

DOI: 10.5846/stxb201812122716

陈威, 胡小瑜, 蒋柳阳, 瞿潇月, 朱菁华, 徐志旺, 李树然, 张永普. 黄喉拟水龟对冬眠期间急性高温胁迫的氧化应激响应. 生态学报, 2019, 39(18):

Chen W, Hu X Y, Jiang L Y, Qu X Y, Zhu J H, Xu Z W, Li S R, Zhang Y P. Oxidative responses to acute heat stress during hibernation of Asian yellow pond turtle (*Mauremys mutica*). Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18):

黄喉拟水龟对冬眠期间急性高温胁迫的氧化应激响应

陈 威, 胡小瑜, 蒋柳阳, 瞿潇月, 朱菁华, 徐志旺, 李树然*, 张永普*

温州大学生命与环境科学学院, 温州 325035

摘要: 全球气候变暖加剧, 暖冬现象出现的频率及强度不断增加, 外温动物冬眠期间将面临更加频繁的高温胁迫。但目前, 高温胁迫对爬行动物冬眠期间氧化应激以及抗氧化防御系统影响的研究还较为缺乏。本研究以黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica*) 南北两个种群的一龄幼龟为研究对象, 探究了冬眠期间 (6℃) 幼龟受高温胁迫 (25℃) 后的脂质过氧化损伤标志物丙二醛 (MDA) 含量, 以及抗氧化防御和修复系统的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性变化。结果显示, 南种群在经历高温胁迫后肝脏 MDA 含量高于北种群, 且放回 6℃ 冬眠条件恢复 24 h 后仍在升高; 北种群肌肉 MDA 含量受高温胁迫后上升, 但在冬眠温度下恢复 24 h 后即降至对照水平。两种群 SOD 活力受高温刺激影响不显著。同时, 黄喉拟水龟南种群肝脏中 CAT 的活力在高温刺激 2 h 后达到最高, 并且各处理组间南种群 CAT 活力均高于北种群; 北种群幼龟肝脏 GSH-Px 活力在高温刺激 12 h 达到最高。综上, 研究表明, 高温胁迫对冬眠期间黄喉拟水龟机体造成一定的氧化损伤, 南方种群可能更易受到冬眠期间温度波动的影响, 但南方种群机体具有更强的抗氧化酶活力以应对高温胁迫的威胁。

关键词: 爬行动物; 冬眠; 急性高温; 氧化应激响应; 地理变异

Oxidative responses to acute heat stress during hibernation of Asian yellow pond turtle (*Mauremys mutica*)

CHEN Wei, HU Xiaoyu, JIANG Liuyang, QU Xiaoyue, ZHU Jinghua, XU Zhiwang, LI Shuran*, ZHANG Yongpu*

College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China

Abstract: Climate change is causing frequent and intensely warm winters. As a result, ectothermic animals are expected to face more frequent periods of heat stress during winter dormancy. However, how heat exposure affects oxidative stress and antioxidative defense in hibernating reptiles remains largely unknown. In this study, we explored the effect of acute heat stress (25℃) on lipid peroxidation product malondialdehyde (MDA) and the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in hatchlings of Asian yellow pond turtle (*Mauremys mutica*) from high and low latitudinal populations during hibernation at 6℃. MDA content was higher in the livers of turtles from the southern population ($P < 0.05$), and increased further after turtles were returned to hibernation conditions ($P < 0.05$). MDA content in muscles of turtles from the northern population increased after heat stress ($P < 0.05$), but decreased to a level similar to that of the control group after moving back to 6℃ for 24 h ($P > 0.05$). SOD activity was not influenced by heat stress ($P > 0.05$). In livers of turtles from the southern population, CAT activity reached its highest level after heat stress for 2 h, and was significantly greater than that of turtles from the northern population at each sampling time ($P < 0.05$).

