

急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲷血清皮质醇和血液生理指标的影响

张亚晨, 温海深*, 李兰敏, 冯启超

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 为探究鱼类对温度突变水体的适应性和恢复性, 将妊娠期许氏平鲷由正常水温(16 ℃)直接转入高温(25 ℃)和低温(7 ℃)水体, 急性胁迫 2 h 后再恢复至 16 ℃, 检测恢复期第 0、6、12、24、48 和 72 h 时妊娠期许氏平鲷血清皮质醇(COR)和血液生理指标的变化情况。结果显示, 25 ℃急性胁迫导致 2 尾鱼发生产仔行为; 25 ℃和 7 ℃急性胁迫后的恢复过程中, 血清(COR)、血糖(GLU)、球蛋白(GLB)、丙氨酸氨基转移酶(GPT)、天门冬氨酸氨基转移酶(GOT)和白细胞(WBC)水平均显著升高, 总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆固醇(TC)及甘油三酯(TG)水平显著降低, 血清钙(Ca²⁺)、镁(Mg²⁺)和无机磷(P)水平无显著变化; 红细胞(RBC)和血红蛋白(HGB)水平在 25 ℃胁迫后明显上升, 而在 7 ℃胁迫后显著下降($P < 0.05$)。与急性低温胁迫相比, 急性高温胁迫对妊娠期许氏平鲷机体生理情况的影响更显著。除 COR 和无机离子外, 多个生理指标在 72 h 后仍未恢复至正常水平。研究表明, 急性温度胁迫导致妊娠期许氏平鲷生理状况和代谢水平受到显著影响, 甚至发生提前产仔行为。在养殖生产中, 对于进入生殖期的雌鱼, 应密切监测水温变化, 尤其是水温的上升, 以减少温度应激导致的妊娠损伤。

关键词: 许氏平鲷; 温度; 皮质醇; 血液生理

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

温度是水生动物生活环境中重要的理化因子, 水温变化会引起鱼体一系列生理变化, 进而影响机体内环境的稳定。研究表明, 水体温度对鱼类的生长^[1]、免疫^[2]、胚胎发育^[3]和生殖进程^[4-5]等均会产生不同程度的影响。鱼类生理指标被广泛用于评估鱼类新陈代谢能力和生理健康程度^[6], 血清中皮质醇是一种衡量鱼类受胁迫程度的重要指标^[7], 而血液生理生化指标能够反映鱼类机体生理状态和健康状况, 同时可用于鱼体病理的诊断^[8]。

许氏平鲷(*Sebastes schlegelii*)原名黑鲷, 隶属于鲷形目(Scorpaeniformes)、鲷科(Scorpaenidae)、平鲷属(*Sebastes*), 广泛分布于北半球温带水域, 为我国东黄海区常见的底层经

济鱼类^[9]。近年来, 随着海水养殖热潮的掀起, 许氏平鲷已成为我国北方地区海水网箱养殖的优良鱼种之一。许氏平鲷的生存温度范围较广, 适宜生长水温为 18~24 ℃^[10], 营卵胎生繁殖。山东近岸雌鱼的产仔盛期为 4—5 月, 适宜水温 13~16 ℃。关于温度对许氏平鲷的生理影响的研究已有一些报道。洪磊等^[6]研究表明, 许氏平鲷的血糖水平在温度梯度实验的 20 ℃组出现峰值, 血沉降随温度升高持续上升; 史丹等^[5]研究了水温周年变化对许氏平鲷卵巢发育情况的影响。然而针对温度对妊娠期许氏平鲷生理情况影响的研究尚无报道。研究发现, 对于体内受精鱼类, 妊娠期亲鱼的生理状况和胚胎发育均与水温密切相关^[11]。许氏平鲷妊娠期处于温度不稳定的春季,

收稿日期:2014-11-21 修回日期:2015-04-20

资助项目:教育部博士点专项基金(20120132110008); 国家自然科学基金(41176122)

通信作者:温海深, E-mail:wenhaishen@ouc.edu.cn

海区内水温可能发生急剧变化,损害机体细胞和组织正常的生理机能和免疫能力,从而对妊娠期亲鱼产生胁迫,甚至出现早产现象,影响种群的补充。

本实验通过研究急性温度胁迫条件下妊娠期许氏平鲈血清皮质醇(COR)和血液生理指标的变化情况,旨在探讨不同水温对其代谢水平和生理状况的影响,从而为深入研究环境变化引起的机体应激反应提供理论依据,为评估亲鱼对温度突变水体的适应性和恢复性,优化许氏平鲈全人工繁殖提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验鱼选择

实验鱼于2013年5月采自山东省蓬莱市沿海网箱养殖群体。挑选处于妊娠期、健康无病的许氏平鲈[体质量为 (879.03 ± 22.61) g],实验前于20个玻璃水槽(长×宽×高:80 cm×60 cm×40 cm)(每缸4尾)中驯化3d。驯化期间控制水温在16℃左右,模拟自然光周期14L:10D,连续充气保持溶氧浓度在7 mg/L左右,pH 7.5~7.8。每日换水一次,换水量50%。

