

doi: 10.7541/2016.149

热应激对齐口裂腹鱼非特异性免疫功能及细胞凋亡的影响

黄正澜懿 陈世静 张争世 向梦斌 罗辉 叶华

(西南大学 鱼类繁育与健康养殖研究中心, 重庆 402460)

摘要: 为研究热应激及恢复对齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)机体损伤、非特异性免疫功能和细胞凋亡的影响,测定了热应激前(19℃, 对照组)、热应激(27℃, 0、2h、4h、8h、12h, 实验组)及恢复适温6h后(19℃, 恢复组)的非特异性免疫相关生理生化指标及细胞凋亡率。结果表明,超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)在应激0、4h、8h、12h后活性上升,应激0和12h与应激前差异极显著($P<0.01$);髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)在热应激4h达到最大值;谷草转氨酶(Glutamic-oxalacetic transaminase, GOT)的活性实验组与对照组差异不显著,恢复6h后GOT活性极显著高于对照组($P<0.01$);谷丙转氨酶(Glutamic-pyruvic transaminase, GPT)在应激0、4h、12h和恢复到适温6h后的活性极显著高于对照组($P<0.01$);丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量在热应激2h、4h和12h时极显著高于对照组($P<0.01$),8h时显著高于应激前($P<0.05$),应激12h MDA含量达到最大值,恢复6h后MDA含量恢复至应激前水平($P<0.05$);补体3(Complement 3, C3)含量升高,在热应激12h时显著高于对照组($P<0.05$),恢复6h C3含量下降,与对照组差异不显著($P>0.05$)。持续27℃热应激不同时间后,各实验组的细胞凋亡率都显著高于对照组($P<0.05$),且在处理4h时细胞凋亡率达到最高值(52.42%),恢复19℃ 6h后细胞凋亡率显著降低($P<0.05$)。研究表明,持续27℃热应激改变了机体非特异性免疫力,导致鱼体出现炎症,损伤细胞,恢复到适温后,鱼体各项机能逐渐恢复。研究结果可为深入研究齐口裂腹鱼高温适应调控机理提供基础数据,也为齐口裂腹鱼养殖、运输等过程中的温度控制提供科学依据。

关键词: 齐口裂腹鱼; 热应激; 非特异性免疫; 细胞凋亡

中图分类号: S942; Q291

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2016)06-1152-06

鱼类作为水生变温动物,其生活的水环境条件的变化会对其生长繁衍、生理活动等产生影响,其中水温是影响鱼类生理活动的重要环境因素^[1]。若长时间持续高温,不仅会抑制鱼类生长,导致机体衰弱,还会影响某些鱼类的生长繁衍,甚至导致鱼类死亡^[2-4]。因此,高温对鱼类的不良影响极其严重。

应激是机体对外界或内部各种刺激所产生的非特异性应答的总和。对于鱼类而言,当水温超过鱼体的最适水温时,鱼体会产生应激反应保护其正常代谢作用,这虽然是一种保护性反应,但持续地处于应激状态,机体的非特异性免疫防御体系的功能会受到抑制^[5]。动物正常的血液指标能反映动物的正常生理状态。由于血液与机体的代谢、营养

状况及疾病有着密切的关系,因此,当鱼体受到外界刺激而发生生理或病理变化时,必定会在血液指标中反映出来^[6]。

齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)是我国重要的冷水鱼类之一,在分类上隶属鲤形目、鲤科、裂腹鱼亚科、裂腹鱼属。齐口裂腹鱼又名细鳞鱼、雅鱼,为四川“雅安三绝”之一,主要分布于长江上游的干流及支流^[7,8]。因其肉质细嫩、味道鲜美、营养价值高,深受消费者青睐,目前已成为我国长江上游名贵经济养殖鱼类。齐口裂腹鱼养殖的适宜温度为10—25℃,以15—22℃为最好,为底栖性冷水鱼类^[9]。因此养殖优质的齐口裂腹鱼,对水温要求严格。本研究分析持续热应激对齐口裂腹鱼

