

DOI: 10.11964/jfc.20240214383

高温胁迫对哲罗鲑鳃和肝脏组织病理学及血清生化指标的影响

张 潭^{1,2}, 佟广香², 徐 欢², 闫 婷², 卫明亮², 张婷婷²,
匡友谊^{2*}

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070

摘要:

【目的】探讨哲罗鲑在高温下的生理响应机制。

【方法】本实验采用 2 龄哲罗鲑 [体重 (204.49±38.41) g, 体长 (27.75±1.53) cm] 进行高温胁迫实验, 以 1 °C/d 的速率从 18 °C 升温至 26 °C, 维持 7 d 后降温至 18 °C。采样时间点包括升温阶段 (18、22 和 26 °C)、高温维持阶段 (26 °C 下 4 h、48 h、7 d) 和降温恢复期 (18 °C)(n=4), 比较分析其呼吸频率、鳃和肝脏组织病理及血清生化指标变化。

【结果】升温过程中, 哲罗鲑的呼吸频率随温度升高而加快, 组织学分析显示, 鳃上皮细胞肥大并伴有破裂, 肝细胞肥大、空泡化和坏死等, 且病变逐渐加重, 26 °C 时病理学分级达到重度水平 (病变组织占 61% 以上); 血清中天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 活性随温度升高而急剧升高, 碱性磷酸酶 (ALP) 活性于 26 °C 时显著降低, 总胆固醇 (TC) 含量缓慢降低, 总蛋白 (TP) 含量先降低后恢复。在高温维持期间, 呼吸频率持续高于对照组, 鳃和肝脏组织病变进一步加重, 出现鳃丝上皮破裂、血管闭塞和鳃小片黏合, 肝脏组织充血、脂肪变性和炎症渗透等, 病理分级显示, 在维持 105 h 时达到顶峰, 之后病变逐渐减轻; 血清中 AST、ALT 和 LDH 活性先急剧下降后升高, ALP 活性先升高后恢复, TC 含量缓慢恢复, TP 含量先降低后恢复。降温至 18 °C 后, 呼吸频率恢复至正常水平, 鳃组织恢复正常, 肝脏组织有所恢复, 但仍观察到脂肪变性、炎症细胞浸润 (病变组织占 31%~60%)、脂肪变性和炎症渗透等现象, 血清中 AST、ALT 和 LDH 活性降低但显著高于对照组, ALP 活性升高, 且高于对照组, TC 和 TP 含量恢复至正常水平。

【结论】哲罗鲑在高温胁迫下的需氧量和代谢水平提高, 其鳃和肝脏组织均具有强烈的高温适应性病理变化以及组织细胞更新和恢复能力。本研究为哲罗鲑的高温耐受生理调控机制、高效养殖和耐高温品种的选育提供了理论基础。

关键词: 哲罗鲑; 高温胁迫; 呼吸频率; 组织病理学; 血清生化指标

第一作者: 张潭, 从事鱼类基因组与分子育种研究, E-mail: tan_zhg@sina.com



通信作者: 匡友谊, 从事鱼类基因组与分子育种研究, E-mail: kuangyouyi@hrfri.ac.cn



资助项目: 国家重点研发计划 (2022YFD2400101); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2023TD22)

收稿日期: 2024-02-26

修回日期: 2024-05-26

文章编号:

1000-0615(2025)06-069106-14

中图分类号: S 917.4

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)

哲罗鲑 (*Hucho taimen*) 属鲑形目 (Salmoniformes) 鲑科 (Salmonidae) 哲罗鱼属 (*Hucho*), 其肉质细嫩, 味道鲜美, 是鲑科鱼类中个体最



大、生长最快的种类^[1-2]。哲罗鲑野生种群属国家Ⅱ级保护动物, 其野生资源十分匮乏, 被世界自然保护联盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 列为易危物种^[3-4]。哲罗鲑属于冷水性鱼, 在水温为 12.0~18.0 ℃ 时, 其生长速率随水温的升高而加快, 当水温低于 12.0 ℃ 或超过 21.0 ℃ 时, 其摄食量随水温的升高或降低而减少^[5]。研究表明, 当环境温度超出最适生长温度时, 鱼类可以通过重新平衡其行为、生理、生化 and 分子过程来适应环境温度并维持内稳态^[6-8], 但达到一定程度或持续一定时间的高温可能会影响或干扰这种适应能力, 从而导致稳态失调^[9]、免疫功能障碍^[10] 及炎症反应^[11], 甚至死亡^[12]。

组织病理学是评估鱼类应激反应的可靠指标, 通过评估组织病理现象, 可以体现鱼类受环境刺激后, 其机体机能的变化^[13]。鳃组织属于呼吸和渗透调节器官, 是鱼体与环境相互作用的关键^[14]; 肝脏组织非常活跃, 具有大分子的中间代谢、内源性废物排泄及外源性毒素清除等多种代谢功能^[7], 对环境刺激敏感, 同时最能反映机体的生理和病理状态, 两种组织均具有一定的抵抗环境刺激的能力^[15]。已有较多研究通过鳃和肝脏组织病理学变化来分析水生环境对鱼类的影响, 例如, Dawood 等^[16] 研究了高盐和高温胁迫下尖齿胡鲶 (*Clarias gariepinus*) 的鳃和肝脏组织的病理特征, 结果显示, 两种组织在不同盐度和高温胁迫条件下分别出现不同程度的病理损伤, 表明高盐度和热应激都对尖齿胡鲶的健康状况有影响。Esam 等^[17] 研究了氨、高温以及二者联合胁迫对尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 的鳃和肝脏的组织学影响, 发现氨和高温胁迫均造成组织病理损伤, 且联合胁迫组的病理症状更严重。另外, 血清生化指标是鱼类血液学中最重要指标之一, 可反映机体的器官功能、免疫功能和应激状态等^[18-20]。血清生化指标与鱼体的疾病和代谢密切相关, 对环境刺激敏感。Gao 等^[21] 研究了氨胁迫对红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 的血清生化指标的影响, 发现氨浓度和胁迫时间增加时血清中丙氨酸转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (GOT) 活性增强, 表明氨胁迫造成组织细胞损伤。

目前, 我国的哲罗鲑养殖主要集中在东北和西北地区, 但这些区域冬季长时间的冰封期

导致哲罗鲑的养殖周期长, 产量也因此受限^[22]。此外, 全球变暖和夏季高温也为哲罗鲑养殖业带来了挑战^[23-24]。作为我国重要经济鱼类, 哲罗鲑对养殖温度有着较为严格的要求, 研究其对温度的适应性和生理响应机制具有重要意义。已有研究表明, 哲罗鲑在 26 ℃ 水温条件下处于应激状态, 且持续高温 (0~96 h) 会造成哲罗鲑热休克蛋白表达量变化和脏器功能不同程度的损伤^[25]。然而, 高温胁迫对哲罗鲑组织病理和血清生化指标的影响仍缺乏全面和系统的分析, 哲罗鲑对高温耐受的响应过程仍不清楚。本研究分析了持续升温过程 (从适温 18 ℃ 升温至 26 ℃)、高温维持过程 (26 ℃ 维持 7 d) 和降温过程 (26 ℃ 维持 7 d 后降温至 18 ℃) 中哲罗鲑的组织病理特征及血清生化指标, 旨在探讨高温胁迫下哲罗鲑组织和生理响应机制, 为哲罗鲑的高效养殖和耐高温新品种的选育提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼

选取 400 尾规格相近、健康无伤的 2 龄哲罗鲑, 体重为 (204.49±38.41) g, 体长为 (27.75±1.53) cm, 实验鱼均取自中国水产科学研究院黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼试验站。实验鱼分别于 4 个循环水养殖系统 (100 尾/个) 中适应性驯养 15 d, 水温为 18 ℃。保持溶解氧含量≥6 mg/L, 定期更换蓄水槽 30% 的循环水体。循环水系统配有过滤、曝气、紫外杀菌、电力加热和冷却系统, 驯养期间保证水体稳定。每日固定时间 (08:00 和 16:00) 按照生物量的 3% 投喂商品化颗粒饲料 (山东升索饲料科技有限公司), 充分摄食后及时清除残饵和粪便。正式实验开始前禁食 1 d。本研究获得了中国水产科学研究院黑龙江水产研究所动物福利伦理委员会批准, 实验过程中操作人员严格遵守中国水产科学研究院黑龙江水产研究所实验动物伦理委员会规范, 并按照中国水产科学研究院黑龙江水产研究所伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 实验设计

