-1138.
- [44] Qiu X L, Jiang Y L, Cai Y S, et al. Behavioral and physiological responses to hypoxia stress in male and female *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(10): 1-10. [邱小龙, 江颖琳, 蔡雅霜, 等. 雌雄罗氏沼虾应对低氧胁迫的行为生理响应[J]. 应用生态学报, 2022, 33(10): 1-10.]
- [45] Xu L W, Qu T T, Zhao Y T, et al. Influence of body weight, temperature and pH on the respiratory rate of tench (*Tinca tinca*)[J]. Fishery Modernization, 2018, 45(2): 55-58. [徐连伟, 曲婷婷, 赵彦涛, 等. 体重、温度和pH对丁鲋呼吸频率的影响[J]. 渔业现代化, 2018, 45(2): 55-58.]
- [46] Nilsson G. Does size matter for hypoxia tolerance?[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 146(4): 171-188.
- [47] Zeng J, Wang Q, Wang Y B, et al. Effects of hypoxia and acidification stress on ion regulation and gill structure of juvenile *Larimichthys crocea*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(2): 551-559. [曾姣, 王倩, 王亚冰, 等. 低氧及酸化胁迫对大黄鱼幼鱼离子调节与鳃组织结构的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 33(2): 551-559.]
- [48] Nilsson G E, Dymowska A, Stecyk J A. New insights into the plasticity of gill structure[J]. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2012, 184(3): 214-222.
- [49] QIAN C Y. Effects of hypoxia and hyperoxia on the morphological changes of gill and enzyme activity of tissues in the new strain F5 of *Megalobrama amblycephala*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020. [钱辰颖. 低氧和高氧对团头鲂 F5 新品系鳃组织形态变化及各组织酶活性的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.]
- [50] Benli A Ç K, Köksal G, Özkul A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology[J]. Chemosphere, 2008, 72(9): 1355-1358.

- [51] Sollid J, Nilsson G E. Plasticity of respiratory structures-adaptive remodeling of fish gills induced by ambient oxygen and temperature[J]. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2006, 154(1-2): 241-251.

Gender differences in the hematology, hepatic antioxidant capacity, and gill histology of turbot (*Scophthalmus maximus*) under hypoxic stress

LI Feixia^{1,2}, GAO Yuntao¹, WANG Jiawei¹, XIE Ting¹, ZHANG Jiarong¹, JIA Yudong^{1,3}

1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Process, Qingdao 266237, China

Abstract: This study aimed to investigate the tolerance and physiological differences between male and female turbot (*Scophthalmus maximus*) in response to hypoxic stress. Female (169.95 ± 13.55) g and male (170.08 ± 19.02) g turbot of similar sizes were used to determine the concentration of dissolved oxygen at their critical oxygen tension (P_{crit}). Furthermore, changes in blood physiological and biochemical indexes, hepatic antioxidant activity, gas exchange rate, respiratory rate, and gill histomorphology were analyzed under hypoxic stress and again after reoxygenation. The results showed that the dissolved oxygen concentrations of male and female turbot under P_{crit} were (3.34 ± 0.23) mg/L and (3.22 ± 0.17) mg/L, respectively, with no significant difference observed ($P > 0.05$). Turbot plasma cortisol (COR) glucose (GLU) content, white blood cell (WBC) number, hepatic superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity, and malondialdehyde (MDA) content were all significantly increased ($P < 0.05$) after 6 h of hypoxic stress treatment. Meanwhile, significant differences in CAT activity, GSH-Px activity, and MDA content were observed between males and females after treatment with hypoxia for 6 h. The gas exchange rate, respiratory rate, secondary lamellar length (SLL), interlamellar distance (ID), and perimeter of gill lamella of both male and female turbot were significantly increased, whereas the secondary lamellar width (SLW) of gill lamella were significantly decreased ($P < 0.05$). The clubbing and matrix hyperplasia at the end of gill lamella of female and male turbot manifested similar results to those of the SLL ($P < 0.05$), with no significant difference observed between the sexes. All aforementioned parameters were recovered to normal levels after reoxygenation for 12 h. These results demonstrate that there were physiological differences observed between male and female turbot under hypoxic stress conditions, especially in CAT activity, GSH-Px activity, and MDA content. These changes aimed to meet the metabolic demand of the organism while enhancing the activity of liver antioxidant enzymes to alleviate the oxidative stress damage caused by hypoxic stress. Notably, males exhibited greater tolerance to low oxygen levels than females.

Key words: *Scophthalmus maximus*; hypoxic stress; physiology and biochemistry; antioxidative activity; gill histology; gender difference

Corresponding author: JIA Yudong. E-mail: jiayd@ysfri.ac.cn