

DOI: 10.12264/JFSC2020-0138

急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性的影响

姜旭阳¹, 黄铭¹, 杨小刚¹, 周演根¹, 高勤峰^{1, 2}, 董双林^{1, 2}

1. 中国海洋大学, 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266235

摘要: 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)与硬头鳟(*O. mykiss*)为同一种的不同生态型, 都属冷水性鱼类。为探讨急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟抗氧化酶活性的影响, 选取虹鳟[体重(22.76±2.89) g]和硬头鳟[体重(23.2±1.22) g]幼鱼, 分别在不同温度梯度(16 °C、20 °C、22 °C和 24 °C; 16 °C、19 °C、21 °C和 23 °C)进行热应激实验, 在达到设定温度后的 0 h、1 h、6 h、12 h 和 24 h 分别取样, 测定受试鱼心脏、肝、鳃、肾、脑和肌肉中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)活性。结果表明, 虹鳟和硬头鳟幼鱼具有极为相似的抗氧化酶分布模式。两类幼鱼肝脏、鳃和肌肉 SOD 含量较高; 肝脏、肾脏和鳃 CAT 含量较高; 在心脏、肝脏、肾脏和鳃 GPx 分布较多。总体而言, 两类鱼肝脏中抗氧化酶分布最多。急性高温应激对两类鱼的抗氧化防御系统均可产生影响, 引起 3 种抗氧化酶活性的变化。虹鳟和硬头鳟在 24 °C 和 23 °C 组应激强烈, 两类鱼在应激 24 h 时 SOD 活性均大幅降低。虹鳟 20 °C 组 24 h 内 SOD 活性与对照组无显著差异($P>0.05$), 硬头鳟 19 °C 组 12 h 内 SOD 与 CAT 活性与对照组无显著差异($P>0.05$)。在高温胁迫恢复实验中, 虹鳟 22 °C 组经过 24 h, SOD 和 GPx 明显下降, CAT 也逐渐恢复, 而硬头鳟 21 °C 组 24 h SOD 仍处于较高水平, 这表明此温度下虹鳟幼鱼抗高温胁迫能力强于硬头鳟。结果表明, 硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性对温度升高的反应比虹鳟幼鱼敏感。

关键词: 虹鳟; 硬头鳟; 高温胁迫; 热应激; 抗氧化酶

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)01-0057-09

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)与硬头鳟(*O. mykiss*)为同一种的不同生态型^[1], 其中虹鳟为陆封型, 硬头鳟为降海洄游性, 两类鱼有许多相似特性, 适合两者生长的水环境温度为 10~18 °C^[2]。研究表明, 当水温高于 20 °C, 虹鳟和硬头鳟的生长都会受到限制^[3-4], 同时高于鱼类适宜范围的温度还会导致鱼体产生疾病、代谢混乱、氧化危害等^[5]。

大量研究表明, 高温致使生物体产生过多活性氧(ROS), 从而对细胞产生毒害作用^[6-8], 生物体具有一套完整的抗氧化体系, 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(GPx)等抗氧化酶, 这些抗氧化酶在清除活性氧和防止机体受损伤方面具有重要的作用, 可

清除活性氧产生的危害, 维持机体的活性氧处于正常水平^[9-10]。已有研究表明, 高温与抗氧化酶活性变化有显著相关性, 在南极鱼(*Patagonotothen ramsayi*)^[8]、金鱼(*Carassius auratus* L.)^[11]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[5]、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[12]等水生动物的研究中发现, 高温显著影响其体内 SOD、CAT 等抗氧化酶的活性。因此, 抗氧化酶活性变化情况可作为鱼体在高温环境中氧化应激状态的重要指示物。

急性温度胁迫在鱼类养殖过程中经常出现, 因此受到学者的广泛关注及研究。强俊等^[13]报道了急性温度应激能够明显改变尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼的抗氧化能力和非特异性

收稿日期: 2020-05-13; 修订日期: 2020-07-05.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31572634, 31702364, 31872575); 山东省重点研发计划项目(2018CXGC0101, SD2019YY006).

作者简介: 姜旭阳(1989-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为水产养殖生态学. E-mail: jxyjason@hotmail.com

通信作者: 周演根, 副教授, 主要从事水产养殖生态学与养殖模式研究工作. E-mail: zhoyg@ouc.edu.cn

免疫。高权新等^[14]分析了银鲈(*Pampus argenteus*)幼鱼急性高温胁迫前后血清离子浓度以及离子酶、代谢酶活性,表明其正常代谢受到高温应激的显著影响。目前,关于急性高温对虹鳟的研究已有报道,但主要集中于规格 240 g 以上成鱼^[15-16],对虹鳟幼鱼研究较少,关于硬头鳟的研究鲜有报道。本研究通过检测不同温度梯度下虹鳟和硬头鳟幼鱼心脏、肝脏、鳃、肾脏、肌肉和脑抗氧化酶的分布情况,分析两类鱼受高温胁迫时抗氧化酶活性的变化差异,以期为鲑鳟鱼类深远海健康养殖技术提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料及暂养条件