前期预实验中, 自 18 ℃ 快速升至 26 ℃ 时, 短时间内实验鱼全部死亡, 因此, 本研究采用热驯化方式进行高温胁迫。将实验鱼分为 4 组

(100尾/组), 其中包含1个对照组和3个实验组(3个重复)。利用热循环系统进行1h控温, 实验组以1℃/d的速率从18℃升至26℃, 并于26℃维持7d后, 以1℃/d的速率降温至18℃。实验期间对照组养殖水温保持在18℃, 水温温差维持在 ± 0.2 ℃, 24h连续充氧。

采样点分别为升温阶段(18、22和26℃)、高温维持阶段(26℃下4h、48h、7d)和降温恢复期(18℃), 所有采样均在相应温度点维持1h后进行。此外, 同时采集26℃持续105h时出现休克反应的4尾哲罗鲑样本。取样前, 录制哲罗鲑鳃盖开合视频1min, 统计每分钟鳃盖开合的次数($n=5$), 即为呼吸频率。取样时将实验鱼置于浓度为200mg/L的MS-222同温度水中快速麻醉, 每个采样点采集4尾实验鱼的鳃和肝脏组织于Bouin氏液中固定; 使用注射器抽取静脉血, 于4℃、4000r/min条件下离心10min制备血清, -80℃保存备用。

1.3 组织学染色

将组织从固定液中取出, 用70%乙醇洗涤至无色。用常规石蜡包埋技术进行组织学分析, 切片厚度为6 μ m。使用苏木精伊红染色试剂盒(BL700B, Biosharp, 北京)进行苏木精和伊红(H.E)染色, 并使用生物显微镜(BX53, OLYMPUS, 日本)观察切片。每组随机选取10张切片分析各组织的病理学变化, 并根据Mansouri等^[26]的半定量方法对组织结构变化程度进行分级: 无改变(<10%), 轻度(10%~30%), 中度(31%~60%), 重度(>61%)。

1.4 血清生化指标检测

使用全自动血液生化指标分析仪(BS200, Mindray, 中国)及配套试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司哈尔滨分公司)测定血清样本, 测定的生化指标包括天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、总胆固醇(TC)、总蛋白(TP)和白蛋白(ALB), 球蛋白(GLB)为总蛋白与白蛋白的差值。

1.5 数据分析

呼吸频率和血清生化指标数据以平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示; 使用R Studio软件(2023.09.1-494)进行统计和图表绘制; 采用单

因素方差分析进行组间差异比较, 以及Newman-Keuls检验进行多重比较, $P<0.05$ 表示具有显著差异, $P<0.01$ 表示具有极显著差异。

2 结果

2.1 临床症状和解剖特征

高温胁迫期间, 升温至21℃时哲罗鲑停止摄食; 26℃维持期间, 离体解剖发现部分样本肝脏充血(图版I-1)、淤血(图版I-2)及白化(图版I-3)等症状; 26℃维持105h时有4尾鱼出现休克症状, 表现为失去平衡并侧翻, 逐渐停止游动, 随循环水漂流, 且腹部出现少量出血, 无菌解剖发现有肝脏充血(图版I-4~6)。

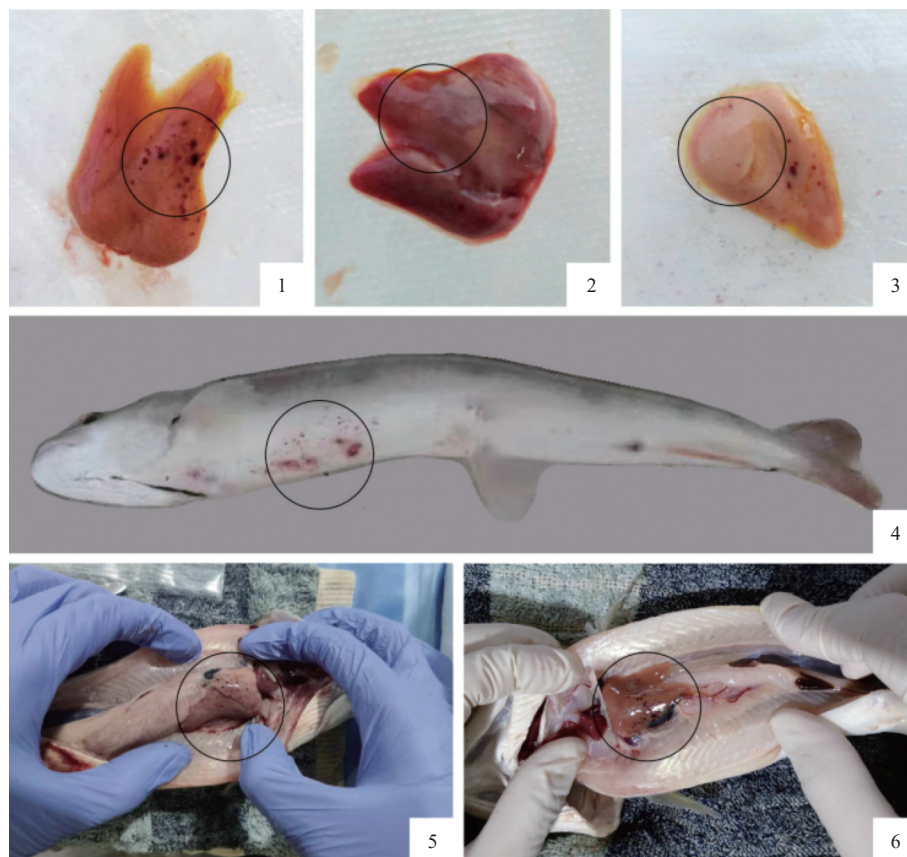
2.2 呼吸频率变化

高温胁迫期间哲罗鲑的呼吸频率变化结果显示, 升温过程中, 18、22和26℃时的呼吸频率分别为(59.67 ± 4.18)、(66.50 ± 2.66)和(69.83 ± 3.92)次/min; 26℃维持4h、48h、105h和7d的呼吸频率依次为(67.83 ± 3.49)、(87.33 ± 5.50)、(85.17 ± 4.07)和(81.00 ± 2.83)次/min; 自26℃降温至18℃时的呼吸频率为(61.00 ± 3.16)次/min。在18~26℃升温期间, 呼吸频率显著升高($P<0.05$); 而在26℃维持期间, 呼吸频率在48h时达到顶峰, 随后开始下降, 但仍显著高于对照组($P<0.01$); 在温度恢复至18℃时的呼吸频率与对照组相比无显著差异($P>0.05$)(图1)。

2.3 鳃组织病理学变化及评分

18℃对照组哲罗鲑鳃组织切片显示, 其鳃丝结构清晰, 鳃小片伸展整齐, 鳃组织细胞结构完整(图版II-1, 2)。高温胁迫条件下鳃组织损伤在各实验组的样本中均有发生, 共检查出9种病理症状, 其中产生于鳃丝部位的症状有血管闭塞、上皮破裂和增生; 产生于鳃小片部位的症状有上皮细胞肥大并伴有破裂, 以及卷曲、黏合、缩短和上皮脱离(图版II-3~9)。

升温至22℃时, 鳃丝出现大量上皮细胞破裂和细胞肥大, 部分鳃小片卷曲, 少量鳃丝上皮破裂、血管闭塞和鳃小片上皮脱离(图版II-3); 升温至26℃时, 上皮细胞破裂加重, 且出现较多鳃丝上皮破裂及增生, 造成出血灶, 少部分鳃小片卷曲和缩短(图版II-4); 26℃维持



图版 I 高温胁迫下哲罗鲑的临床和解剖症状

1~3. 依次表示哲罗鲑于 26 ℃ 维持期间的肝脏充血、淤血和白化症状; 4~6. 依次表示 26 ℃ 维持 105 h 时, 观察到体表斑点状出血 (4) 和肝脏充血 (5、6); 圆圈示临床和解剖症状。

Plate I Clinical and anatomical symptoms of *H. taimen* under high-temperature stress

1-3. illustrated the symptoms of hyperemia, congestion, and pallor in taimen during the maintenance at 26 ℃; 4-6. showed spotted cutaneous hemorrhage (4) and hyperemia (5, 6) of taimen staying at 26 ℃ for 105 hours; the black circles demonstrate clinical and anatomical symptoms.

