

DOI: 10.11964/jfc.20230514007

## 不同大口黑鲈群体耐热性分析及高温对鳃组织和抗氧化酶活性的影响



谢玉净<sup>1,2</sup>, 李胜杰<sup>1\*</sup>, 杜金星<sup>1</sup>, 朱涛<sup>1</sup>, 宋红梅<sup>1</sup>, 雷彩霞<sup>1</sup>, 温绮乔<sup>3</sup>

1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东省水产动物免疫与绿色养殖重点实验室, 广东 广州 510380; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 3. 佛山市南海区九江镇农林服务中心, 广东 佛山 528100

### 摘要:

**【目的】**探究不同大口黑鲈群体在急性高温胁迫下的耐热性差异及高温胁迫对鳃组织和抗氧化酶活性的影响。

**【方法】**实验以平均体重为  $(15.61 \pm 1.25)$  g 的 3 个大口黑鲈群体 [“优鲈 3 号”(YL)、台湾群体 (TW) 和北方亚种引进群体 (BF)] 为研究对象, 设置 5 个温度组 (35、36、37、38 和 39 °C 组), 每个温度设 3 个重复, 每个重复 10 尾实验鱼, 水温从 27 °C 以 2 °C/h 的速率升到相应温度后, 维持 12 h, 记录各群体的死亡率, 计算各群体半数致死温度。

**【结果】**3 个大口黑鲈群体均在 36 °C 时开始出现死亡, “优鲈 3 号”的半数致死温度为 37.47 °C, 显著高于台湾群体 (37.15 °C) 和北方亚种引进群体 (37.01 °C)。通过对大口黑鲈高温胁迫, 比较分析不同温度 (27、35、37 和 39 °C) 下鳃组织损伤情况, 随温度升高, 鳃小片上皮与基底膜分离的情况加重, 鳃小片逐渐变短变粗, 39 °C 组鳃组织损伤最为严重。比较分析不同温度 (27、35、37 和 39 °C) 和 37.5 °C 下不同胁迫时间 (0、3、6 和 12 h) 大口黑鲈抗氧化酶活性的变化, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性随着温度升高均呈现先升高后降低的变化趋势, 且均在 37 °C 时活性最高。SOD 和 CAT 活性随着胁迫时间延长均呈现先升高后降低的变化趋势, 且均在 3 h 时活性最高。

**【结论】**大口黑鲈“优鲈 3 号”的耐热性显著优于台湾群体和北方亚种引进群体, 高温胁迫会对大口黑鲈造成应激损伤, 当水温高于 37 °C 时, 大口黑鲈鳃组织受损严重, 抗氧化酶活性下降。本研究可为筛选大口黑鲈抗逆性能优良的种质和健康养殖提供基础数据和理论参考。

**关键词:** 大口黑鲈; 急性高温胁迫; 半数致死温度; 组织损伤; 抗氧化酶

第一作者: 谢玉净, 从事水产动物遗传育种研究, E-mail : YJ2893364363@163.com



通信作者: 李胜杰, 从事水产动物遗传育种研究, E-mail : ssjli@163.com

资助项目: 广东省乡村振兴战略专项 (2024SPY00003, 2022-SBH-00-001); 广州市科技计划项目 (202201010211); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2023TD95)

收稿日期: 2023-05-11  
修回日期: 2023-07-27

文章编号: 1000-0615(2025)04-049405-10  
中图分类号: S 965.1  
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)  
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

温度是影响水产动物生存的重要环境因子之一, 不适宜的温度会严重降低其存活率<sup>[1]</sup>。水产动物在高温胁迫下的半数致死温度 (LT<sub>50</sub>) 可用来表示耐热性高低, 其值越高耐热性越好<sup>[2]</sup>。范超晶等<sup>[3]</sup>通过对



仿刺参 (*Apostichopus japonicus*) 子一代半数致死温度的比较, 发现杂交组的耐热性显著高于韩国自交组。不同仿刺参群体的耐热性差异分析结果表明, 昌黎群体的半数致死温度最低, 耐热性最差<sup>[4]</sup>。高温下水产动物的应激程度反映其耐热性高低, 当水温短时间内快速升高将导致机体产生应激反应, 主要表现为组织损伤和各种酶活性改变, 如鳃组织损伤和抗氧化酶活性的改变<sup>[5-6]</sup>。鱼体鳃组织与水体密切接触, 过高温会直接损伤鳃组织<sup>[7]</sup>。陈祎宁<sup>[8]</sup>研究了白梭吻鲈 (*Sander lucioperca*) 鳃组织在热刺激下的损伤, 观察得到 31 °C 组鳃小片末端卷曲变形, 34 °C 组鳃小片有融合现象, 36 °C 组有大量上皮细胞脱落。高温与抗氧化酶活性变化有显著相关性, 抗氧化酶可维持机体的活性氧处于正常水平, 保护机体免受高温损伤<sup>[9-11]</sup>。超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 是两种关键抗氧化酶, 在保持机体活性氧代谢平衡中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。袁新程等<sup>[13]</sup>研究了高温胁迫对美洲鲈 (*Alosa sapidissima*) 抗氧化相关指标的影响, 在 30 °C 高温胁迫下, 随时间延长, 肝脏 SOD 和 CAT 活性逐渐提高, 均在 96 h 时活性达到最大。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 俗名加州鲈, 原产于北美, 属鲈形目 (Perciformes) 太阳鱼科 (Centrarchidae) 黑鲈属 (*Micropterus*), 具有生长快、肉质鲜美等优点, 深受养殖者和消费者欢迎<sup>[14]</sup>。在大口黑鲈原产地分布有大口黑鲈北方亚种 (*M. salmoides salmoides*) 和大口黑鲈佛罗里达亚种 (*M. salmoides floridanus*)<sup>[15]</sup>。目前我国现有的养殖大口黑鲈在分类地位上属于北方亚种<sup>[16]</sup>。大口黑鲈是我国重要的淡水养殖对象, 2021 年全国大口黑鲈养殖总产量达到 70.21 万吨<sup>[17]</sup>。已有研究表明大口黑鲈成年个体最适生长温度为 25~30 °C<sup>[18]</sup>。近年来, 受全球变暖影响, 世界各地夏季极端高温频繁出现, 大口黑鲈受高温胁迫的现象已成常态, 且危害严重。夏秋季节为大口黑鲈主要生长期, 但期间受高温影响, 大口黑鲈存在摄食效果差甚至不摄食、生长速率降低、不耐应激等问题。大口黑鲈已在全国范围内均有养殖, 但不同养殖或选育群体在耐高温性能方面是否存在差异尚不清楚。本研究通过测定急性温度胁迫下大口黑鲈不同群体半数致死温度, 比较分析不同群体间的耐热