收稿日期: 2016-04-18; 修订日期: 2016-07-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31402302); 中央高校基本科研业务费项目(XDJK2014C152); 西南大学荣昌校区青年基金项目(20700919)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31402302); Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2014C152); the Youth Foundation of Southwest University Rongchang Campus (20700919)]

作者简介: 黄正澜懿(1995—),女,四川德阳人;主要从事水产动物遗传育种与生物技术研究。E-mail: 942037156@qq.com

通信作者: 叶华(1981—),女,四川广元人;副教授,硕士;主要从事水产动物遗传育种与生物技术研究。E-mail: yhlh2000@126.com

非特异性免疫因子及细胞凋亡的影响,旨在为研究齐口裂腹鱼高温适应调控机理提供基础数据,也为齐口裂腹鱼养殖、运输等过程中的温度控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

从四川省峨眉山市乐都镇冷水鱼养殖场随机选取平均体重(84.97 ± 19.76) g、全长(20.26 ± 1.69) cm、体长(16.85 ± 1.94) cm、体高(3.79 ± 0.46) cm的健康齐口裂腹鱼84尾,随机平均分配到7个塑料箱($67 \text{ cm} \times 48 \text{ cm} \times 41 \text{ cm}$)中暂养一周,暂养期间微流水并持续充氧,适量投喂。

1.2 热应激处理与采样

设置热应激前 19°C (对照组)、 27°C (本实验室前期研究发现,水温到达 28°C 时,齐口裂腹鱼会出现死亡)热应激0、2h、4h、8h、12h(实验组)和恢复 19°C 6h(恢复组)共7组。热应激前,随机选取12尾鱼作为对照组,其余样本采用加热棒以 $2^\circ\text{C}/\text{h}$ 的升温速度使水温升至 27°C ,温度达到 27°C 后0、2h、4h、8h、12h各采集12尾鱼作为不同时间的热应激组。恢复组是热应激12h后以 $2^\circ\text{C}/\text{h}$ 降温至 19°C ,水温达到 19°C 后6h进行采样。

从对照组、不同时间的热应激组、恢复组中各取12尾鱼,快速转入 40 mg/L 左右的丁香酚水溶液中进行深度麻醉,尾静脉取血并分为2份,1份加入肝素抗凝,另1份不加抗凝剂,抗凝血用于测定细胞凋亡。不抗凝血在 4°C 静置2h后 3000 r/min 离心10min取血清,用于测定血液非特异性免疫指标。

1.3 非特异性免疫指标及细胞凋亡的测定方法

取 -20°C 保存的血清,利用南京建成生物工程研究所的髓过氧化物酶(MPO)测试盒、丙二醛(MDA)测试盒、谷丙转氨酶(GPT)测试盒、谷草转氨酶(GOT)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)测定试

剂盒、补体蛋白3(C3)测定试剂盒,分别测定相应指标。其中,MPO、MDA、GPT、GOT和补体C3利用分光光度计测定;SOD利用酶标仪测定。细胞凋亡使用Annexin V/PI apoptosis kit (杭州联科生物技术有限公司)测定。

1.4 数据统计分析

实验数据利用SPSS 19.0 中One-way ANOVA和Duncan's进行单因素方差分析和多重比较。 $P < 0.01$ 为极显著水平, $P < 0.05$ 为显著水平。

2 结果

2.1 热应激对非特异性免疫因子的影响

热应激0、4h、8h、12h SOD活性上升,且在0、12h极显著高于应激前($P < 0.01$),恢复到适温6h后,SOD活性仍显著高于应激前水平($P < 0.05$)。

热应激4h血清中MPO活性升高并达到最大值(图1B)。热应激4h后,MPO活性下降,热应激12h时MPO活性极显著低于应激4h($P < 0.01$),恢复适温6h后MPO活性与应激前差异不显著($P > 0.05$)。

