

二氧化碳暴露对海水青鳉生存和抗氧化系统的影响

刘涛¹, 缪丰锴², 娄琦³, 杜鹏^{2,4}, 李正炎^{2,5}

(1. 中海油研究总院有限责任公司, 北京 100028; 2. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100; 3. 青岛大学环境科学与工程学院, 山东 青岛 266071; 4. 青岛中海昶洋环境科技有限公司, 山东 青岛 266061; 5. 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要: 在“双碳”战略背景下, 世界沿海国家积极探索海洋碳封存实践, 然而迄今人们对碳封存可能引发的二氧化碳泄漏及其对海洋生物尤其是海洋鱼类的毒性效应研究仍然十分匮乏。本文以生态毒理试验模式物种海水青鳉为受试生物, 研究二氧化碳暴露对海水青鳉存活和抗氧化系统的影响, 并探求其毒性作用机制。结果表明, 二氧化碳暴露对海水青鳉 48 h 和 96 h 半致死浓度(LC₅₀)分别为 20.8 mmol/L 和 19.5 mmol/L。亚致死暴露条件下(暴露浓度 0.87~8.65 mmol/L), 海水青鳉体内超氧化物歧化酶(SOD)活性在暴露 14 d 后呈诱导趋势, 但暴露 21 d 后诱导趋势减缓。过氧化氢酶(CAT)活性随二氧化碳暴露浓度升高受到显著抑制, 暴露 21 d 后的最高无效应浓度(NOEC)和最低效应浓度(LOEC)分别为 3.57 mmol/L 和 6.89 mmol/L。脂质过氧化的生物标志物丙二醛(MDA)含量对二氧化碳暴露响应更敏感, 21 d 后 NOEC 和 LOEC 分别为 0.87 mmol/L 和 1.56 mmol/L。该研究表明二氧化碳暴露可能导致海水青鳉体内自由基累积并引发抗氧化系统损伤。

关键词: 二氧化碳; 抗氧化系统; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 丙二醛

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2024)11-0000-00

DOI: 10.11759/hyxx20240501001

二氧化碳作为代表性温室气体, 能够引起全球变暖。为了减缓温室效应, 世界许多国家相继提出碳中和目标, 我国也提出力争于 2030 年前二氧化碳排放达到峰值, 2060 年前实现碳中和的“双碳”目标。碳捕集与封存(Carbon Capture and Storage)是从源头捕集 CO₂, 运输到地质封存地点, 并封存在特定层(如地下、海底等), 使其长期与大气隔绝, 稳定大气 CO₂ 浓度的主要技术之一。海洋碳封存是指将 CO₂ 封存于海底咸水层、废弃油气藏或开发中的油气藏等地质储层中, 其泄漏风险较小, 泄漏地点远离人口密集区, 封存过程对饮用含水层损害轻微, 诱发地震的可能性低, 可以实现相对永久和安全的封存^[1]。另外, 可以将 CO₂ 地质封存与海洋油气开采活动相结合, 将超临界状态的 CO₂ 注入开发中的油气藏, 不但能提高采油效率, 还能降低 CO₂ 封存成本^[2]。根据自然资源部中国地质调查局 2023 年发布的初步预测结果, 我国海域碳封存潜力巨大, 达 2.58 亿吨^[3]。因此, 海洋碳封存是我国实现碳中和不可或缺的手段之一。

然而由于地层的复杂性、海底运动的可能性以及当前封存技术的限制性等原因, 海洋碳封存活动可能发生

CO₂ 泄漏问题。例如将 CO₂ 直接注至水柱, CO₂ 会与周围海水介质发生物化反应, 引起海洋酸化; 将 CO₂ 封存于海底沉积物中, 则可能会因注入时孔隙压力增高或水合物形成时温度增高而导致其泄漏于海水中^[3-6], 导致海水 CO₂ 浓度升高, 影响海洋环境安全和生物生态健康。曲健凤等^[7]通过分析 CO₂ 泄漏与水体 pH 变化之间的关系, 成功建立了相关数值模型, 结果表明泄漏能导致海水 pH 短时间内大幅度下降, 泄漏速率为 500 mL/min 时, 海水 pH 会在短时间内下降至 4.6。Diaz - Pulido 等^[8]发现当控制不同的 CO₂ 分压, 使海水 pH 从对照组的 8.1(二氧化碳计算浓度约为 0.043 mmol/L)下降至处理组的 7.6(二氧化碳

收稿日期: 2024-05-01; 修回日期: 2024-09-18

基金项目: 中海石油(中国)有限公司北京研究中心科技项目(CCL2022RCPS0245KCN); 国家自然科学基金(U22A20614)

[Foundation: China National Offshore Oil Corporation (CNOOC) Beijing Research Center Science and Technology Project, No. CCL2022RCPS0245KCN; National Natural Science Foundation of China, No. U22A20614]

作者简介: 刘涛(1975—), 男, 河北沧州人, 高工, 硕士, 主要从事海洋工程环境治理与修复等方面研究, 电话: 0108-4525468, Email: liutao1@cnooc.com.cn; 李正炎(1971—), 男, 浙江衢州人, 主要从事生态毒理和环境基准方面的研究, 通信作者: 电话: 0532-66786381, Email: zhengyan@ouc.edu.cn

