

# Comparison Studies of Antioxidant Enzymes between Diploid and Triploid Rainbow Trout in Acute High Temperature Stress

Dezhao Che, Haishen Wen\*, Jifang Li, Meizhao Zhang, Luoluo Chen, Yuanru Xin

The Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao Shandong  
Email: 479221502@qq.com, \*wenhaishen@ouc.edu.cn

Received: May 10<sup>th</sup>, 2019; accepted: May 24<sup>th</sup>, 2019; published: Jun. 3<sup>rd</sup>, 2019

## Abstract

In this study, diploid (2n) and triploid (3n) rainbow trout juveniles with similar body length and weight, and healthy with no disease or injury were selected as experimental materials. After temporary rearing for 2 weeks at 15°C water temperature, they were transferred directly to the water with high temperature of 23°C ± 0.5°C. The purpose was to investigate the effects of acute temperature stress on the survival rate, SOD, CAT enzyme activity and relative expression of SOD and CAT genes in juvenile rainbow trout. The results showed that the activity of SOD and CAT in the muscle and visceral tissues of the diploid and triploid rainbow trout increased firstly and then decreased during the 48 h high temperature challenging period. The activity of SOD in the muscle tissue of triploid rainbow trout was significantly higher than other time points at 24 h ( $P < 0.05$ ); CAT activity in diploid rainbow trout muscle tissue peaked at 24 h ( $P < 0.05$ ). At other time points of triploid rainbow trout, the CAT enzyme activity is lower than that at 0 h. In the visceral mass, the CAT enzyme activity of diploid rainbow trout appeared peak at 12 h ( $P < 0.05$ ). The triploid rainbow trout showed an overall high expression level, and the difference was not significant ( $P > 0.05$ ). In liver tissue, the SOD1 and CAT exhibited similar expression pattern, but the peak of diploid rainbow trout appeared at 6 h ( $P < 0.05$ ), and the peak of triploid rainbow trout appeared at 24 h ( $P < 0.05$ ). In terms of the relative expression of SOD2, the diploid rainbow trout was consistent with the triploid rainbow trout, which peaked at 6 h. The activity of SOD and CAT in the muscle tissue of the diploid and triploid rainbow trout was not significantly changed when the water temperature recovered to 15°C after 48 h ( $P > 0.05$ ). In the liver tissue, the relative expression profile of SOD1 and CAT was similar, that there was no significant change for all diploid rainbow trout. For the triploid rainbow trout, the expression level increased significantly at 72 h, and at 96 h, it decreased to the same level as 48 h. This study shows that different ploidy rainbow trout has the different antioxidant capacity under the same temperature stress.

## Keywords

Diploid Rainbow Trout, Triploid Rainbow Trout, Temperature Stress, Antioxidant Enzymes

\*通讯作者。

# 急性高温胁迫后二倍体和三倍体虹鳟抗氧化能力差异比较研究

车德钊, 温海深\*, 李吉方, 张美昭, 陈落落, 辛苑茹

中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛

Email: 479221502@qq.com, wenhaishen@ouc.edu.cn

收稿日期: 2019年5月10日; 录用日期: 2019年5月24日; 发布日期: 2019年6月3日

## 摘要

本文以二倍体(2n)和三倍体(3n)虹鳟幼鱼为实验材料, 选取体长、体重相近, 无病无伤, 体格健壮的实验鱼, 在15℃水温中暂养2周后, 直接放到23℃ ± 0.5℃高温水中, 观测急性温度胁迫对虹鳟幼鱼的总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶的活性的影响, 以及对总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶基因相对表达量的影响。结果表明: 在48 h高温胁迫过程中, 实验鱼肌肉、内脏团组织的SOD、CAT活性均呈现先上升后下降趋势, 三倍体虹鳟肌肉组织中SOD活性在24h显著高于其他时间点(P < 0.05); 二倍体虹鳟肌肉组织中CAT活性在24 h出现峰值(P < 0.05), 三倍体虹鳟其他时间点则显著低于0 h (P < 0.05); 在内脏团组织中, 二倍体虹鳟在12 h出现峰值(P < 0.05), 三倍体虹鳟则呈现整体高水平, 差异不显著(P > 0.05); 在肝脏组织中, SOD1、CAT的相对表达量呈现相似结果, 但是二倍体虹鳟在6 h出现峰值(P < 0.05), 三倍体虹鳟则在24 h出现峰值(P < 0.05), 在SOD2的相对表达量方面, 二倍体虹鳟与三倍体虹鳟结果一致, 都在6 h处出现峰值。在48 h恢复常温15℃水温之后, 实验鱼肌肉组织中SOD、CAT活性变化不显著(P > 0.05), 在肝脏组织中, SOD1、CAT的相对表达量结果相似, 都是二倍体虹鳟变化不显著(P > 0.05), 三倍体虹鳟在72 h处有显著的升高, 96 h降低至与48 h相同的相对表达量。本研究表明不同倍性的虹鳟在相同的温度胁迫下抗氧化能力存在差异。