1.2 实验设计

实验设置7℃、16℃(对照)和25℃,共3个温度水平。急性温度胁迫实验在体积为0.785 m³的圆柱形塑料桶(直径1 m,深度0.8 m)中进行。分别使用控温加热棒和海水冰块将桶中的海水调至25℃和7℃。从驯化水槽中分别随机选取24尾规格相近、活力较好的许氏平鲈放入7℃和25℃海水中,另于16℃水中放鱼24尾作为常温对照组。在高温和低温胁迫2 h后将处理组实验鱼转移至16℃海水中恢复。由于许氏平鲈亲鱼在妊娠中后期停止摄食,因此实验过程中不进行投饲。实验期间连续充气,每隔4h校准调节一次温度,维持温差在±0.5℃;采用HQd便携式多参数数字化分析仪(Hach,美国)监控海水温度和溶解氧含量。

1.3 样品采集和处理

在恢复期第0、6、12、24、48及72 h对3组实验鱼进行采样,每组每次随机取鱼4尾。将鱼捞起后立即投入含浓度为200 mg/L的MS222的海水中做快速麻醉,使用1 mL一次性注射器对实验鱼进行尾静脉取血,立即抽取0.5 mL血液注

入事先加入0.1 mL EDTA-K₂的分子管中,置于4℃冰箱内保存待测;另收集部分血液于4℃冰箱静置4 h后,12 000 r/min离心10 min制备血清,移入-20℃保存待测。

1.4 血液样本分析

抗凝血样品用于测定血液中WBC、RBC和HGB水平,采用BS-1800全自动血液细胞分析仪(迈瑞,深圳)进行分析;GLU、TP、ALB、TC、TG、Ca²⁺、Mg²⁺、P水平及GPT、GOT活力使用BS-180全自动生化分析仪(迈瑞,深圳)进行分析,GLB水平以TP与ALB之差表示^[12]。

血清COR水平测定参照Ni等^[13]的测定方法,使用¹²⁵I皮质醇放射免疫分析试剂盒(九鼎,天津)进行测定。

1.5 数据处理

实验数据以温度和时间为自变量,用SPSS 19.0软件进行双因素方差分析(Two-Way ANOVA),探究温度、时间及其交互作用对血液生理指标的影响;分别固定温度或时间因素,对另一因素进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),在满足方差齐性条件下,若差异显著作Student-Neuman-Keuls多重比较分析不同温度间或不同时间点间各指标数据的差异显著性(若不满足方差齐性,采用Games-Howell法);对许氏平鲈的15个血液生理指标数据进行主成分分析,得到各主成分特征值和贡献率,并根据各主成分的得分绘制主成分散布图。以 $P < 0.05$ 表示差异显著,结果以平均值±标准误(mean±SE)表示。

2 结果

2.1 行为反应

许氏平鲈从16℃转移至7℃水中,沉于水底,不游动;由16℃转至25℃水中的亲鱼,有明显的行为变化,在中上层剧烈游动,急性胁迫的2 h内2尾亲鱼发生产仔行为。实验期间,各实验组中亲鱼均无死亡情况出现。

2.2 血清COR和GLU水平

急性温度胁迫后,生理指标在温度和时间水平上均有显著变化(图1),温度和时间对COR和GLU水平具有显著影响($P < 0.05$)。恢复第0 h,25℃组和7℃组血清COR水平显著升高,增至对照组的4.9倍,但两组间水平无显著差异。随

后持续下降,在 24h 恢复至与对照组相同水平。GLU 水平在恢复期 0h 显著升高,且 25 °C 组水平显著高于 7 °C 组。随后持续降低,48h 时均显著低于对照组水平,且 25 °C 组血糖水平显著低于 7 °C 组。

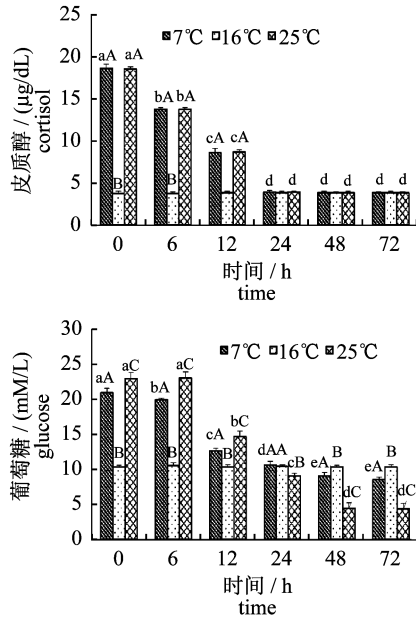


图 1 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈血清 COR 和 GLU 水平的影响

图中标注的大写字母表示同一时间点不同温度间存在显著性差异 ($P < 0.05$),小写字母表示同一温度不同时间点间存在显著性差异 ($P < 0.05$),以下各图注释同此