计算浓度约为 0.093 mmol/L)时,珊瑚藻(*Porolithon onkodes*)的死亡率将从 1%增加到 9%。Baumann 等^[9]发现当水体 pH 下降至 7.7(二氧化碳计算浓度约为 0.079 mmol/L)时,美洲银汉鱼(*Menidia beryllina*)胚胎的存活率比对照组下降 74%。黄显雅等^[10]发现中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)浮游幼体存活率与海水酸化程度显著相关,当通入不同浓度的超纯 CO₂ 气体,使水体 pH 下降至 7.62(二氧化碳计算浓度约为 0.089 mmol/L)时,存活率比对照组下降 69%。

虽然已有研究初步探讨了 CO₂ 暴露对海洋生物的毒性效应,但这些研究主要集中在 CO₂ 对无脊椎动物生存等方面的影响。对于鱼类等脊椎动物的研究,多数停留在宏观指标上,如高浓度 CO₂ 会导致鱼类呼吸性酸中毒,进而引发死亡、昏迷、麻醉和窒息等毒性效应。然而,关于鱼类的生理生化效应及其作用机制的研究仍不深入。

氧化还原反应是生命能量代谢的化学基础,发挥着调节机体多种生物学功能的关键作用。然而,自由基和活性氧(ROS)的过量产生或抗氧化能力不足会导致氧化应激。这些自由基和活性氧可以损伤细胞、蛋白质、脂质和 DNA,影响生物个体的生长发育^[11]。抗氧化系统是生物体对抗氧化应激的防御机制,通过激活该系统,机体可以清除活性氧,减轻细胞损伤,提高生存率。参与这一过程的关键酶包括超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)等,此外,丙二醛(MDA)是细胞膜脂质受自由基攻击后的分解产物。这些酶和 MDA 常被用作氧化应激的生物标志物,检测它们的水平可以反映体内氧化应激的程度^[12]。

本文以海洋生态毒理试验的模式鱼类——海水青鳉为受试生物,开展 CO₂ 暴露下的急慢性毒性试验,研究该鱼类生存和抗氧化防御系统的响应,以期 CO₂ 的毒性效应机制解析和生态风险评估提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 受试生物与材料

本研究受试生物海水青鳉(*Oryzias melastigma*)由中国海洋大学生态毒理实验室长期培养。该物种具有生存能力强、耐盐范围广、世代周期短、产卵率高、对环境变化敏感等优势,是理想的海洋模式生物^[13-14]。受试生物在实验室内培养及实验过程中所用水体均为经滤膜(0.45 μm)过滤且经过紫外灭菌的海水。

为研究选取孵化后 15 d 左右的海水青鳉仔鱼(体长约 7±0.5 mm)为受试生物样本,参照《GB/T 27861-2011 化学品 鱼类急性毒性实验》^[15]、《GB/T 21759-2008 化学品 慢性毒性实验方法》^[16]、《GB/T 29764-2013 化学品 青鳉鱼早期生命阶段毒性实验》^[17]等技术规范开展二氧化碳暴露的急慢性毒性试验。

本研究所用主要试剂材料包括:总蛋白定量分析试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)活性分析试剂盒、过氧化氢酶(CAT)活性分析试剂盒、丙二醛(MDA)含量分析试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;CO₂ 气体(纯度 99.99%)购自青岛德海伟业公司。

1.2 主要仪器与设备

本研究涉及主要仪器设备包括:酶标仪(型号:Labserve K3,赛默飞世尔实验器材(上海)有限公司)、高速离心机(型号: TG16-WS,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、智能光照培养箱(型号: GXZ-280B,宁波江南仪器厂)、气体流量计(型号: KD800-4,常州市科德热工仪表有限公司),便携式 pH 计(6010M,上海任氏电子有限公司)。

1.3 二氧化碳暴露浓度估算方法

CO₂ 气体从气瓶经减压阀和气体流量计调节注入生物暴露容器。由于 CO₂ 暴露浓度难以实时监测,本研究通过取水样测定 pH 与总碱度(TA),根据以下公式估算 CO₂ 暴露浓度^[18]:

$$[\text{CO}_2] = \frac{\text{TA} \times [\text{H}^+]^2}{K_1^* \times ([\text{H}^+] + 2 \times K_2^*)}$$

式中, K_1^* 和 K_2^* 分别为海水中 H₂CO₃ 的一级和二级表观解离常数, $[\text{CO}_2]$ 为 CO₂ 浓度, $[\text{H}^+]$ 为氢离子浓度, TA 为总碱度。

水体 pH 值采用便携式 pH 计进行测定,水体 TA 利用酸碱滴定法^[19]进行测定。

1.4 急性毒性试验

目前海水平均 pH 7.8(二氧化碳计算浓度约 0.068 mmol/L),为探究短时间内 CO₂ 泄漏到何种程度会对生物产生致死效应,而对 CO₂ 浓度进行适当放大,开展预试验,依据预实验结果利用等对数间距法对 CO₂ 正式试验进行浓度分组。共设定 5 个暴露组,暴露浓度分别为 26.2、21.4、19.9、18.5 和 15.9 mmol/L,同时设置空白对照组,每组设置 3 个平行。急性毒性试验采用静态试验法,于 3 L 烧杯中加入消毒海水,

通过气体流量计调节 CO₂ 暴露浓度, 持续通气维持水体 CO₂ 浓度。将孵化后 15 d 左右的海水青鳉仔鱼随机投入各试验组中, 每组 21 尾, 暴露 4 d, 每天记录受试生物死亡数量。试验期间不喂食, 不充氧。

