

Sun S X, Ye W H, Sun L H, *et al.* Mechanism of arachidonic acid enhancing hypoxia tolerance in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(1): 012616. [孙守向, 叶伟豪, 孙丽慧, 等. 花生四烯酸提高大口黑鲈低溶氧耐受能力的机制 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(1): 012616.]

花生四烯酸提高大口黑鲈低溶氧耐受能力的机制

孙守向^{1,2*} 叶伟豪^{3*} 孙丽慧^{1,2} 张海琪^{1,2} 李倩^{1,2} 姜建湖^{1,2} 陈建明^{1,2}
高令梅^{1,2} 彭俊^{1,2} 杨必成^{1,2} 郭建林^{1,2}

(1. 浙江省淡水水产研究所, 湖州 313000; 2. 农业农村部淡水渔业健康养殖实验室, 湖州 313000; 3. 苏州大学, 苏州医学院生命科学学院, 苏州 215000)

摘要: 为探讨低溶氧胁迫对肝脏花生四烯酸(AA)代谢的影响及添加AA对低氧应激的缓解作用, 研究以大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)为研究对象, 通过间歇性低氧胁迫和外源补充AA投喂实验, 进行生理生化、肝脏及鳃组织病理、低氧耐受能力及分子生物学等分析测定。结果表明: 低溶氧胁迫显著增加大口黑鲈全血的血红蛋白及高铁血红蛋白水平($P<0.05$), 诱导鳃组织鳃小片间隙细胞团减少及鳃小片细长等结构性变化, 提高肝脏血管生成相关基因(*vegfa*、*mmp2*、*jagged*和*notch1*)表达水平($P<0.05$), 同时降低肝脏总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性, 诱导丙二醛(MDA)累积($P<0.05$)。低溶氧胁迫也诱导肝脏组织脂质代谢重塑, 表现为饱和脂肪酸水平的升高及多不饱和脂肪酸(PUFA)水平降低, 而AA含量呈现特异性累积特征($P<0.05$), 提示其可能涉及低溶氧适应性调控。通过外源补充AA显著降低大口黑鲈的窒息点(由1.08降至0.5 mg/L), 延长低溶氧耐受时间, 并显著增强肝脏的T-AOC、SOD、CAT活性($P<0.05$); AA补充并没有显著影响低氧诱导的鳃组织结构变化, 而是表现出更显著的肝脏血管生成水平, 补充外源AA显著提高大口黑鲈肝脏促血管生成活性物质前列腺素E2 (PGE2)和环氧二十碳三烯酸(EETs)的含量($P<0.05$), *vegfa*、*vegfr2*、*mmp2*、*jagged*和*notch1*基因表达水平上调($P<0.05$)。在低溶氧胁迫下, 大口黑鲈通过脂质代谢重塑促进肝脏AA累积, 进而代谢生成PGE2及EETs激活血管生成通路。研究结果揭示了鱼类通过AA代谢调控血管生成应对低溶氧胁迫的新机制, 为水产养殖中营养干预缓解低溶氧应激提供了理论依据。

关键词: 低溶氧胁迫; 血管生成; 花生四烯酸; 大口黑鲈

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)01-012616-11

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0144 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0144



溶解氧(DO)作为水生生态系统能量流动的核心介质, 其动态变化直接决定着水生生物的生理适应边界^[1,2]。全球水产养殖业快速发展的同时, 集约化养殖模式引发的环境胁迫与气候变化诱发的极端天气事件形成叠加效应, 使得养殖鱼类受到低氧胁迫的频率和程度逐渐严峻^[3,4]。在低溶氧条件下, 鱼体的氧气供应不足, 导致一系列生理生化反

应失衡, 对鱼类的生长发育、行为活动都会造成不利影响, 甚至会导致大量死亡, 严重损害经济效益^[5,6]。

研究指出低溶氧暴露会损害电子呼吸链, 导致活性氧过量生产, 进而诱导鱼类肝脏组织的氧化应激^[7-9]。为了应对低氧胁迫导致的负面影响, 鱼类也具备一系列低氧适应机制, 包括代谢调整与氧气利用效率的提高、鳃部结构和功能的适应等^[10-12]。

收稿日期: 2025-04-23; **修订日期:** 2025-06-05

基金项目: 中国博士后科学基金面上项目(2024M752872); 浙江省院所专项(2025YSZX04); 湖州市自然科学基金项目(2024YZ16)资助 [Supported by the China Postdoctoral Science Foundation (2024M752872); Institute Special Project of Zhejiang Province (2025YSZX04); the Huzhou Natural Science Fund Project (2024YZ16)]

作者简介: 孙守向(1996—), 男, 博士; 主要从事鱼类营养生理与环境互作研究。E-mail: 1141355018@qq.com 叶伟豪(2000—), 男, 硕士研究生; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: 1607321245@qq.com *共同第一作者

通信作者: 郭建林(1981—), 男, 高级工程师; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: wavegil@aliyun.com

另外,在低氧胁迫下鱼类肝脏的血管重塑,包括现有血管的扩张和新毛细血管网络的形成也被认为是一个重要的低氧适应特征^[13,14]。这种改变可以改善血液的运输和组织利用氧气的能力、增加能量利用效率、提高抗氧化酶活性,以抵抗缺氧造成的氧化应激和组织损伤^[15]。

花生四烯酸(C20:4n-6; AA)作为一种多不饱和脂肪酸,参与机体的多种生理和病理过程,AA可通过环氧合酶(COX)、脂氧合酶(LOX)及细胞色素P450 (CYP)酶进一步代谢,生成一系列生物活性介质,如前列腺素(PGs)、血栓素、脂氧素、白三烯(LTs)、羟基二十碳四烯酸、环氧二十碳四烯酸二醇等众多代谢产物,进而广泛参与到器官功能维持、炎症反应、药物代谢等生理过程^[16-18]。哺乳动物中的研究显示,AA与微血管生成密切相关,其调控的血管生成允许肿瘤获得足够的氧气和营养物质,尤其是其代谢产物在血管生成中的作用近年来成为研究热点^[19],但AA及其衍生物在淡水鱼类血管生成中的作用则鲜有研究。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)作为淡水名特优养殖品种,因其肉质细腻、生长速度快而成为消费者与养殖户的首选。研究表明肉食鱼类通常对缺氧表现出低耐受性^[20],而大口黑鲈的高密度养殖模式特点使其更易受到低氧胁迫的影响。因此,解析大口黑鲈应对低氧胁迫的生理适应策略,进而开发针对性应对策略,对完善其集约化养殖技术体系具有重要的科学价值和应用意义。本研究旨在揭示AA在大口黑鲈低氧适应机制中的作用,丰富鱼类低氧适应机理,为营养调控策略提高养殖鱼类的低氧耐受能力提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及日常管理

实验所用的大口黑鲈来自浙江省淡水水产研究所八里店综合实验基地,实验鱼在循环水系统中暂养,使用基础饲料饲喂2周。实验鱼在正式实验前停食24h。

1.2 低溶氧胁迫实验与样品采集

低溶氧胁迫实验 选取大口黑鲈[(12.52±0.02) g] 180尾,随机分成2个组(常氧组[CON]、低氧组[HS]),每组3个平行缸,每缸30尾鱼。为了模拟养殖环境中的缺氧暴露模式,本研究对大口黑鲈执行间歇性低溶氧胁迫。间歇低溶氧胁迫操作方法参考文献^[21],通过向养殖缸中注入氮气或空气来控制间歇性缺氧暴露。如图1所示,每天17:00,向水中注入氮气以降低溶解氧水平,在大约1h内将