Fig.1 Effect of acute temperature stress on serum cortisol and glucose levels of gestated *S. schlegelii*

Different capital letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) at different temperatures of the same timepoint and different small letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) in different time points of the same temperature in Student-Neuman-Keuls multiple range test. The same below

2.3 血清蛋白质水平

温度和时间对血清蛋白水平均有显著影响 ($P < 0.05$)。恢复 0h 时不同温度组 TP 水平无显著变化,12 h 时 25 °C 组和 7 °C 组 TP 水平显著降低,且 25 °C 组显著低于 7 °C 组。6 h 时两胁迫组的 ALB 水平均显著低于对照组,且 25 °C 组最低,随后持续下降(图 2)。25 °C 组和 7 °C 的 GLB 水平于 6 h 显著高于对照组,且 25 °C 水平最高,12 h 后两组的 GLB 水平均显著降低至低于对照组水平。

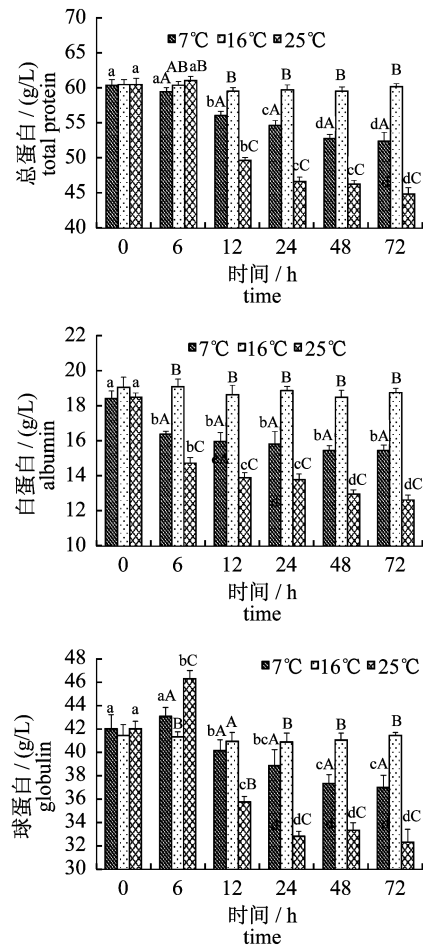


图 2 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈血清 TP、ALB 和 GLB 水平的影响

Fig.2 Effect of acute temperature stress on serum total protein,albumin and globulin levels of gestated *S. schlegelii*

2.4 血清脂类水平

温度和时间对血清脂类水平均有显著影响 ($P < 0.05$)。血清 TC 和 TG 水平在恢复 0 h 时显著低于对照组,随后继续降低,恢复过程中 25 °C 组脂类水平均显著低于 7 °C 组(图 3)。

2.5 血清转氨酶活力

急性温度胁迫后,血清转氨酶活力在温度和时间水平上均有显著变化 ($P < 0.05$) (图 4)。恢复第 0 h 时 25 °C 组和 7 °C 组的血清 GPT 活力显著高于对照组,25 °C 组活力最高,12 h 活力显著降低,24 h 恢复至对照组水平。25 °C 组和 7 °C 组的 GOT 活力先升高后降低,6 h 均达到最高水平 [(305.0 ± 3.61) U/L 和 (287.5 ± 5.45) U/L],恢复过程中两胁迫组 GOT 活力始终显著高于对照组水平。

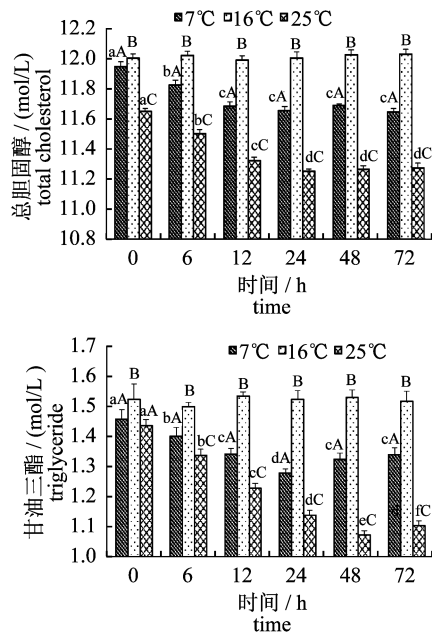


图 3 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈血清 TC 和 TG 水平的影响

Fig. 3 Effect of acute temperature stress on serum total cholesterol and triglyceride levels of gestated *S. schlegelii*