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31801977); 浙江省自然科学基金项目 (LY16C030001); 温州大学大学生创新创业训练计划项目 (JWSC2018097)

收稿日期: 2018-12-12; 网络出版日期: 2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lishuran@wzu.edu.cn, zhangypu@126.com

05). GSH-Px activity in livers was greatest after heat exposure for 12 h in turtles from the northern population ($P < 0.05$). In conclusion, heat stress caused oxidative damage to *M. mutica* during hibernation. The southern population may be more vulnerable to temperature fluctuations during hibernation, but it also has stronger antioxidant enzyme activity in response to the threat of heat stress.

Key Words: reptile; dormancy; acute heat stress; oxidative responses; geographic variation

由于生理体温调节机制较弱,外温动物体温受环境温度影响较大,其生理和行为更易受环境温度制约^[1-3]。对于外温动物而言,冬眠期间是其较为脆弱的时期,此时很难通过行为体温调节迅速响应温度的变化,外界气温的变化将直接影响其生理生化状态^[4]。作为外温动物的代表类群,爬行动物是受未来气候变暖威胁最为严峻的类群之一^[5-6]。随着气候变暖的加剧,冬季温度升高,甚至极端高温出现的情形增多^[7],爬行动物冬眠期间受到急性温度胁迫的可能性大大增加,探讨冬季温度波动对爬行动物的影响,不仅是今后研究气候变暖对生物影响的新热点领域,也能够为爬行动物保护提供前瞻性和预防性对策^[8]。

已有研究表明,剧烈的温度变化,如急性冷暴露或者高温胁迫,会刺激外温动物机体内活性氧增多,导致脂质过氧化物,如丙二醛(MDA)的含量增加,并加剧细胞膜的损伤^[9-11];而外温动物机体的抗氧化防御系统,如抗氧化酶系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等,则可以清除机体多余活性氧,以抵御其对机体的损伤^[12-13]。然而,目前有关冬眠期间的高温胁迫对外温动物的氧化应激以及抗氧化系统影响的研究仅见于一些两栖类和鱼类,对爬行类的研究则极为匮乏^[14-15]。

黄喉拟水龟(*Mauremys mutica*)是典型的具有冬眠特征的爬行动物,在我国主要分布于浙江、江苏、安徽、广西、广东、海南、福建、台湾等地。由于黄喉拟水龟的这种跨纬度远距离分布,其冬眠期间的环境温度也存在明显的纬度变异。因此,黄喉拟水龟是研究爬行动物冬眠期间受环境温度调控氧化应激和抗氧化防御动态平衡的理想系统。本实验以浙江(代表高纬度的北方种群)和广西(代表低纬度的南方种群)两个种群的黄喉拟水龟幼体为研究对象,通过比较南北两个种群在冬眠期间急性高温刺激下的氧化应激反应以及抗氧化酶系统的响应,揭示不同种群的黄喉拟水龟幼体对极端温度变化的生理适应策略与生化基础,不仅为该物种的保护和养殖提供一定的参考,同时对预测其受气候变暖的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为2017年孵出的一龄黄喉拟水龟幼龟,分别购于浙江海宁(30°19'N, 120°25'E)和广西桂平(23°60'N, 110°12'E)的养殖场,南北种群各40只。所购黄喉拟水龟幼体均为当地物种来源,具有纯净的遗传背景和本地适应特征^[16]。

1.2 实验过程

冬眠前,将黄喉拟水龟南北种群幼龟置于塑料养殖槽(长×宽×高=45 cm×27 cm×25 cm)中,每个槽内随机分配南种和北种幼龟各5只,槽内盛5 cm深的水,每天上午10时投喂足量的龟粮,饲养温度与室温相同,光周期为自然光周期,每日下午用脱氯自来水换水。