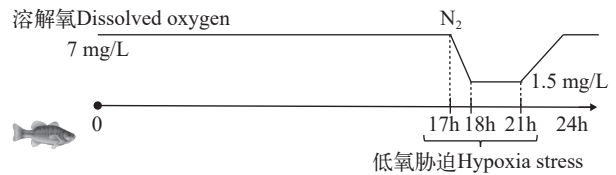


图1 间歇性低氧胁迫实验流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the intermittent hypoxic stress experiment procedure

溶解氧降至1.5 mg/L,然后将鱼在缺氧环境中保持3h。在缺氧暴露结束后,立即曝气,使氧气水平恢复到7.0 mg/L以上。实验期间采用商品饲料近饱食投喂各组实验鱼,实验周期为2周。

实验结束后使用MS-222 (60 mg/L, Sigma)对实验鱼进行麻醉,每组随机选取3尾实验鱼,使用肝素钠抗凝剂浸润过的1 mL无菌针管尾静脉抽血;每组各取9尾鱼肝脏组织一部分用于酶活检测,一部分用于基因表达分析,同时取各组9尾鱼鳃组织用于基因表达分析,每3尾鱼组织混为1个平行,共3个平行,液氮冷冻后保存于-80℃;另每组各取3尾鱼的肝脏及鳃组织保存在4%多聚甲醛用于进行病理切片分析;每组取3尾鱼肝脏组织,液氮冷冻后保存于-80℃用于基因表达和脂肪酸组成分析。

1.3 养殖实验及样品采集

饲料制作 自汉贝水产饲料公司购买不含脂肪源的大口黑鲈基础饲料。脂肪源与花生四烯酸以真空喷涂的方式进行添加以避免传统制粒过程中花生四烯酸的热降解。脂肪源由大豆油与亚麻籽油按1:1的比例混合而成,分别制备添加5%脂肪源(对照组)及4.6%脂肪源+0.4%AA (AA组)两组等氮等脂(营养成分:粗蛋白53.57;粗脂肪8.62;粗灰分10.47, AA水平[占总脂质水平]:对照组0.48%;AA组5.13%)的实验饲料。喷涂完成后的饲料样本被快速转移至-20℃冷冻条件下保存。

投喂实验 养殖实验在浙江省淡水水产研究所综合实验基地循环水养殖系统中进行,养殖缸半径为100 cm,水深60 cm。挑选240尾健康的大口黑鲈幼鱼[(12.52±0.02) g],随机分成2个组,每组3个平行缸,每缸40尾鱼。实验期间每天按体重3%投喂饲料,每天投喂2次,每两周称重1次调整投喂量,实验周期为8周。养殖水温26—29℃,溶解氧>7.0 mg/L, pH 6.8—7.3, 氨氮<0.3 mg/L, 亚硝酸盐<0.15 mg/L。本研究获得了浙江省淡水水产研究所动物实验伦理委员会审批(审批号: ZJIFF20210302),实验过程中操作人员严格遵守浙江省淡水水产研究所动物实验伦理委员会规范。

在养殖实验结束后停食24h,对每个养殖箱进

行计数和称重, 计算各组的末均重(FBW)、增重率(WGR)、饲料系数(FCR)、成活率(SR)。每缸随机取6尾实验鱼, 测量体重、体长, 称量内脏及肝脏重量, 计算各组实验鱼肥满度(CF)、脏体比(VSI)及肝体比(HSI)。

计算公式:

增重率 (Weight gain rate, WGR, %)=($W_t - W_0$)/ $W_0 \times 100$

特定生长率 (Specific growth rate, SGR, %/d)=($\ln W_t - \ln W_0$)/ $t \times 100$

饲料系数 (Feed conversion ratio, FCR)= $F/(W_t - W_0)$

存活率 (Survival rate, SR, %)= $N_t/N_0 \times 100$

脏体比 (Viscerasomatic index, VSI)=(W_v/W) $\times 100$

肝体比 (Hepatosomatic index, HSI)=(W_H/W) $\times 100$

肥满度 (Condition factor, CF, g/cm³)= W/L^3

式中, W_0 、 W_t 分别代表初均重和末均重(g); t 代表养殖天数(d); F 代表平均摄食量(g); N_t 、 N_0 分别代表实验结束和开始时大口黑鲈尾数。 W_v 、 W_H 、 W 分别代表内脏、肝脏及全鱼重量(g); L 代表体长(cm)。

样品采集 每缸随机取10尾大口黑鲈进行室息点及耗氧率检测; 随机取3尾鱼进行鱼体粗成分分析。每组取60尾鱼, 随机分到3个养殖缸, 进行为期2周的间歇性低氧胁迫实验, 在低氧胁迫实验结束后, 根据1.2中的取样方式取实验鱼的血液、肝脏和鳃组织样品用于肝脏酶活、血红蛋白水平、病理切片、基因表达、脂肪酸组成指标检测, 另每组随机取6尾鱼的肝脏组织测定前列腺素E2 (PGE2) 及环氧二十碳三烯酸(EETs)含量。

1.4 指标检测

肝脏酶活指标检测 根据制造商的说明, 测定大口黑鲈肝脏组织中的丙二醛(MDA; 碧云天, S0131M)、超氧化物歧化酶(SOD; 碧云天, S0101M)、过氧化氢酶(CAT; 南京建成, A007-2-1)和总抗氧化能力(T-AOC; 碧云天, S0119)。

血红蛋白水平 根据试剂盒说明(A102-1-1, 南京建成), 测定大口黑鲈全血的血红蛋白水平及高铁血红蛋白水平。

病理切片 大口黑鲈的肝脏组织于4%多聚甲醛溶液中固定24h后, 经过脱水、透蜡、包埋、切片、染色等步骤制作成肝组织切片, 通过HE染色观测肝内血管生成水平, 借助Image J计算肝脏血管面积占比。

基因表达分析 根据制造商的说明, 使用TRIzol试剂(翌圣, 19201ES60)提取大口黑鲈肝脏及鳃组织的总RNA。分别使用琼脂糖凝胶电泳和微

量分光光度法评估总RNA的质量和浓度。使用HiScript[®] III RT SuperMix (诺唯赞, R323-01)将总RNA逆转录为cDNA。进行qPCR运行参数参照[22, 23]中描述的参数。以 β -肌动蛋白(β -actin)和18S核糖体RNA(18S RNA)为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法评估靶基因的表达(表1)。

脂肪酸组成检测 通过氯仿/甲醇法提取大口黑鲈肝脏的总脂质, 后根据Sun等[23]的报道对总脂质进行甲酯化及借助GC-MS的脂肪酸组成检测。

花生四烯酸衍生物检测 采用鱼PGE2测定试剂盒根据制造商的说明测定大口黑鲈肝脏组织中的前列腺素E2水平; 根据Zhou等[24]的方法, 采用液相质谱联用测定大口黑鲈肝脏组织的环氧二十碳三烯酸(EETs)水平。

1.5 室息点及耗氧率检测

在养殖实验结束后, 每组随机取10尾大口黑鲈测定其室息点, 实验鱼被分别放置在250 L的密闭水体中, 记录水体初始溶解氧水平, 每0.5h记录1次水体溶氧, 直至第一尾大口黑鲈晕厥时的水体溶解氧水平为其室息点。并根据以下公式计算各组实