1.5 慢性毒性试验

以急性毒性试验结果获得的半致死浓度(LC₅₀)为依据, 进行慢性毒性试验分组, 共设置 5 个暴露组, 暴露浓度分别为 8.65、6.89、3.57、1.56 和 0.87 mmol/L, 同时设置空白对照组, 每组 3 个平行, 在亚致死条件下, 探究 CO₂ 对生物抗氧化防御系统的影响。慢性毒性试验采用半静态试验法, 试验容器同急性毒性试验, 暴露时间为 21 d, 每 3 天更换一半试验水体, 持续通气维持水体 CO₂ 浓度。分别于 7 d、14 d 和 21 d 随机选取受试生物样本进行后续酶活性等指标的分析测试。

1.6 样品分析与测试

选取的受试生物样本置于预冷的 0.9%生理盐水中漂洗, 滤纸拭干, 准确称重后, 按重量体积比 1:9 的比例加入 0.9%生理盐水进行冰水浴组织匀浆, 3 000 r/min 转速下低温离心 10 min, 取上清液按试剂盒说明书进行超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性及丙二醛(MDA)含量测定。SOD 酶活性以 WST-1 法测定, 根据 WST-1 噻唑盐(2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2, 4-二磺酸苯基)-2 氢-四唑盐)可以与超氧阴离子自由基反应产生水溶性染料, 对 SOD 酶活性进行检测。CAT 酶活性采用钼酸铵法测定, 利用过氧化氢可与钼酸铵反应形成稳定黄色复合物的原理, 通过测定反应体系中剩余过氧化氢的量, 间接测定 CAT 酶活性。MDA 含量以 TBA(硫代巴比妥酸)法测定, 根据 MDA 与硫代巴比妥酸反应成色的原理检测其含量。

1.7 数据统计与分析

采用 IBM SPSS Statistics 22 统计分析软件根据概率回归法拟合受试生物死亡率与 CO₂ 暴露浓度之间的响应关系, 计算不同暴露时间下的半致死浓度。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)比较各处理组与对照组之间 SOD、CAT 活性及丙二醛含量的组间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 二氧化碳暴露对水体二氧化碳浓度的影响

根据第 1.3 节中的 CO₂ 浓度计算公式, 本研究开展了不同流速下的 CO₂ 曝气实验, 探求是否可以通

过控制气体流速控制受试水体 pH 与 TA, 进而控制水体 CO₂ 浓度。

由图 1 可知, 初始受试水体 pH 均为 8.3 左右, CO₂ 通气速率的不同, 各实验组达到稳定时耗费的时间也不同。如通气速率为 6 mL/min 时, 在 5 h 以内, 水体 pH 便基本稳定, 而在 20 mL/min, 在 7 h 左右, 水体 pH 才会趋于稳定。除此之外, 各个实验组水体 pH 的最终稳定值也存在差异, 通气速率越大, 稳定后水体 pH 值越低。如通气速率为 6 mL/min 时, 水体 pH 稳定在 5.2 左右, 而在 20 mL/min, 水体 pH 稳定在 4.8 左右。因此, 在本实验研究中, 水体 pH 确实可以通过调节 CO₂ 曝气速率进行调控, 且均在曝气一段时间后基本达到稳定状态, 稳定后的水体 pH 值与 CO₂ 曝气速率成反比。

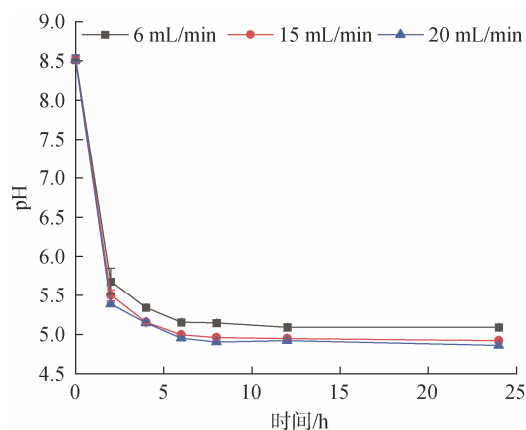


图 1 曝气流速与水体 pH 关系曲线图

Fig. 1 Relationship between aeration flow rate and pH of water body

另外, 本研究对受试水体进行了定期取样测定水体 TA(mmol/L), 具体结果如下表 1。发现总碱度变化幅度较小。通过独立样本 Kruskal-Wallis 检验发现总碱度随时间及流速变化不显著($P > 0.05$), 这与黄显雅等^[10]研究过程中的结果类似。

2.2 二氧化碳急性暴露对海水青鳉死亡率的影响

从图 2 可以看出, 在 96 h 急性暴露试验期间, 对照组中海水青鳉受试生物全部存活, 但处理组中受试生物出现死亡, 且死亡率随 CO₂ 暴露浓度增加和暴露时间延长而逐渐上升。最低浓度(15.9 mmol/L)暴露组中, 试验 6 h 后开始出现死亡, 之后死亡率逐步升高, 48 h 后的平均死亡率为 16.7%, 96 h 后的平均死亡率为 30.0%。最高浓度(26.2 mmol/L)暴露组中,

表 1 不同暴露时间、流速下水体总碱度(单位: mmol/L)