4~48 h 时, 鳃丝上皮破裂和鳃小片上皮脱离逐渐加剧, 出血灶增多, 鳃小片卷曲和缩短逐渐减轻, 而上皮细胞破裂减少, 鳃上皮光滑度明显增加, 出现鳃小片黏合 (图版 II -5, 6); 26 ℃ 维持 105 h 时, 出现大部分血管闭塞、鳃丝上皮破裂和鳃小片缩短 (图版 II -7); 26 ℃ 维持 7 d 时, 鳃丝表面光滑, 细胞核和细胞轮廓清晰, 出现大量鳃小片黏合和卷曲, 少量的鳃丝上皮破裂形成出血灶, 鳃丝上皮脱离减少 (图版 II -8); 降温至 18 ℃ 时的鳃结构与对照组几乎相同, 仅出现少量的鳃小片卷曲 (图版 II -9)。

高温胁迫期间哲罗鲑的鳃组织病理学分级结果显示, 升温过程中, 鳃组织形成重度上皮细胞肥大并伴有破裂, 中度鳃小片卷曲, 至 26 ℃ 时继发中度鳃丝上皮破裂和增生, 并形成中度鳃小片缩短; 26 ℃ 维持期间, 鳃丝上皮破裂逐

渐发展为重度, 鳃小片上皮脱离症状先加重后减轻, 另外, 在 26 ℃ 维持 48 h 及 7 d 时产生较多鳃小片黏合症状, 而 26 ℃ 维持 105 h 时的休克鱼还出现了重度血管闭塞和鳃小片缩短; 降温至 18 ℃ 后, 鳃组织均恢复良好, 仅有轻度鳃小片卷曲 (表 1)。

2.4 肝脏组织病理学变化及评分

18 ℃ 对照组哲罗鲑肝脏组织切片显示, 其肝细胞和肝窦排列均匀, 边界清晰, 组织细胞结构正常 (图版 III -1, 2)。高温胁迫条件下所有实验组的样本均存在不同程度的肝脏组织损伤, 包括肝细胞肥大、空泡化、脂肪变性、细胞坏死、核碎裂、核固缩、核溶解、肝窦扩张、炎症渗透、肝硬化和组织充血等 11 种病理症状 (图版 III -3~9)。

升温至 22 ℃ 时, 出现较多的肝细胞肥大,

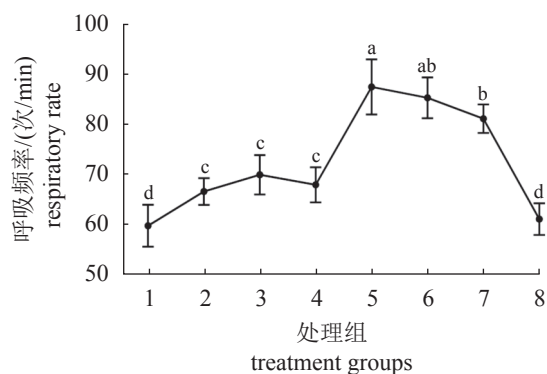


图1 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的呼吸频率变化

1. 18 ℃ 对照组; 2. 22 ℃; 3. 26 ℃; 4. 26 ℃ 维持 4 h; 5. 26 ℃ 维持 48 h; 6. 26 ℃ 维持 105 h; 7. 26 ℃ 维持 7 d; 8. 降温至 18 ℃。图中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 下同。

Fig. 1 Changes in the respiratory rate of *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

1. 18 ℃ control; 2. 22 ℃; 3. 26 ℃; 4. stressed under 26 ℃ for 4 hours; 5. stressed under 26 ℃ for 48 hours; 6. stressed under 26 ℃ for 105 hours; 7. stressed under 26 ℃ for 7 days; 8. returned to 18 ℃. Different lowercase letters mean significant differences ($P < 0.05$); the same below.

部分肝细胞空泡化, 伴有少量细胞坏死和核溶解, 另有较大面积的肝硬化 (图版 III-3); 升温至 26 ℃ 时, 肝细胞肥大和空泡化增多, 伴有少量细胞坏死、核溶解和核碎裂, 且肝硬化增多, 出现炎症渗透和脂肪变性 (图版 III-4); 26 ℃ 维持 4~48 h 时, 出现大量肝细胞肥大和空泡化, 且细胞坏死、核碎裂、核溶解、核固缩和炎症渗透增多, 另有较大面积的肝硬化和组织充血 (图版 III-5, 6); 26 ℃ 维持 105 h 时, 细胞坏死导致难以分辨肝细胞轮廓, 部分采集图像布满脂肪变性, 出现大面积炎症渗透、肝窦扩张和组织充血, 而肝硬化症状很少 (图版 III-7); 26 ℃ 维持 7 d 时, 细胞坏死呈弥散状, 出现较多核碎裂、核溶解、脂肪变性和炎症渗透, 肝窦扩张形成组织充血 (图版 III-8); 降温至 18 ℃ 时, 细胞坏死呈纤维化斑块状, 部分组织区域恢复正常, 但有较多肝窦扩张, 脂肪变性和炎症渗透减少 (图版 III-9)。

高温胁迫期间哲罗鲑的肝脏组织病理学分级结果显示, 升温过程中, 肝脏组织主要形成中度肝细胞肥大、空泡化以及肝硬化; 26 ℃ 维持期间, 肝细胞肥大和空泡化首先发展为重度, 之后出现重度细胞坏死、肝窦扩张、脂肪变性和炎症渗透, 严重的肝组织损伤致使肝细胞肥

大和空泡化减少; 降温至 18 ℃ 后, 肝组织有所恢复, 但肝窦扩张严重, 且仍有中度细胞坏死、脂肪变性和炎症渗透 (表 2)。

2.5 血清生化指标变化

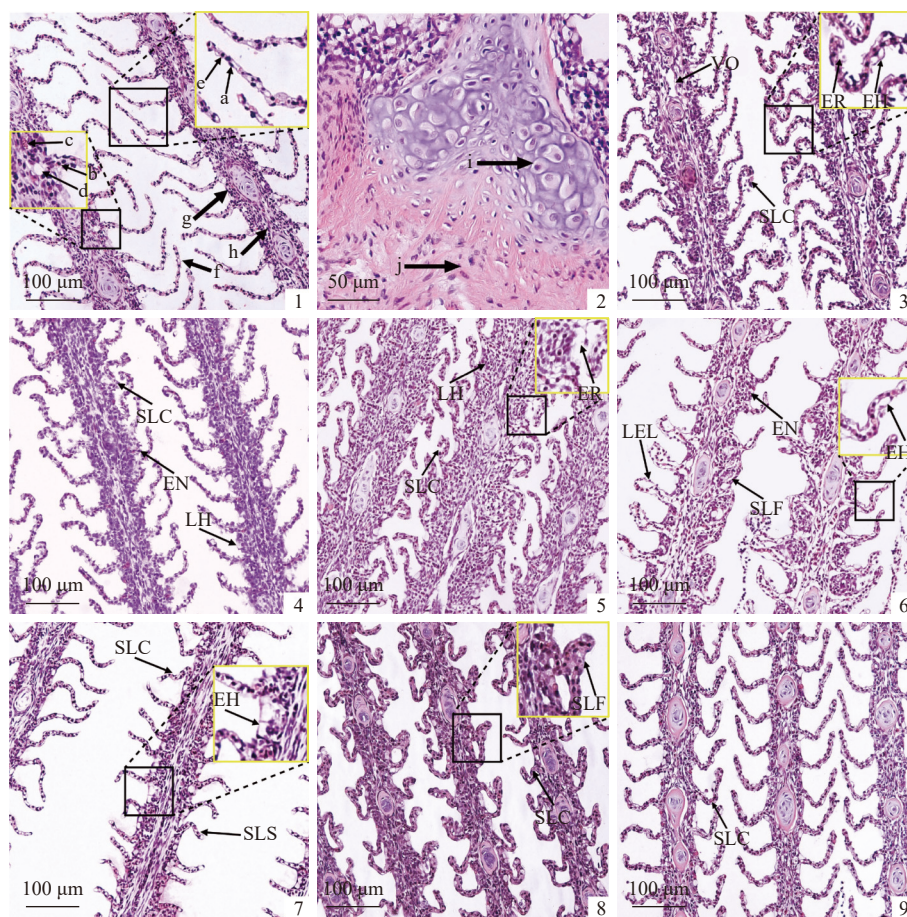
血清酶活性变化 高温胁迫条件下血清酶活性变化结果显示, AST 和 ALT 活性在升温过程中随温度的升高而显著增强 ($P < 0.01$), 而在 26 ℃ 维持期间随持续时间的增加而减弱, 但均显著高于对照组 ($P < 0.01$), 并于 26 ℃ 维持 7 d 时活性提高, 降温至 18 ℃ 时的活性均显著高于对照组 ($P < 0.01$) (图 2-a, b); LDH 活性在升温过程中持续显著增强 ($P < 0.01$), 于 26 ℃ 维持 48 h 后减弱, 实验组的 LDH 活性均显著高于对照组 ($P < 0.01$) (图 2-c); ALP 活性在升温至 26 ℃ 后显著减弱 ($P < 0.01$), 而在 26 ℃ 维持 105 h 时有显著回升 ($P < 0.01$), 并于 26 ℃ 维持 7 d 时恢复正常 ($P > 0.05$), 降温至 18 ℃ 时显著高于对照组 ($P < 0.01$) (图 2-d)。