表1 引物列表

Tab. 1 Quantitative PCR primers in the study

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'—3')
血管内皮生长因子a Vascular endothelial growth factor a (vegfa)	GCACTTTGCCCTCACTC CGCATCAACACCACGCAGGAC
血管内皮生长因子受体2 Vascular endothelial growth factor receptor 2 (vegfr2)	TTGCTGCTGTTGTGCG ACCAGAGTGCCTCCA
基质金属蛋白酶2 Matrix metalloproteinase 2 (mmp2)	TCCCAGATTATCCCACC GCACTTTGCCCTCACTC
锯齿状典型Notch配体 Jagged canonical notch ligand (jagged)	CACCAAATGCCATCCTA ATCCTCCACAGTCAAGC
缺口受体蛋白Notch-1 Notch1	GGGGTCGTTTTTCATTA TCTGTCTGCTTTTCGG
细胞色素C氧化酶亚基1 Cytochrome C oxidase subunit I (cox1)	TCTACCACCTGGCATCCGCTGAT TGAGAGTTGCGACCTCCACCTA
细胞色素C氧化酶亚基2 cox2	GCCTGGTCCCTGGTCTGATGAT ATGAGCCGTGTGGTCTGGAAGA
前列腺素E合酶 Prostaglandin E synthase (pges)	CAACACGCTCACTGGCCTACAC TCTCCGGTATCCTCCTCTGCT
细胞色素P450家族2亚家族J成员2 Cytochrome P450 family 2 subfamily J member 2 (cyp2j2)	TCGGTGACGGATTGTGGTGTAT GCGAATCTCCTCTGCTGCTTCC
18S核糖体RNA 18S RNA	CGGTCGGCGTCCAACCTTCTTAG CTCTCGGCGAAGGGTAGACACA
β -肌动蛋白 β -actin	GCCCTCTCCAGCCTTCTTTCC ACCTCCAGACAGCACAGTGTG

验鱼的耗氧率:

$$\text{耗氧率}[\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})]=(\text{DO}_0-\text{DO}_4)\times V/W$$

式中, DO_0 与 DO_4 分别为水体初始溶解氧及4h后的溶解氧(mg/L); V 代表水体体积(L); W 为实验鱼总重(g)。

1.6 数据处理与统计

实验结果采用平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 两组数据间进行 T -test比较。采用IBM SPSS Statistics 22进行统计分析, $P>0.05$ 表示差异不显著, $*P<0.05$ 表示差异显著, $**P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈肝脏抗氧化能力的影响

如表2所示, 相对于常氧组, 间歇性低氧胁迫显著降低了大口黑鲈肝脏T-AOC水平及SOD、CAT活性, 同时MDA水平显著增加。

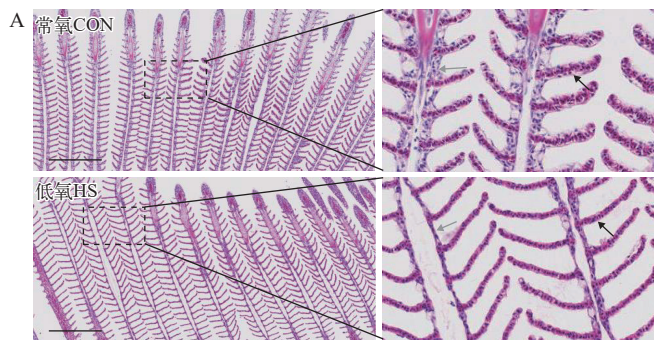
2.2 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈鳃组织结构及血管生成基因表达水平的影响

如图2所示, 间歇性低氧胁迫显著改变了大口黑鲈的鳃组织结构, 表现为鳃小片间隙细胞团的宽度降低, 鳃小片长度的增加及厚度的降低(图2A)。同时, 间歇性低氧胁迫也显著提高了血管生成相关基因 $vegfa$ 、 $vegfr2$ 、 $mmp2$ 的表达水平($P<0.05$; 图2B)。

表2 低氧应激对大口黑鲈肝脏组织抗氧化能力的影响

Tab. 2 Effects of hypoxic stress on the antioxidant capacity in liver of largemouth bass

指标Index	常氧 CON	低氧 HS
T-AOC (mmol/g prot)	1.79 $\pm$ 0.12	1.5 $\pm$ 0.05*
SOD (U/g prot)	3.59 $\pm$ 0.13	2.85 $\pm$ 0.13**
CAT (U/mg prot)	53.96 $\pm$ 1.99	41.79 $\pm$ 3.71*
MDA ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)	10.53 $\pm$ 0.43	14.73 $\pm$ 1**



2.3 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈血红蛋白水平及肝脏血管生成的影响

如图3所示, 相对于常氧组, 间歇性低氧胁迫组大口黑鲈全血的血红蛋白及高铁血红蛋白水平显著上升($P<0.05$; 图3A—B)。病理切片观察到低氧组大口黑鲈肝脏组织血管更加密集, 并伴随血管扩张(图3C)。imagJ统计低氧组大口黑鲈肝脏血管面积显著高于常氧组($P<0.05$; 图3D)。同时, 低氧胁迫显著提高了大口黑鲈肝脏组织血管生成相关基因 $vegfa$ 、 $mmp2$ 、 $jagged$ 和 $notch1$ 的表达水平($P<0.05$), 但 $vegfr2$ 的表达水平并无显著差异($P>0.05$; 图3E)。

2.4 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈肝脏花生四烯酸水平的影响

如图4所示, 相对于常氧组, 低氧组大口黑鲈肝脏组织的脂质含量显著升高($P<0.05$; 图4A)。在脂肪酸组成方面, 低氧胁迫导致大口黑鲈饱和脂肪酸(SFA)水平显著累积($P<0.05$; 图4B), 两组实验组肝脏组织单不饱和脂肪酸(MUFA)水平无显著差异($P>0.05$; 图4C), 多不饱和脂肪酸(PUFA)含量下降($P<0.05$; 图4B), 但是PUFA之一的AA则逆势累积($P<0.05$; 图4C)。

2.5 饲料中添加花生四烯酸对大口黑鲈生长性能的影响

如表3所示, 对照组与AA组大口黑鲈的末重、增重率、饵料系数、存活率、肥满度均没有显著性差异($P>0.05$); 但AA组大口黑鲈表现出显著低于对照组的肝体比及脏体比($P<0.05$)。鱼体成分方面, AA组与对照组大口黑鲈的粗蛋白、灰分、水分含量无显著性差异($P>0.05$), AA组的鱼体粗脂肪水平显著低于对照组($P<0.05$)。同时本文也检测了两组实验鱼肝脏组织的脂肪酸组成, 结果显示

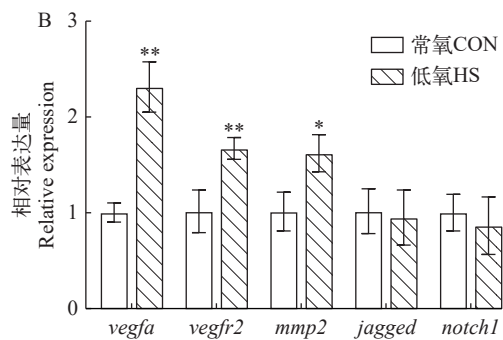


图2 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈鳃组织结构及血管生成基因表达水平的影响

Fig. 2 Effects of intermittent hypoxic stress on gill histology and angiogenesis-related gene expression in largemouth bass

A. 大口黑鲈鳃组织病理切片, 灰色箭头表示鳃小片间隙细胞团, 黑色箭头表示鳃小片; 比例尺为300 μm ; B. 鳃组织血管生成相关基因的相对表达量

A. Histopathological sections of gill tissue; The gray arrow indicates interlamellar cell mass, and the black arrow points to gill lamella; Scale bar=300 μm ; (B) The relative expression of angiogenesis-related genes in gill

AA组大口黑鲈肝脏组织中的AA、C20:3n-6(AA去饱和底物)、C22:4n-6(AA延长产物)均表现出不同程度的差异性累积($P<0.05$; 表4)。

2.6 外源补充AA对大口黑鲈窒息点及耗氧率的影响

如图5A所示, AA饲料投喂后的大口黑鲈表现出显著增强的耐低氧能力, 表现为窒息点为0.5 mg/L显著低于对照组的1.08 mg/L, 低氧诱导的晕厥时间由8h延长至10h。同时AA组表现出相对高的耗氧率($P<0.05$; 图5B), 提示该组实验鱼具有更优异的