## 关键词

二倍体虹鳟, 三倍体虹鳟, 温度胁迫, 抗氧化酶

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)鲑形目(Salmoniformes)鲑科(Salmonidae)大麻哈鱼属(*Oncorhynchus*), 属于典型的冷水性鱼类, 富含不饱和脂肪酸[1], 因其肉质鲜美、无肌间刺等优点深受消费者的喜爱, 是我国乃至世界冷水鱼类养殖的主要种类, 目前我国虹鳟的养殖技术比较成熟, 已成功在全国 20 多个省(市、自治区)进行推广养殖, 大部分集中在黑龙江、甘肃、山东等地区。近年来, 由于长期的近亲繁殖以及选育机制不科学, 导致在虹鳟养殖过程中出现了种质退化严重、繁殖能力下降、抗病能力降低等问题, 严重影响了虹鳟的养殖产业健康发展[2]。

三倍体虹鳟由于性腺无法正常发育,全部能量都将用来身体肌肉生长,具有生长速度快、个体规格较大、含肉率高等优点,能够降低养殖成本,同时可以满足消费者对大规格虹鳟的需求[3]。不育的三倍体可以有效地避免因生殖造成的生长停滞、肉质退化、产后死亡等现象,很大程度上提升了虹鳟养殖的经济效益。利用三倍体的不育性可有效控制自然水体中鱼类的混乱杂交等现象,对保护当地种质资源和生态环境具有重要意义[4]。Fraser 等[5]认为,尽管染色体数量方面三倍体鱼类同二倍体鱼类存在差异,但在其生理功能和行为方式等方面同二倍体鱼类相似。但是,也有其他报道认为,三倍体鱼类对于环境的要求更为苛刻[6]。在耐受高温和耐低氧能力上,三倍体鲑科鱼类显著低于同科的二倍体个体[7][8][9][10][11]。

鱼类作为变温动物,生活水域的温度是影响其存活和生长的关键因素,对于冷水性鱼类,在养殖的过程中较易受到高温环境的胁迫[12]。虹鳟生活温度适宜区间较小,最适水温为 $12^{\circ}\text{C}\sim 18^{\circ}\text{C}$ ,因此虹鳟对养殖环境以及运输条件的温度条件要求较高。温度作为影响鱼类抗氧化酶活性的环境因素之一,主要对鱼类代谢反应速率起控制作用[13]。温度升高会导致机体耗氧量增加,促进氧自由基产生,进而促进抗氧化酶活性升高。鱼类在受到环境胁迫后,机体抗氧化酶会被激活以此来应对环境的变化,当机体适应环境后,抗氧化酶活性又会恢复到正常水平,如果环境胁迫超出机体所能够适应范围,抗氧化酶活性水平将不可恢复。因此,在一定程度上,抗氧化酶活性恢复至正常水平的的时间反映了机体对环境的适应能力[14]。鱼类抗氧化防御体系中的抗氧化酶主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等,这些酶和其他的非酶类抗氧化物质共同构成了机体内的抗氧化防御体系,共同保护机体免受氧化伤害,并与体内产生的活性氧物质之间达到平衡状态[15]。超氧化物歧化酶是重要的抗氧化酶,广泛分布于各种生物体内,是生物体内清除自由基的首要物质,把有害的超氧自由基转化为过氧化氢,然后CAT又立即促使过氧化氢分解为分子氧和水,使细胞免于遭受 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的损害,从而达到保护机体作用[16]。因此,超氧化物歧化酶SOD和过氧化氢酶CAT相互配合组成了一条抗氧化链条,是生物体内非常重要的抗氧化防御性功能酶。本文观测了急性温度胁迫下,虹鳟二倍体和三倍体肌肉、内脏团组织的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的变化,以及虹鳟肝脏组织中SOD1、SOD2、CAT mRNA的相对表达量的变化,因为本次研究选取的虹鳟规格较小,肝脏组织规格太小,测肝脏组织酶活性存在一定的困难,所以采用的是测实验虹鳟鱼内脏团的酶活性与肝脏组织的基因表达量进行对比比较,目的是为了研究虹鳟二倍体和三倍体在相同的高温胁迫下是否存在差异,对虹鳟养殖和运输都有重要参考价值。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

本实验在山东省潍坊市临朐县虹鳟养殖基地进行,所用虹鳟为中国海洋大学鱼类繁殖与种子工程实验室在该基地繁殖的二倍体及三倍体虹鳟幼鱼,分别200尾。三倍体虹鳟幼鱼来自静水压诱导,诱导率为95%以上,实验用鱼需保证其活力旺盛、规格较均一,实验用鱼体长为 $(4.60 \pm 0.28)$  cm、体重为 $(1.66 \pm 0.16)$  g。

实验鱼分别放置于 $50 \times 50 \times 50$  cm的正方体网箱中驯养2周,驯养期间保持溶氧在 $7.5\sim 8.0$  mg/L,温度保持在 $15^{\circ}\text{C}$ ,流水养殖。每天上午09:00和下午5:00投饵2次,实验开始前一天停止投食。

### 2.2. 实验设计

将二倍体和三倍体虹鳟在 $23^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 温度下胁迫48 h,之后恢复 $15^{\circ}\text{C}$ 水温48 h。

实验在2个100 L的塑料圆桶内进行,开始实验前用加热棒加热两个圆桶,使水温稳定到 $23^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 之间。用温度计实时监测温度,然后从暂养网箱中往实验圆桶内放置实验鱼,每桶200尾虹鳟幼鱼,在虹鳟适应5 min后进行计时。其中2号圆桶为二倍体虹鳟;3号圆桶为三倍体虹鳟。