热应激可使齐口裂腹鱼血清中GOT、GPT的活性升高(图2A、2B),恢复到适温6h后,血清中GOT和GPT活性都极显著高于应激前($P < 0.01$)。

血清中MDA含量在热应激8h显著高于应激前($P < 0.05$),应激2h、4h和12h极显著高于应激前($P < 0.01$)。恢复适温6h后,MDA含量显著低于应激12h($P < 0.05$),与应激前差异不显著($P > 0.05$)(图3A)。

热应激C3含量有上升的趋势,应激12h C3含量显著高于应激前($P < 0.05$),恢复适温6h后C3含量降低至与应激前差异不显著($P > 0.05$)(图3B)。

2.2 热应激对血细胞凋亡率的影响

热应激0、2h、4h、8h、12h细胞凋亡率均显著增加($P < 0.05$),应激4h细胞凋亡率达到最大值、高达52.42%,应激8h细胞凋亡率降低,显著低于应激4h(2.65%, $P < 0.05$),恢复后细胞凋亡率比应激12h显著

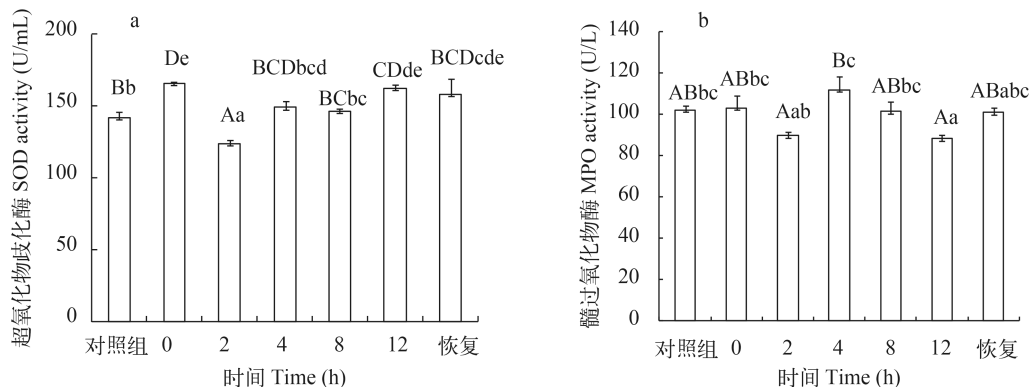


图1 热应激对血清SOD、MPO活性的影响

Fig. 1 The effects of heat stress on serum SOD and MPO activity

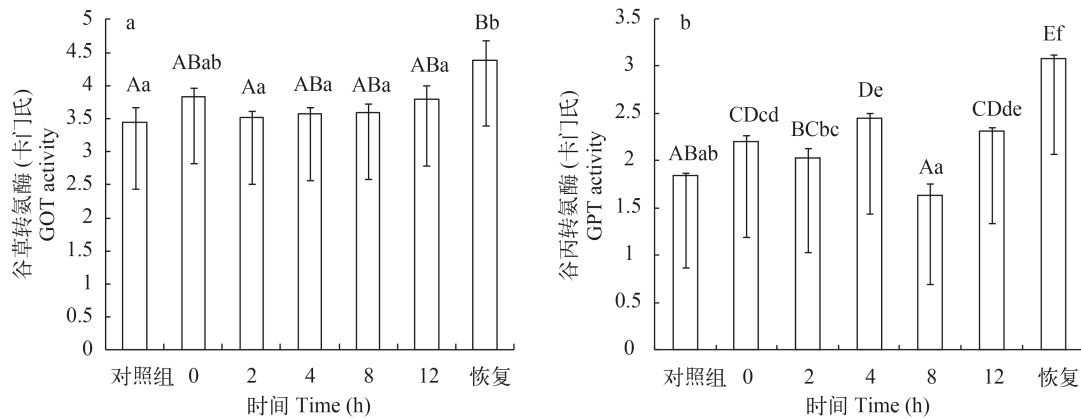


图2 热应激对血清GOT、GPT活性的影响

Fig. 2 The effects of heat stress on serum GOT and GPT activity

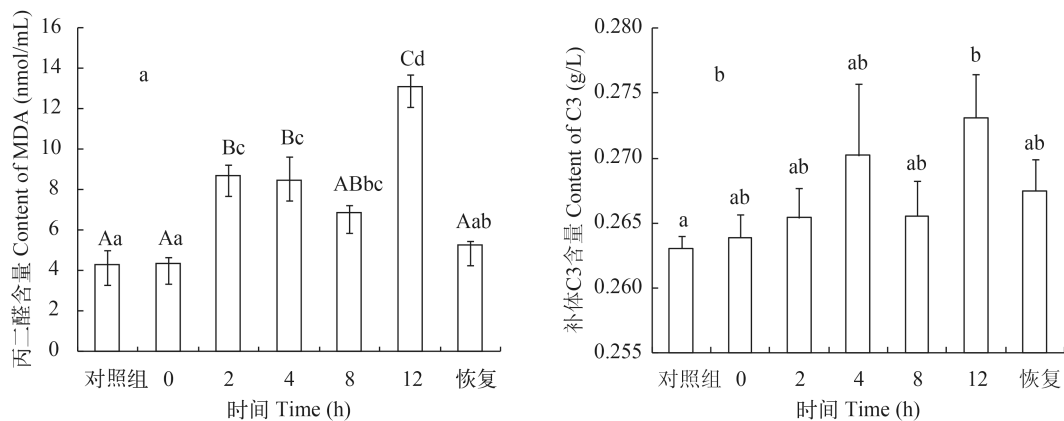


图3 热应激对血清MDA、C3含量的影响

Fig. 3 The effects of heat stress on the content of serum MDA and C3