氧气吸收能力。

2.7 间歇性低氧胁迫对不同饲料组大口黑鲈肝脏抗氧化能力的影响

如表5所示, 相对于对照组(CON-HS), AA组(AA-HS)大口黑鲈肝脏组织的T-AOC水平、CAT和SOD活性均显著升高($P<0.05$), 但两组大口黑鲈肝脏组织MDA水平则无显著性差异($P>0.05$), 表明AA投喂一定程度上提高了大口黑鲈在间歇性低氧胁迫下的肝脏抗氧化能力。

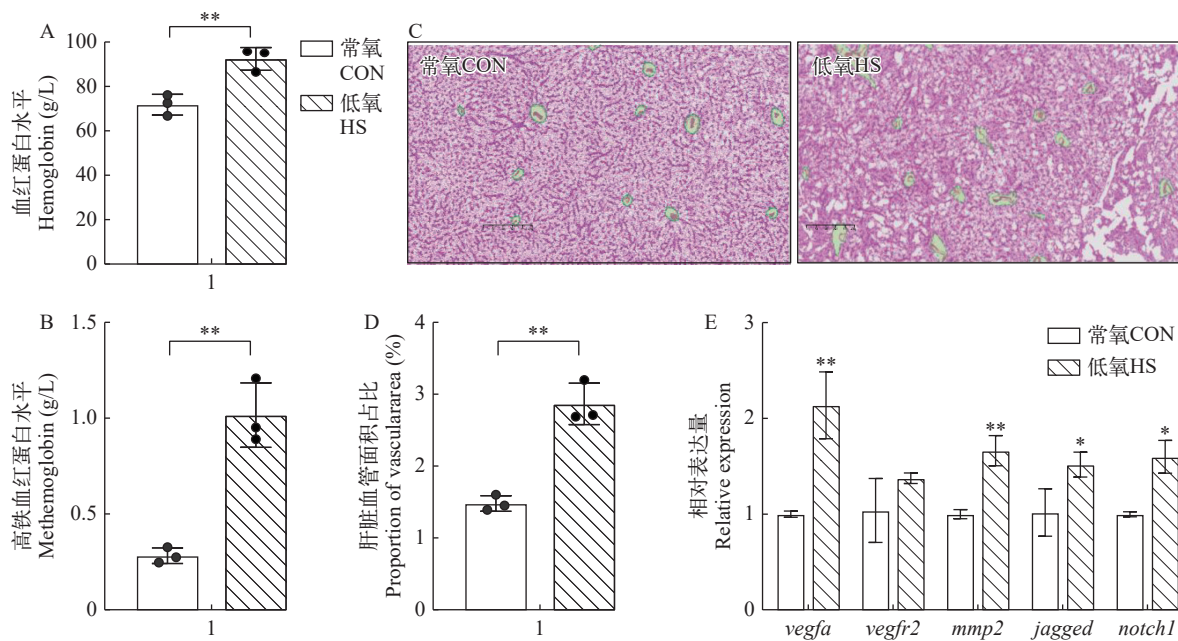


图3 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈血红蛋白水平及肝脏血管生成的影响

Fig. 3 Effects of intermittent hypoxic stress on hemoglobin levels and hepatic angiogenesis in largemouth bass

A. 血红蛋白水平; B. 高铁血红蛋白水平; C. 大口黑鲈肝组织病理切片, 浅绿色填充为血管, 比例尺为400 μ m; D. 肝脏血管面积占比; E. 肝脏血管生成相关基因的mRNA表达水平

A. Hemoglobin level; B. Methemoglobin level; C. Histopathological sections of liver tissue (light green areas indicate blood vessels; scale bar = 400 μ m); D. Percentage of hepatic vascular area; E. mRNA expression levels of angiogenesis-related genes in liver

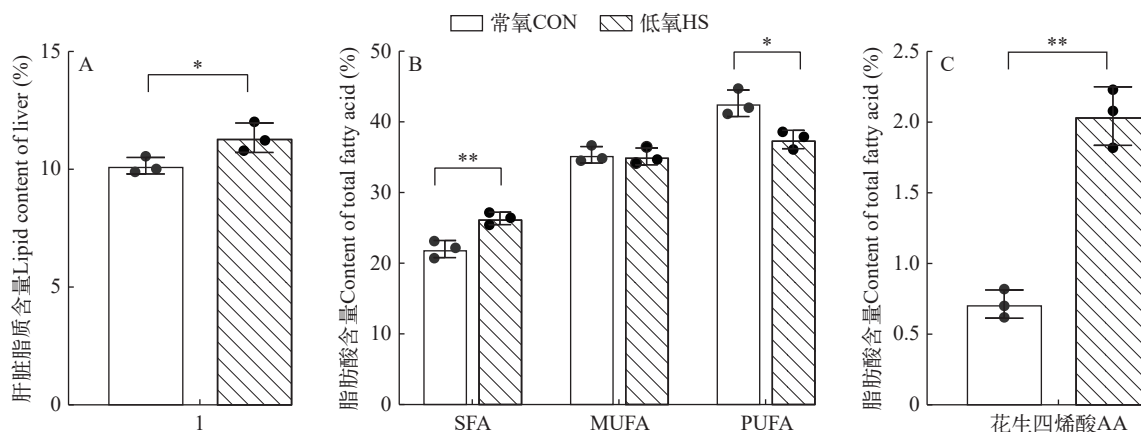


图4 间歇性低氧胁迫对大口黑鲈肝脏脂质含量及脂肪酸组成的影响

Fig. 4 Effects of intermittent hypoxic stress on hepatic fatty acid composition in largemouth bass

A. 肝脏脂质含量; B. SFA、MUFA和PUFA水平; C. AA水平

A. Lipid content of liver; B. Levels of SFA, MUFA, and PUFA; C. AA level

2.8 间歇性低氧胁迫对不同饲料组大口黑鲈鳃组织结构及血管生成基因表达水平的影响

如图 6 所示, 不同饲料投喂对鳃组织的病理结构影响不显著, 均表现出鳃小片间隙细胞团宽度的降低, 鳃小片的细长变化(图 6A)。但 AA 组鳃组织表现出显著增加的 *vegfa*、*mmp2* 及 *jagged* 基因的表达水平($P<0.05$; 图 6B)。

2.9 间歇性低氧胁迫对不同饲料组大口黑鲈肝脏血管生成的影响

在低氧胁迫下, 饲料中 AA 的添加显著提高了大口黑鲈在间歇性低氧胁迫下的肝脏血管生成水平, 体现为肝脏组织中肝脏血管面积占比的显著升高($P<0.05$; 图 7A—B)。同时相对于对照组大口黑鲈, AA 投喂显著提高了间歇性低氧胁迫下大口黑鲈肝脏组织血管生成相关基因(*vegfa*、*vegfr2*、*mmp2*、*jagged* 和 *notch1*) 的表达水平($P<0.05$; 图 7C)。

2.10 间歇性低氧胁迫对不同饲料组大口黑鲈肝脏花生四烯酸衍生物含量的影响

为了探究 AA 组高血管生成水平的生理机制, 本文检测了间歇性低氧胁迫下不同饲料组大口黑鲈肝脏组织的花生四烯酸衍生物的含量, 特别是具有促血管生成活性的 PGE2 及 EETs 的水平, 结果显示 AA 组肝脏组织的 PGE2 及 EETS 水平显著高于对照组($P<0.05$; 图 8A—B), 并且其合成相关基因也表现出显著高于对照组的表达水平($P<0.05$; 图 8C)。

3 讨论

3.1 低氧胁迫下大口黑鲈的血管生成响应及其器官特异性

低氧是诱导血管生成的主要环境因素, 同时血

表 3 饲料中添加花生四烯酸对大口黑鲈生长性能的影响

Tab. 3 Effects of arachidonic acid supplementation in feed on the growth performance of largemouth bass