### 2.3. 样品采集及处理

每组的采样时间分别为 0 h、6 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h。每个时间点各取 20 条。采样前将实验鱼放入丁香酚中麻醉,以减少采样操作等对实验的影响。快速解剖分别取实验鱼生理样品内脏团(含肝脏)、肌肉组织,以及分子样的肝脏组织于 1.5 mL 离心管中,迅速放置于液氮中冷冻,待测。

将组织样品放置于离心管上并准确称重,按重量体积比(1 g:9 mL)的比例向样品中加入生理盐水,在高通量组织研磨仪上磨碎,振荡混匀后在 4℃ 条件下离心 10 min (3000 r/min),离心后取上清,保存于-20℃ 冰箱中,在 1 周内进行相关抗氧化酶指标的测定。

### 2.4. 指标检测

氧化应激指标:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)所用试剂盒均购于南京建成工程研究所,具体操作方法按照试剂盒说明书进行。组织蛋白测定采用南京建成考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒,单位 gprot/L。

SOD 活性:在本反应体系中 SOD 抑制率达 50%时所对应的酶量为一个 SOD 活力单位[U·(mgprot)<sup>-1</sup>];

CAT 活性:每毫克组织蛋白每秒分解 1 μmol 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的量为一个活力单位[U·(mgprot)<sup>-1</sup>]。

实时定量 PCR:采用试剂盒(Takara, Japan)进行定量实时 PCR,以检测 SOD1、SOD2、CAT 基因在虹鳟二倍体和三倍体中的表达情况。引物列于表 1 中,虹鳟 β-actin 用作内源参照基因。扩增系统由 10 μl SYBR<sup>®</sup>PremixExTaq (TliRNaseH Plus), 0.4 μl ROX 参比染料, 0.4 μl PCR 上游引物, 0.4 μl PCR 下游引物, 2 μl cDNA 模板, 加入无 RNase 水至 20 μl 体系。反应程序:先在 95℃ 下进行变性 30 s,之后再在 95℃ 下进行变性 5 s,之后在温度为 56℃ 下退火 30 s,再在 72℃ 下进行延伸 30 s,一共进行 40 个循环。为减小实验误差,每个样品均设置三个技术重复。然后通过使用(2-ΔΔCt)的方法(Livak & Schmittgen, 2001)来计算相关基因的表达量。

**Table 1.** Primers used in expression of SOD1, SOD2, CAT and β-actin genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

**表 1.** 虹鳟 SOD1、SOD2、CAT 和 β-actin 基因表达所用引物

Primer name	Sequence (5'-3')	Product size(bp)	Tm (°C)
SOD1	F:TGGTCCTGTGAAGCTGATTG R:TTGTCAGCTCCTGCAGTCAC	201	56
SOD2	F:TCCCTGACCTGACCTACGAC R:GGCCTCCTCCATTAACCTC	201	56.5
CAT	F:TGATGTCACACAGGTGCGA R:GTGGGCTCAGTGTGTTGG	195	55
β-actin	F:GATGGGCCAGAAAGACAGCTA R:TCGTCCCAGTTGGTGACGAT	119	59

### 2.5. 数据处理

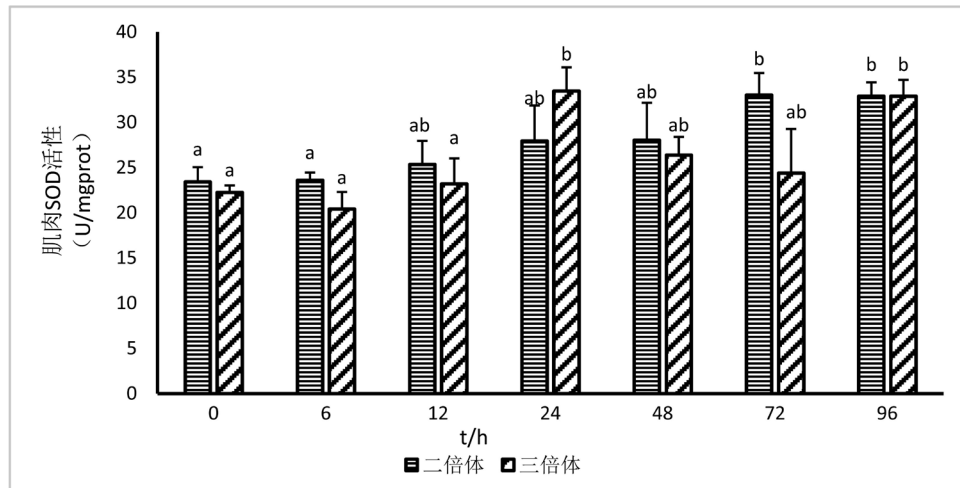
所有实验数据均以(平均值±标准差)表示,经单因素方差分析后,若存在显著差异,则采用 Duncan 法进行多重比较,并通过相关分析进行相关系数的计算,显著水平设置为 α = 0.05。所有统计分析和图形处理分别采用 SPSS16.0 和 Excel2016 进行计算。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 急性温度胁迫对虹鳟肌肉超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 活性的影响