Tab. 1 TA at different exposure times and flow rates (Unit: mmol/L)

流速/(mL/min)	时间/h								
	0	2	4	6	8	10	12	24	
6	2.60	2.38	2.49	2.49	2.49	2.38	2.60	2.49	
15	2.60	2.38	2.38	2.38	2.54	2.49	2.38	2.38	
20	2.60	2.49	2.44	2.38	2.38	2.54	2.54	2.54	

试验 2h 后开始出现死亡, 之后死亡率迅速升高, 24h 的平均死亡率为 75.0%, 72h 的死亡率达到 100%。计算得到 CO₂ 暴露下海水青鳉的 48h 和 96h 半致死浓度见表 2。

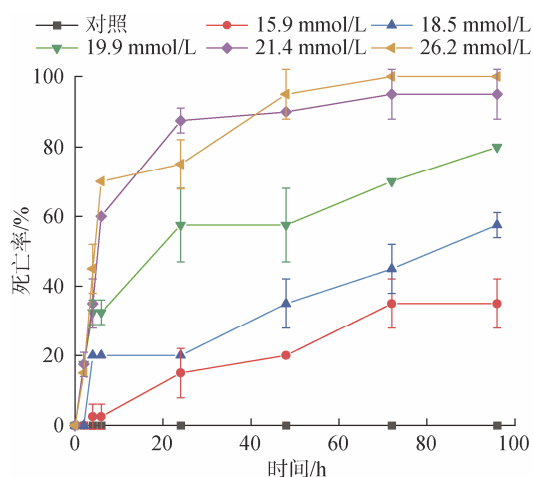


图 2 不同二氧化碳暴露浓度下海水青鳉的死亡率变化
Fig. 2 Variation in mortality rate of *Oryzias melastigma* under different carbon dioxide exposure concentrations

表 2 不同暴露时间下二氧化碳对海水青鳉的半致死浓度
Tab. 2 Half-lethal concentrations of carbon dioxide on *Oryzias melastigma* at different exposure times

暴露时间/h	LC ₅₀ /(mmol·L ⁻¹)	95%置信区间/(mmol·L ⁻¹)
48	20.8	19.8~20.9
96	19.5	8.57~22.3

2.3 二氧化碳慢性暴露对海水青鳉 SOD 酶活性的影响

在 21 d 的 CO₂ 慢性暴露试验中, 各处理组海水青鳉体内的 SOD 酶活性相较于对照组总体呈现被诱导状态(图 3)。暴露 7 d 后, 低浓度暴露组(≤1.56 mmol/L) SOD 酶活性与对照组相比无显著差异, 中浓度暴露组(3.57 mmol/L)酶活性显著高于对照组, 但高浓度暴露组(≥6.89 mmol/L)酶活性与对照组相比无显著差异。暴露 14 d 后, 各暴露组酶活性均显著高于对

照组, 其中 3.57 mmol/L 暴露组酶活性最高, 为对照组的 150%。暴露 21 d 后, 各处理组酶活性有所下降, 其中 2 个处理组(3.57 mmol/L 和 6.89 mmol/L)的酶活性依然显著高于对照组, 其他处理组的酶活性与对照组相比无显著差异。

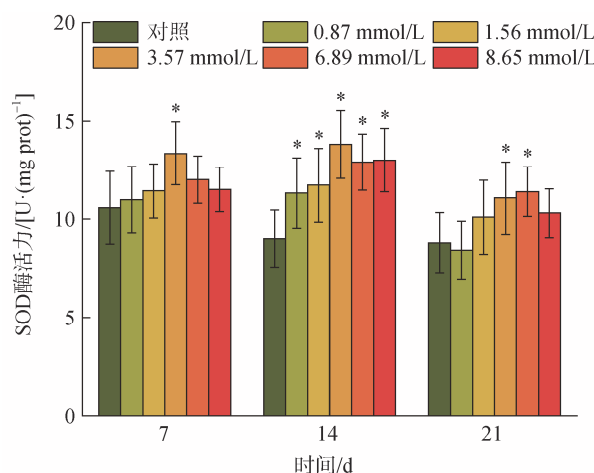


图 3 不同二氧化碳暴露浓度下海水青鳉 SOD 酶活性的变化
Fig. 3 Changes in SOD enzyme activity of *Oryzias melastigma* at different CO₂ exposure concentrations
注: *表示与对照组差异显著, P<0.05.

除此之外, 对不同时期的 SOD 酶活性分析发现, 二氧化碳对 SOD 酶活性的诱导作用先增强后减弱, 如在与对照组有显著差异的 3.57 mmol/L 暴露组, 在第 7 d 与对照组相比 SOD 酶活性上升了 2.54 U/mg prot, 在第 14 d 上升了 5.07 U/mg prot, 在第 21 d 上升了 2.29 U/mg prot, 该变化与鱼类在不同生长阶段的耐受性和自身调节机制有关^[20]。

2.4 二氧化碳慢性暴露对海水青鳉 CAT 酶活性的影响

由图 4 可知, 各处理组海水青鳉体内 CAT 酶活性相较于对照组总体呈现被抑制状态, 且抑制程度随暴露浓度增加而逐步加剧。暴露 7 d 后, 低浓度处理组(≤3.57 mmol/L)的 CAT 酶活性与对照组相比无