性差异, 了解不同温度胁迫和高温条件下不同时间胁迫对大口黑鲈鳃组织病理变化和肝脏抗氧化酶活性变化的影响, 为筛选大口黑鲈抗逆性能优良的种质和健康养殖提供基础数据和理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

大口黑鲈“优鲈 3 号”(YL)、台湾群体 (TW) 和北方亚种引进群体 (BF) 均由广东梁氏水产种业有限公司提供, 从这 3 个群体中分别选取体重为 (15.61±1.25) g 的大口黑鲈 150 尾用于测定急性高温胁迫下的半数致死温度, 参考罗祖娟<sup>[19]</sup>方法设置 5 个温度组 (35、36、37、38 和 39 °C), 每个温度 3 个重复, 均放在大小为 80.00 cm × 48.00 cm × 32.50 cm 的玻璃缸内暂养 7 d, 每天投喂颗粒膨化饲料 2 次 (8:00—9:00 和 17:00—18:00), 采取饱食投喂的方式, 即实验鱼饱食并且实验玻璃缸中无残饵。每天记录摄食量, 测量玻璃缸循环水亚盐含量、pH 值和氨氮等指标 (保持氨氮 < 0.50 mg/L、亚盐含量 < 0.10 mg/L、pH 值 7~8)。暂养结束后, 用加热棒将水温从 27 °C 以 2 °C/h 的速率升到相应温度后, 维持 12 h, 以实验鱼鱼体出现失去平衡、丧失游动和呼吸能力等现象作为实验鱼在高温胁迫下死亡的判断标准, 记录 12 h 后各群体的死亡率, 用于计算各群体半数致死温度。

用于测定高温胁迫下的组织损伤和酶活性实验的大口黑鲈“优鲈 3 号”来自广东梁氏水产种业有限公司, 随机选取体重为 (21.61±1.87) g 的大口黑鲈 180 尾。其中 90 尾设置 3 个平行组, 每个平行 30 尾鱼, 均放在大小为 80.00 cm × 48.00 cm × 32.50 cm 的玻璃缸内, 用加热棒将水温从 27 °C 以 2 °C/h 的速率升温至 39 °C, 期间在 27、35、37 和 39 °C 时, 从每个平行组中随机捞取 3 尾实验鱼, 解剖并采集肝脏和鳃组织, 肝脏组织置于液氮罐中, -80 °C 冰箱长期保存, 鳃组织取鱼身体右侧的第 2 对鳃丝鳃弓, 用磷酸盐缓冲溶液 (PBS) (Servicebio, 武汉) 进行冲洗, 放入 4% 多聚甲醛固定液 (BOSTE, 美国) 中。挑选 90 尾鱼同样设置 3 个平行组, 每个平行 30 尾实验鱼, 均放在大小为 80.00 cm × 48.00 cm × 32.50 cm 的玻璃缸内, 用加热棒将水温从 27 °C

以 2 °C/h 的速率升温至 37.5 °C, 分别在维持了 0、3、6 和 12 h 后, 随机从每个平行组捞出 3 尾实验鱼, 解剖并采集肝脏组织置于液氮罐中, -80 °C 冰箱长期保存。本研究获得了中国水产科学研究院珠江水产研究所实验动物管理和使用伦理委员会批准 (审批号: LAEC-PRFRI-2022-06-03), 实验过程中操作人员严格遵守中国水产科学研究院珠江水产研究所伦理规范, 并按照中国水产科学研究院珠江水产研究所伦理委员会制定的规章制度执行。

### 1.2 测定指标与方法

制作鳃组织切片, 将室温下固定 24 h 以上的鳃组织取出进行修剪, 放入乙醇和融化石蜡中进行脱水浸蜡, 然后将浸蜡的组织放入包埋机, 待蜡变硬后, 修剪并切片, 用苏木伊红 (H.E) 染色, 用中性树胶封片并在光学显微镜 (Nikon Eclipse E100, 日本) 下检查。用正置白光拍照显微镜 (Nikon Elipse C1, 日本) 进行图像采集和分析。

