



高温胁迫对虹鳟幼鱼 (*Oncorhynchus mykiss*) 生化指标和hsp47、hsp90α和grp78的表达模式的影响



董福霖^{1,2} 黄天晴¹ 刘恩慧¹ 谷伟¹ 史秀兰¹ 王炳谦¹ 徐革锋^{1*}

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

摘要: 夏季高温是虹鳟养殖环节中最大的威胁, 高温应激很容易造成虹鳟大面积死亡或减产。本研究的目的是找出在26°C的水温下, 温度敏感个体和温度耐受个体存在的差异。结果表明, 热应激后, 耐受组中脾脏和肾脏中的SOD活性和GSH含量显著低于敏感组 ($P < 0.05$); 肾脏中的CAT活性也是耐受组显著低于敏感组 ($P < 0.05$); 只有在肾脏中的MDA含量是在热应激后敏感组显著低于耐受组 ($P < 0.05$)。肝脏、鳃和脾脏中hsp90α和hsp47的表达在热应激后均发生了上调, 并且敏感组显著高于耐受组 ($P < 0.05$)。这些结果说明鱼的耐热性对SOD和CAT的活性以及hsp90α和hsp47的表达有显著的影响。本研究为虹鳟耐高温遗传选育和改良、探究虹鳟高温胁迫调控机制提供理论依据。

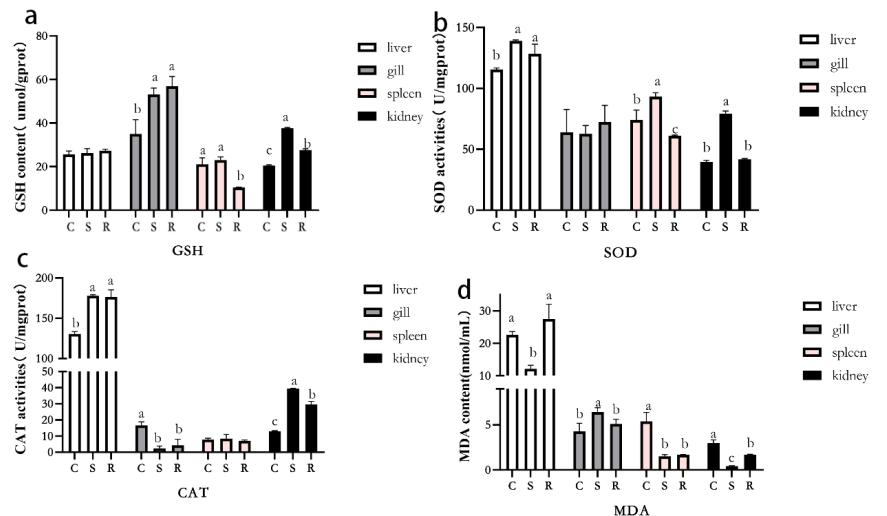
实验设计: 采用临界温度法来估算虹鳟的临界热最大值: 以16°C为起始温度, 以1°C / 24h的速率不断升温, 直至鱼体呈失衡状态, 记录此时的温度, 即为虹鳟的临界热最大值。

驯养两周后, 选取体质健康、规格均一的虹鳟幼鱼180尾进行试验。实验共分为6组, 每组30尾。对照组2组, 水温保持在16±0.2°C。实验组共4组, 根据预实验结果, 虹鳟幼鱼在26°C应激24小时后, 达到临界热最大值。实验组初始温度16±0.2°C, 每日升高1摄氏度, 直至26±0.2°C后12小时进行采样。此时, 每个水族箱中能自由游动的个体定义为耐受组, 不能自由游动的个体定义为敏感组, 对照组标记为高温对照组。