显著差异, 但高浓度处理组(≥ 6.89 mmol/L)的酶活性显著低于对照组, 最高抑制率为 48%。暴露 14 d 后, 低浓度处理组(≤ 3.57 mmol/L)的酶活性与对照组相比无显著差异, 但高浓度处理组(≥ 6.89 mmol/L)的酶活性依然显著低于对照组, 最高抑制率为 73%。暴露 21 d 后, 高浓度处理组(≥ 6.89 mmol/L)的酶活性有所恢复, 但仍显著低于对照组, 最高抑制率为 49%。通过各试验组 CAT 活性的差异显著性发现, 暴露 21 d 后, CO₂对海水青鲮体内 CAT 活性的最高无效应浓度(NOEC)为 3.57 mmol/L, 最低效应浓度(LOEC)为 6.89 mmol/L(图 4)。

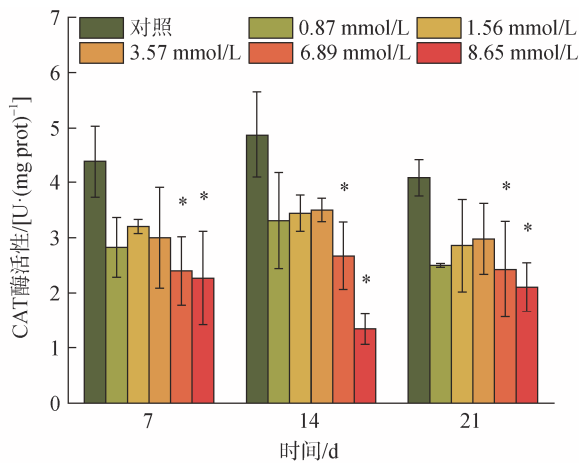


图 4 不同二氧化碳暴露浓度下海水青鲮 CAT 酶活性的变化

Fig. 4 Changes in CAT enzyme activity of *Oryzias melastigma* at different CO₂ exposure concentrations

除此之外, 对不同时期的 CAT 酶活性分析发现, 二氧化碳对 CAT 酶活性的抑制作用先增强后减弱, 如在与对照组有显著差异的 6.89 mmol/L 暴露组, 在第 7 d 与对照组相比 CAT 酶活性下降了 1.97 U/mg prot, 在第 14 d 下降了 2.49 U/mg prot, 在第 21 d 下降了 1.63 U/mg prot; 在 8.65 mmol/L 暴露组, 在第 7 d 与对照组相比 CAT 酶活性下降了 2.1 U/mg prot, 在第 14 d 下降了 3.56 U/mg prot, 在第 21 d 下降了 1.99 U/mg prot, 该变化与鱼类在不同生长阶段的耐受性和自身调节机制有关。

2.5 二氧化碳慢性暴露对海水青鲮 MDA 含量的影响

MDA 是细胞膜脂质过氧化的产物, MDA 含量可以反映机体细胞受到自由基攻击的过氧化损伤程度^[21]。在 21 d 的慢性暴露试验过程中, 各处理组中

海水青鲮体内的 MDA 含量逐渐升高, 且升高幅度随 CO₂ 暴露浓度的增加而依次增强(图 5)。暴露 7 d 后, 最低浓度处理组(0.87 mmol/L)的 MDA 含量与对照组相比无显著差异, 但其他处理组(≥ 1.56 mmol/L)的 MDA 含量显著高于对照组, 最高含量为对照组的 246%。暴露 14 d 后, 除最低浓度处理组外, 其他处理组的 MDA 含量仍然显著高于对照组, 最高含量为对照组的 256%。暴露 21 d 后, 各处理组 MDA 含量虽有所下降, 但仍显著高于对照组, 在 8.65 mmol/L 处理组中的 MDA 含量为对照组的 312%。通过各试验组 MDA 含量的差异显著性发现, 暴露 21 d 后, CO₂对海水青鲮体内 MDA 含量的 NOEC 和 LOEC 分别为 0.87 mmol/L 和 1.56 mmol/L(图 5)。

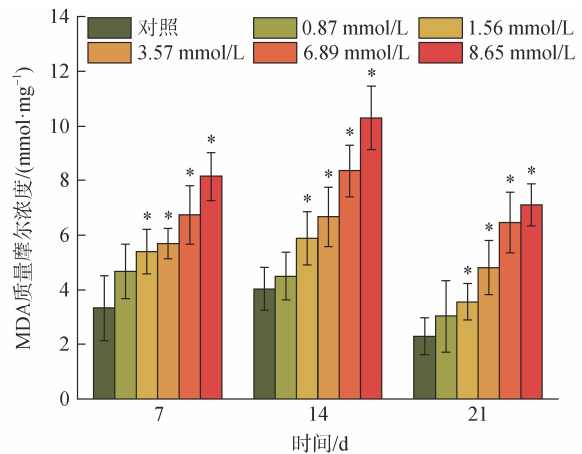


图 5 不同二氧化碳暴露浓度下海水青鲮 MDA 含量的变化
Fig. 5 Changes in MDA content of *Oryzias melastigma* under different CO₂ exposure concentrations