抗氧化酶活性测定采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附实验 (ELISA)。首先进行样品处理, 将肝脏组织加入适量生理盐水捣碎, 3 000 r/min 离心 10 min 取上清液。然后往预先包被目的酶 (SOD、CAT) 抗体的包被微孔中依次加入样本、标准品、辣根过氧化物酶 HRP 标记的检测抗体, 经过温育并彻底洗涤。用底物 Tetramethylbenzidine (TMB) 显色, TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色, 并在硫酸的作用下最终转化成黄色, 颜色的深浅和样品中的目的酶的活性呈正相关。使用 Cytation 5 多功能酶标仪 (Biotek, 美国) 在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值)。

### 1.3 数据分析

参考范超晶等<sup>[3]</sup>方法建立死亡率 (y) 与温度 (x) 之间的简单线性回归方程, 以 12 h 半数致死温度为耐热性依据, 比较不同大口黑鲈群体的耐热性差异。以 ELISA 标准品浓度作横坐标, 对应 OD 值作纵坐标, 绘制出标准品线性回归曲线, 按曲线方程计算各样本浓度值, 按照曲线方程计算样品抗氧化酶活性。使用 SPSS 26 软件对数据进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan 氏法进行多重差异显著性比较, 以  $P < 0.05$  作为差异显著水平标志。实验

数据以平均值±标准差 (mean±SD) 表示。使用 GraphPad Prism Version 6.01 软件绘制抗氧化酶活性柱状图。

## 2 结果

### 2.1 不同大口黑鲈群体的半数致死温度

对 3 个大口黑鲈北方亚种群体在不同温度处理 12 h 后的死亡率进行统计分析, 结果显示, 36 °C 时 3 个大口黑鲈群体均开始出现死亡, 38 °C 时 BF 有 2 个平行组的死亡率达到 100%, 39 °C 时 3 个群体的死亡率均达到 100% (表 1)。YL、TW、BF 的半数致死温度均值分别为 37.47、37.15 和 37.01 °C (表 2), YL 的半数致死温度显著大于 TW 和 BF ( $P < 0.05$ ), 而 TW 和 BF 的半数致死温度差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 1 3 个大口黑鲈群体在不同温度处理 12 h 后的死亡率

Tab. 1 Mortality of three *M. salmoides* populations after 12 h of different temperature treatments %

分组 group	死亡率 mortality				
	35 °C	36 °C	37 °C	38 °C	39 °C
YL 1	0	0	20	70	100
YL 2	0	0	20	80	100
YL 3	0	10	20	90	100
TW 1	0	10	40	80	100
TW 2	0	10	40	80	100
TW 3	0	20	50	90	100
BF 1	0	20	30	100	100
BF 2	0	20	40	100	100
BF 3	0	20	50	90	100

注: YL、TW 和 BF 分别代表“优鲈 3 号”、台湾群体和北方亚种引进群体; 数字 1、2、3 代表各群体的平行组 1、2、3; 下同。

Notes: YL, TW and BF stand for "YouLu No.3", Taiwan population and introduced population (*M. salmoides salmoide*); the numbers 1, 2 and 3 represent parallel groups 1, 2 and 3 for each group; the same below.

### 2.2 急性高温胁迫下大口黑鲈鳃组织结构变化

将对照组 (27 °C) 和不同高温组 (35、37 和 39 °C) 的鳃组织样品进行制作切片和观察分析, 结果显示, 对照组鳃组织的鳃丝丰富, 排列紧密, 鳃丝内细胞形态正常, 鳃小片排列有序, 组织未见明显异常 (图版-1)。与对照组相比, 35 °C 组有较多鳃小片上皮与基底膜分离, 鳃小片整体变粗, 未见其他明显差异 (图版-2)。37 °C 组

表 2 3 个大口黑鲈群体的半数致死温度

Tab. 2 Half-lethal lethal temperatures of three *M. salmoides* populations

分组 group	线性回归方程 linear regression equation	决定系数 coefficient of determination	半数致死温度/°C half-lethal temperature	半数致死温度均值/°C half-lethal temperature average value
YL 1	$y = 0.35x - 12.65$	$R^2 = 0.98$	37.57	37.47±0.11 <sup>a</sup>
YL 2	$y = 0.36x - 13.00$	$R^2 = 0.95$	37.50	
YL 3	$y = 0.34x - 12.20$	$R^2 = 0.89$	37.35	
TW 1	$y = 0.31x - 11.05$	$R^2 = 0.99$	37.25	37.15±0.17 <sup>b</sup>
TW 2	$y = 0.31x - 11.05$	$R^2 = 0.99$	37.25	
TW 3	$y = 0.28x - 9.85$	$R^2 = 0.96$	36.96	
BF 1	$y = 0.31x - 11.00$	$R^2 = 0.85$	37.09	37.01±0.07 <sup>b</sup>
BF 2	$y = 0.30x - 10.60$	$R^2 = 0.88$	37.00	
BF 3	$y = 0.28x - 9.85$	$R^2 = 0.96$	36.96	

注: 同一列数据中不同上标字母表示差异显著( $P < 0.05$ );  $x$ 代表温度(35、36、37、38和39 °C),  $y$ 代表不同温度处理12 h后的死亡率。

Notes: Different superscript letters in the same column of data indicate significant differences ( $P < 0.05$ );  $x$  represents temperature (35, 36, 37, 38, and 39 °C), and  $y$  represents mortality after 12 h of treatment at different temperatures.