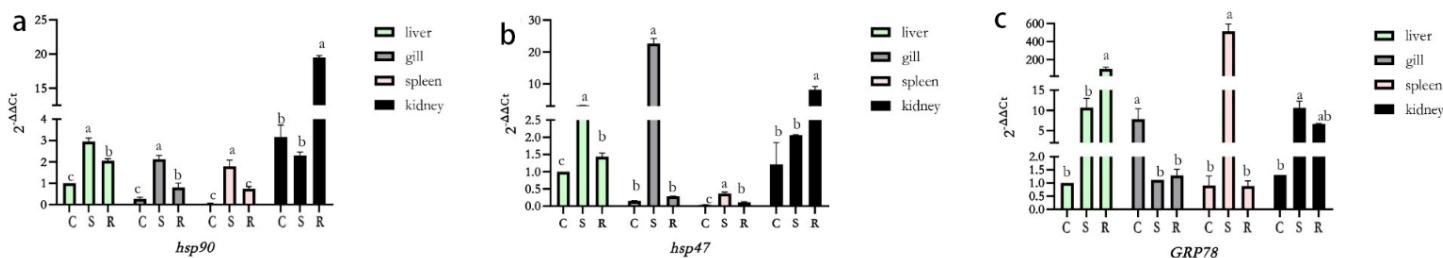
表一. 高温胁迫对虹鳟血液生理生化指标的影响

	C	S	R
Urea (nmol/L)	0.833±0.115a	0.700±0.100a	0.367±0.115b
Glu (nmol/L)	3.067±0.252	1.700±0.566	2.000±0.566
Ca (nmol/L)	2.598±0.182ab	2.770±0.014a	2.293±0.095b
P (nmol/L)	3.710±0.283a	1.985±0.191b	2.085±0.049b
ALT (U/L)	12.333±3.512b	41.500±9.192ab	59.000±15.556a
AST (U/L)	363.500±16.263b	1126.000±158.392a	615.000±9.899b
ALP (U/L)	15.500±3.536b	147.000±26.870a	17.500±0.707b
TP (g/L)	26.600±3.111ab	31.800±1.556a	21.950±1.202b
Glo (g/L)	11.350±0.919ab	13.350±0.778a	9.700±0.889b
TBIL (umol/L)	0.400±0.173	0.650±0.212	0.567±0.252
ALB (g/L)	14.367±3.406	18.450±0.778	15.200±2.263

注: C, 对照组; S, 敏感组; R, 耐受组; 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)



图一. 高温胁迫对不同组织的抗氧化酶活性的影响。数据以平均值±标准差表示 (n=6)。不同的小写字母表示同一组织下不同实验组的统计学差异 ($P < 0.05$)。(C: 对照组, S: 敏感组, R: 耐受组)



图二. hsp90、hsp47和grp78 mRNA在不同组织中的表达。数据表示为平均值±标准偏差 (n=6)。不同小写字母表示同一组织中不同组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。(C: 对照组, S: 敏感组, R: 耐受组)

如表一所示, 热应激后, 尿素、血糖含量均下降, 其中耐受组中的尿素含量相比与对照组 ($P < 0.01$) 和敏感组 ($P < 0.05$) 显著降低, 下降了55%和47%。Ca含量在热应激后没有发生显著相变化, 但敏感组中显著高于耐受组, 为R组的1.2倍。ALT、AST以及ALP和ALB的含量在热应激后升高, 其中敏感组的ALT含量是对照组的3.3倍, 耐受组的ALT含量是对照组的4.7倍; 敏感组的AST含量是对照组的3.1倍, 耐受组的AST含量对照组的1.7倍; 敏感组的ALP含量是对照组的3.9倍, 耐受组的ALP含量是对照组的1.1倍。

如图一所示, 在热应激后, 脾脏和肾脏中SOD活性和GSH含量在敏感组和耐受组中出现了差异, 耐受组显著低于敏感组 ($P < 0.05$)。肾脏中CAT活性在敏感组显著高于耐受组 ($P < 0.05$), 在剩余三个组织中未观察到显著差异。耐受组中肝脏和肾脏中MDA含量显著高于敏感组 ($P < 0.05$), 而在鳃中则是敏感组显著高于耐受组 ($P < 0.05$)。

如图二所示, 敏感组的hsp90α在肝脏、鳃和脾脏的表达量分别是耐受组的1.4、2.7和2.4倍。在肾脏中, hsp90的表达量在R组是S组的8.5倍。在敏感组和耐受组之间, hsp47在所有四个组织中的表达都有显著差异。敏感组的肝脏、鳃和脾脏中hsp47的表达量分别比R组高1.7倍、78倍和3.7倍 (图2b)。图2c显示了Grp78在这三个组织中的表达情况。耐受组grp78在肝脏的表达明显高于敏感组, 高出25倍 ($P < 0.05$)。敏感组的grp78在脾脏中的表达量比耐受组高581倍。

结论: 研究发现, 在高温胁迫下, 敏感组和耐受组的AST、ALP、Urea、Ca、Tp和Glo水平有明显差异。此外, 肾脏和肝脏中的SOD活性以及肾脏中的CAT活性在敏感组和耐受组中显示出显著差异。研究发现, 热应激后hsp90α和hsp47在肝脏、鳃、肾脏和脾脏四个组织中的表达在耐受组和敏感组中表现出显著差异, grp78的表达在两个实验组的肝脏和脾脏中也表现出显著差异。我们假设这些差异在虹鳟的温度耐受性中起作用, 但需要进一步的长期研究来阐明这些生物分子的变化, 以确定热应力和适应的机制。