当饲养室环境温度降至12℃时,将幼龟连同塑料养殖槽转移至BINDER培养箱中(KB400, BINDER GmbH, Tuttlingen),温度设置从12℃开始,每24 h降低1℃,7 d后降至6℃,人工诱导其进入冬眠并在6℃中冬眠1个月。随后,每个种群随机选取8只幼龟取样(对照0 h组);然后将各种群剩余幼龟置于25℃培养箱中,在经历高温处理2 h(高温2 h组)和12 h(高温12 h组)时各取样一次,剩余个体放回6℃培养箱中,恢复24 h后再次取样(恢复24 h组)。南北种群各组取样样本均为8只。

取样时采用断头法迅速处死幼龟,在冰盘上迅速分离心脏、脑、肌肉和肝脏组织,液氮冷冻,然后置于超低温

温冰箱(CryoCube F570, Eppendorf, Hamburg) -80°C 下保存备用。

1.3 MDA 含量及 SOD、CAT、GSH-Px 活力的测定

测定前,将组织块按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例加入 0.85% 的冷生理盐水于匀浆管中,冰水浴环境下尽快剪碎组织块,用组织匀浆机进行快速研磨,制成 10% 的组织匀浆液。将制备好的匀浆液用低温离心机(5810R, Eppendorf, Hamburg)以 3000 r/min 离心 15 min,取上清液进行测定。

采用南京建成生物工程研究所生产的丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒测定各组织中 MDA 含量、SOD 活力,以及肝脏 CAT 活力和 GSH-Px 活力(脑、心脏和肌肉的组织量在测定 MDA 含量和 SOD 活力之后已不足以测定 CAT 和 GSH-Px),具体操作按照说明书的要求进行。由于幼龟心脏重量较轻,各种群每个处理随机取两个个体的心脏合并测定 MDA 含量和 SOD 活力。

1.4 数据处理

用 Statistica 6.0 统计软件包分析数据。用 Kolmogorov-Smirnov 检验与 Bartlett's 检验分别检验数据的正态性与方差均质性。MDA 含量、SOD 活力、CAT 活力和 GSH-Px 活力采用双因子方差分析(Two-way ANOVA),多重比较均采用 LSD 检验。描述性统计值用平均值 $\pm$ 标准误表示,显著性水平设置为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 MDA 含量

冬眠期间急性高温胁迫对黄喉拟水龟两个种群幼龟心脏 MDA 含量均无显著影响(图 1a);南种大脑 MDA 含量在高温处理 2 h 较初始对照显著降低($P<0.05$),北种则不受温度处理影响($P>0.05$)(图 1b);南种群肌肉 MDA 含量未受温度处理影响($P>0.05$),而北种群肌肉 MDA 含量则在高温处理 12 h 达到最高($P<0.05$),恢复 24 h 后降至初始对照水平(图 1c);南种群肝脏 MDA 含量随处理时间增加逐渐升高,在恢复 24 h 达到最高($P<0.05$),北种群肝脏 MDA 含量则不受温度处理影响($P>0.05$)(图 1d)。总体上,南北种群心脏、大脑、肌肉等组织 MDA 含量无显著种群差异($P>0.05$)(图 1a-c),南种群幼龟肝脏 MDA 含量显著高于北种($P<0.05$)(图 1d)。

2.2 SOD 活力

冬眠期间高温刺激仅对北种群大脑 SOD 活力产生显著影响,北种群大脑 SOD 活力在高温处理 2 h 和 12 h 显著高于高温处理后恢复 24 h($P<0.05$)(图 2b);其余组织中 SOD 活力均不受温度处理的影响(所有的 $P>0.05$)。南北种群各组织中 SOD 活力均不存在显著的种群间差异(所有的 $P>0.05$)(图 2)。

2.3 CAT 活力

南种群的肝脏 CAT 活力在高温处理 2 h 显著高于高温处理 12 h 以及恢复 24 h 组($P<0.05$),北种群不受温度处理影响($P>0.05$);同时,南种群各处理组 CAT 活力均高于北种群($P<0.05$)(图 3a)。