血清总胆固醇和总蛋白变化 高温胁迫条件下血清总胆固醇和总蛋白含量变化结果显示, TC 含量在升温至 26 ℃ 维持 4 h 期间持续降低, 自 26 ℃ 维持 48 h 后逐渐升高, 降温至 18 ℃ 时显著高于对照组 ($P < 0.05$) (图 3-a)。TP 含量在升温至 22 ℃ 时显著降低 ($P < 0.01$), 升温至 26 ℃ 时恢复正常 ($P > 0.05$), 26 ℃ 维持期间降低, 直至 26 ℃ 维持 7 d 时恢复正常 ($P > 0.05$), 降温至 18 ℃ 时正常 ($P > 0.05$) (图 3-b)。ALB 和 TP 含量的变化趋势一致 (图 3-c)。所有 ALB/GLB 值均大于 1, 升温至 26 ℃ 时显著高于对照组 ($P < 0.01$), 26 ℃ 维持 48 h 时显著低于对照组 ($P < 0.01$) (图 3-d)。

3 讨论

3.1 高温胁迫对呼吸频率的影响

研究表明, 鱼类的呼吸频率受到水环境变化和自身体重大小的影响^[27-29]。其中水温与呼吸频率之间成正比, 一方面是因为温度升高使鱼体代谢增加, 需氧量提高, 而血红蛋白结合氧分子的能力降低, 从而降低氧运输效率^[30-31]; 另一方面, 温度升高会降低水体溶氧量^[32], 此两种原因迫使鱼类呼吸加快, 甚至可能因供氧不足而致命。本研究中, 升温阶段的呼吸频率



图版 II 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的鳃组织病理变化

1. 对照组鳃丝, 2. 对照组鳃弓, 3. 升温至 22 °C, 4. 升温至 26 °C, 5. 26 °C 维持 4 h, 6. 26 °C 维持 48 h, 7. 26 °C 维持 105 h, 8. 26 °C 维持 7 d, 9. 降温至 18 °C; a. 扁平上皮细胞, b. 血细胞, c. 氯细胞, d. 黏液细胞, e. 柱细胞, f. 鳃小片, g. 鳃丝, h. 血管, i. 软骨基质, j. 纤维基质, VO. 血管闭塞, EN. 鳃丝上皮破裂, LH. 鳃丝上皮增生, LEL. 鳃小片上皮脱离, EH. 上皮细胞肥大, ER. 上皮细胞破裂, SLC. 鳃小片卷曲, SLF. 鳃小片黏合, SLS. 鳃小片缩短; 粗箭头指组成结构, 细箭头指细胞类型; 黄色框为黑色框的局部放大; 下同。

Plate II Histopathological changes of the gill of *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

1. primary lamellae in the control group, 2. gill arches in the control group, 3. 22 °C, 4. 26 °C, 5. stressed under 26 °C for 4 hours, 6. stressed under 26 °C for 48 hours, 7. stressed under 26 °C for 105 hours, 8. stressed under 26 °C for 7 days, 9. returned to 18 °C; a. lamellar epithelial cell, b. blood cell, c. chloride cell, d. mucous cell, e. pillar cell, f. secondary lamella, g. primary lamella, h. blood vessel, i. cartilaginous stroma, j. fibrous stroma, VO. vascular occlusion, EN. epithelial necrosis, LH. lamellar hyperplasia, LEL. lamellar epithelial lifting, EH. epithelial hypertrophy, ER. epithelial rupture, SLC. secondary lamellar curling, SLF. secondary lamellar fusion, SLS. secondary lamellar shortened; thick arrows denote components, and thin arrows denote cell types; the yellow box is a partial enlargement of the black box; the same below.

随温度的升高而加快, 表明哲罗鲑的代谢水平和需氧量随温度的升高而提高, 这与以往的研究结果一致^[27-28]; 26 °C 维持期间, 呼吸水平急剧上升, 是由于此阶段的鳃组织受到严重破坏, 导致氧气吸收能力下降; 温度恢复至 18 °C 时呼吸频率恢复至初始状态, 表明哲罗鲑可通过呼吸频率应对高温胁迫造成的影响。

3.2 高温胁迫对鳃组织的病理学影响

鱼类的鳃具有呼吸、排泄和渗透调节的作用, 其表面积与皮肤的总面积相当, 甚至在多

数鱼类中比皮肤面积更大; 且鳃上皮结构很薄, 便于气体交换, 即便是轻微结构损伤也会使鱼体受到渗透调节和呼吸困难的影响^[6]。通常最早期的鳃部病理特征是细胞肥大或上皮细胞破裂, 在此期间常伴随表面黏液分泌量的增加。当外界环境刺激更为严重时, 常发生 4 种组织病理反应, 即鳃丝上皮破裂、鳃小片上皮脱离、鳃丝上皮增生和鳃小片黏合^[7, 33]。本研究中, 高温胁迫下的鳃组织通过细胞肥大、鳃小片上皮脱离 (三维结构为鳃小片水肿) 和分泌黏液等反

表 1 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的鳃组织病理学分级
Tab. 1 Histopathological grading of gill tissues in *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

病理特征 histopathological features	对照组 control	实验组 treatment						
	1	2	3	4	5	6	7	8
上皮细胞肥大 epithelial hypertrophy	—	+++	+	+	+	+	—	—
上皮细胞破裂 epithelial rupture	—	+++	+++	++	+	—	—	—
鳃丝上皮破裂 epithelial necrosis	—	+	++	++	+++	+++	+	—
鳃丝上皮增生 lamellar hyperplasia	—	—	++	++	+	—	—	—
鳃小片上皮脱离 lamellar epithelial lifting	—	+	+	++	+++	++	+	—
鳃小片卷曲 secondary lamellar curling	—	++	++	++	+	—	+++	+
鳃小片黏合 secondary lamellar fusion	—	—	—	—	+++	—	+++	—
鳃小片缩短 secondary lamellar shortened	—	—	++	+	+	+++	—	—
血管闭塞 vascular occlusion	—	+	+	+	—	+++	—	—

注：1. 18 ℃ 对照组；2. 升温至22 ℃；3. 升温至26 ℃；4. 26 ℃ 维持4 h；5. 26 ℃ 维持48 h；6. 26 ℃ 维持105 h；7. 26 ℃ 维持7 d；8. 降温至18 ℃。“—” 分级无改变；“+” 轻度；“++” 中度；“+++” 重度。下同。
Notes: 1. 18 ℃ control; 2. 22 ℃; 3. 26 ℃; 4. stressed under 26 ℃ for 4 hours; 5. stressed under 26 ℃ for 48 hours; 6. stressed under 26 ℃ for 105 hours; 7. stressed under 26 ℃ for 7 days; 8. returned to 18 ℃. “—” pathological grading remains unchanged; “+” mild; “++” moderate; “+++” severe. The same below.

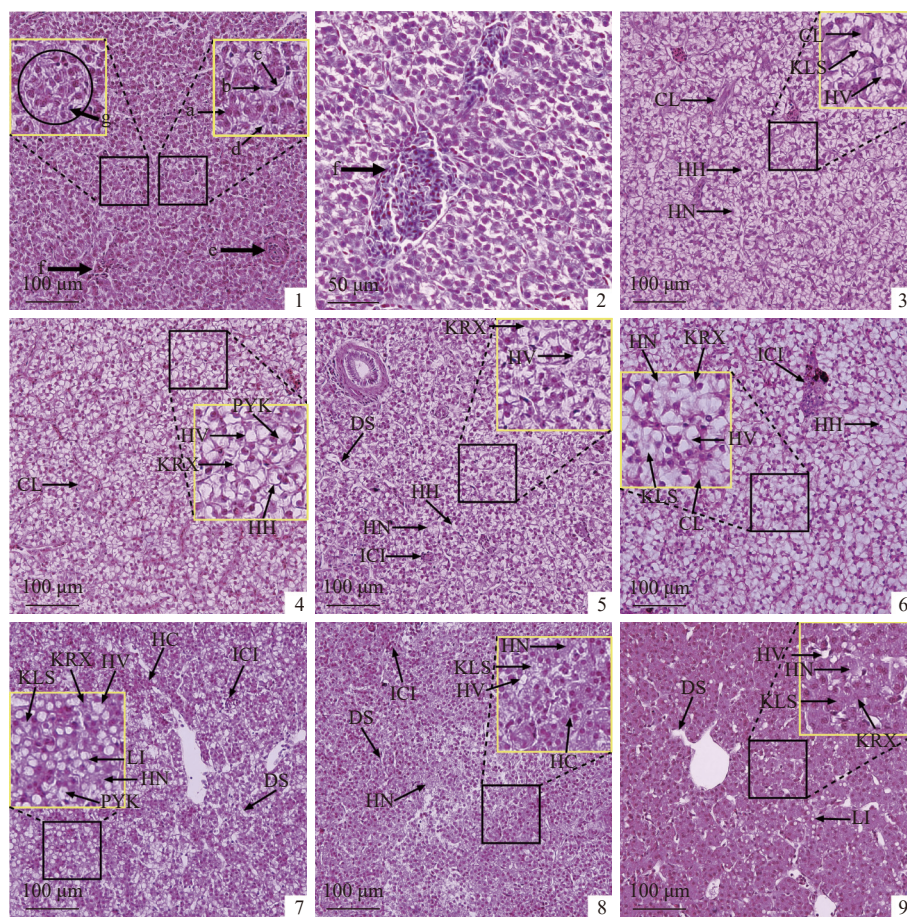
应来维持渗透压^[7]，当环境温度过高，鳃组织细胞抵御能力不足时，便会单独或综合出现上皮细胞破裂、上皮破裂出血和严重的鳃小片上皮脱离^[34-36]，甚至出现血管闭塞或鳃小片缩短^[37]；通过鳃小片卷曲和鳃丝上皮增生等形式来抵御高温，这也将增加毛细血管和环境氧气之间的扩散距离，严重影响其生理机能^[6, 38]。