指标Index	对照组CON	AA
初重IBW (g)	12.52±0.02	12.52±0.02
末重FBW (g)	80.78±1.27	80.49±1.09
增重率WGR (%)	545.07±9.62	542.76±8.10
饵料系数FCR	1.01±0.02	1.00±0.02
存活率SR (%)	100	100
肥满度CF (g/cm ³)	2.41±0.15	2.23±0.08
脏体比VSI	7.63±0.32	6.86±0.36**
肝体比HSI	1.77±0.21	1.37±0.12*
终末鱼体营养成分Final fish nutritional composition (%)		
粗蛋白Crude protein	16.98±0.23	17.43±0.17
粗脂肪Crude lipid	8.18±0.09	7.84±0.11*
灰分Ash	4.25±0.08	4.31±0.11
水分Moisture	69±0.47	69.71±0.49

管生成也是应对低氧胁迫的生理适应机制^[21, 25]。本研究结果显示 2 周的间歇低氧胁迫显著提高了大口黑鲈肝脏的血管系数, 同时伴随血液指标如血红蛋白水平的升高, 这与 Yan 等^[21]的研究相符。短时间的急性低氧胁迫可能更加趋向于血液学指标的变化, 包括红细胞的生成、能量代谢的调整^[6, 11], 而基于血管生成的低氧耐受策略则依赖于长期胁迫下的系统响应。由于血管生成涉及内皮细胞激活、增殖、迁移及新生血管网络的形成, 其过程需多基因协同调控和分子通路的动态整合, 是一个长

表 4 八周投喂实验后各组大口黑鲈肝脏组织的脂肪酸组成

Tab. 4 Fatty acid composition of liver tissue in largemouth bass from different groups after 8 weeks

指标Index	对照CON	AA
C14:0	0.92±0.1	1.07±0.11
C16:0	21.11±1.46	21.31±0.84
C18:0	7.33±0.63	6.62±0.38
C20:0	0.24±0.07	0.23±0.03
C14:1	0.39±0.06	0.25±0.08
C16:1	2.61±0.14	2.29±0.28
C18:1n-9	22.39±1.14	21.73±0.39
C18:1n-7	2.17±0.13	2.28±0.16
C20:1n-11	1.14±0.18	1.22±0.17
C18:2n-6	18.66±0.91	16.92±0.24*
C18:3n-6	0.3±0.03	0.23±0.04
C20:2n-6	0.59±0.05	0.7±0.08
C20:3n-6	2.21±0.22	2.81±0.17*
C20:4n-6	0.68±0.14	2.46±0.13**
C22:4n-6	0.53±0.06	0.79±0.11*
C18:3n-3	4.5±0.13	4.55±0.29
C18:4n-3	0.26±0.09	0.2±0.03
C20:3n-3	0.29±0.07	0.4±0.07
C20:4n-3	0.8±0.09	0.73±0.09
C20:5n-3	2.15±0.28	1.92±0.33
C22:5n-3	0.94±0.09	1.01±0.11
C22:6n-3	9.79±0.52	10.29±0.46

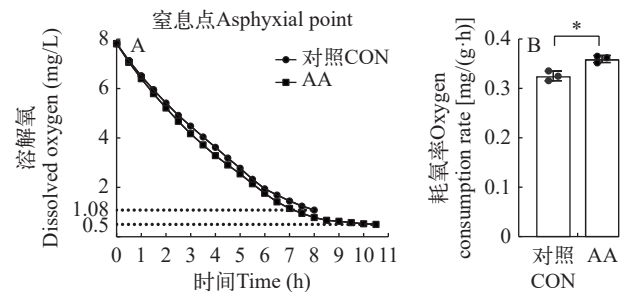


图 5 不同饲料投喂对大口黑鲈窒息点(A)与耗氧率(B)的影响
Fig. 5 Effects of different dietary treatments on asphyxiation point (A) and oxygen consumption rate (B) in largemouth bass

表 5 间歇性低氧应激对对照组与AA组大口黑鲈肝脏抗氧化能力的影响

Tab. 5 The effects of hypoxic stress on liver antioxidant capacity of largemouth bass in the CON and AA group

指标Index	对照-低氧CON-HS	AA-低氧AA-HS
T-AOC (mmol/g prot)	1.42±0.05	1.69±0.05**
SOD (U/g prot)	2.95±0.13	3.37±0.14*
CAT (U/mg prot)	38.3±2.17	50.66±2.44**
MDA (μmol/mg prot)	17.82±1.24	16.34±0.78

周期的过程^[26, 27]。低氧胁迫诱导的血管生成响应具有器官差异性。鳃组织作为鱼类高度血管化的呼吸器官,其丰富的微血管网络已构成高效的气血交换系统^[28]。尽管本研究中低氧胁迫可上调部分血管生成相关基因的表达,但鳃组织固有的血管密度饱和特性限制了其新生血管形成的潜力。因此,鳃组织更倾向于通过结构性重塑优化气血交换效率,典型表现为鳃小片间隙细胞团的显著减少及鳃

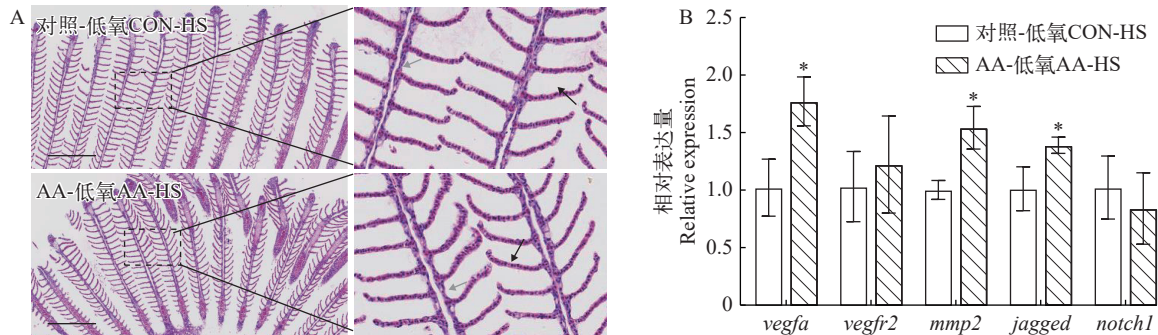


图 6 间歇性低氧胁迫对不同饲料组大口黑鲈鳃组织结构及血管生成基因表达水平的影响

Fig. 6 Differential responses of gill histostructure and vascular gene expression to intermittent hypoxia across dietary groups in largemouth bass

A. 大口黑鲈鳃组织病理切片, 灰色箭头表示鳃小片间隙细胞团, 黑色箭头表示鳃小片, 比例尺为300 μm; B. 鳃组织血管生成相关基因的mRNA表达水平

A. Histopathological sections of gill tissue; The gray arrow indicates the interlamellar cell mass, and the black arrow points to gill lamella. Scale bar=300 μm; B. mRNA expression levels of angiogenesis-related genes in gill