2.4 GSH-Px 活力

南种群肝脏 GSH-Px 活力不受温度处理影响($P>0.05$),而北种群肝脏 GSH-Px 活力在高温处理 12 h 达到最高($P<0.05$),且高于南种群各处理组($P<0.05$)(图 3b)。

3 讨论

3.1 急性高温胁迫对冬眠黄喉拟水龟脂质过氧化作用的影响

冬眠期间的高温胁迫能够促使外温动物代谢水平迅速增加,产生过量的活性氧,造成氧化应激损伤^[17]。本研究发现,黄喉拟水龟幼体冬眠期间经历急性高温刺激后,肌肉和肝脏 MDA 含量升高。类似的,高温胁迫亦会引起其他外温动物,如中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),组织 MDA 水平的升高^[18]。此外,不同种群的黄喉拟水龟对冬眠期间急性高温刺激的反应存在明显差异:北种群在经历 12 h 的高温刺激后,肌肉 MDA 含量达

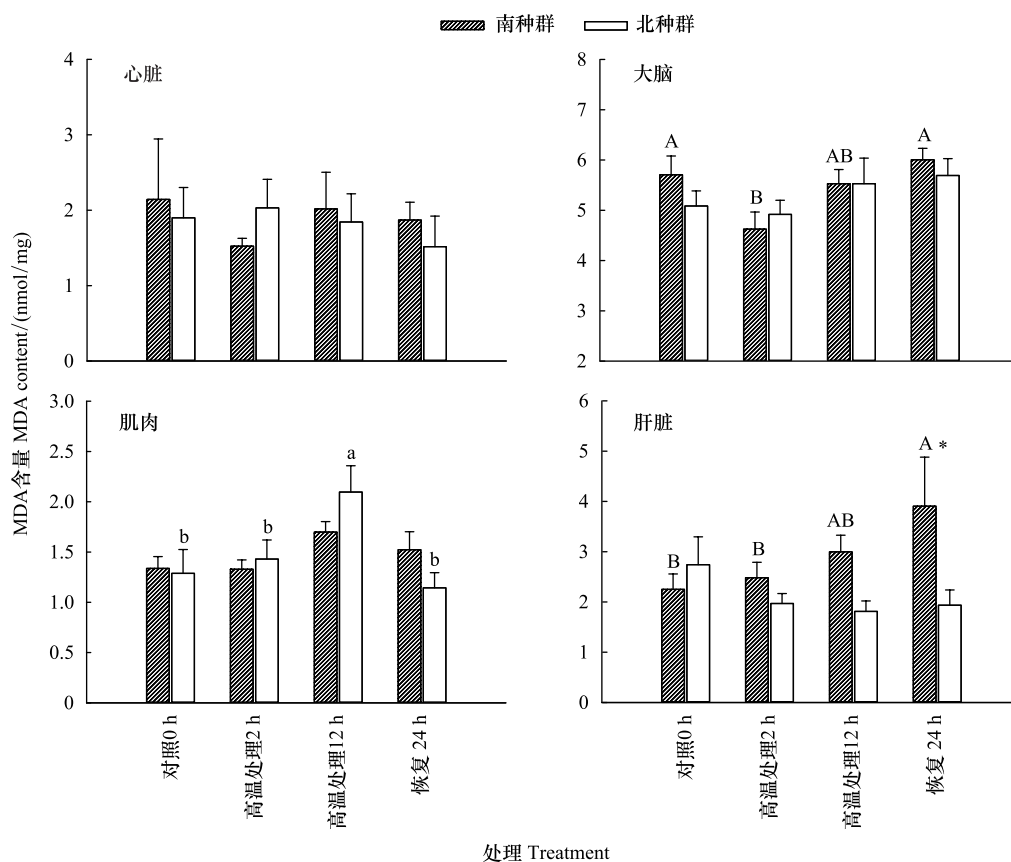


图 1 冬眠期间高温处理对黄喉拟水龟幼龟南北种群各组织 MDA 含量的影响

Fig.1 Effect of heat stress during hibernation on MDA content in different tissues of the southern and northern populations of *Mauremys mutica*