降低($P<0.05$), 也显著低于对照组($P<0.05$)(图 4)。

3 讨论

3.1 热应激对齐口裂腹鱼非特异性免疫指标的影响

研究表明, 在鱼类处于应激状态时, 吞噬细胞

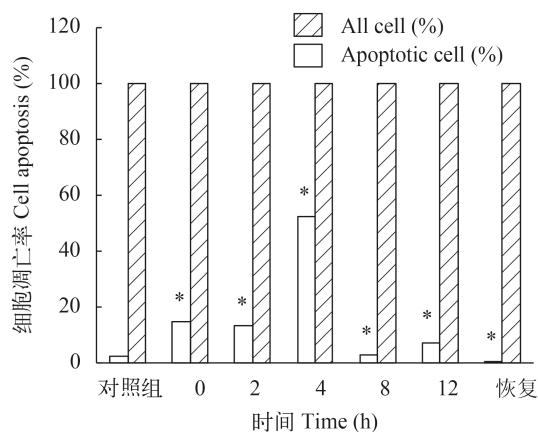


图4 热应激对细胞凋亡率的影响

Fig. 4 The effect of heat stress on cell apoptosis

的吞噬率增强, 能量消耗剧增, 耗氧量随之增加, 产生过量的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)自由基, ROS自由基具有很强的氧化性, 若未被机体及时清除, 就会造成脂质过氧化, 对机体造成伤害^[10,11]。超氧化物歧化酶(SOD)是抗氧化应激酶系中的重要成员, 它将 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为氧分子和过氧化氢, 过氧化氢被过氧化氢酶和过氧化物酶分解利用, 避免氧化损伤^[12]。本研究中, 热应激后SOD活性升高, 热应激0和12h后SOD活性极显著高于应激前, 说明从常温升温到27℃过程和持续12h热应激使鱼体吞噬细胞吞噬率明显增强, 从而产生大量的SOD用以清除应激时产生的大量ROS自由基。热应激2h SOD活性极显著低于0和4h, 可能由于升温过程造成了鱼体的应激, 导致SOD活性在热应激0h显著上升, 2h时产生免疫疲劳导致SOD活性显著降低。恢复适温6h时SOD活性仍显著高于应激前水平, 这与虹鳟上的研究结果类似。髓过氧化物酶(MPO)是动物体内参与免疫防御的重要氧化酶, 是吞噬细胞呼吸爆发过程中重要的酶类, 与SOD形成抗氧化链^[13,14]。另外, MPO活性变化可较敏感地反映动物早期组织