鳃丝两侧鳃小片变粗变短, 广泛见鳃小片上皮与基底膜分离, 鳃小片基部水肿增生 (图版-3)。39 °C 组鳃小片整体变粗变短, 广泛见鳃小片上皮与基底膜分离, 基部水肿增生, 弯曲且朝向不一致, 并且上皮细胞出现脱落现象 (图版-4)。

### 2.3 急性高温胁迫下大口黑鲈抗氧化酶活性变化

#### 不同温度对大口黑鲈抗氧化酶活性的影响

随温度升高, 急性高温胁迫下大口黑鲈“优鲈3号”肝脏 SOD 的活性逐渐上升, 在 37 °C 时达到峰值, 之后开始下降, 且 37 °C 时 SOD 值显著高于 27、35 和 39 °C ( $P < 0.05$ ) (图 1-a)。随温度升高, 肝脏 CAT 的活性逐渐上升, 在 37 °C 时达到峰值, 之后开始下降, 37 °C 时 CAT 值显著高于 27 和 39 °C, 39 °C 时 CAT 活性降低到与 27 °C 时相近水平 (图 1-b)。

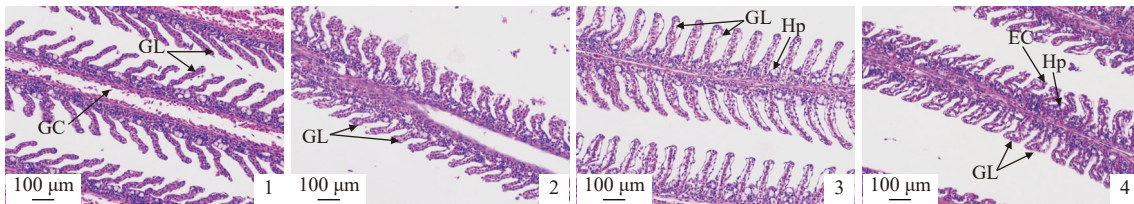
不同高温处理时间对大口黑鲈抗氧化酶活性的影响 将水温从 27 °C 以 2 °C/h 的升温

速率升高到 37.5 °C, 检测不同胁迫时间下大口黑鲈“优鲈3号”肝脏 SOD 和 CAT 的活性, 结果显示, SOD 的活性在 3 h 时达到峰值, 随后在 6 h 时显著下降 ( $P < 0.05$ ), 12 h 时略有升高, 但 12 与 6 h 的酶活差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (图 2-a)。在温度到达 37.5 °C 后, 肝脏 CAT 的活性开始上升, 在 3 h 时达到峰值, 之后 CAT 活性逐渐下降, 其中 3 h 的 CAT 值显著高于 0 和 12 h ( $P < 0.05$ ) (图 2-b)。

## 3 讨论

### 3.1 不同大口黑鲈群体的耐热性分析

不适宜的环境温度会影响水产动物的生长, 甚至引发死亡, 高温下水产动物的半数致死温度可以代表其耐热性高低<sup>[2]</sup>。同种生物的不同地域分布特点往往导致其在适应环境的同时对温度产生不同耐受力<sup>[20-21]</sup>。Ghaffari 等<sup>[2]</sup>为探究



图版 不同温度胁迫下大口黑鲈“优鲈3号”鳃组织学变化

1-4 分别表示 27、35、37 和 39 °C 下的鳃组织结构变化; GL. 鳃小片, GC. 鳃血细胞, Hp. 增生, EC. 上皮细胞。

### Plate Histological changes in the gills of *M. salmoides* “YouLu No.3” under different temperature stresses

1-4. the changes in gill tissue structure at 27, 35, 37 and 39 °C, respectively; GL. gill lamellae, GC. gill blood cells, Hp. hyperplasia, EC. epithelial cells.

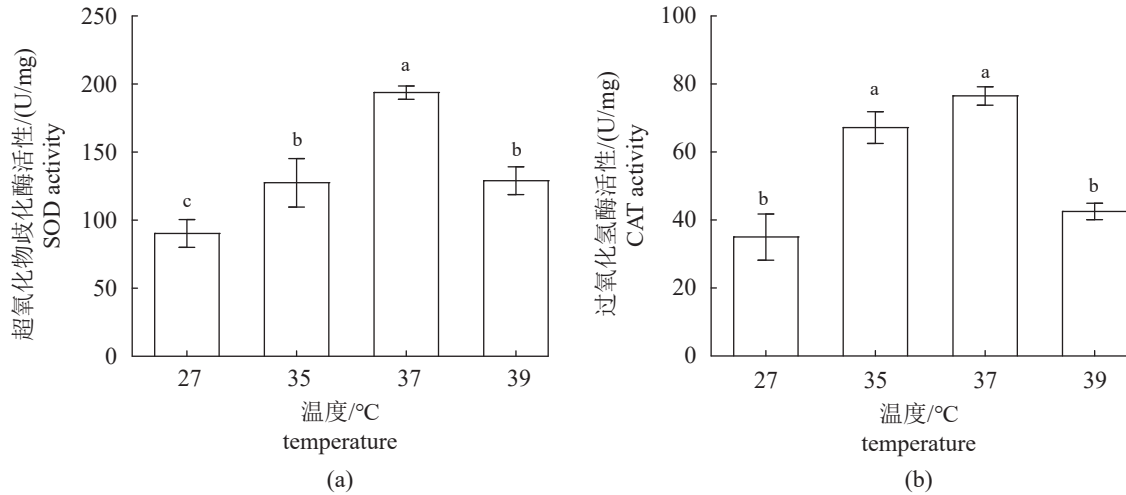


图 1 不同温度对大口黑鲈抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性变化的影响

不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Fig. 1 Effect of different temperatures on changes in antioxidant enzyme activity of *M. salmoides*

Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ), the same below.