(a) 心脏;(b) 大脑;(c) 肌肉;(d) 肝脏;不同大写字母代表黄喉拟水龟南种群各处理间差异显著,不同小写字母代表北种群各处理间差异显著,星号代表同一处理南北种群间存在差异

到最高,但在放回 6℃ 冬眠条件 24 h 后又恢复至对照水平,肝脏 MDA 含量则不受高温刺激的影响;南种群幼龟肌肉 MDA 含量未受高温刺激的影响,但肝脏 MDA 含量则随高温刺激时间的增长而逐渐升高,甚至在放回 6℃ 冬眠条件恢复 24 h 后仍在升高,并且南种群肝脏 MDA 含量高于北种。这表明虽然冬眠期间的急性高温可能会对黄喉拟水龟南北种群均产生一定的脂质损伤,但黄喉拟水龟北种群机体能够更快地降低细胞膜上的脂质过氧化反应,以减少细胞膜损伤,而南种群则可能受冬眠期间高温胁迫的脂质损伤更大。这可能是由于低纬度生存的外温动物由于栖息地环境温度波动较小,导致其代谢率等生理功能的温度敏感性更高,而高温度栖息的外温动物由于栖息地环境温度波动较大而生理功能对温度的敏感性较低导致^[19]。

3.2 急性高温胁迫对冬眠黄喉拟水龟抗氧化酶活性的影响

急性温度胁迫下,外温动物机体活性氧增加,而抗氧化防御系统成分的活性或含量改变,如 SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶活力升高,清除活性氧以缓解氧化应激对机体的损伤^[20-21]。在本研究中,面对冬眠期间的高温胁迫,黄喉拟水龟两种群幼龟 SOD 活力在心脏、大脑、肝脏、肌肉等器官中均表现出一定地上升趋势,但并未达到显著水平。这暗示了 SOD 活力对于黄喉拟水龟应对冬眠期间的急性高温胁迫作用有限。类似的,高温胁迫冬眠的金鱼(*Carassius auratus*)各组织 SOD 活力均无显著影响^[15]。相反的,冬眠的湖蛙(*Rana ridibunda*)在受到急性高温刺激后,肝脏和肌肉 SOD 活力升高超过 2 倍^[14]。

肝脏的抗氧化防御系统高度发达,对于冬眠期间的外温动物,肝脏抗氧化酶在清除氧化应激产物方面有重要作用^[14,22]。冬眠期间的黄喉拟水龟幼龟在受急性高温刺激后,虽然肝脏 SOD 活力升高不明显,但 CAT