的损伤情况^[15]。在本研究中, 应激4h MPO活性达到最高, 表明此时组织损伤较为严重, 而此时也是细胞凋亡率最高的时期, 应激12h后MPO活性下降, 此时SOD将大量ROS自由基转化成的过氧化氢这类有害活性氧未被过氧化物酶有效分解, 因此会进一步被氧化成为醛类物质。

热应激中因ROS自由基增加而产生的过量的脂质过氧化物会分解生成醛类物质, 其中MDA是具有很强生物毒性的物质。MDA会增加膜的刚性, 降低膜的流动性, 使膜结构及功能受损, 间接反映机体细胞受损程度。研究发现, 虹鳟MDA含量随着应激时间增加而升高, 在应激4h显著高于应激前^[16], 半滑舌鳎在急性温度胁迫下, 随着胁迫时间的增加, 鱼体内MDA含量先升高后降低, 在胁迫6h后升至最高, 显著高于其他时间段^[17]。在本研究中, MDA含量在应激2h极显著高于应激前, 由于本研究热应激2h时SOD等负责清除自由基的相关酶活力较低, 打破了ROS自由基产生与清除之间的动态平衡, 体内MDA增加, 造成细胞受损。而应激4h和8h, MDA含量持续降低, 可能是因为在应激条件下, 热休克蛋白表达明显增加^[18], 鱼体在热应激的不利环境下, 热休克蛋白作为分子伴侣, 具有保护生物体免受损伤的重要作用。但热休克蛋白在热应激条件下对机体的保护能力有限^[10, 19], 且应激12h时MPO活性降低, 抗氧化链条被打破, ROS自由基未被有效分解, 进一步氧化成为醛类物质, 因此, 热应激12h时MDA含量极显著上升。恢复后MDA含量显著下降, 与应激前水平相近, 表明恢复到最适温度后, 机体有所恢复, 细胞损伤程度下降^[16]。

鱼类补体是血清和体液中多种具有酶活性的球蛋白, 在活化状态下, 参与免疫并维护内环境稳定, 在机体防御中发挥重要作用^[16]。虹鳟在捕捞应激10min后, 血浆中补体C3含量增加^[20]。莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)在30℃和35℃应激24h后血浆中补体比27℃(对照组)显著上升^[21]。在本研究中, 各应激组补体C3的含量有上升的趋势, 12h时补体C3显著高于其他应激组和应激前, 这可能是热应激刺激机体迅速合成补体C3, 促进吞噬细胞的吞噬作用, 提高鱼体抗应激能力^[22]。

GOT和GPT是检测肝脏正常功能的重要指标^[23]。在正常情况下, GOT和GPT主要存在于肝脏和其他组织的线粒体内, 只有少量被释放到血液中, 因此血清中的转氨酶活性较小^[24]。在机体受到损伤时, 肝细胞膜通透性改变, 使胞浆酶大量地释放到血液中, 因此血清中GOT和GPT含量有明显上升。在本研究中, 热应激使血清中GOT和GPT活性有升高趋

势, 表明热应激对鱼体肝细胞造成了损害。恢复到适温6h, 血清内GOT和GPT活性仍显著高于应激前, 推测可能是持续热应激12h对鱼体肝脏造成了不可逆损伤或者损伤修复还需要更长时间。