除此之外, 对不同时期的 MDA 含量分析发现, 机体 MDA 含量先增加后减少, 如在与对照组有显著差异的 8.65 mmol/L 暴露组, 在第 7 d 与对照组相比 MDA 质量摩尔浓度增加了 4.87 mmol/mg, 在第 14 d 增加了 6.29 mmol/mg, 在第 21 d 增加了 4.84 mmol/mg, 这也与上文中 SOD、CAT 活性变化结果类似, 同时也说明鱼类逐渐适应外界环境后, 二氧化碳对机体产生的毒害作用趋于减弱。

3 讨论

综合以上 CO₂ 对海水青鲮的致死效应及抗氧化防御系统的研究结果, 封存区域 CO₂ 短时间内的喷发式泄漏可能会引起海水青鲮个体死亡, 长时间内的缓慢渗透会引起抗氧化系统损伤。在长期泄漏背景下, 机体在遭受 CO₂ 胁迫时, 海水青鲮体内产生大量超氧

阴离子自由基, 激活机体的抗氧化防御系统。SOD 酶是抗氧化防御系统的第一环节酶, 能够催化机体内超氧阴离子自由基转化为过氧化氢^[22]。CAT 是生物抗氧化防御系统中的第二环节酶, 能够将 SOD 催化产生的过氧化氢进一步转化为水和氧气^[23]。

本研究表明, 海水青鳉体内的 CAT 酶活性对于 CO₂ 暴露比较敏感, 暴露 14 d 后, 最高浓度暴露组 (8.65 mmol/L) 中的酶活性仅为对照组的 27%, 此时 CAT 酶活性受到显著抑制, 难以实现对 SOD 催化产物过氧化氢的及时转化, 从而使生物产生过氧化损伤。本研究中 MDA 含量增加可能是由于生物体内自由基的累积: 当外界 CO₂ 浓度升高到一定水平时, 生物抗氧化防御系统被激活, SOD 酶活性受到诱导, 然而 CAT 酶活性则受到抑制, 导致过氧化氢在体内累积, 诱发细胞膜脂质过氧化产生 MDA。随着 CO₂ 浓度的继续升高, 超出机体的耐受范围, 抗氧化防御系统受到明显破坏, 表现为对 SOD 酶的诱导作用减弱, 对 CAT 酶的抑制作用增强, 从而引起机体代谢产生的自由基大量累积, 生物体内的 MDA 含量则显著升高^[22-29], 表明生物体受到严重的过氧化损伤。

研究发现, 在 CO₂ 暴露过程中, 海水青鳉 SOD 酶的诱导作用和 CAT 酶的抑制作用均随暴露时间呈现先增强后减弱的趋势。通过查阅文献发现, 这主要是由于海洋二氧化碳浓度升高, 会导致海水酸化, 打破海洋碳酸盐体系的动态平衡, 使海水中的 HCO₃⁻ 和 H⁺ 浓度上升, 直接对海洋生物的生长发育产生危害^[30-31]。而鱼类自身具有酸碱调节机制^[20], 可以通过鳃表面、肾、肠等组织, 排出体内过多的 HCO₃⁻ 和 H⁺^[32]。但在仔鱼阶段, 其体内的组织器官发育尚不成熟, 对海水酸化较敏感, 随着鱼类的生长发育, 酸碱调节机制逐渐完善, 对酸化环境的耐受能力会逐渐增强。

本研究建立了 CO₂ 暴露与海水青鳉抗氧化系统不同生物标志物响应之间的剂量-效应关系, 提出了引起 MDA 含量增加的原因机制, 研究结果对于评估 CO₂ 暴露的生态风险具有科学意义。未来研究还需通过生物体内自由基含量检测和基因组学、蛋白组学等技术手段进一步揭示 CO₂ 暴露对海洋鱼类的分子毒理学作用机制。

4 结论

CO₂ 暴露对海水青鳉的 48 h 和 96 h 半致死浓度分别为 20.8 和 19.5 mmol/L。CO₂ 暴露能够诱导海水

青鳉体内超氧化物歧化酶活性升高, 但过氧化氢酶活性则受到抑制。CO₂ 暴露能够引起海水青鳉抗氧化系统损伤, 表现为丙二醛含量升高, 该过程可能与生物体内过氧化氢累积有关。

参考文献:

- [1] GOLDBERG D S, LACKNER K S, HAN P, et al. Co-location of air capture, subseafloor CO₂ sequestration, and energy production on the Kerguelen plateau[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7521-7529.
- [2] 姜睿. 二氧化碳封存技术在油气行业应用进展[J]. *当代石油石化*, 2022, 30(2): 34-38.
JIANG Rui. Progress of CO₂ sequestration technique application in oil and gas industry[J]. *Petroleum & Petrochemical Today*, 2022, 30(2): 34-38.
- [3] 郑挺颖, 郑鸿祥. 以创新与合作绘就中国“双碳”蓝图[J]. *中国新闻发布(实务版)*, 2023(6): 19-22.
ZHENG Tingying, ZHENG Hongxiang. Drawing China's "dual-carbon" blueprint with innovation and cooperation[J]. *China News Release (Practical Edition)*, 2023(6): 19-22.
- [4] 陈建文, 孙晶, 杨长清, 等. 东海陆架盆地新生界咸水层二氧化碳封存地质条件及封存前景[J]. *海洋地质前沿*, 2023, 39(10): 14-21.
CHEN Jianwen, SUN Jing, YANG Changqing, et al. Geological conditions and prospects of carbon dioxide storage in the Cenozoic saline water layers of the East China Sea Shelf Basin[J]. *Frontiers of Marine Geology*, 2023, 39(10): 14-21.
- [5] SMYTH R C, MECKEL T A. Best management practices for sub-seabed geologic sequestration of carbon dioxide[C]. *Proceedings of the 2012 Oceans*, F 14-19 Oct. 2012. IEEE, 2012, 1-6.
- [6] 张海滨, 卢迪, 王永昌, 等. CO₂ 海底地质封存泄漏监测研究进展[J]. *环境工程*, 2024, 41(10): 61-68.
ZHANG Haibin, LU Di, WANG Yongchang, et al. Development and prospect of CO₂ leakage monitoring during offshore geological storage[J]. *Environmental Engineering*, 2024, 41(10): 61-68.
- [7] 曲健凤, 杨正先, 霍传林, 等. CO₂ 海底封存泄漏引起海水 pH 变化的动态数值模型描述[J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(3): 418-422.
QU Jianfeng, YANG Zhengxian, HUO Chuanlin, et al. Description on dynamic numerical modeling of pH change influenced of carbon dioxide leak undersea[J]. *Marine Environmental Science*, 2012, 31(3): 418-422.
- [8] DIAZ-PULIDO G, ANTHONY K R N, KLINE D I, et al. Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae[J]. *Journal of Phycology*, 2012, 48(1): 32-39.