有研究认为，鳃组织具有很强的再生能力，即使是严重受伤的鳃组织，一旦外界刺激得到缓解，也能在几天到几周内完全恢复^[27, 39-40]。本研究中，上皮细胞破裂和鳃小片黏合的组织病理变化可以较好地反映鳃组织的再生趋势，即升温过程对上皮细胞破坏性较大，而温度稳定期间上皮细胞有适应性恢复现象，即便是高温胁迫维持7 d后，甚至是出现休克的鱼体，其大部分鳃丝上皮细胞也是光滑而完整的。此外，本研究发现26 ℃ 维持7 d时鳃组织有所恢复时，其呼吸频率相比于26 ℃ 维持48 h有所下降；降温至18 ℃ 鳃组织完全恢复时，呼吸频率恢复至正常水平，表明呼吸频率变化与鳃结构损伤程度呈正相关，也进一步说明哲罗鲑鳃组织对高温胁迫具有一定的适应能力。

3.3 高温胁迫对肝脏组织的病理学影响

肝脏组织具有许多重要的生理功能，包括蛋白质、碳水化合物和脂肪的中间代谢，血浆蛋白，重要的生殖蛋白(卵清蛋白)的合成，以及胆汁的合成和分泌；另外，其具有内源性废物以及外源性毒素、药物、重金属和农药的解毒功能。肝脏组织中的血液流速较慢，胆汁流量较低，导致其对毒素和代谢物清除较慢，因而形成其对环境应激的敏感性。很多应激源会损伤肝脏，且因其具有多种代谢功能，一旦受到损伤会对整个机体代谢产生严重影响^[7]。

在本研究中，升温过程中肝细胞肥大、细胞坏死和空泡化随着温度升高逐渐加重。持续的高温胁迫会引发脂肪变性、肝窦扩张和炎症渗透^[41-43] 等症状，并随持续时间的延长而逐渐加重；26 ℃ 维持105 h组最为严重，肝脏组织已充满脂肪粒、纤维化坏死或组织充血，很难找到健康的肝组织，这与临床休克反应紧密相关，而26 ℃ 维持7 d组常出现整张病理切片布满细胞坏死和炎症细胞的现象，部分区域已成纤维化坏死灶；可见在持续高温胁迫条件下，肝脏组织最终将逐步发展成坏死或脂肪粒凝集，



图版 III 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的肝脏组织病理变化

1~2. 对照组肝脏: a. 肝细胞, b. 血细胞, c. 内皮细胞, d. 枯否氏细胞, e. 胆管, f. 中央静脉, g. 肝板, HV. 空泡化, HN. 细胞坏死, LI. 脂肪变性, HH. 肝细胞肥大, DS. 肝窦扩张, KRX. 核碎裂, KLS. 核溶解, PYK. 核固缩, ICL. 炎症渗透, CL. 肝硬化, HC. 组织充血。

Plate III Histopathological alterations in the liver of *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

1-2. the liver of the control group; a. liver cell, b. blood cell, c. endothelial cell, d. Kupffer cell, e. bile duct, f. central vein, g. hepatic plate, HV. hepatocellular vacuolation, HN. hepatocellular necrosis, LI. lipid infiltration, HH. hepatocellular hypertrophy, DS. dilated sinusoids, KRX. karyorhexis, KLS. karyolysis, PYK. pyknosis, ICL. inflammatory cell infiltrate, CL. cirrhotic liver, HC. hepatic congestion.

直至大部分组织纤维化坏死和脂肪沉积, 肝功能损伤严重将造成机体代谢紊乱, 导致鱼体休克或死亡。肝脏组织在降温至 18 °C 时仍存在脂肪变性和炎症渗透, 表明其病变严重, 恢复期较长。

观察发现, 在升温 and 持续高温胁迫条件下, 各病理学特征产生的条件不同。升温过程中, 鳃和肝脏组织表现出相似的细胞层面变化趋势, 即随温度升高而逐渐加重, 但鳃上皮细胞对温度更敏感, 在升温至 22 °C 时已产生严重的肥大和破裂, 肝细胞至 26 °C 维持 4 h 时才出现大面积的肥大和空泡化。持续高温胁迫期间, 鳃组织出现上皮细胞恢复或更新现象^[39], 而肝脏组织病理变化趋势持续加重。温度恢复至 18 °C 时, 鳃和肝脏均出现组织细胞恢复或更新现象,

但肝脏组织比鳃组织的恢复能力更弱。

3.4 高温胁迫对血清生化指标的影响

机体大量的 AST 和 ALT 存在于肝细胞中, 二者是联系糖类、脂肪和蛋白质三大物质代谢的关键酶, 常作为反映肝脏功能的重要指标^[44-45]。当机体受到环境胁迫时, AST 和 ALT 会大量释放到血清中, 导致血清中转氨酶的活性迅速升高。本研究中, 所有实验组的 AST 和 ALT 活性均高于对照组, 表明高温胁迫期间哲罗鲑一直处于一定程度的肝损伤状态, 这与肝脏病理变化结果对应。Wang 等^[46]研究表明, 白梭吻鲈 (*Sander lucioperca*) 在高温胁迫下血清中 AST 和 ALT 活性先升高后降低再升高, 这与本研究的结果相似, 其中, 肝组织功能障碍

表 2 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的肝脏组织病理分级
Tab. 2 Histopathological grading of liver tissues in *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

病理特征 histopathological features	对照组 control	实验组 treatment							
	1	2	3	4	5	6	7	8	
空泡化 hepatocellular vacuolation	—	+	++	+++	+++	+	+	+	
肝细胞肥大 hepatocellular hypertrophy	—	++	++	+++	+++	+	+	+	
细胞坏死 hepatocellular necrosis	—	+	+	++	+++	+++	+++	++	
核碎裂 karyorhexis	—	—	+	++	+++	+++	++	++	
核溶解 karyolysis	—	+	+	+	+++	+++	++	++	
核固缩 pyknosis	—	—	—	+	+	+	+	+	
肝窦扩张 dilated sinusoids	—	—	—	++	++	+++	+++	+++	
脂肪变性 lipid infiltration	—	—	+	+	+	+++	++	++	
炎症渗透 inflammatory cell infiltrate	—	—	+	+	++	+++	++	++	
肝硬化 cirrhotic liver	—	+	++	++	++	—	—	—	
组织充血 hepatic congestion	—	—	—	++	+++	+++	++	+	