实验地点为日照市万泽丰渔业有限公司(山东日照)苗种繁育车间全自动控温循环水实验室。本实验所用虹鳟[体重(22.76 ± 2.89) g]和硬头鳟[体重(23.2 ± 1.22) g]取自日照市万泽丰渔业有限公司,两类鱼为该公司购自 Troutex 鲑鳟鱼卵公司(丹麦)的发眼卵孵化并培育而成。实验前虹鳟和硬头鳟分别饲养于圆形玻璃钢养殖淡水池中(直径 6 m、深度 1.2 m、有效水体体积 28.3 m³)。

实验前,选取健康状况良好、体表无明显外伤且规格相近的虹鳟和硬头鳟分别暂养于方形水族箱(70 cm×50 cm×50 cm),每个水族箱暂养 30 条鱼,水温为 16 °C,由自动控温系统控制,误差小于 0.5 °C。暂养期间光暗比为 12 h:12 h,水中溶解氧、温度、pH 和盐度分别为(8.2 ± 0.3) mg/L、(16 ± 0.5) °C、 7.1 ± 0.3 和 0,使用 HB-211ATC 手持式盐度计测定盐度,其他指标由便携式多功能溶解氧测量仪(Yellow Spring Instrument Co., Yellow Spring, Ohio, USA)测定。每天换水一次,并持续曝气,保证水体溶解氧含量和氨氮水平在适宜范围内。暂养期间每日于 7:00、12:00 和 17:00 投喂至饱食状态,饲料为鲑鳟鱼配合饲料,正式实验开始前 1 天停止投喂。

1.2 实验设计及取样

暂养结束后,随机选取 5 尾虹鳟和 5 尾硬头鳟,使用 MS-222 将鱼麻醉,经消毒后进行无菌解剖,取心脏、肝脏、肾脏、肌肉、鳃和脑放于冻

存管,并于液氮中保存,而后移至-80 °C超低温冰箱保存,用于组织抗氧化酶测定。实验开始后,将暂养虹鳟随机放置于 4 个实验温度组,分别为 16 °C (R16), 20 °C (R20), 22 °C (R22)和 24 °C (R24)。硬头鳟放置于 4 个实验温度组,分别为 16 °C (S16), 19 °C (S19), 21 °C (S21)和 23 °C (S23)。虹鳟和硬头鳟每个处理设置 3 个平行,每个平行放养 30 尾鱼,养殖容器与暂养所用容器相同。

本实验使用自动控温系统对各水族箱升温,升温速率为 1 °C/h,直至达到实验目标温度,R16 和 S16 温度保持不变。在达到设置温度的 0 h、1 h、6 h、12 h、24 h 分别取样,每个平行取 3 尾鱼,并使用麻醉剂 MS-222 麻醉,经消毒后取其组织,保存方法同上。高温胁迫实验之后,使用该系统以 1 °C/h 速率将各组水温降至 16 °C,并将实验鱼在 16 °C 进行恢复培养。在恢复实验的 12 h (h12 h)和 24 h (h24 h)分别取样,方法同上。升温 and 降温速率参考史鲲鹏等^[17]在温度胁迫实验改良的方法。

1.3 抗氧化酶活性测定方法

在高温应激和恢复实验,鱼体的心脏、肝脏、肾脏、肌肉、鳃和脑 SOD 活性均由南京建成总 SOD 测试盒(A001-3)采用 water-soluble tetrazolium salt (WST-1)法测定。CAT、GPx 活性均使用南京建成 CAT 测试盒(A007-2)和 GPx 测试盒(A005)采用可见光法测定。

1.4 数据统计分析

实验数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,采用 SPSS 19.0 (Chicago, Illinois, USA)中的 One-way ANOVA 进行单因素方差分析,使用 *T* 检验对不同处理组之间进行差异性检测, $P < 0.05$ 表示差异显著,并使用 GraphPad Prism 5.0 做图。

2 结果与分析

2.1 虹鳟和硬头鳟幼鱼不同组织中抗氧化酶分布情况

2.1.1 虹鳟幼鱼抗氧化酶分布 虹鳟幼鱼心脏、肝脏、肾脏、鳃、脑和肌肉中 SOD 活性见图 1A。肝脏和鳃中 SOD 分布最为丰富,且显著高于其他各组织($P < 0.05$);肾脏和肌肉中分布略低,心脏和脑中分布水平最低,且显著低于其他组织($P < 0.05$)。

虹鳟幼鱼各组织中 CAT 活性见图 1B, 肝脏中 CAT 分布最丰富, 显著高于其他组织; 肾脏和鳃中活性显著低于肝脏($P<0.05$), 显著高于心脏、脑和肌肉($P<0.05$); 心脏、脑和肌肉中活性较低, 其中肌肉中含量最低。

虹鳟各组织 GPx 活性见图 1C, 肝脏活性最高, 显著高于其他 5 个组织($P<0.05$); 鳃中活性次之。脑和肌肉中分布最少, 显著低于其他组织($P<0.05$)。