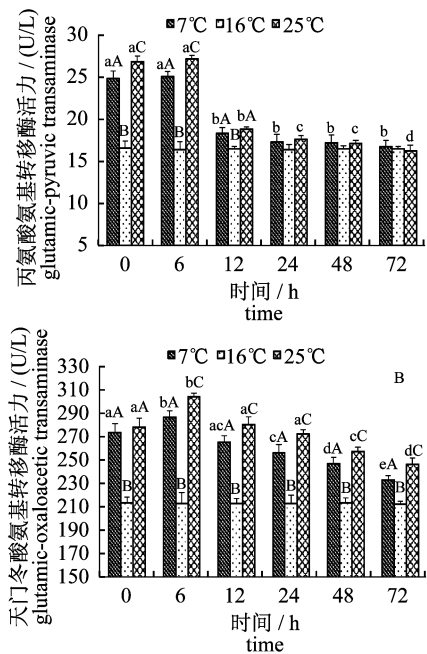


图 4 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈血清 GPT 和 GOT 活力的影响

Fig. 4 Effect of acute temperature stress on serum glutamic-pyruvic transaminase and glutamic-oxaloacetic transaminase activities of gestated *S. schlegelii*

2.6 血细胞数量和 HGB 水平

温度和时间对血细胞数量和 HGB 水平具有显著影响 ($P < 0.05$) (图 5)。恢复 0h 时 25 °C 组和 7 °C 组的 WBC 数量显著升高,6 h 数量最高,达到 $(175.5 \pm 0.57) \times 10^9/L$ 和 $(168.5 \pm 0.57) \times 10^9/L$ 。随后持续降低,72 h 时 7 °C 组显著低于对照组而 25 °C 组仍显著高于对照组。7 °C 组 RBC 数量在恢复过程中始终低于对照组水平,呈现先降低后升高趋势,24h 达最低水平; 25 °C 组 RBC 数量先升高后降低,6 h 最高且显著高于对照组,达到 $(2.63 \pm 0.01) \times 10^{12}/L$,24h 恢复至对照组水平。7 °C 组的 HGB 水平始终低于对照组; 而 25 °C 组 HGB 水平显著高于对照组,48h 恢复至对照组水平。

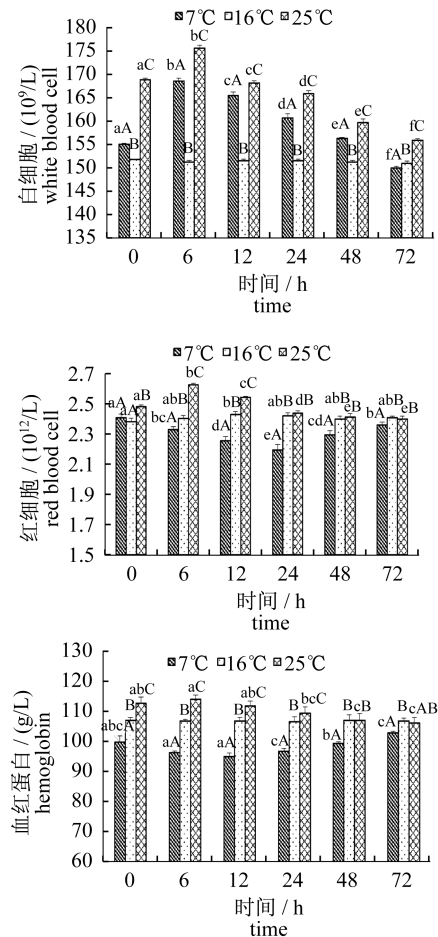


图 5 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈 WBC、RBC 和 HGB 水平的影响

Fig. 5 Effect of acute temperature stress on white blood cell, red blood cell and hemoglobin levels of gestated *S. schlegelii*

2.7 血清无机离子水平

温度和时间对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 P 水平均无显著影响 ($P > 0.05$)。急性温度胁迫后鱼体血清中无机离子水平无显著变化 (图 6)。

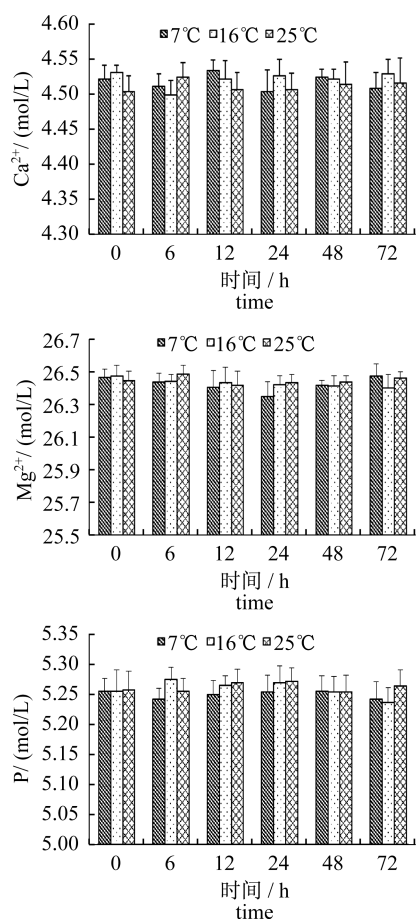


图 6 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲈 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 P 水平的影响