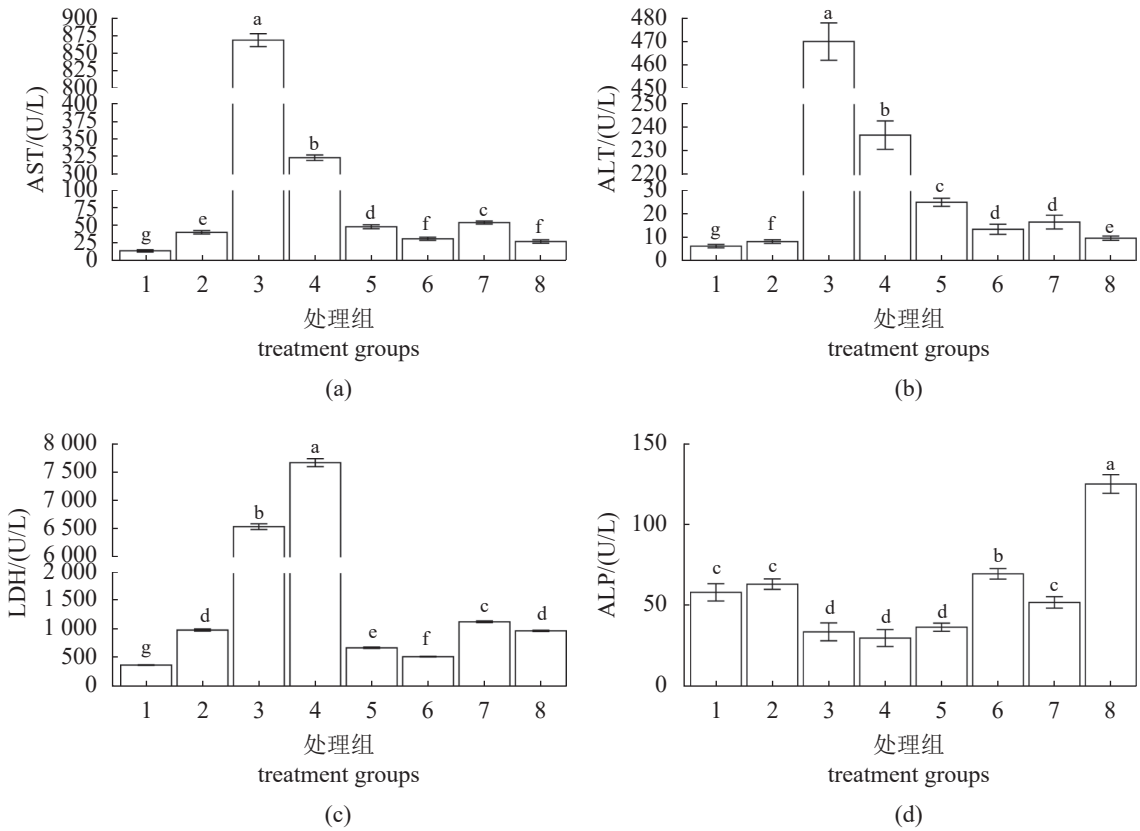


图 2 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的血清酶活性变化

Fig. 2 Changes in serum enzyme activities of *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

被认为是导致二者活性降低的原因。升温过程中，AST 和 ALT 活性逐倍升高，且此阶段的肝细胞病变逐渐加重，代谢率逐渐加快，表明高

温导致哲罗鲑肝损伤加重，且处于强烈的应激状态，这与以往的研究结果相似^[25, 46-47]。26 ℃ 维持期间，AST 和 ALT 活性先降低，在 26 ℃

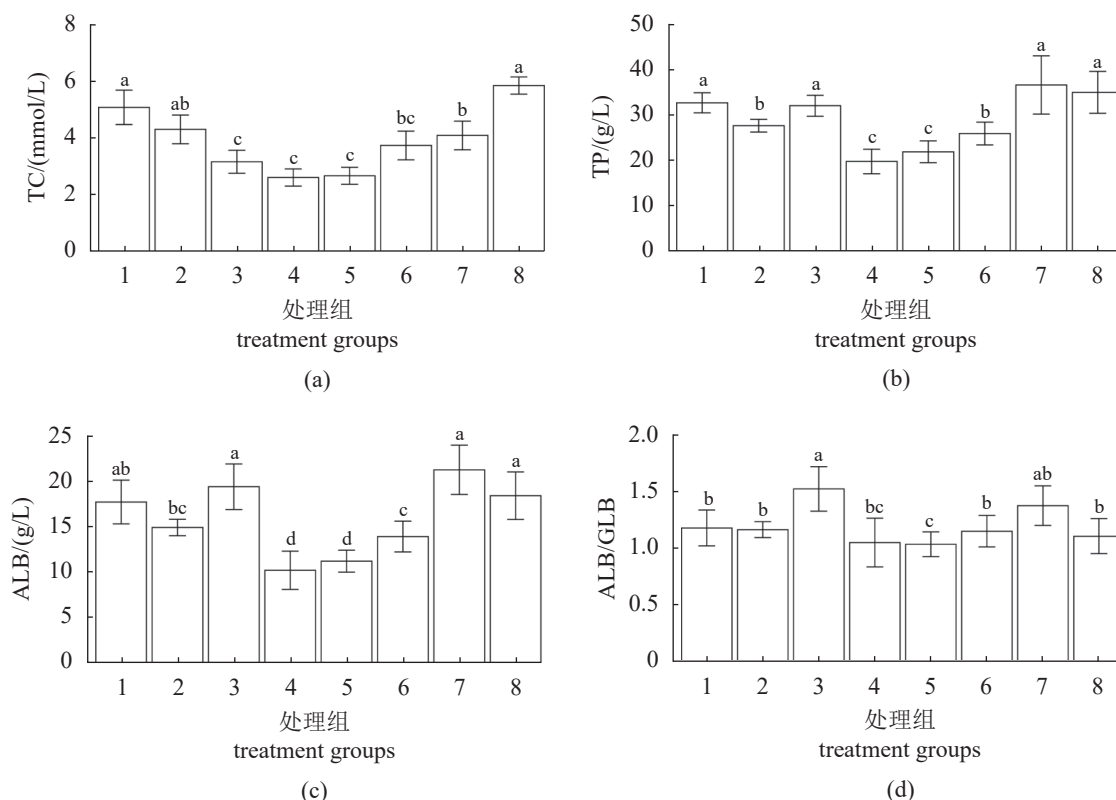


图3 高温胁迫和恢复正常温度过程中哲罗鲑的血清总胆固醇和总蛋白变化

Fig. 3 Changes in serum serum total cholesterol and protein of *H. taimen* during high-temperature stress and temperature recovery

维持 48 h 后逐渐接近对照组, 且肝细胞病变最为严重, 推断此时肝细胞受损趋于顶峰, 鱼体逐渐产生高温适应性; 26 °C 维持 7 d 时二者活性再上升, 肝细胞病变相较于维持 48 h 时有所减轻, 表明鱼体适应高温胁迫的能力增强, 且相较于升温阶段更稳定。降温至 18 °C 时, AST 和 ALT 活性仍显著高于对照组, 且仍存在肝细胞病变, 表明肝脏仍处于高温应激状态。

LDH 是一种可催化丙酮酸和乳酸相互转化的氧化还原酶, 存在于所有细胞中, 在肝脏、肌肉和肾脏中有所集中, 各器官和组织的病变均可释放 LDH 至血液中使其活性升高, 因而无特异性。但 LDH 常作为鱼类缺氧代谢研究中的重要指标, 因休克、缺氧和肝炎等引起组织细胞损伤后会将 LDH 释放到血液中^[45, 48]。本研究中, 所有实验组的 LDH 活性均高于对照组, 表明机体大量细胞受高温胁迫的影响, 一直处于应激和适应状态, 这与鳃和肝脏组织病理变化结果对应。ALP 的活性升高与消化和胆管上皮损伤等症状有关; 其活性降低与禁食和贫血有

关^[49]。Cheng 等^[50]研究发现, 暗纹东方鲀 (*T. obscurus*) 的 ALP 活性随胁迫温度的升高而降低。本研究中, 升温阶段的 ALP 活性降低, 表明高温胁迫导致哲罗鲑生理和功能机制紊乱^[50]。26 °C 维持期间的 ALP 活性低于对照组, 应与此阶段的鱼体停止摄食有关; 降温至 18 °C 时的活性急剧增强, 可能是由于肝组织恢复过程中形成了胆管阻塞, 也表明哲罗鲑在温度恢复时仍处于应激状态。

肝脏是合成和贮存 TC (包括游离胆固醇和胆固醇酯) 的主要器官, 胆固醇是合成脂溶性维生素、胆汁酸和类固醇激素等生理活性物质的重要前体, 也是构成细胞膜的主要成分, 其血清浓度可作为脂肪代谢的指标, 在肝功能受损时含量下降^[47, 51]。TP 含量体现肝脏的合成和贮存能力, 其含量降低表明肝脏合成能力下降; ALB 与 GLB 比率通常略大于 1; ALB 有助于维持血管内的渗透压, GLB 包括多种具有球形结构的蛋白分子^[18]。本研究中, TC 含量先降低后升高, 表明肝脏合成功能先受损后恢复, 并于