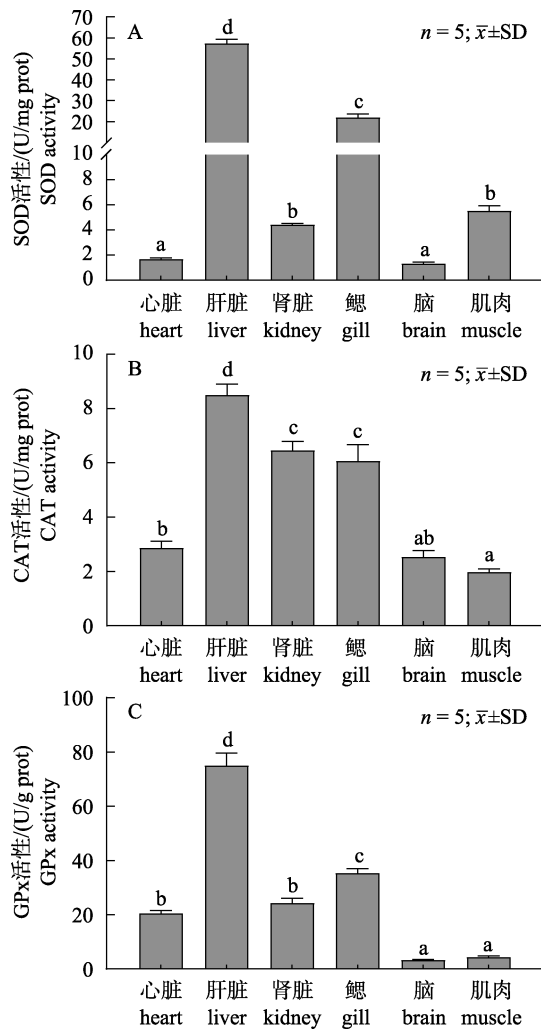


图 1 虹鳟幼鱼不同组织中 SOD、CAT 和 GPx 活性
图中标注不同的字母代表不同组织间抗氧化酶活性
差异显著($P<0.05$)。

Fig. 1 The activity of SOD, CAT and GPx in different tissues of juvenile rainbow trout. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) in antioxidant enzyme activities between different tissues.

2.1.2 硬头鳟幼鱼抗氧化酶分布 硬头鳟幼鱼各组织中 SOD 活性见图 2A。肝脏中 SOD 活性最高,

鳃中也较高, 但显著低于肝脏($P<0.05$); 肌肉和肾脏中 SOD 活性处于中等水平; 心脏和脑中活性最低, 显著低于其他组织($P<0.05$)。

硬头鳟幼鱼 6 种组织 CAT 活性见图 2B。其中肝脏中活性显著高于其他组织; 肾脏和鳃中活性次之, 且此二者活性并无显著差异($P>0.05$); 心脏中 CAT 活性显著低于肾脏和鳃, 而脑和肌肉显著低于心脏($P<0.05$)。

硬头鳟不同组织 GPx 活性见图 2C, 肝脏中活性最高, 显著高于其他各组织($P<0.05$); 心脏和鳃中活性较高; 脑和肌肉中活性最低。

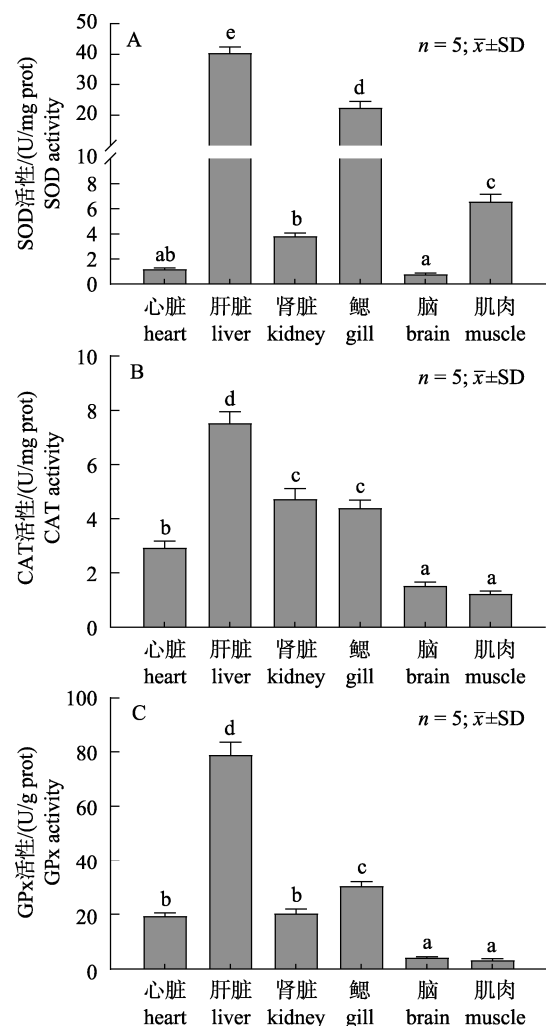


图 2 硬头鳟幼鱼不同组织中 SOD、CAT 和 GPx 活性
图中标注不同的字母代表不同组织间抗氧化酶活性
差异显著($P<0.05$)。

Fig. 2 The activity of SOD, CAT and GPx in different tissues of juvenile steelhead trout. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) in antioxidant enzyme activities between different tissues.