Fig. 6 Effect of acute temperature stress on serum Ca^{2+} and Mg^{2+} and P levels of gestated *S. schlegelii*

2.8 主成分分析

对本实验所涉及的 15 个血液指标进行主成分分析 (表 1), 分析得到 4 个主成分, 贡献率分别为 33.27%、31.43%、12.16% 及 7.77%, 累计贡献率达到 84.63%。第一主成分 (33.27%) 主要反映了 TP (载荷值 0.986)、ALB (载荷值 0.868)、GLB (载荷值 0.928)、TC (载荷值 0.823) 和 TG (载荷值 0.909), 一定程度上揭示了机体代谢水平, 属于基础代谢物质; 第二主成分 (31.43%) 主要与 COR (载荷值 0.809)、GLU (载荷值 0.740)、GPT (载荷值 0.864)、GOT (载荷值 0.933) 和 WBC (载荷值 0.916) 相关, 这些指标主要表现了

机体应对急性胁迫的能力和免疫状况, 属于应激指示物; 构成第三主成分 (12.16%) 和第四主成分 (7.77%) 的分别是 HGB (载荷值 0.893)、RBC (载荷值 0.781) 和 Ca^{2+} (载荷值 0.482)、 Mg^{2+} (载荷值 0.663)、P (载荷值 -0.683)。

根据第一、二主成分的各因子得分绘制散点图。为了进一步分析温度和时间对两主成分的影响, 深入探讨各指标的变化情况, 将各因子得分分别按照温度 (9、16 和 25 °C) 和恢复时间 (0、6、12、24、48 和 72 h) 进行排序归类, 绘制得到相应的散点图。

将因子得分按照温度排序绘制的散点图中, 7 °C、16 °C 和 25 °C 3 个温度组间存在明显的偏离态势 (在图中以圆圈标示), 且在主成分轴 2 上较主成分轴 1 上的差异更明显。与 7 °C 组相比, 25 °C 组偏离 16 °C 对照组的情况更显著 (图 7)。这表明, 与主成分 1 (基础代谢物质) 相比, 主成分 2 所代表的血液生理指标 (应激指示物) 受到温度的影响更显著, 对温度变化更敏感, 且对高温的敏感性大于对低温的敏感性。

将因子得分按照恢复时间排序绘制的散点图中 (图 8), 6 个时间点间具有一定程度的重叠, 但可观察到 0、6 h 与其余 4 个时间点间存在较明显的偏离态势 (在图中以圆圈标示), 且在主成分 1 轴上较主成分 2 轴差异显著。这表明与主成分 2 (应激指示物) 相比, 主成分 1 反映的血液生理指标 (基础代谢物质) 在 0、6 h 的变化情况与后四个时间点之间差异显著。结合各血液生理指标在恢复 72 h 内的具体变化情况, 结果发现, 血清中各应激指示物的水平在温度胁迫后恢复期的 72 h 内始终表现出波动的变化情况, 而基础代谢物质在胁迫后恢复过程的 0~12 h 内变化较大, 12 h 后呈现较稳定的状态。

3 讨论

鱼类应激反应是机体对外界刺激的一种非特异性防御反应。当水环境中的温度、盐度、光周期、溶解氧等理化因子发生变化时, 作为机体在胁迫初期的主要反应, 交感神经兴奋和垂体-肾上腺皮质分泌增多会引起一系列内分泌水平变化, 并由此进一步导致机体的各种功能和代谢状况发生变化^[14]。

鱼类的血液指标始终处于动态平衡中, 直接

表 1 急性温度胁迫后妊娠期许氏平鲉 15 个血液生理指标的 4 个主成分的贡献率及载荷值
 Tab.1 Loading of four principal components for fifteen blood physiological parameters of gestated *S. schlegelii* exposed to acute temperature stress

	主成分 1 principal component 1	主成分 2 principal component 2	主成分 3 principal component 3	主成分 4 principal component 4
贡献率/% contribution rate	33.27	31.43	12.16	7.77
COR	0.454	0.809	-0.168	-0.004
GLU	0.643	0.740	-0.101	-0.074
TP	0.986	-0.054	-0.015	-0.038
ALB	0.868	-0.398	0.083	-0.062
GLB	0.928	0.158	-0.071	-0.019
TC	0.823	-0.546	-0.047	-0.031
TG	0.909	-0.365	0.087	-0.053
GPT	0.427	0.864	-0.129	0.031
GOT	-0.176	0.933	-0.260	-0.040
WBC	-0.093	0.916	-0.158	-0.083
HGB	0.034	0.311	0.893	0.010
RBC	0.137	0.520	0.781	0.055
Ca ²⁺	0.140	-0.180	-0.079	0.482
Mg ²⁺	0.068	0.199	0.325	0.663
P	-0.122	-0.010	0.368	-0.683