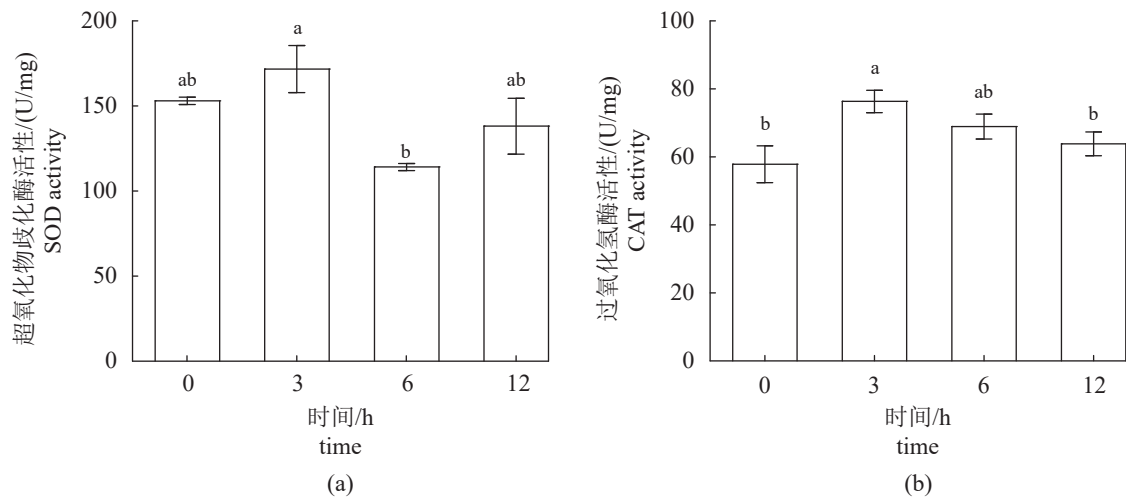


图 2 37.5 °C 下不同时间大口黑鲈抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性变化

Fig. 2 Effect of different times at 37.5 °C on the changes of antioxidant enzymes SOD and CAT activities of *M. salmoides*

中国南北方长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 的耐热性差异, 研究了两种长牡蛎在急性高温胁迫下的半数致死温度, 发现南方长牡蛎的半数致死温度 (43.7 °C) 显著高于北方长牡蛎。李晓英等<sup>[4]</sup>对不同仿刺身群体进行耐热性评估, 结果显示, 低纬度的蓬莱、胶南和东营群体的半数致死温度 (31.6、31.9 和 31.6 °C) 高于高纬度的昌黎群体的半数致死温度 (31.5 °C), 可见, 同一物种不同纬度地理群体在耐热性方面存在差异。本研究中“优鲈 3 号”在急性高温胁迫下的半数致死温度显著高于台湾群体和北方亚种引进群体,

推测造成这种差异的原因: 北方亚种引进群体和台湾群体分别来自于所处温带地区的美国中部地区天然水域和中国台湾省, 而大口黑鲈“优鲈 3 号”来源于地处热带亚热带地区的佛山市, 前两者所处的纬度均高于大口黑鲈“优鲈 3 号”, 对热胁迫的适应能力不如“优鲈 3 号”, 此外, 优鲈 3 号是在室外池塘养殖环境下通过人工定向选育而育成的新品种, 每年都会经历夏秋高温水环境, 而研究表明生物的耐热性具有可塑性, 并与生物经历的温度和胁迫程度有关, 长时间的高温胁迫可能会提高其耐热性<sup>[4, 22]</sup>, 因

此,“优鲈3号”在选育过程中也经历高温选择且很可能会产生一定的高温适应性<sup>[23]</sup>。研究表明,大口黑鲈在超过36℃的水环境中无法生存<sup>[18]</sup>。Fields等<sup>[24]</sup>的研究同样发现,在急性高温胁迫下北方亚种的临界致死温度为36.5℃,这与本研究的临界致死温度36℃数值相近,在实际生产活动中应考虑大口黑鲈养殖温度不高于36℃。

### 3.2 急性高温胁迫对大口黑鲈鳃组织的影响

鳃是鱼类重要呼吸器官,参与代谢物排泄、体液平衡渗透和酸碱平衡调节等生理活动<sup>[7]</sup>。鳃与水体直接接触,容易被不适宜的水环境所损伤,影响其正常生理活动,甚至危及生命<sup>[25]</sup>。Liu等<sup>[26]</sup>发现32℃时牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)鳃组织损伤严重,有充血、增生和上皮隆起等现象。Rojas等<sup>[27]</sup>发现暴露于35℃的大盖巨脂鲤(*Colossoma macropomum*)鳃组织出现破碎,并提出鳃是研究高温胁迫对组织影响的理想组织。Mallatt<sup>[28]</sup>分析了高温胁迫下鳃组织的结构变化,包括鳃丝发生水肿、增生、坏死和融合,细胞脱落、破裂和坏死等,本研究中大口黑鲈鳃组织在35和37℃时都出现类似现象,这种程度损伤属于防御型损伤,上皮细胞水肿和肥大属于机体的自我保护机制,阻碍胁迫因子损伤深层组织,对鱼体起到保护作用,但同时也降低了物质与气体交换的能力<sup>[29-30]</sup>。与35和37℃相比,39℃时大口黑鲈鳃丝严重损伤,鳃丝间可见脱落的细胞,这与银鲈(*Pampus argenteus*)<sup>[31]</sup>和露斯塔野鲮(*Labeo rohita*)<sup>[32]</sup>处于极端高温条件下出现的现象相类似,且这种损伤属于直接损伤<sup>[33]</sup>。随着脱落细胞的堆积,大大增加了鳃毛细血管与水环境的距离,导致气体交换能力的下降,进而导致呼吸系统功能丧失,最终导致鱼体死亡<sup>[34]</sup>。综上所述,在实际生产活动中要注意避免高温对鱼体呼吸系统造成损伤。