急性温度胁迫下虹鳟肌肉 SOD 活性变化见图 1。二倍体和三倍体虹鳟整体趋势相似,二倍体虹鳟肌

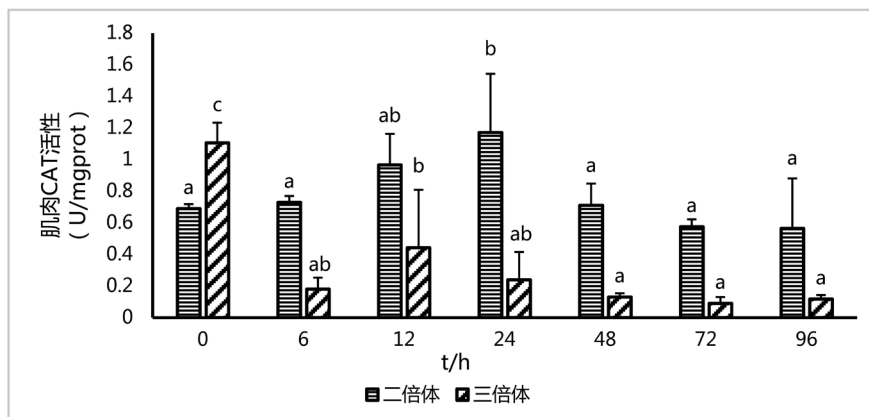
肉组织中 SOD 活性在 0~48 h 内, 先上升后下降, 但各时间点差异不显著( $P > 0.05$ ), 48~96 h 为上升趋势, 与 48 h 差异不显著, 但显著高于 0~6 h ( $P < 0.05$ )。三倍体虹鳟肌肉组织中 SOD 活性在 0~48 h 内也呈现先上升后下降的趋势, 在 24 h 出现最高值, 显著高于其他时间( $P < 0.05$ ), 在水温恢复至 15℃ 后, 48~96 h 内也呈现上升趋势, 但是同样差异不显著( $P > 0.05$ )。



注: 同一种倍性的虹鳟标有不同小写字母表示有显著性差异( $P < 0.05$ ), 下同。

**Figure 1.** Changes of SOD activity in the muscle of the diploid and triploid rainbow trout

**图 1.** 体虹鳟肌肉 SOD 活性的变化



**Figure 2.** Changes of CAT activity in the muscle of the diploid and triploid rainbow trout

**图 2.** 虹鳟肌肉 CAT 活性的变化

急性温度胁迫下虹鳟肌肉 CAT 活性变化见图 2。

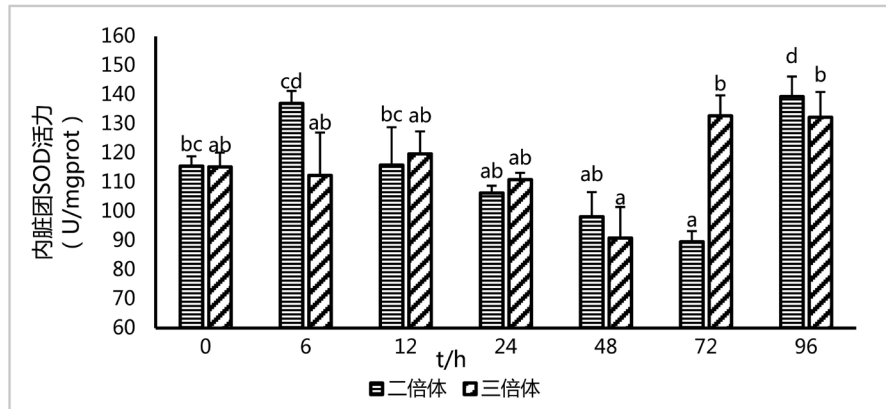
二倍体虹鳟在温度胁迫 48 h 内, CAT 活性在 12 h 开始升高, 但差异不显著( $P > 0.05$ ), 在 24 h 出现最高值( $P < 0.05$ )。24 h 之后酶活性显著下降( $P < 0.05$ ), 恢复至正常值。48 h 水温恢复至 15℃ 常温, 未见二倍体虹鳟 CAT 活性有变化, 保持在正常值。

三倍体虹鳟在温度胁迫 48 h 内, 0 h 的 CAT 活性显著高于其他的时间点, 在 6~12 h 呈现上升趋势, 12 h 显著高于 6 h ( $P < 0.05$ ), 12 h 呈现下降趋势, 24 h 虽然低于 12 h 酶活, 但与 12 h 差异不显著( $P > 0.05$ ), 48 h 后 CAT 活性呈现一个低水平, 恢复至 15℃ 常温, 未见三倍体虹鳟 CAT 活性有变化, 保持在低水平。

二倍体与三倍虹鳟相比, 在 0 h, 三倍体虹鳟 CAT 活性显著高于二倍体虹鳟( $P < 0.05$ ), 在温度胁迫

之后,三倍体虹鳟 CAT 活性除 12 h 之外,其他时间显著低于二倍体虹鳟( $P < 0.05$ )。

### 3.2. 急性温度胁迫对虹鳟内脏团总超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT 活性的影响



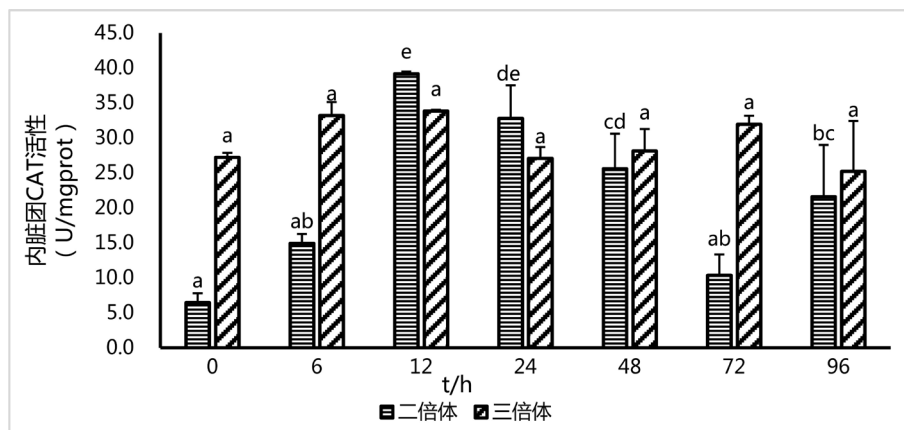
**Figure 3.** Changes of SOD activity in the internal organs of the diploid and triploid rainbow trout  
**图 3.** 虹鳟内脏团 SOD 活性的变化