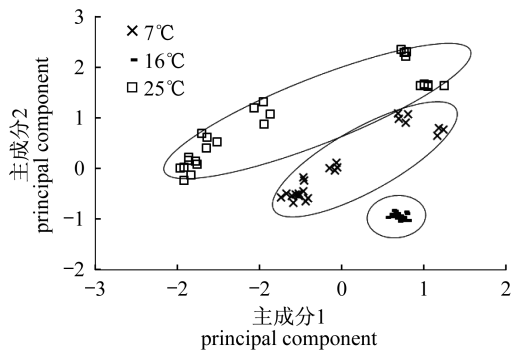


图 7 因子得分按温度排序的主成分分析结果

Fig.7 Principal component analysis applied to physiological parameters; factor scores sorted by temperature after exposure to an acute temperature stress

反映了鱼类的内分泌水平和代谢情况。水温作为极其重要的环境因子,对血液生理指标的影响尤其明显。将大西洋鲑(*Salmo salar*)从 16 °C 转移至 0 °C 胁迫 1h,血清 COR 和 GLU 水平显著升高^[15]。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)从 26 °C 转移至 16 和 35 °C 水中胁迫 24h,血清 COR 和 GLU 水平也明显增加^[2]。在本研究中,高温和低温胁迫后,实验鱼血清 COR 和 GLU 含量均迅

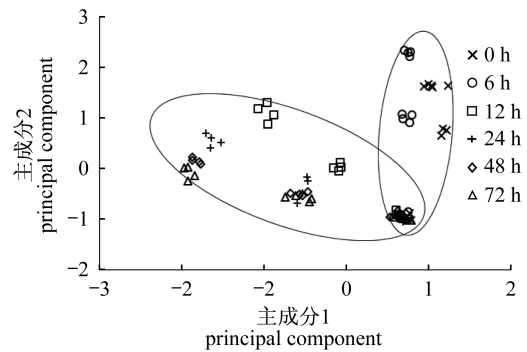


图 8 因子得分按时间排序的主成分分析结果

Fig.8 Principal component analysis applied to physiological parameters; factor scores sorted by recovery time after exposure to an acute temperature stress

速显著升高。当水环境温度发生急剧变化时,会刺激鱼类下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴(HPR)释放 COR 进入到循环系统中,血浆中的高水平 COR 促使肝糖原发生糖酵解,加速 GLU 浓度的上升,满足高温(低温)胁迫下由于呼吸速率、代谢水平的上升(抵御冷应激的胁迫,避免冻伤)而产生的对能量的更高需求^[16]。本实验中,许氏平鲉的血清 COR 含量在 24 h 内即恢复至对照组水

平。对于大多数硬骨鱼类,血清 COR 和 GLU 水平在急性胁迫后的短时间内会迅速恢复^[17],以维持机体的正常生理状况。

Vijayan 等^[18]发现,急性高温胁迫会促进脂类分解以应对环境胁迫。本研究中,25 ℃组和7 ℃组的许氏平鲈血清 TC 和 TG 水平均明显降低。崔学升等^[16]研究发现,在急性高温胁迫后,齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)血清 TC 和 TG 含量明显下降;彭婷等^[19]研究了不同温度对 90 日龄尼罗罗非鱼生理状况的影响,发现温度过低也会影响血清中 TC 和 TG 的水平。鱼类细胞内 TG 是脂类代谢的主要物质,其含量的变化反映了体内能量的波动。急性温度胁迫后,机体可能会利用 TG 满足能量需求,导致了血清 TG 水平下降。也有学者认为,温度胁迫后鱼类血清 TG 水平的降低可能是由于发生了脂肪储备作用^[20]。

蛋白质是血清中的重要组成部分,在鱼类的生理学和免疫系统中发挥重要作用^[12]。在 8.5 ℃低温下,大黄鱼(*Larimichthys crocea*)血清 TP 水平略低于对照组^[21]。半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)在受到急性高温胁迫后,血清 ALB 含量持续下降,而 GLB 分泌增多^[22]。此外,其他一些急性胁迫,如操作胁迫^[23]和空气暴露实验^[24],也会导致血清蛋白质水平显著变化。本研究发现,高温和低温急性胁迫导致血清 TP 和 ALB 水平显著降低。ALB 作为营养物质的载体,为机体提供能量,同时参与维持血浆胶体渗透压。急性温度胁迫后,机体大量消耗 ALB,以满足胁迫后机体较高的能量需求。此外,许氏平鲈血清 GLB 水平呈先升高后降低的趋势。有研究表明,随着温度降低,尼罗罗非鱼的血清 GLB 显著增多以增强机体的抵抗力,对抗低温对机体带来的损伤^[19]。GLB 主要参与非特异性免疫,反映机体的抵抗力,在急性胁迫下,鱼类的非特异性免疫水平提高^[2],导致血液中 GLB 水平迅速上升,以维持机体内环境的稳定。然而,也有研究发现,温度升高促使虹鳟(*Salmo gairdneri* Richardson)血清蛋白水平显著升高^[25],但对尼罗罗非鱼血清蛋白影响不显著^[26],推测水温对鱼类血清蛋白的影响可能随鱼种类不同而产生差异。