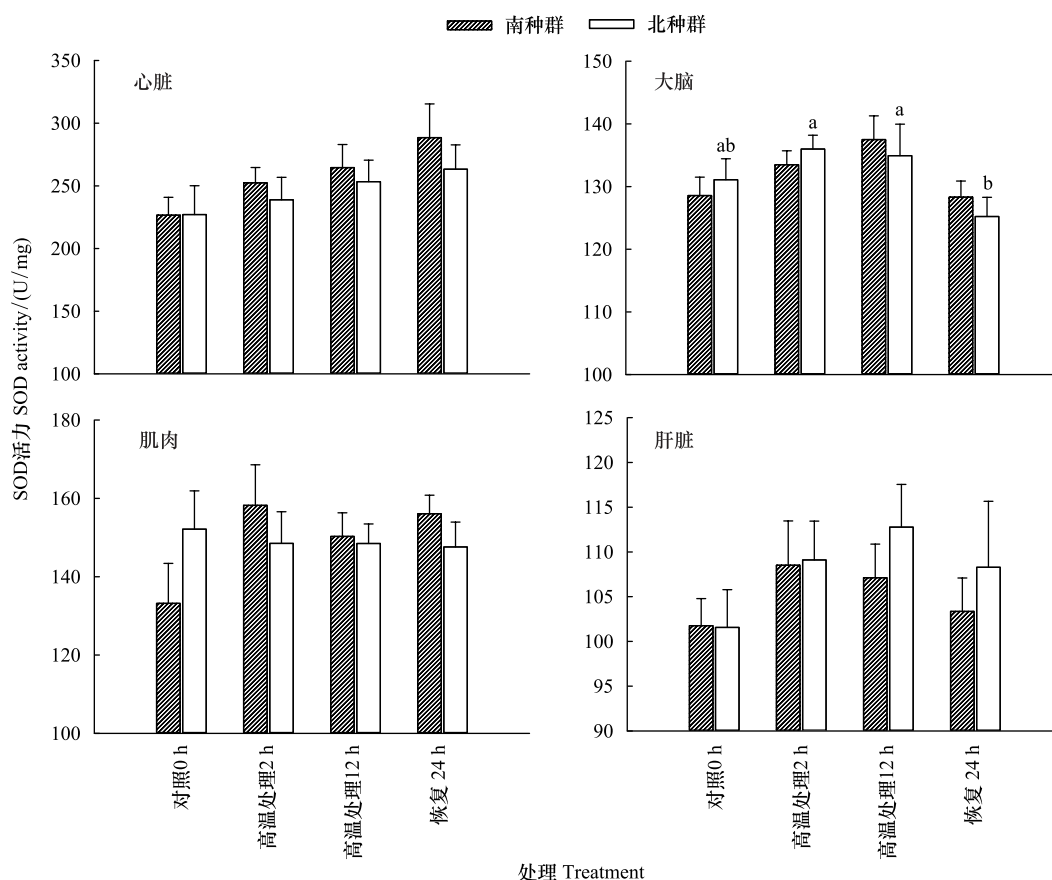


图2 冬眠期间高温处理对黄喉拟水龟幼龟南北种群各组织 SOD 活力的影响

Fig.2 Effect of heat stress during hibernation on the SOD activity in different tissues of the southern and northern populations of *Mauremys mutica*

(a) 心脏;(b) 大脑;(c) 肌肉;(d) 肝脏;不同小写字母代表北种群各处理间差异显著

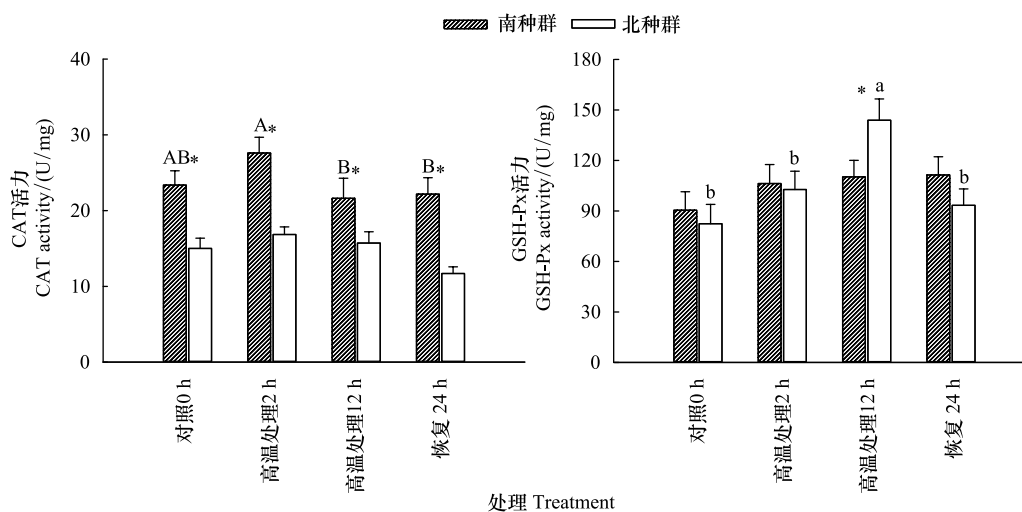


图3 冬眠期间高温处理对黄喉拟水龟幼龟南北种群肝脏 CAT 活力(a)和 GSH-Px 活力(b)的影响

Fig.3 Effect of heat stress during hibernation on the CAT (a) and GSH-Px (b) activity in livers of the southern and northern populations of *Mauremys mutica*