2.2 急性热应激对虹鳟和硬头鳟幼鱼肝脏抗氧化酶的影响

2.2.1 急性热应激对虹鳟幼鱼肝脏抗氧化酶的影响 急性高温胁迫对虹鳟幼鱼肝脏 SOD 活性的影响情况见图 3A。R20 组 SOD 活性在应激开始后略高于对照组 R16, 而后恢复正常, 整个过程未出现显著的差别($P>0.05$)。R22 组和 R24 组 SOD 活性在高温应激前 12 h 显著升高($P<0.05$), 且 R24 组水平高于 R22 组; 24 h 时 R24 组 SOD 活性降低到显著低于对照组的水平($P<0.05$)。恢复阶段 R22 组逐渐下降, 24 h 处于略高于对照组的水平; R24 组 SOD 活性在恢复阶段与对照组差异不显著($P>0.05$)。

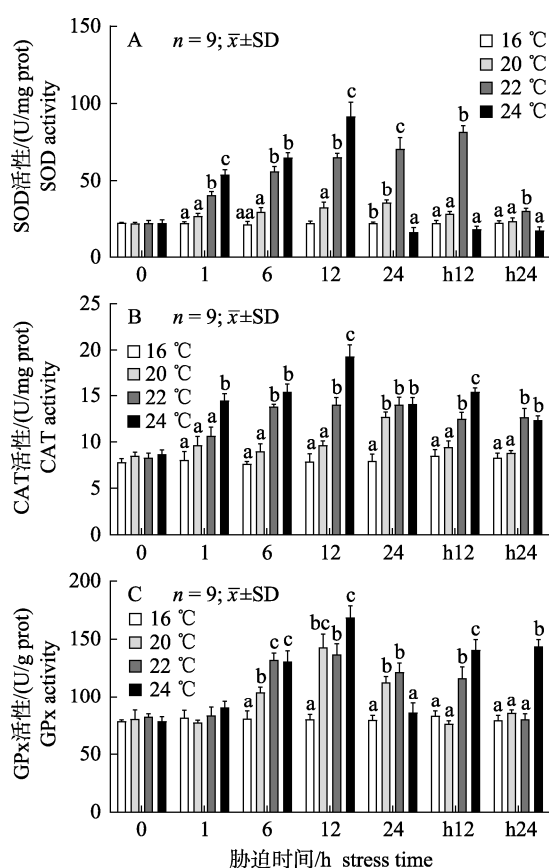


图 3 急性高温胁迫对虹鳟幼鱼肝脏 SOD、CAT 和 GPx 活性的影响

图中不同的字母代表同一时间点不同处理组间酶活性差异显著($P<0.05$)。

Fig. 3 The effect of acute heat stress on SOD, CAT and GPx activities in the liver of juvenile rainbow trout. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$) in enzyme activities between different treatments at the same time.

急性高温胁迫下虹鳟幼鱼肝脏 CAT 活性如图 3B 所示。整体而言, CAT 活性升高幅度低于 SOD。R20 组在应激前 12 h 变化不显著, 24 h 时显著升高($P<0.05$), 且同 R22 和 R24 组相比差异不显著($P>0.05$)。R24 组 CAT 活性水平整体上高于 R22 组。恢复阶段 R22 和 R24 组仍显著高于对照组($P<0.05$)。

急性高温胁迫对虹鳟幼鱼肝脏 GPx 活性的影响如图 3C 所示。3 个高温处理组(R24、R22 和 R20 组) GPx 活性在应激 1 h 时未出现显著变化, 在 6 h 均显著升高, 12 h 时达到峰值, 而在 24 h 时出现降低的趋势, R24 组降低到同对照组相同的水平, R22 和 R20 组 GPx 活性仍显著高于对照组。恢复阶段 R20 和 R22 组均呈下降趋势, 24 h 时恢复至正常水平; R24 组依然处于较高水平, 甚至高于应激 24 h 时。

2.2.2 急性热应激对硬头鳟幼鱼肝脏抗氧化酶的影响 如图 4A 所示, 硬头鳟中 S19 组 SOD 活性在应激过程出现上调, 其中 24 h 时达到最大值, 恢复阶段回落到正常水平。S21 组在整个热应激过程均显著高于对照组($P<0.05$), 恢复阶段呈下降趋势, 但仍显著高于对照组。S23 组在应激 12 h 时显著高于其他组($P<0.05$), 24 h 急剧下降至低于对照组水平, 经过 24 h 恢复也未达到对照组水平。

图 4B 为硬头鳟 S19 组 CAT 活性变化情况, S19 组在整个实验阶段与对照组相比未出现显著差异($P>0.05$)。S21 组略有升高, 但与对照组差异不显著($P>0.05$)。S23 组 CAT 活性在应激 6 h 至 24 h 阶段出现显著升高($P<0.05$), 之后回落至正常水平。

图 4C 为急性高温应激对硬头鳟肝脏 GPx 活性的影响。各升温组(S19、S21 和 S23 组) GPx 活性在应激 1 h 即出现升高, 6 h 至 24 h 显著高于对照组($P<0.05$)。在恢复阶段, S19 和 S21 组恢复较快, 24 h 恢复至正常水平; S23 组恢复较慢, 始终处于较高水平。