GPT 和 GOT 是鱼类体内重要的氨基转移酶,主要分布于肝脏、心肌等组织中,在氨基酸代谢及蛋白质、脂肪、糖类转化过程中起着重要作

用,常用于检测鱼类的健康状况。研究发现,温度升高导致虹鳟血清中 GPT 和 GOT 活力显著增强^[27]。本实验中,高温和低温急性胁迫后,血清转氨酶活力迅速显著升高,12 h 骤减后 GPT 活力逐渐恢复至正常水平,而 GOT 活力在 72 h 仍显著高于对照组。在正常生理代谢状态下,鱼类体内血清转氨酶活性较低且相对稳定。当受到急性温度胁迫致使肝脏功能受损时^[25],GPT 和 GOT 大量进入血液,导致转氨酶活性升高^[28]。对半滑舌鳎^[22]和尼罗罗非鱼^[2]的研究也发现,在受到急性温度胁迫后,鱼体血清中转氨酶活性显著升高,表明温度胁迫可能导致肝脏发生了一定程度损伤,这也间接影响了机体内的物质代谢和生理状况。然而针对虹鳟^[25]和金鲫(*Carassius auratus*)^[29]的研究结果发现,当温度升高到一定程度时,由于温度接近或超过鱼种耐受上限,使组织细胞严重受损,导致转氨酶合成减少,活力发生下降。许氏平鲈的耐受温度范围较广,本研究中的胁迫温度仍属于生存温度范围内,温度胁迫还未能造成极严重的损伤。但也不能排除由鱼种不同、温度胁迫时间长短差异及实验条件限制等因素造成的结果差异,关于转氨酶活力在温度胁迫条件下的变化情况及相关机制还需进一步探索。

同脊椎动物相同,鱼类外周血中的 WBC 也是机体细胞免疫和体液免疫的重要成分。本实验中许氏平鲈血液中 WBC 数量在 6 h 达到最高,随后逐渐降低。鱼体受到急性温度胁迫后,血液中 WBC 数量发生改变,标志着机体免疫机能的改变^[30]。RBC 与 HGB 是血液中的重要组成成分,Collazos 等^[31]认为影响鱼类血液中 RBC 数量的因素很多,但主要受水温影响。水温在 14 ~ 23 ℃范围内,虹鳟 RBC 数量随水温上升急剧减少^[25];水温由 16 ℃以 1 ℃/h 速率降至 10 ℃和 4 ℃后,鲤(*Cyprinus carpio*)的血浆 RBC 数量和 HGB 含量显著降低^[32]。许氏平鲈在急性胁迫后,25 ℃组 RBC 和 HGB 显著高于对照组而 7 ℃组低于正常水平。当水温升高时,鱼类新陈代谢增强,并且游动趋于剧烈,对氧的消耗量增加,导致 HGB 和 RBC 上升;由于 HGB 的氧合程度与温度密切相关,因此在低温条件下,鱼体内新陈代谢速率下降,氧合程度降低,致使 RBC 和 HGB 减少^[33]。

鱼类通过渗透调节以维持内环境的稳定,而血液中各种无机成分的浓度对于维持体内环境的

稳定具有重要意义。本实验中未检测到急性温度胁迫后鱼体血清中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和无机 P 水平发生显著变化,针对尼罗罗非鱼^[26]和虹鳟^[25]的研究也得到类似的结论。然而,有研究发现,虹鳟由 1 °C 转移至 8 °C 后, Mg^{2+} 浓度呈现先升高后降低的趋势^[34];对于荷包红鲤抗寒品系与大头鲤杂交 F_2 ,水温从 16 °C 以 1 °C/h 突降至 10 °C 和 4 °C,血清 Ca^{2+} 显著下降^[32]。鱼类为了提高在低温环境下的生存能力,通常会采取降低渗透性的方式,以维护一些重要器官如心脏、大脑等的离子稳态^[35]。本实验中许氏平鲷血清无机离子未发生明显变化,推测可能与温度胁迫后鱼体降低渗透性有关,另一方面,分析认为也可能是由于本实验胁迫时间较短,还未达到促使血清中无机离子水平发生变化的阈值。鱼类渗透调节和内环境稳态受到多种因素的综合调控,与鱼种类、机体内分泌情况、环境条件等多个因素相关,关于温度对血清无机离子水平的影响还需进一步探讨。