3.2 热应激对齐口裂腹鱼细胞凋亡率的影响

细胞凋亡(Apoptosis)也称程序性细胞死亡(Programmed cell death, PCD), 是细胞在生理或病理条件下, 由基因调控的主动有序的自我消亡过程, 最终导致细胞死亡^[25]。高温、诱变剂等很多因素均可以诱导细胞凋亡^[26]。研究发现持续热应激时间越长, 细胞凋亡率越高^[25, 27]。HSP 70作为一种分子伴侣, 平时的表达量很低, 但当细胞遇到环境因素应激时, 其表达量会快速增加, HSP70高表达可以降低细胞凋亡的程度, 但HSP70的保护能力有限^[10, 28, 29]。在本研究中, 各应激组细胞凋亡率均显著高于应激前, 说明热应激对鱼体造成不良影响, 会诱导细胞发生凋亡。4h时细胞凋亡率达到最大值, 而应激8h、12h和恢复适温6h细胞凋亡率显著下降, 可能是由于细胞HSP70的高表达降低了细胞凋亡率, 鱼体自身免疫系统起到一定的防御作用, 从而导致凋亡减少。

总之, 本研究发现热应激导致齐口裂腹鱼表现出强烈的应激反应, SOD、MPO、C3等的活性或含量升高, 表明机体通过非特异免疫提高对热应激的抵抗能力; 血清MDA含量显著升高, 表明热应激导致机体细胞膜受损; GOT和GPT在恢复到适温后活性仍显著高于应激前, 说明机体肝脏组织受到严重损伤, 导致转氨酶由损伤肝组织逸出进入血液。另外, 热应激可诱导细胞凋亡, 但由于鱼体自身的免疫系统和重要酶类会起到一定防御作用, 所以持续应激8h后, 细胞凋亡率有所下降。本研究结果可为研究与了解齐口裂腹鱼抗高温应激的调控机理提供基础数据, 同时也有助于养殖业者了解热应激的不利影响, 并做好防御措施。

参考文献:

- [1] Xu Y Q, Cao Z W, Ding Z Y, *et al.* Effects and prevention of high temperature on fishes [J]. *Fisheries Science*, 2010, **29**(4): 235—242 [许友卿, 曹占旺, 丁兆坤, 等. 高温对鱼类的影响及其预防研究. 水产科学, 2010, **29**(4): 235—242]
- [2] Scaion D, Belhomme M, Sébert P. Pressure and temperature interactions on aerobic metabolism of migrating European silver eel [J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2008, **164**(3): 319—322
- [3] August S M, Hicks B J. Water temperature and upstream migration of glass eels in New Zealand: implications of