不同大写字母代表黄喉拟水龟南种群各处理间差异显著,不同小写字母代表北种群各处理间差异显著,星号代表同一处理南北种群间存在差异

活力和 GSH-Px 活力显著上升,这表明 CAT 与 GSH-Px 可能是冬眠期间黄喉拟水龟幼龟应对温度剧烈波动造成的氧化应激的关键酶。同时本研究发现,这两种酶活力对高温刺激的响应在黄喉拟水龟南北种群中表现各异:南种群肝脏中 CAT 的活力在高温刺激 2 h 后迅速上升,随后逐渐降低,同时各组间南种群 CAT 活力均高于北种群,而肝脏 GSH-Px 活力对高温刺激不敏感;相反的,北种群肝脏 CAT 活力并未受冬眠期间高温刺激的影响,而北种群幼龟肝脏 GSH-Px 活力随高温刺激时间延长而上升,在高温刺激 12 h 达到最高。这表明冬眠期间黄喉拟水龟南种群可能始终面临较北种群更高的氧化应激水平,而机体通过维持较高的 CAT 活性以应对这种威胁,这可能是南种群为应对其易受环境变化的影响以及由此带来的氧化应激对机体的损害,而形成的自我保护措施^[23];而黄喉拟水龟北种群在面对急性高温胁迫时,肝脏中 GSH-Px 可能起着主导作用。

综上,冬眠期间急性高温胁迫对黄喉拟水龟幼龟产生了一定程度的氧化损伤,而黄喉拟水龟可在短时间内通过增强抗氧化酶(CAT 与 GSH-Px)活力来清除体内由于氧化应激产生的活性氧,以减轻机体的氧化损伤。同时,面对冬眠期间急性高温胁迫,南北种群的氧化应激损伤以及抗氧化能力均表现出了一定的地理变异,南方种群可能更易受到冬眠期间温度波动的影响,但机体具有更强的抗氧化酶(CAT)活力以应对高温胁迫的威胁。因此,我们的研究表明外温动物响应冬眠期间温度变化的生理策略存在显著的种群间差异,并且提示了我们在研究氧化应激和抗氧化平衡时,应注重种群来源以及其栖息地温度环境特征的重要性。同时,对于黄喉拟水龟的保护,应当针对不同种群氧化应激反应的差异采取不同的措施。

参考文献 (References):