急性温度胁迫下虹鳟内脏团 SOD 活性变化见图 3。

二倍体虹鳟在温度胁迫 48 h 内,0~12 h 的 SOD 活性显著高于 24~48 h ( $P < 0.05$ ),呈现先上升再下降的趋势,在 6、12 h 达到最高值。恢复 15°C 常温后,二倍体在 96 h 出现较高的 SOD 活性,显著高于其他的时间点( $P < 0.05$ )。

三倍体虹鳟在温度胁迫 48 h 内,SOD 活性在 0~24 h 没有显著差异( $P > 0.05$ ),在 48 小时出现最低值,显著低于其他时间点( $P < 0.05$ )。48 h 恢复 15°C 后,三倍体虹鳟 SOD 活性明显上升,显著高于 48 h ( $P < 0.05$ )。

二倍体和三倍体虹鳟相比除 72 h,三倍体明显高于二倍体外,其他时间点没有显著差异( $P > 0.05$ )。



**Figure 4.** Changes of CAT activity in the internal organs of the diploid and triploid rainbow trout  
**图 4.** 虹鳟内脏团 CAT 活性的变化

急性温度胁迫下虹鳟内脏团 CAT 活性变化见图 4。

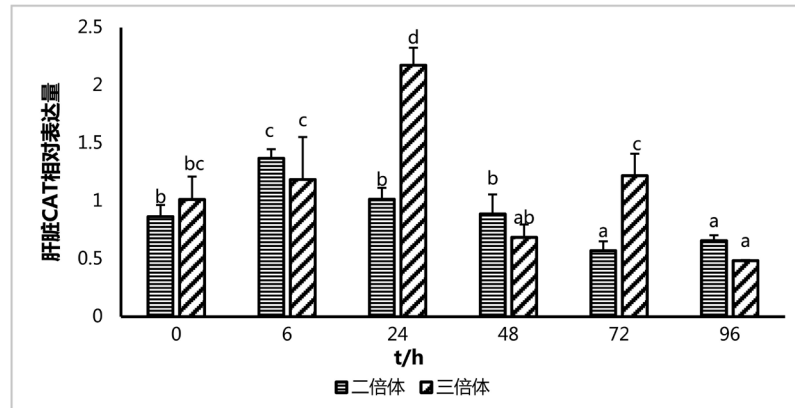
温度胁迫对于二倍体虹鳟的 CAT 活性影响是显著的,48 h 内二倍体虹鳟 CAT 活性呈现先上升后下降的趋势,12 h、24 h 达到最高值,显著高于 0、6 h ( $P < 0.05$ ),24 h 之后呈现下降趋势,72 h 恢复正常

值, 96 h 有呈现上升趋势, 但是不显著( $P > 0.05$ )。

三倍体虹鳟在温度胁迫下, 内脏团中的 CAT 活性一直保持在较高水平, 各时间点差异不显著( $P > 0.05$ ), 但是也有 0 h 先上升, 12、24 h 再下降, 72 h 再上升的趋势。

二倍体和三倍体虹鳟结果比较, 三倍体虹鳟 CAT 的起始酶活性显著高于二倍体虹鳟( $P < 0.05$ ), 但是温度胁迫下, 三倍体虹鳟 CAT 活性变化不明显。

### 3.3. 急性温度胁迫对虹鳟肝脏 CAT、SOD1、SOD2 mRNA 相对表达量的影响

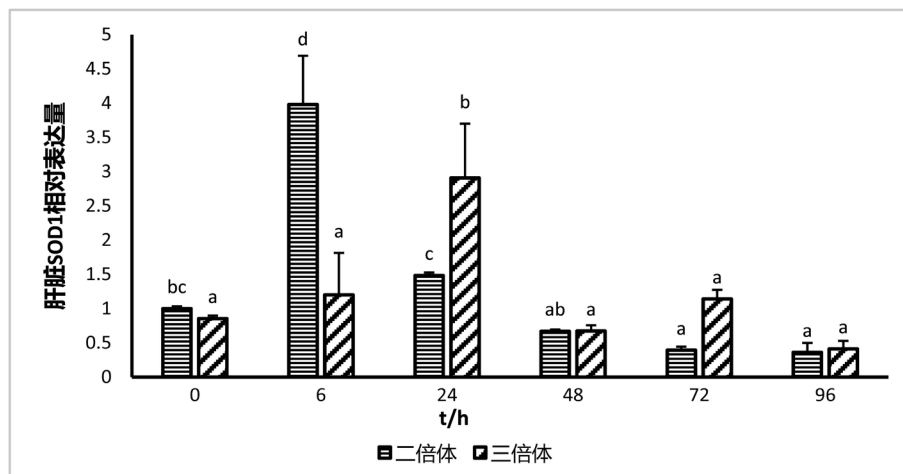


**Figure 5.** Changes in the relative expression of CAT in the liver of the diploid and triploid rainbow trout  
**图 5.** 虹鳟肝脏 CAT 相对表达量的变化