3 讨论

不同规格虹鳟和硬头鳟的最大临界温度存在较大差异, 而同规格的两类鱼, 虹鳟高温临界温

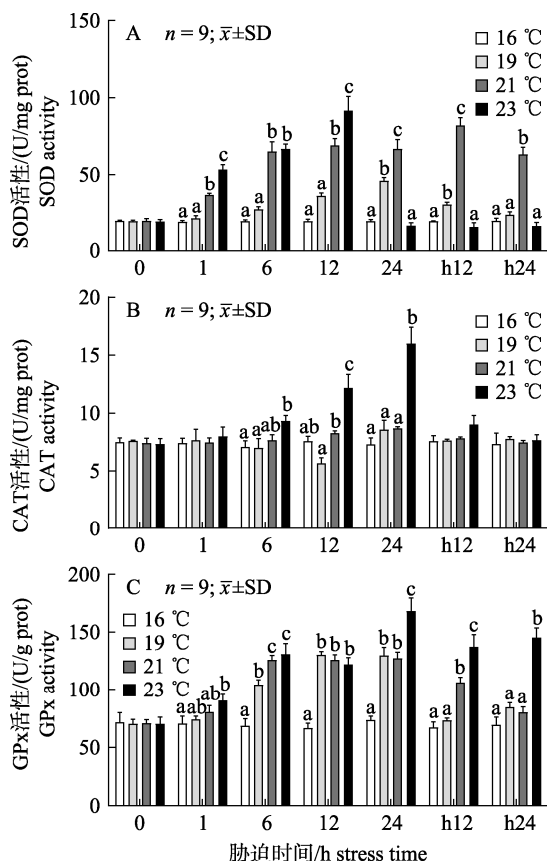


图 4 急性高温胁迫对硬头鳟幼鱼肝脏 SOD、CAT 和 GPx 活性的影响

图中不同的字母代表同一时间点不同处理组间酶活性差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 4 The effect of acute heat stress on SOD, CAT and GPx activities in the liver of juvenile steelhead rainbow trout. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$) in SOD, CAT and GPx activities between different treatments at the same time.

度却高于硬头鳟^[18], 因此对某一规格鱼类进行热应激实验, 应根据其规格所对应的热耐受能力设置暴露温度。根据此原则, 本研究在高温胁迫实验中设置虹鳟温度梯度上限略高于硬头鳟。比较虹鳟和硬头鳟同一种抗氧化酶在不同组织的分布发现, 两类鱼抗氧化酶的组织分布模式极为相似, 推测这可能与两类鱼同属一种有关。本研究发现 SOD、CAT 和 GPx 这 3 种抗氧化酶均在肝脏中活性最高, 这与肝脏的功能密切相关。肝脏是硬骨鱼类机体新陈代谢的主要场所, 从血液中获取原料, 加工后输送回血液^[19]。高温胁迫会引起鱼类肝细胞结构变化, 肝脏功能受损, 进而导致机体代谢紊乱并损害健康^[20], 因此, 肝脏在鱼体适应

高温维持正常代谢过程中尤其重要。

本研究结果显示, 16 °C 组虹鳟幼鱼各组织抗氧化酶活性水平普遍高于硬头鳟。抗氧化酶在鱼类抑制和分解自由基以及预防氧化损伤方面发挥着举足轻重的作用^[21]。本研究中, 虹鳟比硬头鳟具有更多的抗氧化酶储备, 从一定程度上说明处于正常机体状态的虹鳟具有更强的应对氧化损伤能力, 从而能够更好地应对高温胁迫。Miura 等^[22]研究表明, 当环境温度在 30 min 内下降 3 °C, 硬头鳟体温下降速度比虹鳟更快, 这说明硬头鳟对环境温度的感应更加敏感。就最高临界温度而言, 虹鳟高于硬头鳟^[18]。

高温胁迫会使鱼类产生氧化应激, 导致氧化损伤。机体的应对措施主要是调节基因表达水平, 调控多种蛋白质的合成。酶是受调控蛋白质之一, 其中 SOD、CAT 和 GPx 是机体应对氧化应激的关键抗氧化酶, SOD 是三种酶中最初级、最重要的清除剂^[9], 其活性的改变对维持氧化剂和抗氧化剂的平衡作用十分重要。本实验结果显示, SOD、CAT 和 GPx 活性在高温应激前期均出现升高的趋势, 具有一致性。王国成^[20]报道了相似结果, 温度升高对白梭吻鲈(*Sander lucioperca*)肝脏抗氧化酶影响显著, 升温初期 SOD、CAT 和 GPx 活性均升高。Lushchak 等^[11,23]发现高温胁迫促进金鱼 SOD 和 CAT 基因表达, 进而提高 SOD 和 CAT 酶活性。杨健等^[24]研究表明军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼 SOD 和 CAT 活性随温度升高而提高。另外, 在其他水生生物也有类似现象, 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)在经历高温胁迫 1 h 后, SOD 活性显著升高^[25], 日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)和鸡帘蛤(*Chamelea gallina*)中也有相似报道^[26-27]。以上研究表明, 高温胁迫致使生物体内活性氧增多, 生物体为防止活性氧产生的损害, 其体内抗氧化酶活性升高以清除过多活性氧。