- [1] Huey R B, Stevenson R D. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*, 1979, 19 (1): 357-366.
- [2] Lourdaïs O, Shine R, Bonnet X, Guillon M, Naulleau G. Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos*, 2004, 104(3): 551-560.
- [3] Ji X, Gao J F, Han J. Phenotypic responses of hatchlings to constant versus fluctuating incubation temperatures in the multi-banded krait, *Bungarus multicinctus* (Elapidae). *Zoological Science*, 2007, 24(4): 384-390.
- [4] Sinclair B J. Linking energetics and overwintering in temperate insects. *Journal of Thermal Biology*, 2015, 54: 5-11.
- [5] Whitfield S M, Bell K E, Philippi T, Sasa M, Bolaños F, Chaves G, Savage J M, Donnelly M A. Amphibian and reptile declines over 35 years at La Selva, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(20): 8352-8356.
- [6] Sinervo B, Méndez-de-la-Cruz F, Miles D B, Heulin B, Bastiaans E, Villagrán-Santa Cruz M, Lara-Resendiz R, Martínez-Méndez N, Calderón-Espinosa M L, Meza-Lázaro R N, Gadsden H, Avila L J, Morando M, De la Riva I J, Victoriano Sepulveda P, Rocha C F D, Ibargüengoytia N, Aguilar Puntriano C, Massot M, Lepetz V, Oksanen T A, Chapple D G, Bauer A M, Branch W R, Clobert J, Sites J W Jr. Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science*, 2010, 328(5980): 894-899.
- [7] IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva: IPCC, 2014.
- [8] Williams C M, Henry H A L, Sinclair B J. Cold truths: how winter drives responses of terrestrial organisms to climate change. *Biological Reviews*, 2015, 90(1): 214-235.
- [9] Heise K, Puntarulo S, Nikinmaa M, Lucassen M, Pörtner H O, Abele D. Oxidative stress and HIF-1 DNA binding during stressful cold exposure and recovery in the North Sea eelpout (*Zoarces viviparus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 143(4): 494-503.
- [10] 谢明媚, 彭士明, 张晨捷, 高权新, 施兆鸿. 急性温度胁迫对银鲯幼鱼抗氧化和免疫指标的影响. *海洋渔业*, 2015, 37(6): 541-549.
- [11] Zhang W Y, Niu C J, Jia H, Chen X T. Effects of acute cold exposure on oxidative balance and total antioxidant capacity in juvenile Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Integrative Zoology*, 2017, 12(5): 371-378.
- [12] Hermes-Lima M, Storey J M, Storey K B. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 120(3): 437-448.
- [13] 顾志刚, 王永鹏, 王娜, 郑荣泉. 棘胸蛙(*Quasipaa spinosa*)对重复急性冷暴露的生理应激与适应耐受. *生态学报*, 2017, 37(14): 4778-4785.
- [14] Bagnyukova T V, Storey K B, Lushchak V I. Induction of oxidative stress in *Rana ridibunda* during recovery from winter hibernation. *Journal of Thermal Biology*, 2003, 28(1): 21-28.

- [15] Bagnyukova T V, Lushchak O V, Storey K B, Lushchak V I. Oxidative stress and antioxidant defense responses by goldfish tissues to acute change of temperature from 3 to 23°C. *Journal of Thermal Biology*, 2007, 32(4): 227-234.
- [16] Li T, Han X K, Chen W, Zhou H B, Zhang Y P. Phenotypic consequences of embryonic responses to developmental temperatures in two latitudinally separated populations of Asian yellow pond turtles. *Journal of Herpetology*, 2018, 52(4): 453-457.
- [17] Speakman J R, Talbot D A, Selman C, Snart S, McLaren J S, Redman P, Krol E, Jackson D M, Johnson M S, Brand M D. Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. *Aging Cell*, 2004, 3(3): 87-95.
- [18] 洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 刘超, 张璐, 李二超. 不同温度胁迫方式对中华绒螯蟹免疫化学指标的影响. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(6): 818-822.
- [19] Huey R B, Deutsch C A, Tewksbury J J, Vitt L J, Hertz P E, Álvarez Pérez H J, Garland T Jr. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2009, 276(1664): 1939-1948.
- [20] Parihar M S, Dubey A K, Javeri T, Prakash P. Changes in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, ascorbic acid and phospholipid content in liver of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to elevated temperature. *Journal of Thermal Biology*, 1996, 21(5/6): 323-330.
- [21] Wang J, Dong B, Yu Z X, Yao C L. The impact of acute thermal stress on green mussel *Perna viridis*: oxidative damage and responses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2018, 222: 7-15.
- [22] Lushchak V I, Bagnyukova T V, Husak V V, Luzhna L I, Lushchak O V, Storey K B. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(8): 1670-1680.
- [23] Moreira D C, Venancio L P R, Sabino M A C T, Hermes-Lima M. How widespread is preparation for oxidative stress in the animal kingdom? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2016, 200: 64-78.