急性温度胁迫下虹鳟肝脏 CAT 相对表达量变化见图 5。

二倍体虹鳟在温度胁迫 6 h 出现 CAT 相对表达量的最高峰, 显著高于温度诱导 48 h 内的其他时间点 ( $P < 0.05$ ), 在 24 h 处开始呈现下降趋势, 在 48 h 换成 15℃ 冷水后, 未见 CAT 相对表达量出现波动。三倍体虹鳟在温度胁迫 24 h 出现最高峰, 之后呈现下降趋势, 在 48 h 换成 15℃ 冷水后, 72 h 出现一个小高峰, 显著高于 48 h ( $P < 0.05$ )。

二倍体和三倍体虹鳟相比, 起始 0h 二者均无显著差异( $P > 0.05$ ), 6、48、96 h 无显著差异( $P > 0.05$ ), 在 24、72 h 两个峰值处三倍体显著高于二倍体( $P < 0.05$ )。



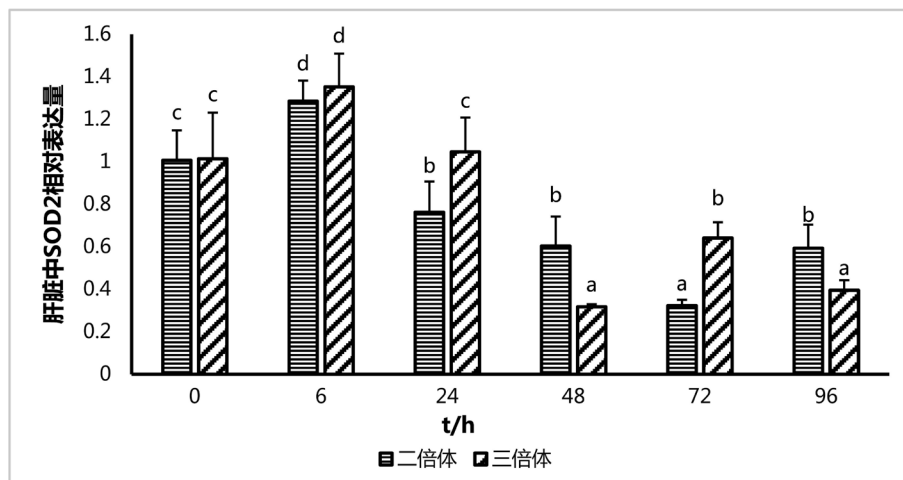
**Figure 6.** Changes in the relative expression of SOD1 in the liver of the diploid and triploid rainbow trout  
**图 6.** 虹鳟肝脏 SOD1 相对表达量的变化

急性温度胁迫下虹鳟肝脏 SOD1 相对表达量变化见图 6。

二倍体虹鳟在温度胁迫 6 h SOD1 相对表达量出现最高值, 显著高于其他时间点( $P < 0.05$ ), 在 24 小时之后出现明显下降趋势, 各个时间点 SOD1 的相对表达量差异显著( $P < 0.05$ )。在恢复 15℃ 冷水之后未见 SOD1 相对表达量出现波动, 且显著低于 0 h 正常水平( $P < 0.05$ )。

三倍体虹鳟在高温胁迫 24 小时出现峰值, 在 48 h 处 SOD1 的相对表达量开始下降。在恢复 15℃ 冷水之后, SOD1 相对表达量又出现一个上升趋势, 但是与 48 h 相比差异不显著( $P > 0.05$ )。

二倍体和三倍体虹鳟 SOD1 相对表达量比较, 起始 0 h 无显著差异( $P > 0.05$ ), 二倍体的峰值早于三倍体峰值。



**Figure 7.** Changes in the relative expression of SOD2 in the liver of the diploid and triploid rainbow trout  
**图 7.** 虹鳟肝脏 SOD2 相对表达量的变化

急性温度胁迫下虹鳟肝脏 SOD2 相对表达量变化见图 7。

二倍体虹鳟的 SOD2 相对表达量在 6 h 出现峰值( $P < 0.05$ ), 24 h 开始下降( $P < 0.05$ ), 72 h 出现最低值, 96 h 略有上升。三倍体虹鳟的 SOD2 相对表达量在 6 h 出现最高值, 之后下降。48 h 恢复 15℃ 水温后, 72 h 出现小幅度上升, 显著高于 48 h ( $P < 0.05$ ), 之后下降, 96 h 恢复至 48 h 同样的表达量。

## 4. 讨论

在虹鳟夏季实际养殖生产过程中, 很容易遇到突发性的 高温天气, 由此引发的水温升高会使虹鳟产生应激反应, 甚至引起虹鳟的死亡。鱼体在正常的新陈代谢下会产生自由基, 通常情况下, 自由基处在动态平衡中, 当受到环境胁迫之后, 自由基就会大量生成, 过量的自由基会对机体产生损伤[17]。生物体在长期进化过程中形成了一套完整抗氧化体系来清除体内过多的活性氧自由基。SOD 和 CAT 是存在于生物体内的非常重要的抗氧化防御性功能酶, 研究表明, 在温度胁迫下生物体可通过调节抗氧化酶活性来增强其清除活性氧自由基的能力。本实验研究了急性温度胁迫下, 虹鳟 SOD、CAT 在肌肉、内脏团中的活性及在肝组织中表达。