在本研究中, 恢复阶段 12 h 虹鳟和硬头鳟 SOD 活性分别在 22 °C 和 21 °C 高温胁迫组升高, 而 CAT 和 GPx 活力相比于 SOD 上升却略有下降。徐冬冬等^[9]报道在褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)高温实验中, 敏感性最高的 SOD 活性在恢复实验中出现了显著回升, 与本研究不同的是, 胁迫停

止后的褐牙鲈 CAT 活性也出现了回升趋势, 这可能是由于不同鱼类酶的活性存在差异, 但作为对活性氧最敏感的 SOD 在两类鱼中也出现类似情况。另外, Wang 等^[28]发现虹鳟经过 25 °C 高温胁迫 12 h, 之后在适宜水温恢复 6 h, 机体呼吸爆发(活性氧快速释放)水平仍处于很高状态。而呼吸爆发是机体炎症的重要体现形式^[29]。因此, 虹鳟和硬头鳟在恢复阶段 SOD 升高, 这可能与机体受到高温胁迫产生的炎症有关。

本研究显示, 20 °C 组和 19 °C 组分别对虹鳟和硬头鳟抗氧化酶活性的变化影响有限, 且两类鱼抗氧化酶活性变化趋势基本相同。在虹鳟研究结果中, 24 °C 组 SOD 活性在应激前 12 h 大幅升高, 24 h 又急剧下降, 恢复实验中没有回升, 而 CAT、GPx 活力与 SOD 变化相反, 出现了升高的趋势。硬头鳟在 23 °C 组中也出现了与虹鳟 24 °C 组相似的结果。24 °C 和 23 °C 的高温应激组前期 SOD、CAT 和 GPx 活性快速升高与 ROS 增多, 激活抗氧化免疫系统有关。孟广玮等^[12]在高温胁迫对长牡蛎(*Crassostrea gigas*)免疫指标影响的研究中得出了相似的结果, 高温胁迫 12 h 后, CAT 和 SOD 活性发生显著上升。然而, 本高温胁迫实验 24 h 引起虹鳟和硬头鳟 SOD 活性显著降低。刘石林等^[30]在刺参(*Apostichopus japonicus*)中也发现随着高温胁迫时间的延长, 抗氧化酶的活性降低。另外, 有研究报道, 氧化应激强度过高或持续时间过长, 机体内氧自由基不断累积, 抗氧化酶难以应付细胞内的氧化损伤, 细胞即进入凋亡过程, 抗氧化酶活性随即降低^[31]。但本实验中, 胁迫 24 h 后 CAT 和 GPx 却出现了上升趋势, 这可能是 CAT 和 GPx 对氧化危害敏感性较低, 其次 SOD 活性被抑制, CAT 和 GPx 发挥其代偿作用。

虹鳟 22 °C 组恢复实验中, SOD 和 GPx 变化趋势相同, 在 24 h 明显下降。硬头鳟在 21 °C 胁迫组恢复实验中, SOD 和 GPx 在 24 h 也有下降, 但 SOD 仍然处于很高水平。就三种酶中敏感性最高的 SOD 而言, 虹鳟 22 °C 组恢复程度优于硬头鳟 21 °C 组。Keefer 等^[32]对 3985 尾硬头鳟研究发现, 当水温达到 21 °C, 超过 70% 标记鱼类迁移躲避高

温, 可见硬头鳟对 21 °C 高温有较强反应。本研究结果发现, 22 °C 组虹鳟与 21 °C 硬头鳟抗氧化酶波动于恢复阶段 12 h 之前, 24 h 已逐渐呈下降趋势, 这说明鱼体调整自身抗氧化机制产生高温胁迫。由此推测, 随着恢复时间延长, 鱼体抗氧化酶可能会逐渐恢复到对照组水平, 这说明此温度对虹鳟和硬头鳟而言, 是在可耐受范围内, 但是在逐渐适应高温过程中, 22 °C 组虹鳟优于 21 °C 硬头鳟, 这说明了前期设置温度梯度可得出虹鳟和硬头鳟耐热性的差距。

4 结论

急性高温胁迫实验显示虹鳟和硬头鳟具有极为相似的抗氧化酶分布模式。两类鱼幼鱼肝脏、鳃和肌肉 SOD 分布较丰富; 肝脏、肾脏和鳃 CAT 分布较为丰富; 心脏、肝脏、肾脏和鳃 GPx 分布较多。总体而言, 两类鱼肝脏中抗氧化酶活性最高。

急性高温应激对两类鱼的抗氧化防御系统均产生影响, 引起体内 SOD、CAT 和 GPx 抗氧化酶活性升高。虹鳟和硬头鳟分别在 20 °C 组和 19 °C 组应激较轻微, 虹鳟 22 °C 组耐高温能力优于硬头鳟 21 °C 组, 但在 24 °C 组和 23 °C 组引起强烈应激, 24 h 时 SOD 活性大幅降低。

参考文献:

- [1] Needham P R, Behnke R J. The origin of hatchery rainbow trout[J]. The Progressive Fish-Culturist, 1962, 24(4): 156-158.
- [2] Dong S L. Researching progresses and prospects in large Salmonidae farming in cold water mass of Yellow Sea[J]. Periodical of Ocean University of China, 2019, 49(3): 1-6. [董双林. 黄海冷水团大型鲑科鱼类养殖研究进展与展望[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49(3): 1-6.]
- [3] Viant M R, Werner I, Rosenblum E S, et al. Correlation between heat-shock protein induction and reduced metabolic condition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) chronically exposed to elevated temperature[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2003, 29(2): 159-171.
- [4] Li Y J, Huang J Q, Liu Z, et al. Transcriptome analysis provides insights into hepatic responses to moderate heat stress in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Gene, 2017, 619: 1-9.
- [5] Lu Y L, Wu Z H, Song Z C, et al. Insight into the heat resis-

- tance of fish via blood: Effects of heat stress on metabolism, oxidative stress and antioxidant response of olive flounder *Paralichthys olivaceus* and turbot *Scophthalmus maximus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 58: 125-135.
- [6] Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence?[J]. *Lancet*, 1994, 344(8924): 721-724.
- [7] Ahmed R G. Is there a balance between oxidative stress and antioxidant defense system during development?[J]. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 2005, 15(2): 55-63.
- [8] Forgati M, Kandalski P K, Herrerias T, et al. Effects of heat stress on the renal and branchial carbohydrate metabolism and antioxidant system of Antarctic fish[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2017, 187(8): 1137-1154.
- [9] Xu D D, Lou B, Zhan W, et al. Effect of high temperature stress on growth performance and activities of antioxidant enzymes in liver of olive flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(7): 1099-1105. [徐冬冬, 楼宝, 詹伟, 等. 高温胁迫对褐牙鲈生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. *水产学报*, 2010, 34(7): 1099-1105.]
- [10] Madeira D, Narciso L, Cabral H N, et al. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013, 166(2): 237-243.
- [11] Lushchak V I, Bagnyukova T V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2006, 143(1): 30-35.
- [12] Meng G W, Li Q, Xu C X, et al. Effects of high-temperature stress on survival and five immune indicators of Pacific oyster 'Haida No. 3'[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(4): 738-744. [孟广玮, 李琪, 徐成勋, 等. 高温胁迫对长牡蛎‘海大3号’品系存活及5项免疫指标的影响[J]. *中国水产科学*, 2019, 26(4): 738-744.]
- [13] Qiang J, Yang H, Wang H, et al. The effect of acute temperature stress on biochemical indices and expression of liver HSP70 mRNA in gift Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43(5): 943-953. [强俊, 杨弘, 王辉, 等. 急性温度应激对吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2012, 43(5): 943-953.]
- [14] Gao Q X, Xie M M, Peng S M, et al. Effect of acute temperature stress on metabolic enzymes, ion enzymes and concentration of ion in serum of juvenile *Pampus argenteus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2016, 12(2): 59-66. [高权新, 谢明媚, 彭士明, 等. 急性温度胁迫对银鲳幼鱼代谢酶、离子酶活性及血清离子浓度的影响[J]. *南方水产科学*, 2016, 12(2): 59-66.]
- [15] Guan B. The effect of acute temperature stress on blood components and key metabolism mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014. [管标. 急性温度胁迫对虹鳟血液成分和关键代谢的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.]
- [16] Guan B, Wen H S, Liu Q, et al. Effects of acute temperature stress on metabolic enzyme activity and gene expression related to growth in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2014, 29(6): 566-571. [管标, 温海深, 刘群, 等. 急性温度胁迫对虹鳟肝脏代谢酶活性及生长相关基因表达的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2014, 29(6): 566-571.]
- [17] Shi K P, Dong S L, Zhou Y G, et al. Antioxidant responses of rainbow trout with different ploidies to acute temperature stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(9): 3102-3110. [史鲲鹏, 董双林, 周演根, 等. 不同倍性虹鳟幼鱼对急性温度胁迫的抗氧化响应[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(9): 3102-3110.]
- [18] Jiang X Y, Dong S L, Liu C Y, et al. Temperature tolerance of juvenile rainbow trout and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2019, 49(3): 57-62. [姜旭阳, 董双林, 刘骋跃, 等. 虹鳟和硬头鳟幼鱼对温度的耐受性[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(3): 57-62.]
- [19] Filho D W, Giulivi C, Boveris A. Antioxidant defences in marine fish—I. Teleosts[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 1993, 106(2): 409-413.
- [20] Wang G C. Effect of high temperature stress on physiology and biochemistry, HSC70 gene cloning and expression of pikeperch (*Sander lucioperca*)[D]. Suzhou: Soochow University, 2017. [王国成. 高温胁迫对白梭吻鲈生理生化的影响及其 HSC70 基因的克隆与表达[D]. 苏州: 苏州大学, 2017.]
- [21] Parihar M S, Javeri T, Hemnani T, et al. Responses of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature[J]. *Journal of Thermal Biology*, 1997, 22(2): 151-156.
- [22] Miura G, Munakata A, Yada T, et al. Effect of short-term decrease in water temperature on body temperature and involvement of testosterone in steelhead and rainbow trout,