- climate change [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2007, **81**(2): 195—205
- [4] Pörtner H O, Berdal B, Blust R, *et al.* Climate induced temperature effects on growth performance, fecundity and recruitment in marine fish: developing a hypothesis for cause and effect relationships in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and common eelpout (*Zoarces viviparus*) [J]. *Continental Shelf Research*, 2001, **21**(18—19): 1975—1997
- [5] Wang W B, Li A H. The effect of environmental stress to fish immune system [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(4): 368—374 [王文博, 李爱华. 环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究概况. 水产学报, 2002, **26**(4): 368—374]
- [6] Zhou Y, Guo W C, Yang Z G, *et al.* Advances in the study of haematological indices of fish [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2001, **10**(2): 163—165 [周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展. 上海水产大学学报, 2001, **10**(2): 163—165]
- [7] Wu Y F, Wu C Z. Fish in the Tibetan Plateau [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press. 1992, 361—365 [武云飞, 吴翠珍. 青藏高原鱼类. 成都: 四川科学技术出版社. 1992, 361—365]
- [8] Chen Y F, Cao W X, Yue P Q. Chinese Journal of Animal Osteichthyes Common Carp (2) *Schizothoracinae* [M]. Beijing: Science Press. 2000, 292—294 [陈毅峰, 曹文宣, 乐佩琦. 中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下)裂腹鱼亚科. 北京: 科学出版社. 2000, 292—294]
- [9] Geng Y, Wang K Y, Huang X L, *et al.* *Streptococcus agalactiae*, an emerging pathogen for cultured Ya-fish, *Schizothorax prenanti*, in China [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2012, **59**(4): 369—375
- [10] Lam P, Harvie E A, Huttenlocher A. Heat shock modulates neutrophil motility in zebrafish [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(12): e84436
- [11] Haugland G T, Jakobsen R A, Vestvik N, *et al.* Phagocytosis and respiratory burst activity in Lumpsucker (*Cyclopterus lumpus* L.) leucocytes analysed by flow cytometry [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(10): e47909
- [12] Liu X, Li K, Du J, *et al.* Growth rate, catalase and superoxide dismutase activities in rock carp (*Procypris rabaudi* Tchang) exposed to supersaturated total dissolved gas [J]. *Journal of Zhejiang University Science B (Biomed & Biotechnology)*, 2011, **12**(11): 909—914
- [13] Klebanoff S J. Myeloperoxidase [J]. *Proceedings of the Association of American Physicians*, 1999, **111**(5): 383—389
- [14] Kutter D. Prevalence of myeloperoxidase deficiency: population studies using Bayer-Technicon automated hematology [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 1998, **76**(10): 669—675
- [15] Cooper L C, Dial E J, Lichtenberger L M. Effects of milk, prostaglandin, and antacid on experimentally induced duodenitis in the rat Use of myeloperoxidase as an index of inflammation [J]. *Digestive Diseases & Sciences*, 1990, **35**(10): 1211—1216
- [16] Wang Y N, Liu Z, Kang Y J, *et al.* Effects of heat stress on some nonspecific immunity parameters in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, **23**(5): 634—642 [王艳妮, 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. 农业生物技术学报, 2015, **23**(5): 634—642]
- [17] Sun X L, Xing K Z, Chen C X, *et al.* The effects of acute temperature stress on blood parameters in half-smooth tongue-sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *Fisheries Science*, 2010, **29**(7): 387—392 [孙学亮, 邢克智, 陈成勋, 等. 急性温度胁迫对半滑舌鳎血液指标的影响. 水产科学, 2010, **29**(7): 387—392]
- [18] Zhou X, Dong Y W, Wang F, *et al.* Effect of rapid temperature change on expression of hsp70 and hsp90 in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, **37**(2): 216—221 [周鑫, 董云伟, 王芳等. 草鱼hsp70和hsp90对温度急性变化的响应. 水产学报, 2013, **37**(2): 216—221]
- [19] Heredia-Middleton P, Brunelli O, Drew R E, *et al.* Heat shock protein (HSP70) RNA expression differs among rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) clonal lines [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B (Biochemistry and Molecular Biology)*, 2008, **149**(4): 552—556
- [20] Demers N E. The acute effects of stress on plasma proteins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [D]. Oregon State University, Supervisor: Bayne Christopher J. 1994
- [21] Ndong D, Chen Y Y, Lin Y H, *et al.* The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, **22**(6): 686—694
- [22] Sakai D K. Repertoire of complement in immunological defense mechanisms of fish [J]. *Annual Research of Fish Disease*, 1992, **2**: 223—247
- [23] Jyothi B, Narayan G. Effect of phorate on certain protein profiles of serum in freshwater fish *Clarias batrachus* [J]. *Journal of Environmental Biology*, 1997, **18**: 137—140
- [24] Chen C, Huang F, Shu Q Y, *et al.* Effects of dietary conjugated linoleic acids on growth performance, muscle composition, AST and ALT activities in serum in juveniles grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(3): 647—651 [陈晨, 黄峰, 舒秋艳, 等. 共轭亚油酸对草鱼生长、肌肉成分、谷草转氨酶及谷丙转氨酶活性的影响. 水生生物学报, 2010, **34**(3): 647—651]
- [25] Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease [J]. *Cell*, 2011, **147**(4): 742—758
- [26] Cao J, Chen J, Wang J, *et al.* Effects of fluoride on liver