### 4.1. 急性温度胁迫对虹鳟肌肉、内脏团 CAT、SOD 酶活性的影响

在急性高温胁迫 48 h 内, 除了三倍体虹鳟肌肉中的 CAT 活性以外, 其他的活性变化趋势都是先上升后下降。这与之前的很多研究结果相似, 谢明媚等[18]在研究急性温度胁迫对银鲟幼鱼抗氧化和免疫指标的影响中肝脏中的 SOD、CAT 活性变化同样是先上升后下降。



在肌肉、内脏团的 SOD 活性变化方面,二倍体和三倍体虹鳟的起始 SOD 活性都是相同的,没有显著差异。不同的是,三倍体虹鳟的 SOD 活性最高值都晚于二倍体虹鳟,而且在内脏团中,三倍体虹鳟的 SOD 活性最高值小于二倍体虹鳟,这与史鲲鹏等[19]研究急性温度胁迫对二倍体枫叶鲑以及三倍体硬头鳟的研究结果相似,其研究表明两种鲑科鱼类在 21℃ 时表现出的抗氧化响应的差异,硬头鳟的 SOD 峰值晚于且低于二倍体枫叶鲑。在肌肉、内脏团的 CAT 活性变化方面,三倍体的起始 CAT 活性高于二倍体虹鳟,二倍体虹鳟的 CAT 活性呈现先上升后下降的趋势,只有在三倍体虹鳟肌肉组织中, CAT 活性在 6 h 处明显低于起始活性。研究发现,当水温升高至 25℃ 以上时,褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)的 SOD 和 CAT 活性均出现降低的情况[20]。对于抗氧化能力较弱的物种而言, SOD 和 CAT 的活性会随着自由基数量的增加而逐渐失去活性,导致机体受到更大程度的氧化损伤[21]。从三倍体肌肉组织的 CAT 活性变化可以推测,高温胁迫使得三倍体虹鳟肌肉组织的代谢系统出现紊乱,机体受到较大程度的氧化损伤。实验过程中,只有三倍体虹鳟出现死亡现象,也可以证明三倍体虹鳟受到较大程度的氧化损伤。

#### 4.2. 急性温度胁迫对虹鳟肝脏 CAT、SOD1、SOD2 相对表达量的影响

在急性高温胁迫 48 h 内,二倍体和三倍体虹鳟肝脏中 CAT、SOD1、SOD2 相对表达量与酶活性变化的趋势是一致的,都是先上升后下降。二倍体和三倍体虹鳟的 SOD1、SOD2 起始表达量都是相同,没有显著性差异,同样三倍体虹鳟峰值出现时间晚于二倍体并且低于二倍体峰值。这就意味着二倍体和三倍体虹鳟在面对同样高温胁迫下,抗氧化酶活性变化程度不同,三倍体虹鳟 SOD 酶活性最高值要晚于并且低于二倍体虹鳟。三倍体虹鳟在消除体内自由基的能力上要低于二倍体,这与之前研究结果相似。之前对两种倍型鱼类耐温能力的研究表明,二倍体鱼类应对高温的抗氧化能力更强,三倍体美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)耐温能力低于二倍体同种个体[8],二倍体大西洋鲑(*Salmon salar*)在 19℃ 下耐温能力显著高于三倍体大西洋鲑[22],出现这一现象的原因可能与鱼类对基础代谢和应激代谢能量分配有关,三倍体虹鳟相对而言能量基础代谢率较高,需要利用更多的能量来维持正常代谢过程,因此在遇到温度胁迫时,二倍体虹鳟相对可以付出更多的能量用于消除体内产生的活性氧和自由基[23]。

#### 4.3. 恢复 15℃ 水温对虹鳟的影响

48 h 恢复 15℃ 水温之后,二倍体和三倍体虹鳟 SOD、CAT 酶活性以及肝脏中 mRNA 相对表达量都出现波动,二倍体虹鳟未见显著变化,而三倍体虹鳟都在 72 h 处有明显的升高,96 h 回落至正常值,在 48~72 h 时间段内,三倍体组出现死亡,二倍体组没有出现死亡现象。这就说明在高温胁迫之后,三倍体对于常温水也有一定的应激反应,应激反应明显高于二倍体虹鳟,这与 48 h 内高温胁迫结果相似,可以说明三倍体虹鳟对环境变化更为敏感。但目前对于高温胁迫之后恢复温度对鱼类的影响研究较少,以后可以针对这一现象进行相应的研究。

### 5. 结语

本文研究了高温胁迫对于二倍体和三倍体虹鳟肌肉、内脏团 CAT、SOD 酶活性以及肝脏中 CAT、SOD1、SOD2 的基因相对表达量的影响。由实验组虹鳟死亡情况(只有三倍体组出现死亡现象)可以直接说明三倍体虹鳟应对高温胁迫能力低于二倍体虹鳟。由 48 h 内肌肉与内脏团的总超氧化歧化酶以及过氧化氢酶的酶活性变化也可说明二倍体虹鳟对于高温环境适应能力更强。在三倍体虹鳟肌肉组织过氧化氢酶活性的活性变化可以说明三倍体虹鳟肌肉组织功能紊乱,高温环境超出三倍体虹鳟适应范围。肝脏中 CAT、SOD1 基因相对表达量变化趋势同样也证明了三倍体虹鳟耐高温的能力要差于二倍体虹鳟。综上所述,在日常养殖生产过程中,特别是三倍体虹鳟养殖、运输过程中,要密切关注水温变化,尽可能减