- Oncorhynchus mykiss*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 166(1): 112-118.
- [23] Lushchak V I, Bagnyukova T V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2006, 143(1): 36-41.
- [24] Yang J, Chen G, Huang J S, et al. Effects of temperature and salinity on the growth and activities of antioxidant enzymes of cobia (*Rachycentron canadum*) juveniles[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(4): 25-29. [杨健, 陈刚, 黄建盛, 等. 温度和盐度对军曹鱼幼鱼生长与抗氧化酶活性的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(4): 25-29.]
- [25] Chen M Y, Yang H S, Delaporte M, et al. Immune condition of *Chlamys farreri* in response to acute temperature challenge[J]. Aquaculture, 2007, 271(1-4): 479-487.
- [26] Wang W N, Wang A L, Liu Y, et al. Effects of temperature on growth, adenosine phosphates, ATPase and cellular defense response of juvenile shrimp *Macrobrachium nipponense*[J]. Aquaculture, 2006, 256(1-4): 624-630.
- [27] Monari M, Matozzo V, Foschi J, et al. Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(1-2): 98-114.
- [28] Wang Y N, Liu Z, Li Z, et al. Effects of heat stress on respiratory burst, oxidative damage and *SERPINH1* (*HSP47*) mRNA expression in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2016, 42(2): 701-710.
- [29] Varfolomeeva E Y, Ivanov E I, Drobchenko E A, et al. Detection of inflammatory processes during various diseases by the method of flow cytofluorometry[J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2010, 149(4): 485-489.
- [30] Liu S L, Ru X S, Xu Q Z, et al. Effects of high-temperature stress on several immune enzyme activities of *Apostichopus japonicus* thermotolerant and normal species[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(2): 344-351. [刘石林, 茹小尚, 徐勤增, 等. 高温胁迫对刺参耐高温群体和普通群体主要免疫酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(2): 344-351.]
- [31] Downs C A, Fauth J E, Woodley C M. Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: A molecular biomarker system[J]. Marine Biotechnology, 2001, 3(4): 380-397.
- [32] Keefer M L, Peery C A, High B. Behavioral thermoregulation and associated mortality trade-offs in migrating adult steelhead (*Oncorhynchus mykiss*): Variability among sympatric populations[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2009, 66(10): 1734-1747.

Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute high-temperature stress

JIANG Xuyang¹, HUANG Ming¹, YANG Xiaogang¹, ZHOU Yangen¹, GAO Qinfeng^{1,2}, DONG Shuanglin^{1,2}

1. Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266235, China

Abstract: The current domestic production of salmonids in China is insufficient to satisfy demand. Since the 1970s, Chinese researchers have been trying to build salmon farms in open sea areas, such as Dalian, Yantai, and Qingdao, to solve this issue but have failed because of the high temperatures during summer. In recent years, Chinese researchers found an extremely large cold-water mass in the central depression of the Yellow Sea, where conditions are suitable for the large-scale farming of salmonids. However, in the summer, the temperature span of the upper layer of the Yellow Sea is 25–28 °C; high temperature stress is therefore a large problem encountered during summer culture. Thus, exploring the upper temperature threshold of fish is essential. The elucidation of mechanisms for the regulation of acute high temperature in salmonids is of great significance for conducting off-shore mariculture of salmon in the identified cold-water mass. Juvenile rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) and steelhead trout (*O. mykiss*) (initial body weight, 22.76 g ± 2.89 g and 23.20 g ± 1.22 g, respectively) were used for this experiment. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) in the heart, liver, gill, kidney, brain, and muscle were determined under normal conditions. Subsequently, rainbow trout and steelhead trout underwent heat stress with the following temperature gradients: 16 °C, 20 °C, 22 °C, and 24 °C for rainbow trout and 16 °C, 19 °C, 21 °C, and 23 °C for steelhead trout. The liver antioxidant enzyme activities of rainbow and steelhead trout were determined at 0 h, 1 h, 6 h, 12 h, and 24 h after heat stress. Our results showed that the distribution patterns of antioxidant enzymes in rainbow trout were similar to those of steelhead trout. In both strains, SOD was abundantly distributed in the liver, gill, and muscle, whereas CAT enriched in the liver, kidney, and gill, and the GPx was mainly distributed in the heart, liver, kidney, and gill. Overall, the highest concentrations of antioxidant enzymes were observed in the liver of both fish. Moreover, acute high temperature stimulated the antioxidant system in both fish. Both fish were strongly stressed at 24 °C and 23 °C, and the SOD activities of both species were significantly reduced at 24 h after heat stress. The SOD activities of rainbow trout at 20 °C showed no significant difference compared with those of the control within 24 h, and the SOD and CAT activities of steelhead at 19 °C were not significantly different than those of the control within 12 h. The SOD and GPx activities were significantly decreased at 24 h in both species. The CAT of rainbow trout was gradually recovered at 22 °C, but the SOD of steelhead trout was still expressed at high levels at 21 °C. At 21 °C and 22 °C, rainbow trout were better at counteracting high temperatures than steelhead trout. However, the antioxidant enzyme activities of juvenile steelhead trout were more sensitive to temperature increase than those of rainbow trout.

Key words: rainbow trout; steelhead trout; high-temperature stress; heat stress; antioxidant enzymes

Corresponding author: ZHOU Yangen. E-mail: zhouyg@ouc.edu.cn