- apoptosis and Bcl-2, Bax protein expression in freshwater teleost, *Cyprinus carpio* [J]. *Chemosphere*, 2013, **91**(8): 1203—1212
- [27] Taleb M, Brandon C S, Lee F, *et al.* Hsp70 inhibits aminoglycoside- induced hair cell death and is necessary for the protective effect of heat shock [J]. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 2008, **9**: 277—289
- [28] Long L L, Han Y L, Sheng Z, *et al.* Expression analysis of HSP70 in the testis of *Octopus tankahkeei* under thermal stress [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 2015, **187**: 150—159
- [29] Wang F, Li B, Yang B P, *et al.* Effects of heat shock protein 70 overexpression on apoptosis of K-562 cell caused by hyperthermia [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2001, **30**(2): 65—67 [王枫, 李泊, 杨宝平, 等. 预热诱导 K562 细胞热应激蛋白 70 高表达对高温引起细胞凋亡的影响. 卫生研究, 2001, **30**(2): 65—67]

EFFECTS OF HEAT STRESS ON SOME NON- SPECIFIC IMMUNE FACTORS AND BLOOD CELL APOPTOSIS IN *SCHIZOTHORAX PRENATI*

HUANG Zheng-Lan-Yi, CHEN Shi-Jing, ZHANG Zheng-Shi, XIANG Meng-Bin, LUO Hui and YE Hua

(Southwest University, Fisheries Breeding and Healthy Cultivation Research Center, Chongqing 402460, China)

Abstract: *Schizothorax prenati*, an important cold-water fish in China, is a precious commercial fish in the upper Yangtze River. The current study investigated the effects of heat stress and recovery on the damage of organism, the functions of non-specific immunity and apoptosis in *Schizothorax prenati* under 3 conditions: before heat stress (19°C, control group), after heat stress (27°C for 0, 2, 4, 8 and 12h, respectively; experimental groups) and 6h after heat stress recovery (19°C recovery group). The results indicated that the activity of superoxide dismutase (SOD) increased at 0, 4, 8 and 12h after stress, and it increased significantly at 0, 12h compared with the pre-stress ($P<0.01$). The activity of myeloperoxidase (MPO) reached the maximum level at 4h. The activity of glutamic-oxalacetic transaminase (GOT) in all experimental groups had no significant difference compared with the control group, and it was significantly higher than that in the control group at 6h after recovery ($P<0.01$). The activity of glutamic-pyruvic transaminase (GPT) at 0, 4, 12h after stress and 6h after recovery was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$). The content of malonaldehyde (MDA) at 2, 4, and 12h after heat stress was significantly higher than that in the control group ($P<0.01$), and it was significantly higher than that in the pre-stress at 8h ($P<0.05$), which reached the maximum level at 12h after stress, and the content of MDA at 6h after recovery returned to pre-stress levels ($P<0.05$). C3 complement (C3) level kept rising and was significantly higher than that of the control group at 12h under heat stress ($P<0.05$), but it decreased at 6h after recovery having significant difference from the control group ($P>0.05$). Compared with the pre-stress group, apoptosis rate in all experimental groups was significantly higher after heat stress (27) ($P<0.05$) and reached the maximum level (52.42%) at 4h after treatment, while declined markedly at 6h after recovery. These results indicated that heat stress changed the non-specific immunity of the organism and induced inflammation and induced cells damage, but all functions can recover gradually after the temperature returning to the moderate level. The results provided basic data for further research on the mechanism of high temperature adaption in *Schizothorax prenati*, as well as a scientific basis for temperature control during cultivation and transit of this species.

Key words: *Schizothorax prenati*; Heat stress; Non-specific immunity; Apoptosis