少温度变化所引起的应激反应, 若发生高温情况, 也不可盲目的降低水温, 如何科学有效地恢复水温, 尽量减少恢复水温对三倍体虹鳟引起的二次应激反应还有待以后继续研究。

## 基金项目

山东省农业良种工程项目(2016LZGC003)和山东省重点研发计划(产业关键技术)项目(2016CYJS04A01)资助。

## 参考文献

- [1] 王燕妮, 刘哲, 康玉军, 等. 热应激对虹鳟部分非特异性免疫指标的影响[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(5): 634-642.
- [2] 谷伟, 王炳谦, 赵吉伟, 等. 虹鳟养殖品系个体繁殖力遗传进展的初步研究[J]. 淡水渔业, 2010, 40(6): 71-74.
- [3] 楼允东. 国外对鱼类多倍体育种的研究[J]. 水产学报, 1984, 8(4): 343-356.
- [4] 朱传忠, 邹桂伟. 鱼类多倍体育种技术及其在水产养殖中的应用[J]. 淡水渔业, 2004, 34(3): 53-56.
- [5] Fraser, T.W.K., Fjellidal, P.G., Hansen, T., *et al.* (2012) Welfare Considerations of Triploid Fish. *Reviews in Fisheries Science*, **20**, 192-211. <https://doi.org/10.1080/10641262.2012.704598>
- [6] Benfey, T.J. (2016) Effectiveness of Triploidy as a Management Tool for Reproductive Containment of Farmed Fish: Atlantic Salmon (*Salmo salar*) as a Case Study. *Reviews in Aquaculture*, **8**, 264-282. <https://doi.org/10.1111/raq.12092>
- [7] Ojolick, E.J., Cusack, R., Benfey, T.J., *et al.* (1995) Survival and Growth of All-Female Diploid and Triploid Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Reared at Chronic High Temperature. *Aquaculture*, **131**, 177-187. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00338-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00338-0)
- [8] Hyndman, C.A., Kieffer, J.D. and Benfey, T.J. (2003) Physiology and Survival of Triploid Brook Trout Following Exhaustive Exercise in Warm Water. *Aquaculture*, **221**, 629-643. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00119-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00119-4)
- [9] Atkins, M.E. and Benfey, T.J. (2008) Effect of Acclimation Temperature on Routine Metabolic Rate in Triploid Salmonids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **149**, 157-161. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.11.004>
- [10] Verhille, C., Anttila, K. and Farrell, A.P. (2013) A Heart to Heart on Temperature: Impaired Temperature Tolerance of Triploid Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Due to Early Onset of Cardiac Arrhythmia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **164**, 653-657. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.011>
- [11] Fraser, T.W.K., Fleming, M.S., Poppe, T.T., *et al.* (2014) The Effect of Ploidy and Incubation Temperature on Survival and the Prevalence of Aplasia of the Septum Transversum in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, **37**, 189-200. <https://doi.org/10.1111/jfd.12091>
- [12] Roessig, J.M., Woodley, C.M., Cech, J.J., *et al.* (2004) Effects of Global Climate Change on Marine and Estuarine Fishes and Fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **14**, 251-275. <https://doi.org/10.1007/s11160-004-6749-0>
- [13] 柳学周, 徐永江, 马爱军, 等. 温度、盐度、光照对半滑舌鲷胚胎发育的影响及孵化条件调控技术研究[J]. 渔业科学进展, 2004, 25(6): 1-6.
- [14] 胡静, 吴开畅, 叶乐, 等. 急性盐度胁迫对克氏双锯鱼幼鱼过氧化氢酶的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(6): 73-78.
- [15] 亢玉静, 郎明远, 赵文, 等. 水生生物体内抗氧化酶及其影响因素研究进展[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(3): 75-80.
- [16] 张克烽, 张子平, 陈芸, 等. 动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展[J]. 动物学杂志, 2007, 42(2): 153-160.
- [17] 孙鹏, 柴学军, 尹飞, 等. 运输胁迫下日本黄姑鱼肝脏抗氧化系统的响应[J]. 海洋渔业, 2014, 36(5): 469-474.
- [18] 谢明媚, 彭士明, 张晨捷, 等. 急性温度胁迫对银鲳幼鱼抗氧化和免疫指标的影响[J]. 海洋渔业, 2015(6): 541-549.
- [19] 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): 308-316.
- [20] 曾朝曙, 李少菁. 温度对锯缘青蟹幼体存活与发育的影响[J]. 水产学报, 1992, 16(3): 213-221.
- [21] Trenzado, C., Hidalgo, M.C., García-Gallego, M., *et al.* (2006) Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Sturgeon *Acipenser naccarii* and Trout *Oncorhynchus mykiss*. A Comparative Study. *Aquaculture*, **254**, 758-767.

---

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.020>

- [22] Hansen, T.J., Olsen, R.E., Stien, L., *et al.* (2015) Effect of Water Oxygen Level on Performance of Diploid and Triploid Atlantic Salmon Post-Smolts Reared at High Temperature. *Aquaculture*, **435**, 354-360.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.017>

**知网检索的两种方式:**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2373-1443, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [ojfr@hanspub.org](mailto:ojfr@hanspub.org)