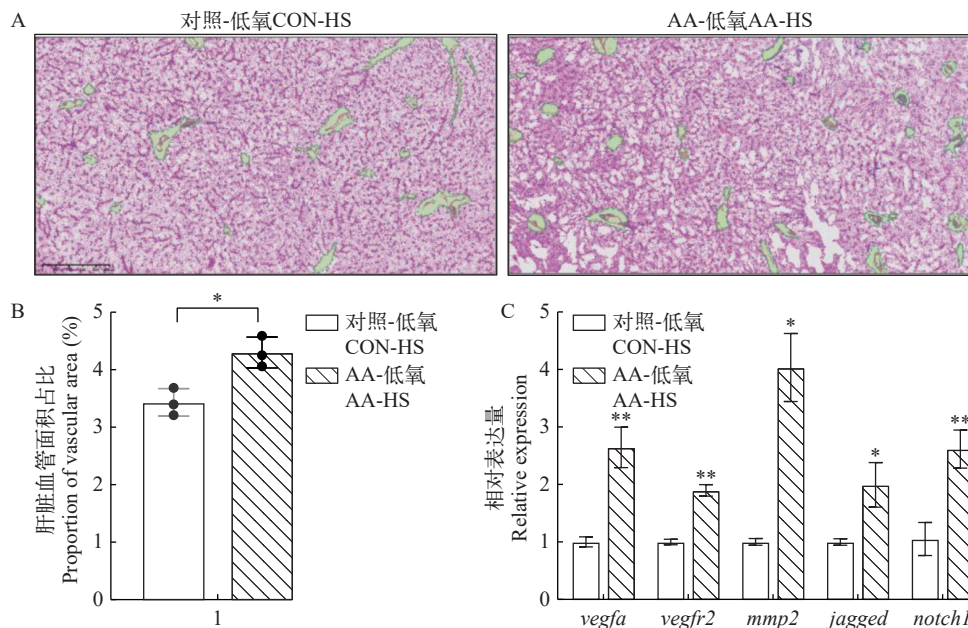


图 7 不同饲料投喂对大口黑鲈肝脏血管生成及相关基因表达水平的影响

Fig. 7 Effects of different dietary groups on hepatic angiogenesis and related gene expression under intermittent hypoxic stress

A. 大口黑鲈肝组织病理切片, 浅绿色填充为血管, 比例尺为400 μm; B. 肝脏血管面积占比; C. 肝脏血管生成相关基因的相对表达量

A. Histopathological sections of liver tissue (light green areas indicate blood vessels; scale bar=400 μm); B. Percentage of hepatic vascular area; C. Relative expression of angiogenesis-related genes in liver

小片的细长, 这些结构变化特征与鲫(*Carassius auratus*)和武昌鱼(*Megalobrama amblycephala*)响应低氧胁迫研究中观察到的结果相类似^[29, 30]。而在肝脏组织中, 间歇性低氧胁迫显著上调大口黑鲈肝脏血管生成相关基因(*vegfa*、*mmp2*、*jagged*和*notch1*)的表达, 并伴随血管密度和面积的增加。这一现象与硬骨鱼类低氧适应的保守机制相契合, 即通过激活缺氧诱导因子(Hif-1 α)信号通路以驱动血管的重塑^[13, 31]。作为氧感知的核心调控因子, Hif-1 α 在低氧条件下通过稳定其蛋白结构, 启动下游靶基因(如*vegfa*)的转录, 进而诱导内皮细胞增殖和血管生成^[32]。值得注意的是, *vegfa*和*notch1*在低氧组肝脏组织中的协同上调, 提示Notch信号通路可能通过调控*vegfa*的时空表达, 从而精细调节血管的分支和成熟^[33]。此外, 基质金属蛋白酶*mmp2*的表达增强可能通过降解细胞外基质, 为新生血管提供空间支持^[34]。这些结果表明, 大口黑鲈可能通过激活Hif-1 α -*vegfa*-*notch*轴实现肝脏血管网络的重构, 从而优化氧输送效率以应对低氧胁迫。

3.2 低氧胁迫诱导肝脏脂质代谢重塑与AA的特异性累积

本研究进一步揭示, 低氧胁迫改变了大口黑鲈肝脏组织的脂质含量和脂肪酸组成模式。低氧胁迫驱动鱼类能量代谢重编程显著改变其脂质代谢模式, 主要表现为依赖线粒体 β -氧化途径的有氧代谢转向糖酵解主导的无氧ATP生成^[5]。由于脂肪酸氧化需要大量的氧气参与, 其在缺氧环境下的代谢受限, 促使脂质代谢转向以能量储备和信号调控为核心的功能^[35]。在此过程中, 肝脏组织呈现特征性脂质沉积现象, 其机制涉及脂肪酸分解代谢关键酶系的下调, 以及过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 信号介导的脂肪酸摄取增强与甘油三酯合成通路的

协同激活^[36]。在脂肪酸组成方面, 低氧胁迫导致肝脏组织中的SFA显著累积, 伴随PUFA水平的下降, 这一现象可归因于脂肪酸的去饱和关键酶*Scd1*及*Fads2*的活性抑制。这些酶的催化功能高度依赖NADH和氧气供应, 而低氧环境显著削弱其去饱和能力^[37]。但值得注意的是, PUFA之一的AA含量逆势累积。研究显示, 鱼类细胞内源性AA主要来源包括2个途径: 一方面淡水鱼类可在脂肪酸延长酶(*elovls*)、去饱和酶(*fads2*)的作用下将低链不饱和脂肪酸如亚油酸合成AA^[18]; 另一方面, 在炎症、激素或应激信号的刺激下, 磷脂酶A2 (PLA2)被激活并特异性地水解膜磷脂sn-2位置上的酯键, 释放出细胞膜中的AA^[38]。后者的代谢过程并不会改变总脂肪酸组成模式的变化, 而仅仅改变了其存在形式。而在低氧条件下*Fads2*活性受抑提示肝脏游离AA来自其他补偿途径^[6], 例如源于全身性脂肪酸的补偿性动员, 另外*Fads2*的翻译后修饰过程(如去乙酰化修饰)可能增强了C20:3n-6的去饱和和喜好性以增加AA内源性合成^[39], 但需要进一步的研究佐证。

3.3 外源补充AA显著增强大口黑鲈的低氧耐受能力

基于AA在低氧胁迫大口黑鲈肝脏组织中的逆势累积现象, 促使我们探究其在鱼类抗低氧胁迫中的作用。本文探究了外源添加AA对大口黑鲈低氧应激的缓解作用, 结果显示饲料中添加AA显著降低了实验鱼的窒息点(从对照组的1.08降至0.5 mg/L), 并延长了低氧诱导的晕厥时间。窒息点是鱼类因缺氧昏迷接近死亡时的溶氧含量, 作为代谢水平和缺氧耐受性的关键指标^[40], 窒息点在一定程度上反映了一些鱼类人工繁殖和适应周围水生环境的难易程度, 该结果提示了AA组大口黑鲈耐低氧能力的改善。这一改善可能与AA组肝脏血管生成水平的显著升高有关: 间歇性低氧胁迫下AA组具有显

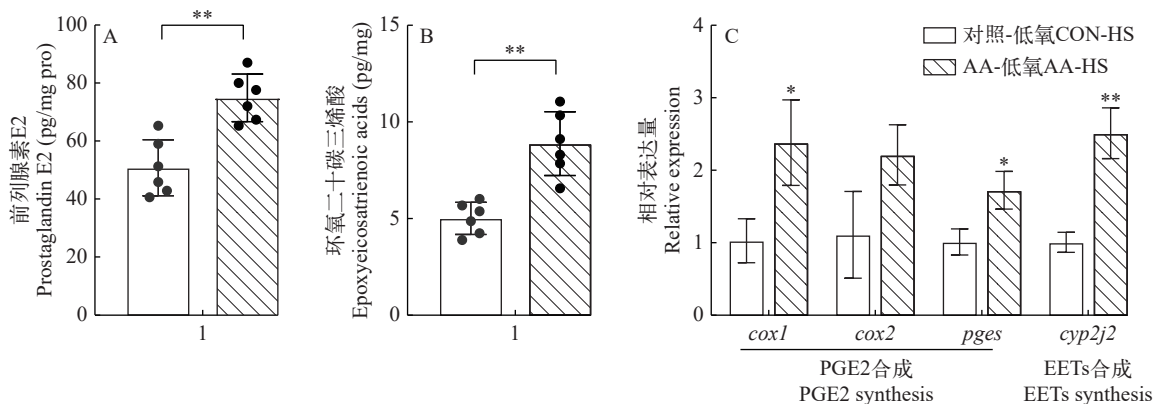


图8 间歇性低氧胁迫下不同饲料组大口黑鲈肝脏PGE₂、EETs水平及其合成相关基因表达水平

Fig. 8 Effects of different dietary groups on hepatic PGE₂, EETs levels, and their biosynthesis-related gene expression under intermittent hypoxic stress