### 3.3 急性高温胁迫对大口黑鲈抗氧化酶的影响

SOD和CAT是生物机体应对氧化损伤的重要抗氧化酶,SOD将外界胁迫下产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)转化为过氧化氢,避免机体受活性自由基的氧化损伤,而CAT可将过氧化氢还原成氧分子和水<sup>[35]</sup>,SOD

和CAT活性改变反映水产动物在所处环境下的生理状况。对于不同生物或同种生物的不同器官,抗氧化系统会表现出不同的响应机制<sup>[36]</sup>,如牙鲆肝脏中SOD和CAT活性随着水温升高而降低<sup>[37]</sup>。军曹鱼(*Rachycentron canadum*)体侧肌肉中SOD活性随着水温升高而升高<sup>[38]</sup>。小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)肝脏中SOD和CAT的活性随温度的升高先升高后降低<sup>[39]</sup>,而本研究中大口黑鲈肝脏SOD和CAT活性变化形式与小黄鱼肝脏中SOD和CAT活性变化趋势相符。已有研究表明,适当升温可以使SOD和CAT活性增强,机体启动保护机制,以加强机体免疫力,减小机体氧化损伤,但是水温过高会使得机体代谢紊乱,SOD和CAT活性下降<sup>[39]</sup>。姜旭阳等<sup>[40]</sup>研究急性高温对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)抗氧化酶活性的影响,在24℃高温刺激下,随时间延长,SOD和CAT活性显著升高,12h后SOD和CAT活性降低。本研究中大口黑鲈SOD和CAT活性随高温胁迫时间延长的变化趋势与姜旭阳等<sup>[40]</sup>的研究结果相同。适当的温度热刺激能使机体启动保护机制,SOD和CAT活性增强,消除ROS,减少机体氧化损伤,但随着时间延长,无法清除过量的ROS时,机体受到氧化损伤,酶活性下降甚至酶降解<sup>[41]</sup>。

## 4 结论

急性高温胁迫条件下,“优鲈3号”、台湾群体和北方亚种引进群体的半数致死温度分别为37.47、37.15和37.01℃,“优鲈3号”的耐热性显著优于台湾群体和北方亚种引进群体。随着温度升高,鳃小片上皮与基底膜分离的情况加重,鳃小片逐渐变短变粗,39℃时鳃组织损伤最为严重。伴随温度升高和胁迫时间延长,大口黑鲈分别在37℃和3h时超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性最高,并且酶活性均呈现先升高后降低的变化趋势。

## 参考文献 (References):

- [1] An M I, Choi C Y. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: effects on hemolymph and biochemical parameters[J]. *Comparative Biochemistry and*

- Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2010, 155(1): 34-42.
- [ 2 ] Ghaffari H, Wang W, Li A, *et al.* Thermotolerance divergence revealed by the physiological and molecular responses in two oyster subspecies of *Crassostrea gigas* in China[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 1137.
- [ 3 ] 范超晶, 陈爱华, 谭杰, 等. 中韩刺参 (*Apostichopus japonicus*) 杂交子一代高温与盐度耐受性比较 [J]. *渔业科学进展*, 2016, 37(2): 146-152.
- Fan C J, Chen A H, Tan J, *et al.* A comparative study on high temperature and salinity tolerance of hybrids between Chinese and Korean populations of sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(2): 146-152 (in Chinese).
- [ 4 ] 李晓英, 张冬冬, 徐梦雪, 等. 5 个不同地理群体仿刺参的高温耐受性及养殖性能评估 [J]. *海洋渔业*, 2020, 42(6): 722-731.
- Li X Y, Zhang D D, Xu M X, *et al.* Evaluation of high temperature tolerance and culture performance of five different *Apostichopus japonicus* groups[J]. *Marine Fisheries*, 2020, 42(6): 722-731 (in Chinese).
- [ 5 ] Sanni B, Williams K, Sokolov E P, *et al.* Effects of acclimation temperature and cadmium exposure on mitochondrial aconitase and LON protease from a model marine ectotherm, *Crassostrea virginica*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2008, 147(1): 101-112.
- [ 6 ] 柳意樊. 褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 和杂交鲆 (*P. olivaceus*♀×*P. dentatus*♂) 幼鱼高温耐受性研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2014: 66-81.
- Liu Y F. Study on the thermal tolerance of juvenile *Paralichthys olivaceus* and the hybrids *P. olivaceus*♀ × *P. dentatus*♂[D]. Beijing: University of the Chinese Academy of Sciences, 2014: 66-81 (in Chinese).
- [ 7 ] 吴志强. 鱼鳃的构造及其生理机能 [J]. *生物学通报*, 1993, 28(11): 6-7.
- Wu Z Q. The structure of fish gills and their physiological functions[J]. *Biology Bulletin*, 1993, 28(11): 6-7 (in Chinese).
- [ 8 ] 陈祎宁. 热刺激对白梭吻鲈鳃组织病理学、抗氧化酶及基因表达谱的影响 [D]. 苏州: 苏州大学, 2019: 19-23.
- Chen Y N. Effects of heat stimulation on histopathology, antioxidant enzymes and gene expression profiles of pikeperch (*Sander lucioperca*)[D]. Suzhou: Soochow University, 2019: 19-23 (in Chinese).
- [ 9 ] 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.
- [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] 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.
- 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 (in Chinese).
- [13] 袁新程, 蒋飞, 施永海, 等. 高温胁迫对美洲鲈 1 龄鱼种抗氧化与非特异性免疫相关指标的影响 [J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2021, 47(1): 107-117.
- Yuan X C, Jiang F, Shi Y H, *et al.* Effects of high temperature stress on antioxidative and non-specific immunity indices of one-year-old *Alosa sapidissima*[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2021, 47(1): 107-117 (in Chinese).
- [14] 国家特色淡水鱼产业技术体系. 中国淡水鲈产业发展报告 [J]. *中国水产*, 2021(3): 40-48.
- National Technical System of Special Freshwater Fish Industry. Report on the development of freshwater perch industry in China[J]. *China Fisheries*, 2021(3): 40-48 (in Chinese).
- [15] Bailey R M, Hubbs C L. The black basses (*Micropterus*) of Florida, with description of a new species[R]. University of Michigan Museum of Zoology Occasional Papers, 1949, 516: 1-40.
- [16] 樊佳佳, 白俊杰, 叶星, 等. 中国养殖大口黑鲈的亚种分类地位探讨 [J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(1): 83-86.
- Fan J J, Bai J J, Ye X, *et al.* Taxonomic status of largemouth bass *Micropterus salmoides* cultured in China[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(1): 83-86 (in Chinese).
- [17] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2022 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2022.

- Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Aquatic Technology Extension Station, China Fisheries Society. China fisheries statistical yearbook 2022[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2022 (in Chinese).
- [18] 朱志明, 朱旺明, 蓝汉冰. 加州鲈 (*Micropterus salmoides*) 生物学特性和营养需求研究进展 [J]. 饲料工业, 2014, 35(16): 31-36.
- Zhu Z M, Zhu W M, Lan H B. The biological characteristics and nutritional requirement of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Feed Industry, 2014, 35(16): 31-36 (in Chinese).
- [19] 罗祖娟. 高温胁迫对吉富罗非鱼影响的研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- Luo Z J. Research on the effects of heat stress on GIFT tilapia[D]. Nanning: Guangxi University, 2013 (in Chinese).
- [20] Wagner E J, Arndt R E, Brough M. Comparative tolerance of four stocks of cutthroat trout to extremes in temperature, salinity, and hypoxia[J]. Western North American Naturalist, 2001, 61(4): 434-444.
- [21] Clegg J S, Uhlinger K R, Jackson S A, et al. Induced thermotolerance and the heat shock protein-70 family in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1998, 7(1): 21-30.
- [22] 董云伟, 董双林. 刺参对温度适应的生理生态学研究进展 [J]. 中国海洋大学学报, 2009, 39(5): 908-912.
- Dong Y W, Dong S L. Advances of ecological physiology in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka[J]. Periodical of Ocean University of China, 2009, 39(5): 908-912 (in Chinese).
- [23] 许友卿, 曹占旺, 丁兆坤, 等. 高温对鱼类的影响及其预防研究 [J]. 水产科学, 2010, 29(4): 235-242.
- Xu Y Q, Cao Z W, Ding Z K, et al. Effects and prevention of high temperature on fishes[J]. Fisheries Science, 2010, 29(4): 235-242 (in Chinese).
- [24] Fields R, Lowe S S, Kaminski C, et al. Critical and chronic thermal maxima of northern and florida largemouth bass and their reciprocal F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> hybrids[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1987, 116(6): 856-863.
- [25] 吴玲玲, 陈玲, 张亚雷, 等. 菲对斑马鱼鳃和肝组织结构的影响 [J]. 生态学杂志, 2007, 26(5): 688-692.
- Wu L L, Chen L, Zhang Y L, et al. Effects of phenanthrene toxicity on histopathology of *Brachydanio rerio* gill and liver[J]. Chinese Journal of Ecology, 2007, 26(5): 688-692 (in Chinese).
- [26] Liu Y F, Ma D Y, Zhao C Y, et al. Histological and enzymatic responses of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and its hybrids (*P. olivaceus* ♀ × *P. dentatus* ♂) to chronic heat stress[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2014, 40(4): 1031-1041.
- [27] Rojas L M, Mata C, Oliveros A, et al. Histology of gill, liver and kidney in juvenile fish *Colossoma macropomum* (Characiformes, Characidae) exposed to three temperatures[J]. Revista De Biologia Tropical, 2013, 61(2): 797-806.
- [28] Mallatt J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1985, 42(4): 630-648.
- [29] Richmonds C, Dutta H M. Histopathological changes induced by malathion in the gills of bluegill *Lepomis macrochirus*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1989, 43(1): 123-130.
- [30] Cengiz E I, Unlu E. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2006, 21(3): 246-253.
- [31] 史琛瑜, 赵淳朴, 胡艺潇, 等. 银鲳应对高温胁迫的生理响应及其相关基因表达研究 [J]. 应用海洋学学报, 2022, 41(1): 1-7.
- Shi C Y, Zhao C P, Hu Y X, et al. Effects of high temperature stress on physiology and expression of related gene in *Pampus argenteus*[J]. Journal of Applied Oceanography, 2022, 41(1): 1-7 (in Chinese).
- [32] Dash G, Yonzon P, Chanda M, et al. Histopathological changes in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings to various acclimation temperatures[J]. Chronicles of Young Scientists, 2011, 2(1): 29-36.
- [33] Temmink J H M, Bouwmeister P J, De Jong P, et al. An ultrastructural study of chromate-induced hyperplasia in the gill of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Aquatic Toxicology, 1983, 4(2): 165-179.
- [34] Ayoola S O. Histopathological effects of glyphosate on juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*)[J]. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 2008, 4(3): 362-367.
- [35] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响 [J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
- Yin F, Sun P, Peng S M, et al. Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus*