- [9] BAUMANN H, TALMAGE S C, GOBLER C J. Reduced early life growth and survival in a fish in direct response to increased carbon dioxide[J]. *Nature Climate Change*, 2012, 2(1): 38-41.
- [10] 黄显雅. 海洋酸化对中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)浮游幼体发育的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2014.
HUANG Xianya. The impact of ocean acidification on larval development in sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2014.
- [11] SADIQ I Z. Free radicals and oxidative stress: signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation[J]. *Current Molecular Medicine*, 2023, 23(1): 13-35.
- [12] 魏华, 吴楠, 沈竣, 等. 溴氰菊酯对克氏原螯虾的氧化胁迫效应[J]. *水产学报*, 2010, 34(5): 733-739.
WEI Hua, WU Nan, SHEN Hong, et al. Oxidative stress effects of deltamethrin to the live of crayfish (*Procambarus clarkii*)[J]. *Journal of Aquatic Sciences*, 2010, 34(5): 733-739.
- [13] 陈瑶, 方志俊. 海洋青鲋鱼专用型基因芯片的设计及其在生态毒理学上的应用研究[J]. *台湾海峡*, 2010, 29(3): 359-366.
CHEN Yao, FANG Zhijun. Design of marine medaka (*Oryzias melastigma*) functionak specific cDNA microarray and its ecotoxicological application[J]. *Taiwan Strait*, 2010, 29(3): 359-366.
- [14] 伍辛泷, 黄乾生. 新兴海洋生态毒理学模式生物—海水青鲋(*Oryzias melastigma*)[J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(4): 345-353.
WU Xinlong, HUANG Qiansheng. *Oryzias melastigma*: A new promising model Organism for marine ecotoxicology[J]. *Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(4): 345-353.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 鱼类急性毒性实验 GB/T 27861—2011[S]. 2011.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Chemicals: Fish acute toxicity test GB/T 27861—2011[S]. 2011.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 慢性毒性实验方法 GB/T 21759—2008[S]. 2008.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Chemicals: Test method of chronic toxicity GB/T 21759—2008[S]. 2008.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 青鲋鱼早期生命阶段毒性实验 GB/T 29764—2013[S]. 2013.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of China. Chemicals: Fish (*Oryzias latipes*, d-rR Medaka) early life stage toxicity test GB/T 29764—2013[S]. 2013.
- [18] 陈敏. 化学海洋学[M]. 北京: 海洋出版社, 2009.
CHEN Min. Chemical oceanography[M]. Beijing: Ocean Press, 2009.
- [19] 展惠英, 景茜, 汪雅娟. 水样总碱度的测定[J]. *云南化工*, 2018, 45(9): 89-90.
ZHAN Huiying, JING Xi, WANG Yajuan. Determination of total alkalinity of water samples[J]. *Yunnan Chemical Industry*, 2018, 45(9): 89-90.
- [20] WANG X. Impact of ocean acidification on the early development and escape behavior of marine medaka (*Oryzias melastigma*)[J]. *Marine Environmental Research*, 2017, 131: 10-18.
- [21] ESBAUGH A J, HEUER R, GROSELL M. Impacts of ocean acidification on respiratory gas exchange and acid-base balance in a marine teleost, *Opsanus beta*[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2012, 182(7): 921-934.
- [22] 李方敏, 姚灿灿, 丁存宝. 三唑磷对斑马鱼肝脏氧化损伤作用研究[J]. *生物化工*, 2020, 6(1): 97-99, 106.
LI Fangmin, YAO Cancan, DING Cunbao. Oxidative damage of zebrafish liver by triazophos[J]. *Biochemistry*, 2020, 6(1): 97-99, 106.
- [23] 吴益春, 吕昕, 王凡, 等. Cu 在扇贝组织中的蓄积及其对酶活性的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(5): 559-562.
WU Yichun, LU Xin, WANG Fan, et al. Accumulation of Copper in chlamys farreri tissues and its effect on catalase activities[J]. *Journal of Applied and Environmental Biology*, 2005, 11(5): 559-562.
- [24] 吴志刚, 沈洪艳, 武晨虹, 等. 二甲苯对锦鲤鱼肝脏抗氧化酶的影响[J]. *生物灾害科学*, 2012, 35(3): 295-299.
WU Zhigang, SHEN Hongyan, WU Chenhong, et al. Effects of xylene on antioxidant enzymes in the liver of cyprinus carpio[J]. *Biohazard Science*, 2012, 35(3): 295-299.
- [25] 孟顺龙, 陈曦, 陈泽秋, 等. 2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚胁迫对尼罗罗非鱼肝脏抗氧化防御系统的影响[J]. *生态学杂志*, 2021, 40(10): 3221-3227.
MENG Shunlong, CHEN Xi, CHEN Zeqiu, et al. Effects of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether stress on antioxidant defense system in liver of tilapia[J]. *Journal of Ecology*, 2021, 40(10): 3221-3227.
- [26] 王丽丽, 夏斌, 陈碧鹃, 等. 镉胁迫对虾夷扇贝抗氧化防御系统的影响[J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(1): 39-42.
WANG Lili, XIA Bin, CHEN Bijuan, et al. Effects of cad-