著高于对照组的肝脏血管系数,并伴随血管生成相关基因的表达激活,提示AA组可以显著提高低氧胁迫下的肝脏血管生成水平。同时,在低氧胁迫下AA组大口黑鲈的肝脏抗氧化水平显著改善,表现为相对于对照组T-AOC、SOD、CAT活性的显著增强,这与之前的多项研究结果相似,即饲料中添加AA可以增强水产动物的抗氧化能力^[41-43]。然而,AA组肝脏组织的MDA水平并没有显著的改善,这可能与AA代谢产物之一的PGH₂的合成增加有关,因为其可在血栓素合酶的作用下分解为MDA^[44]。因此,AA添加对低氧胁迫下抗氧化能力的改善也可能来自肝脏血管生成的衍生益处,血管化的增加促进了组织利用氧气的的能力,改善了低氧胁迫下的负面影响。

从分子机制层面,AA的代谢途径及其对血管生成的调控涉及多条分子信号通路的协同作用^[17]。在低氧条件下,游离的花生四烯酸经COX、LOX和CYP450三条途径代谢为生物活性介质。其中,低氧环境可能通过诱导COX-2的表达,促进前列腺素(如PGE₂和PGI₂)的生成,后者通过激活EP/IP受体调控内皮细胞增殖和血管舒张,从而驱动血管新生^[16]。此外,CYP450途径生成的EETs能够通过上调Vegf及其受体表达,促进内皮细胞增殖和血管形成,并通过抑制NF- κ B通路减轻低氧诱导的炎症反应,进一步支持血管生成^[45,46]。本研究证实,AA组肝脏中PGE₂、EETs及其合成相关基因(*cox2*、*pges*和*cyp2j2*)的表达水平显著升高,提示AA代谢产物的累积可能是其促血管生成效应的关键分子基础。鉴于AA在血管重塑过程中的作用,本研究认为AA是大口黑鲈肝脏抗逆性血管生成的一种重要代谢物信号基础。

4 结论

综上所述,本研究探明低氧胁迫促进了大口黑鲈肝脏组织的血管生成水平,并发现了低氧胁迫下肝脏血管生成与AA累积的协同相关性。外源补充AA通过促进肝脏血管生成、降低窒息点、提高肝脏抗氧化水平,显著改善了大口黑鲈的低氧耐受能力。研究成果将增进对鱼类低氧适应机制的理解,并为水产养殖科学应对低氧胁迫提供理论依据。(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Ali A B, Mishra A. Effects of dissolved oxygen concentration on freshwater fish: a review [J]. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2022, **10**(4):

113-127.
 [2] Schindler D E. Warmer climate squeezes aquatic predators out of their preferred habitat [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, **114**(37): 9764-9765.
 [3] Jane S F, Hansen G J A, Kraemer B M, et al. Widespread deoxygenation of temperate lakes [J]. *Nature*, 2021, **594**(7861): 66-70.
 [4] Zhan Y, Ning B, Sun J, et al. Living in a hypoxic world: a review of the impacts of hypoxia on aquaculture [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023(194): 115207.
 [5] Abdel-Tawwab M, Monier M N, Hoseinifar S H, et al. Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, **45**(3): 997-1013.
 [6] Wang Z, Pu D, Zheng J, et al. Hypoxia-induced physiological responses in fish: From organism to tissue to molecular levels [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023(267): 115609.
 [7] Sun J L, Zhao L L, Liao L, et al. Interactive effect of thermal and hypoxia on largemouth bass (*Micropterus salmoides*) gill and liver: Aggravation of oxidative stress, inhibition of immunity and promotion of cell apoptosis [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(98): 923-936.
 [8] He K, Huang R, Cheng L, et al. Effects of dietary nano-iron on growth, hematological parameters, immune antioxidant response, and hypoxic tolerance in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2023(33): 101759.
 [9] Lu J, Zhang J J, Zhou G Q, et al. Effects of hypoxia stress on the express of *hif-1 α* , *glut-1* and *caspases* genes in largemouth bass “Youlu No. 3” [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2021, **48**(3): 141-147. [陆健, 张佳佳, 周国勤, 等. 低氧胁迫对大口黑鲈“优鲈3号” *hif-1 α* 、*glut-1*及*caspases*基因的影响 [J]. 水产科技情报, 2021, **48**(3): 141-147.]
 [10] Jia Y, Wang J, Gao Y, et al. Hypoxia tolerance, hematological, and biochemical response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2021(535): 736380.
 [11] Douxfils J, Deprez M, Mandiki S N M, et al. Physiological and proteomic responses to single and repeated hypoxia in juvenile Eurasian perch under domestication-clues to physiological acclimation and humoral immune modulations [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, **33**(5): 1112-1122.
 [12] Zhang L M, Liang H L, Mi H F, et al. Research progress on effects of hypoxic stress on fish and nutrient regulation strategies [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, **35**(10): 6207-6219. [张雷敏, 梁化亮, 米海峰, 等. 低氧胁迫对鱼类的影响以及营养调控策略的研究进展 [J]. 动物营养学报, 2023, **35**(10): 6207-6219.]
 [13] Zhao X, Li L, Li C, et al. Heat stress-induced endoplas-