- liver and the APTase activities in its gill and kidney[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1059-1066 (in Chinese).
- [36] 王新安, 郭黎, 马爱军, 等. 基于响应面法分析温度和盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼抗氧化酶活性的影响 [J]. 海洋科学, 2014, 38(6): 17-23.  
Wang X A, Guo L, Ma A J, *et al.* Effects of temperature, salinity and their interaction on the activities of antioxidant enzymes of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* based on response surface methodology[J]. Marine Sciences, 2014, 38(6): 17-23 (in Chinese).
- [37] 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲆生长及肝脏抗氧化酶活性的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1099-1105.  
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 (in Chinese).
- [38] 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.  
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 (in Chinese).
- [39] 刘峰, 刘阳阳, 楼宝, 等. 温度对小黄鱼体内抗氧化酶及消化酶活性的影响 [J]. 海洋学报, 2016, 38(12): 76-85.  
Liu F, Liu Y Y, Lou B, *et al.* Effect of water temperature on antioxidant and digestive enzymes activities in *Larimichthys polyactis*[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2016, 38(12): 76-85 (in Chinese).
- [40] 姜旭阳, 黄铭, 杨小刚, 等. 急性高温胁迫对虹鳟和硬头鲂幼鱼抗氧化酶活性的影响 [J]. 中国水产科学, 2021, 28(1): 57-65.  
Jiang X Y, Huang M, Yang X G, *et al.* Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute high-temperature stress[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(1): 57-65 (in Chinese).
- [41] Ameur W B, El Megdiche Y, De Lapuente J, *et al.* Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax* gill exposed to persistent pollutants. A field study in the Bizerte Lagoon: Tunisia[J]. Chemosphere, 2015, 135: 67-74.

## Analysis of heat tolerance in different populations of *Micropterus salmoides* and the effects of high temperature on gill tissue and antioxidant enzyme activity

XIE Yujing<sup>1,2</sup>, LI Shengjie<sup>1\*</sup>, DU Jinxing<sup>1</sup>, ZHU Tao<sup>1</sup>,  
SONG Hongmei<sup>1</sup>, LEI Caixia<sup>1</sup>, WEN Qiqiao<sup>3</sup>

1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Immunology and Sustainable Aquaculture, Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Agriculture and Forestry Service Center of Jiujiang Town, Foshan Nanhai District, Foshan 528100, China

**Abstract:** A total of three *Micropterus salmoides* populations ["YouLu No.3" (YL), Taiwan population (TW) and introduced population (*M. salmoides salmoide*)(BF)] with an average body mass of (15.61±1.25) g were used in this study to study the acute high-temperature tolerance of different populations and the effect of high-temperature on gill tissue and antioxidant enzyme activity. The water temperature was raised from 27 to 35, 36, 37, 38, 39 °C with a rate of 2 °C/h and maintained for 12 h. Each temperature group included three replicates and ten fish per repeat. Half-lethal temperature (LT<sub>50</sub>) was predicted according to the mortality rate. The results showed that fish death in three populations beginning to occur at 36 °C, the LT<sub>50</sub> of YL was 37.47 °C, which was significantly higher than that of TW (37.15 °C) and BF (37.01 °C). By subjecting *M. salmoides* to high-temperature stress, and the gill tissue damage of *M. salmoides* at different temperatures (27, 35, 37 and 39 °C) was compared and analysed, with the increase of temperature, the separation of the epithelium of gill lamellae from the basement membrane increased, and the gill lamellae gradually became shorter and thicker, and the gill tissue damage was the most serious at 39 °C. The activities of antioxidant enzymes of *M. salmoides* at different temperatures (27, 35, 37 and 39 °C) and different stress times (0, 3, 6 and 12 h) at 37.5 °C showed that the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) increased and then decreased with increasing temperature, and the highest activities were observed at 37 °C. The activities of SOD and CAT increased and then decreased with increasing stress time. SOD and CAT activities showed trends of increasing and then decreasing with increasing stress time, and the highest activity was observed at 3 h. In summary, the heat tolerance of YL was significantly higher than that of the TW and BF. The high temperature stress caused stress damage to *M. salmoides*. Our study provides basic data and theoretical references for breeding high temperature tolerance *M. salmoides*.

**Key words:** *Micropterus salmoides*; acute heat stress; half-lethal temperature (LT<sub>50</sub>); tissue damage; antioxidant enzymes

**Corresponding author:** LI Shengjie. E-mail: [ssjjli@163.com](mailto:ssjjli@163.com)

**Funding projects:** Guangdong Rural Revitalization Strategy Special (2024SPY00003, 2022-SBH-00-001); Science and Technology Program of Guangzhou, China (202201010211); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2023TD95)