- mium stress on the antioxidant defense system of *Patinopecten yessoensis*[J]. *Marine Environmental Science*, 2012, 31(1): 39-42.
- [27] 孟文娜, 刘舒婷, 王晓蓉, 等. 土霉素对日本锦鲤肝脏抗氧化防御系统的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(5): 833-838.
MENG Wenna, LIU Shuting, WANG Xiaorong, et al. Antioxidant response in liver of *Carassius auratus* under oxytetracycline exposure[J]. *Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 2010, 29(5): 833-838.
- [28] 李进寿, 阮俊峰, 耿宏, 等. 多效唑暴露对褐菖鲉脾脏抗氧化防御系统的影响[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2013, 52(2): 267-272.
LI Jinshou, RUAN Junfeng, GENG Hong, et al. Effects of paclobutrazol exposure on antioxidant system of fish spleen[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 2013, 52(2): 267-272.
- [29] 高嘉蔚, 赵莎莎, 李富云, 等. 微塑料对大型溞摄食和抗氧化防御系统的影响[J]. *环境科学研究*, 2021, 34(5): 1205-1212.
GAO Jiawei, ZHAO Shasha, LI Fuyun, et al. Effects of microplastics on feeding behavior and antioxidant system of *Daphnia magna*[J]. *Environmental Science Research*, 2021, 34(5): 1205-1212.
- [30] 蔺兮浠, 王金堂. 基于碳中和视角的海洋生态补偿制度完善研究[J]. *华北水利水电大学学报(社会科学版)*, 2024, 40(1): 84-91.
LIN Xixi, WANG Jintang. Study on the Improvement of Marine Ecological Compensation System Based on Carbon Neutral Perspective[J]. *Journal of North China University of Water Conservancy and Hydropower (Social Science Edition)*, 2024, 40(1): 84-91.
- [31] 张逸行. 北极楚科奇海酸化及其驱动机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2020.
ZHANG Yixing. Acidification of the Arctic Chukchi Sea and its driving mechanism[D]. Jinan: Shandong University, 2020.
- [32] CLAIBORNE J B, EDWARDS S L, MORRISON-SHETLAR A I. Acid-base regulation in fishes: cellular and molecular mechanisms[J]. *Journal of Experimental Zoology, part A, comparative Experimental Biology*, 2002, 293(3): 302-319.

Effects of carbon dioxide on survival and antioxidant system of *Oryzias melastigma*

LIU Tao¹, MIAO Fengkai², LOU Qi³, DU Peng^{2, 4}, LI Zhengyan^{2, 5}

(1. China National Offshore Oil Corporation (CNOOC), Beijing 100028, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China; 4. Qingdao Zhonghaichangyang Environmental Technology Co Ltd, Qingdao 266061, China; 5 Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Received: May 1, 2024

Key words: carbon dioxide; antioxidant system; superoxide dismutase; catalase; malondialdehyde

Abstract: In the context of the “double carbon” strategy, coastal countries around the world are actively exploring marine carbon sequestration practices. However, there is a shortage of knowledge on carbon dioxide leakage caused by carbon sequestration and the subsequent harmful effects on marine life, especially on fish. In this study, marine medaka *Oryzias melastigma*, an ecotoxicological test model species, was used to investigate the effect of carbon dioxide exposure on its survival and antioxidant system. The results showed that the 48-h and 96-h half-lethal concentrations (LC₅₀s) of CO₂ exposure were 20.82 and 19.47 mmol/L, respectively. Under sublethal exposure conditions (0.87–8.65 mmol/L), the superoxide dismutase (SOD) activity in marine medaka was increased after 14 d of exposure but decreased after 21 d. Catalase (CAT) activity was significantly inhibited with increasing carbon dioxide exposure concentration, and no-observed-effect concentration (NOEC) and lowest-observed-effect concentration (LOEC) values after 21 days of exposure were 3.57 and 6.89 mmol/L, respectively. The content of malondialdehyde (MDA), a biomarker of lipid peroxidation, was more sensitive to CO₂ exposure, with NOEC and LOEC values of 0.87 and 1.56 mmol/L after 21 days, respectively. These results indicate that CO₂ exposure may cause free radical accumulation and trigger antioxidant system damage in marine medaka.

(本文编辑: × × ×)