降温至 18 ℃ 时恢复正常, 此结果与鲤^[52](*Cyprinus carpio*) 的高温驯化研究结果有差异, 这可能与实验对象或条件不同有关。TP、ALB 及 GLB 含量先下降后恢复, 再下降再恢复的趋势表明肝脏合成能力受高温胁迫的影响较小, 且可以稳定恢复; 升温至 26 ℃ 时 ALB/GLB 值较高, 可能由于 ALB 含量升高以维持血管内渗透压或 GLB 中的免疫球蛋白水平降低引起的。

综合分析以上血清生化指标及肝脏组织病理学结果得出, 升温过程中, 肝脏细胞层面的损伤逐渐加重, 肝脏代谢能力增强, 合成能力减弱; 持续高温胁迫条件下, 肝脏组织层面的损伤逐渐加重, 肝脏代谢能力降低后趋于稳定, 且高于正常水平, 合成能力逐步恢复; 降温至 18 ℃ 时, 肝脏的脂肪代谢速率加快, 合成和贮存能力恢复正常。

4 结论

本研究发现哲罗鲑的呼吸频率随温度升高而加快, 且高温胁迫会使哲罗鲑的呼吸频率持续高于正常值, 表明哲罗鲑在高温胁迫下的需氧量和代谢水平提高。高温胁迫造成哲罗鲑的鳃和肝脏组织出现不同类型和不同程度的病变, 当温度恢复至正常后, 鳃组织得到全面恢复, 而肝脏组织虽有所恢复, 但仍处于较重的病理状态。高温胁迫对肝脏代谢、合成和贮存能力均有影响, 且对代谢能力影响较大。呼吸频率、病理和生化指标的综合分析表明哲罗鲑对高温胁迫具有一定的适应能力。相关研究结果可为哲罗鲑的高效养殖和耐高温新品种选育提供理论基础。

参考文献 (References):

- [1] 王清印, 余来宁, 杨宁生. 中国水产生物种质资源与利用: 第 1 卷 [M]. 北京: 海洋出版社, 2005: 64-70.
Wang Q Y, Yu L N, Yang N S. Aquatic biological germplasm resources and utilization in China: volume 1[M]. Beijing: China Ocean Press, 2005: 64-70 (in Chinese).
- [2] Holčík J, Hensel K, Nieslanik J, *et al.* The Eurasian huchen, *Hucho hucho*: largest salmon of the world[M]. Dordrecht: Springer, 1988.
- [3] 中国水产. 调整后的《国家重点保护野生动物名录》正式公布 [J]. 中国水产, 2021(3): 22-35.
China Fisheries. The adjusted *National Key Protected Wildlife List* is officially announced[J]. China Fisheries, 2021(3): 22-35 (in Chinese).
- [4] Hogan Z, Jensen O. Hucho Taimen. The IUCN red list of threatened species 2013: e. T188631A22605180[EB/OL]. (2012-05-23) [2024-02-26]. <https://www.iucnredlist.org/species/188631/22605180>.
- [5] 王常安. 人工养殖条件下哲罗鱼 (*Hucho taimen*) 投喂模式的研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
Wang C A. Feeding strategy of *Hucho taimen* under farming conditions[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2015 (in Chinese).
- [6] Roberts R J, Ellis A E. The anatomy and physiology of teleosts[M]/Roberts R J. Fish pathology. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012: 17-61.
- [7] Roberts R J, Rodger H D. The pathophysiology and systematic pathology of teleosts[M]/Roberts R J. Fish pathology. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012: 62-143.
- [8] Jia Y D, Chen X T, Wang Z Y, *et al.* Physiological response of juvenile turbot (*Scophthalmus Maximus* L.) during hyperthermal stress[J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735645.
- [9] Michaelsen J, Fago A, Bundgaard A. High temperature impairs mitochondrial function in rainbow trout cardiac mitochondria[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2021, 224(9): jeb242382.
- [10] Miest J J, Politis S N, Adamek M, *et al.* Molecular ontogeny of larval immunity in European eel at increasing temperatures[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 87: 105-119.
- [11] Huang T Q, Gu W, Liu E H, *et al.* miR-301b-5p and its target gene *nfatc2ip* regulate inflammatory responses in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under high temperature stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 242: 113915.
- [12] Rebl A, Korytář T, Borchel A, *et al.* The synergistic interaction of thermal stress coupled with overstocking strongly modulates the transcriptomic activity and immune capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 14913.
- [13] Šimková A, Vojtek L, Halačka K, *et al.* The effect of hybridization on fish physiology, immunity and blood biochemistry: a case study in hybridizing *Cyprinus carpio* and *Carassius gibelio* (Cyprinidae)[J]. *Aquaculture*, 2015, 435: 381-389.
- [14] Evans D H, Piermarini P M, Choe K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste[J]. *Physiological Reviews*, 2005, 85(1): 97-177.
- [15] Chen Y Y, Wu X Y, Lai J S, *et al.* Integrated biochemical, tran-

- scriptomic and metabolomic analyses provide insight into heat stress response in Yangtze sturgeon (*Acipenser dabryanus*)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249: 114366.
- [16] Dawood M A O, Noreldin A E, Sewilam H. Blood biochemical variables, antioxidative status, and histological features of intestinal, gill, and liver tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to high salinity and high-temperature stress[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(37): 56357-56369.
- [17] Esam F, Khalafalla M M, Gewaily M S, *et al.* Acute ammonia exposure combined with heat stress impaired the histological features of gills and liver tissues and the expression responses of immune and antioxidative related genes in Nile tilapia[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 231: 113187.
- [18] 祝璟琳, 李大宇, 邹芝英, 等. 高温应激下无乳链球菌感染对尼罗罗非鱼血清生化指标和组织病理的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(3): 445-456.
- Zhu J L, Li D Y, Zou Z Y, *et al.* The impact of high temperature stress on serum biochemical parameters and histopathology of *Oreochromis niloticus* infected by *Streptococcus agalactiae*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(3): 445-456 (in Chinese).
- [19] 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): 099603.
- 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): 099603 (in Chinese).
- [20] Fazio F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review[J]. *Aquaculture*, 2019, 500: 237-242.
- [21] Gao X Q, Fei F, Huang B, *et al.* Alterations in hematological and biochemical parameters, oxidative stress, and immune response in *Takifugu rubripes* under acute ammonia exposure[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2021, 243: 108978.
- [22] 徐伟, 匡友谊, 张永泉, 等. 哲罗鲑人工养殖及种质保护[M]. 北京: 科学出版社, 2020: 10-13.
- Xu W, Kuang Y Y, Zhang Y Q, *et al.* Artificial cultivation and germplasm conservation of *Hucho taimen*[M]. Beijing: China Science Publishing, 2020: 10-13 (in Chinese).
- [23] 匡友谊, 包玉龙, 尹家胜, 等. 哲罗鱼种质资源研究现状[J]. 水产学杂志, 2008, 21(1): 82-88.
- Kuang Y Y, Bao Y L, Yin J S, *et al.* Research status on germplasm resource of taimen (*Hucho taimen*)[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2008, 21(1): 82-88 (in Chinese).
- [24] Lindmark M, Audzijonyte A, Blanchard J L, *et al.* Temperature impacts on fish physiology and resource abundance lead to faster growth but smaller fish sizes and yields under warming[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(21): 6239-6253.
- [25] 佟广香, 唐国盘, 董乐, 等. 高温胁迫对哲罗鱼血液指标和热休克蛋白基因的影响[J]. 淡水渔业, 2021, 51(2): 23-28.
- Tong G X, Tang G P, Dong L, *et al.* Effects of heat stress on blood parameters and gene expression of heat shock proteins in *Hucho taimen*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2021, 51(2): 23-28 (in Chinese).
- [26] Mansouri B, Maleki A, Johari S A, *et al.* Histopathological effects of copper oxide nanoparticles on the gill and intestine of common carp (*Cyprinus carpio*) in the presence of titanium dioxide nanoparticles[J]. *Chemistry and Ecology*, 2017, 33(4): 295-308.
- [27] 吴艺文, 赵曼曼, 尤孝鹏, 等. 鲜活虹鳟鱼的呼吸频率与肌肉品质的相关性[J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 29-36.
- Wu Y W, Zhao M M, You X P, *et al.* Correlation between respiratory rate and muscle quality of fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(12): 29-36 (in Chinese).
- [28] Fernandes M N, Barrionuevo W R, Rantin F T. Effects of thermal stress on respiratory responses to hypoxia of a South American Prochilodontid fish, *Prochilodus scrofa*[J]. *Journal of Fish Biology*, 1995, 46(1): 123-133.
- [29] Phuong L M, Huong D T T, Nyengaard J R, *et al.* Gill remodeling and growth rate of striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* under impacts of hypoxia and temperature[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2017, 203: 288-296.
- [30] Liu S K, Wang X L, Sun F Y, *et al.* RNA-Seq reveals expression signatures of genes involved in oxygen transport, protein synthesis, folding, and degradation in response to heat stress in catfish[J]. *Physiological Genomics*, 2013, 45(12): 462-476.
- [31] 徐连伟, 曲婷婷, 赵彦涛, 等. 体质量、温度和 PH 对丁鲷呼吸频率的影响[J]. 渔业现代化, 2018, 45(2): 55-58.
- 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 (in Chinese).
- [32] Kulkarni S J. A review on research and studies on dissolved oxygen and its affecting parameters[J]. *International Journal of Research and Review*, 2016, 3(8): 18-22.
- [33] Humphrey J D. Systemic pathology of fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their response in disease[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2007, 30(6): 381-382.
- [34] Phrompanya P, Panase P, Saenphet S, *et al.* Histopathology and