- mic reticulum stress promotes liver apoptosis in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture*, 2022(546): 737401.
- [14] Wu S, Huang J, Li Y. A novel hypoxic lncRNA, LOC110520012 sponges miR-206-y to regulate angiogenesis and liver cell proliferation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by targeting vegfaa [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024(280): 116554.
- [15] Cerra M C, Filice M, Caferro A, *et al.* Cardiac hypoxia tolerance in fish: from functional responses to cell signals [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(2): 1460.
- [16] Hu Y, Li W, Cheng X, *et al.* Emerging roles and therapeutic applications of arachidonic acid pathways in cardiometabolic diseases [J]. *Circulation Research*, 2024, **135**(1): 222-260.
- [17] Wang B, Wu L, Chen J, *et al.* Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, **6**(1): 94.
- [18] Badimon L, Vilahur G, Rocca B, *et al.* The key contribution of platelet and vascular arachidonic acid metabolism to the pathophysiology of atherothrombosis [J]. *Cardiovascular Research*, 2021, **117**(9): 2001-2015.
- [19] Wen Z H, Su Y C, Lai P L, *et al.* Critical role of arachidonic acid-activated mTOR signaling in breast carcinogenesis and angiogenesis [J]. *Oncogene*, 2013, **32**(2): 160-170.
- [20] Johnston W, Adil S, Cao C, *et al.* Fish models to explore epigenetic determinants of hypoxia-tolerance [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2025(302): 111811.
- [21] Yan H, Zhao L, He Q, *et al.* Exposure to intermittent environmental hypoxia promotes vascular remodeling through angiogenesis in the liver of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, **57**(46): 17796-17807.
- [22] Sun S, Wang Y, Goh P T, *et al.* Evolution and functional characteristics of the novel elovl8 that play pivotal roles in fatty acid biosynthesis [J]. *Genes*, 2021, **12**(8): 1287.
- [23] Sun S, Cao X, Gao J. C24: 0 avoids cold exposure-induced oxidative stress and fatty acid β -oxidation damage [J]. *iScience*, 2021, **24**(12): 103409.
- [24] Zhou Z, Zhang M, Zhao C, *et al.* Epoxyeicosatrienoic acids prevent cardiac dysfunction in viral myocarditis via interferon type I signaling [J]. *Circulation Research*, 2023, **133**(9): 772-788.
- [25] Zhao L, Tang X, Huang R, *et al.* Acute hypoxia promotes the liver angiogenesis of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) by HIF - Dependent pathway [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022(131): 264-273.
- [26] Huang Y J, Nan G X. Oxidative stress-induced angiogenesis [J]. *Journal of Clinical Neuroscience*, 2019(63): 13-16.
- [27] Dudley A C, Griffioen A W. Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Angiogenesis*, 2023, **26**(3): 313-347.
- [28] Liu Q, Guo L, Zhang H, *et al.* Hypoxia induces reversible gill remodeling in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) through integrins-mediated cell adhesion [J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2024(154): 109918.
- [29] Yu X X, Zhang Y R, Li S S, *et al.* Effects of hypoxia on the gill morphological structure, apoptosis and hypoxia-related gene expression in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2023, **49**(5): 939-949.
- [30] Sollid J, De Angelis P, Gundersen K, *et al.* Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2003, **206**(Pt 20): 3667-3673.
- [31] Mandic M, Bailey A, Perry S F. Hypoxia inducible factor 1- α is minimally involved in determining the time domains of the hypoxic ventilatory response in adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2021(294): 103774.
- [32] Baptista R B, Souza-Castro N, Almeida-Val V M F. Acute hypoxia up-regulates HIF-1 α and VEGF mRNA levels in Amazon hypoxia-tolerant Oscar (*Astronotus ocellatus*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, **42**(5): 1307-1318.
- [33] Konantz M, Alghisi E, Müller J S, *et al.* Evi1 regulates Notch activation to induce zebrafish hematopoietic stem cell emergence [J]. *The EMBO Journal*, 2016, **35**(21): 2315-2331.
- [34] Pedersen M E, Vuong T T, Rønning S B, *et al.* Matrix metalloproteinases in fish biology and matrix turnover [J]. *Matrix Biology*, 2015(44): 86-93.
- [35] Lee P, Chandel N S, Simon M C. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, **21**(5): 268-283.
- [36] Mylonis I, Simos G, Paraskeva E. Hypoxia-inducible factors and the regulation of lipid metabolism [J]. *Cells*, 2019, **8**(3): 214.
- [37] Ackerman D, Tumanov S, Qiu B, *et al.* Triglycerides promote lipid homeostasis during hypoxic stress by balancing fatty acid saturation [J]. *Cell Reports*, 2018, **24**(10): 2596-2605.
- [38] Khan S A, Ilies M A. The phospholipase A2 superfamily: structure, isozymes, catalysis, physiologic and pathologic roles [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**(2): 1353.
- [39] Dong S, Wang Q, Kao Y R, *et al.* Chaperone-mediated autophagy sustains haematopoietic stem-cell function [J]. *Nature*, 2021, **591**(7848): 117-123.
- [40] Song Y D, Tang S J, Zhao J L. Preliminary study on

- asphyxiation point and oxygen consumption rate of juvenile *Siniperca chuatsi* [J]. *Journal of Aquaculture*, 2019, **40**(3): 3-5. [宋银都, 唐首杰, 赵金良. 鳊幼鱼窒息点、耗氧率的初步研究 [J]. *水产养殖*, 2019, **40**(3): 3-5.]
- [41] Noori F, Morshedi V, Mozanzadeh M T, *et al.* Enrichment of live foods with arachidonic acid enhanced stress resistance, digestive enzyme activity, and total antioxidant capacity in yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) larvae [J]. *Aquaculture International*, 2024, **32**(4): 3747-3766.
- [42] Chee W L, Turchini G M, Teoh C Y, *et al.* Dietary arachidonic acid and the impact on growth performance, health and tissues fatty acids in Malabar red snapper (*Lutjanus malabaricus*) fingerlings [J]. *Aquaculture*, 2020(519): 734757.
- [43] Miao S, Wan W, Hu J, *et al.* Dietary arachidonic acid affects the innate immunity, antioxidant capacities, intestinal health and microbiota in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Aquaculture*, 2022(548): 737635.
- [44] Tsikas D, Suchy M T, Niemann J, *et al.* Glutathione promotes prostaglandin H synthase (cyclooxygenase)-dependent formation of malondialdehyde and 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 α [J]. *FEBS Letters*, 2012, **586**(20): 3723-3730.
- [45] Wang T, Fu X, Chen Q, *et al.* Arachidonic acid metabolism and kidney inflammation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(15): 3683.
- [46] Zhao Q, Huang J, Wang D, *et al.* Endothelium-specific CYP2J2 overexpression improves cardiac dysfunction by promoting angiogenesis via Jagged1/Notch1 signaling [J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2018(123): 118-127.

MECHANISM OF ARACHIDONIC ACID ENHANCING HYPOXIA TOLERANCE IN LARGEMOUTH BASS (*MICROPTERUS SALMOIDES*)

SUN Shou-Xiang^{1,2}, YE Wei-Hao³, SUN Li-Hui^{1,2}, ZHANG Hai-Qi^{1,2}, LI Qian^{1,2}, JIANG Jian-Hu^{1,2}, CHEN Jian-Ming^{1,2}, GAO Ling-Mei^{1,2}, PENG Jun^{1,2}, YANG Bi-Cheng^{1,2} and GUO Jian-Lin^{1,2}

(1. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313000, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Healthy Aquaculture, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Huzhou 313000, China; 3. School of Life Sciences, Suzhou Medical College of Soochow University, Suzhou 215000, China)

Abstract: The intensification of aquaculture and climate change have amplified hypoxic stress in aquatic environments, while arachidonic acid (AA) may have the potential to alleviate hypoxic stress. This study investigated the role of AA metabolism in hypoxia adaptation, focusing on hepatic angiogenesis and antioxidant responses in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Hypoxic stress significantly impaired hepatic antioxidant capacity, evidenced by reduced total antioxidant capacity (T-AOC), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) activities, alongside elevated malondialdehyde (MDA) levels ($P < 0.05$). Hypoxic stress significantly increased whole-blood hemoglobin and methemoglobin levels ($P < 0.05$), induced structural changes in gill tissues such as reduced interlamellar cell masses and elongated lamellae. Concurrently, hypoxia activated hepatic angiogenesis, upregulating *vegfa*, *mmp2*, *jagged*, and *notch1* expression ($P < 0.05$), and induced hepatic lipid metabolic reprogramming, characterized by increased saturated fatty acid (SFA) and decreased polyunsaturated fatty acid (PUFA) levels ($P < 0.05$). However, AA exhibited a unique accumulation pattern, suggesting its potential involvement in hypoxia adaptation regulation. Exogenous AA supplementation reduced the asphyxiation point from 1.08 to 0.5 mg/L, prolonged hypoxia survival time, and enhanced hepatic T-AOC, SOD, and CAT activities ($P < 0.05$). While gill structural changes under hypoxia remained unaffected, hepatic angiogenesis was markedly potentiated, as demonstrated by intensified vascular networks and robust upregulation of *vegfa*, *vegfr2*, *mmp2*, *jagged*, and *notch1* ($P < 0.05$). Mechanistically, AA metabolism generated pro-angiogenic mediators, including prostaglandin E₂ (PGE₂) and epoxyeicosatrienoic acids (EETs), which synergistically activated angiogenic pathways ($P < 0.05$). This study demonstrates that largemouth bass employs hypoxia-induced lipid metabolic remodeling to promote hepatic AA accumulation, which is subsequently metabolized into PGE₂ and EETs to activate angiogenesis pathways, forming a unique adaptive strategy against hypoxic stress. These findings establish a novel link between AA metabolism and angiogenesis in fish hypoxia adaptation, providing a scientific foundation for dietary interventions to mitigate hypoxic challenges in aquaculture.

Key words: Hypoxia stress; Angiogenesis; Arachidonic acid; *Micropterus salmoides*