- oxidative stress responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to temperature shocks[J]. *Fisheries Science*, 2021, 87(4): 491-502.
- [35] Santos D, Luzio A, Coimbra A M, *et al.* A gill histopathology study in two native fish species from the hydrographic Douro basin[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2019, 25(1): 236-243.
- [36] Gjessing M C, Steinum T, Olsen A B, *et al.* Histopathological investigation of complex gill disease in sea farmed Atlantic salmon[J]. *PLoS One*, 2019, 14(10): e0222926.
- [37] Wolf J C, Baumgartner W A, Blazer V S, *et al.* Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers[J]. *Toxicologic Pathology*, 2015, 43(3): 297-325.
- [38] Harter T S, Damsgaard C, Regan M D. Linking environmental salinity to respiratory phenotypes and metabolic rate in fishes: a data mining and modelling approach[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2022, 225(S1): jeb243421.
- [39] Ghanizadeh-Kazerouni E, Wilson J M, Jones S R M, *et al.* Characteristics of a gill resection-regeneration model in freshwater laboratory-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Aquaculture*, 2024, 579: 740210.
- [40] Cadiz L, Jonz M G. A comparative perspective on lung and gill regeneration[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2020, 223(19): jeb226076.
- [41] Abdel-Warith A A, Younis E M, Al-Asghar N A, *et al.* Effect of zinc toxicity on liver histology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Scientific Research and Essays*, 2011, 6(17): 3760-3769.
- [42] Marchand M J, van Dyk J C, Pieterse G M, *et al.* Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa[J]. *Environmental Toxicology*, 2009, 24(2): 133-147.
- [43] van Dyk J C, Cochrane M J, Wagenaar G M. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution[J]. *Chemosphere*, 2012, 87(4): 301-311.
- [44] 卫明亮, 张志伟, 张志勇, 等. 冷应激对黑鲟组织损伤及细胞凋亡基因表达的影响 [J]. *南方水产科学*, 2022, 18(5): 110-117.
- Wei M L, Zhang Z W, Zhang Z Y, *et al.* Effects of cold stress on black porgy tissue injury and apoptosis gene expression[J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(5): 110-117.
- [45] Washington I M, Van Hoosier G. Clinical biochemistry and hematology[M]//Mark A S. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. Amsterdam: Elsevier, 2012: 57-116.
- [46] Wang Y F, Li C J, Pan C L, *et al.* Alterations to transcriptomic profile, histopathology, and oxidative stress in liver of pike-perch (*Sander lucioperca*) under heat stress[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 95: 659-669.
- [47] Bao J W, Qiang J, Tao Y F, *et al.* Responses of blood biochemistry, fatty acid composition and expression of microRNAs to heat stress in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2018, 73: 91-97.
- [48] 李豪华, 廖涛, 白婵, 等. 运前密度和温度驯化对斑点叉尾鲟幼鱼模拟运输的影响 [J]. *南方水产科学*, 2024, 20(2): 160-171.
- Li H H, Liao T, Bai C, *et al.* Effects of pre-transport density and temperature domestication on simulated transport of juvenile *Ictalurus punctatus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2024, 20(2): 160-171 (in Chinese).
- [49] Fernandez N J, Kidney B A. Alkaline phosphatase: beyond the liver[J]. *Veterinary Clinical Pathology*, 2007, 36(3): 223-233.
- [50] Cheng C H, Guo Z X, Luo S W, *et al.* Effects of high temperature on biochemical parameters, oxidative stress, DNA damage and apoptosis of pufferfish (*Takifugu obscurus*)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 150: 190-198.
- [51] 管敏, 张德志, 舒德斌, 等. 养殖密度对中华鲟生长性能、生化指标及性腺发育的影响 [J]. *中国水产科学*, 2023, 30(1): 25-36.
- Guan M, Zhang D Z, Shu D B, *et al.* Effects of stocking density on growth performance, biochemical indexes, and gonadal development of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(1): 25-36 (in Chinese).
- [52] Ahmad S M, Shah F A, Bhat F A, *et al.* Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2011, 36(8): 492-497.

Effects of high-temperature stress on the histopathology of gills and liver tissues and serum biochemical indicators of *Hucho taimen*

ZHANG Tan^{1,2}, TONG Guangxiang², XU Huan², YAN Ting²,
WEI Mingliang², ZHANG Tingting², KUANG Youyi^{2*}

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

2. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China

Abstract: Temperature fluctuations caused by climate change and global warming pose significant threats to various species. Understanding the mechanisms of fish tolerance to high temperatures can help develop effective strategies to cope with climate changes in aquaculture. *Hucho taimen* is an important economic cold-water salmonid. This study designed a temperature acclimation protocol that included gradual warming from an optimal 18 °C to 26 °C, maintaining 26 °C for 7 days, and then reducing the temperature back to 18 °C. The impact of high temperature on taimen was compared and analyzed through respiratory rate, histopathology, and serum biochemical indicators. The results demonstrated that during the gradual temperature increase from the optimal 18 °C to 26 °C, the respiratory rate of taimen accelerated with rising temperature. Histopathological changes in gills and liver tissues at the cellular level progressively worsened, including hypertrophy and rupture of gill epithelial cells, as well as hepatocellular hypertrophy, vacuolization, and necrosis. At 26 °C, the pathological grad reached a severe level (with lesions comprising over 61% of the tissue). Serum enzyme activities of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and lactate dehydrogenase (LDH) activities sharply increased with the rising temperature. Alkaline phosphatase (ALP) activity remained unchanged at 22 °C but significantly decreased at 26 °C. The total cholesterol (TC) content gradually decreased, while the total protein (TP) content initially decreased and then recovered. During the 7-day period of high temperature at 26 °C, the respiratory rate of taimen remained consistently higher than that of control group. Histopathological deterioration of in the gills and liver tissues further intensified, including epithelial necrosis, vascular occlusion, and secondary lamellar fusion in the gills, as well as hepatic congestion, lipid infiltration, and inflammatory cell infiltration. The histopathological grad peaked at 105 h, followed by a gradual decrease in lesions. Serum enzyme activities of AST, ALT, and LDH activities initially decreased sharply and then increased, while ALP activity at first increased and then normalized. TC content slowly recovered, and TP content initially decreased and then returned to normal. After returning to 18 °C from 26 °C, the respiratory rate returned to normal levels, gill tissues recovered completely, and liver tissues had partial recovery, though there was moderate lipid infiltration and inflammatory cell infiltration (lesions comprising 31%-60% of the tissue). Serum enzyme activities of AST, ALT, and LDH activities decreased but remained significantly higher than that of the control group, while ALP activity showed a sharp increase. TC and TP contents restored to normal levels. The study found that the respiratory rate of taimen increased with rising temperatures, and high-temperature stress caused the respiratory rate to remain elevated above normal levels. This demonstrated an increased oxygen demand and metabolic rate under high-temperature stress. High-temperature stress induced various types and degrees of lesions in the gill and liver tissues of taimen. After the temperature returned to normal, the gill tissues recovered, while the liver tissues showed partial recovery but remained in a significantly pathological state. High-temperature stress affected the liver functions related to metabolism, synthesis, and storage, with a more significant impact on metabolic capacity. The combined analysis of respiratory rate, pathology, and biochemical indicators suggests that taimen has some adaptive capacity to high-temperature stress. These findings of this research provide a theoretical foundation for the physiological regulatory mechanisms of temperature tolerance in taimen, as well as for the efficient aquaculture and selection of high-temperature resistant strains.

Key words: *Hucho taimen*; high-temperature stress; respiratory rate; histopathology; serum biochemical indicators

Corresponding author: KUANG Youyi. E-mail: kuangyouyi@hrfri.ac.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2022YFD2400101); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, HRFRI (2023TD22)