值得注意的是,结合主成分分析结果发现,本实验中 GLU、血清脂类和蛋白质水平在胁迫后恢复过程 0~12 h 内变化较大,12 h 后变化稳定后均低于对照组水平,而未恢复正常。研究表明,面对环境胁迫,鱼类会适当消耗机体内的糖、脂类和蛋白质来满足自身需求^[20]。许氏平鲷作为一种生殖方式特殊的卵胎生鱼类,其在妊娠中后期会出现停止进食的现象,体内物质代谢会维持在较低水平。在此时期受到急性胁迫后,大量消耗鱼体内的营养物质,但由于不进食使得被消耗的能量不能得到及时补充,这可能会影响到机体基础物质代谢情况,导致 GLU、血清脂类和蛋白质含量普遍低于正常水平。而与低温胁迫相比,高温胁迫可能会促使鱼体消耗更多能量以应对较高的耗氧率、代谢速率等,最终导致 25 °C 组的基础代谢物质水平显著低于 7 °C 组。此外,在急性低温胁迫后,血细胞数目和血红蛋白含量在 72 h 时仍未恢复正常。研究发现,黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 在运输胁迫后外周淋巴细胞和嗜中性粒细胞百分比发生显著变化,胁迫后充分恢复的时间长达 3 周^[36]。推测许氏平鲷在妊娠期对外界环境的敏感性较高,受到急性温度胁迫后可能需要较长的恢复时间。

研究中发现,许氏平鲷血清中 GLU 水平、转氨酶活力及 WBC 数量在两温度处理组间的差异

显著,推测急性高温胁迫比急性低温胁迫对妊娠期许氏平鲷机体生理情况的影响更显著。主成分分析结果显示,与基础代谢物质相比,应激指示物受到温度的影响更明显,且对高温的敏感性大于对低温的敏感性。与急性低温胁迫相比,克林雷氏鲶 (*Rhamdia quelen*) 对急性高温胁迫也表现出更剧烈的生理反应^[20]。研究结果表明,血清 COR、GLU、转氨酶和 WBC 等是能够反映鱼类机体应激程度的重要指示物,可用于鉴别和衡量鱼类机体受胁迫的程度^[24]。

本实验中妊娠期许氏平鲷受到急性高温胁迫后,有 2 尾实验鱼发生仔行为。有研究发现,水温由 17 °C 上升至 24 °C 后,雌性真鲷因受到高温胁迫导致卵巢功能受到损害,从而引发提前产卵的现象^[37]。对卵生鱼的研究发现,在高温条件下发育的胚胎,其孵化出的仔鱼成活率呈现显著降低的变化趋势^[38]。急性高温胁迫后,妊娠期亲鱼的生理和代谢水平发生显著改变,这可能会对胚胎的发育和仔鱼产出后的状况产生一定影响。水环境温度的剧烈变化可能会引起下丘脑-垂体-性腺轴 (HPGA) 自上而下发生一系列生殖内分泌变化,最终对亲鱼及仔鱼产生极大影响。温度对妊娠期许氏平鲷的产仔行为的影响和机制还需结合分子水平的变化进行进一步的研究。

本实验探究了急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲷血液生理指标的变化,进一步分析了胁迫条件下鱼体的代谢情况和免疫机能的改变。研究发现,急性高温胁迫和急性低温胁迫对妊娠期许氏平鲷均具有显著影响,且鱼体对急性高温胁迫表现出更剧烈的反应。在实际养殖生产中,对于进入生殖期的雌鱼,应密切关注养殖水温的变化,减少温度应激,增加鱼体免疫力,提高抗病能力。维持水温的相对恒定,能够保证亲鱼胚胎发育和产仔进程的顺利进行。本研究仅对水环境温度的变化进行了考察,水环境中的其他影响因子,如酸碱度、氨氮、溶氧等对鱼体的胁迫效应还需要进一步研究。此外,今后应针对急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲷的生殖内分泌情况的影响进行深入探究,结合本实验得到的结果,对温度对妊娠期许氏平鲷的影响作出综合全面的评价。

参考文献:

- [1] Huang G Q, Wei L Z, Zhang X M, et al. The growth and energy allocation of the brown flounder,

- Paralichthys olivaceus* during thermal manipulation [J]. Periodical of Ocean University of China: Natural Science Edition, 2010(2): 38 - 46. [黄国强, 韦柳枝, 张秀梅, 等. 温度操作对褐牙鲆幼鱼的生长和能量分配的影响. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2010(2): 38 - 46.]
- [2] Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* The effect of acute temperature stress on biochemical indices and expression of liver HSP70 mRNA in gift Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*) [J], *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43(5): 943 - 953. [强俊, 杨弘, 王辉, 等. 急性温度应激对吉富品系尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 幼鱼生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响. 海洋与湖沼, 2012, 43(5): 943 - 953.]
- [3] Ahn H, Yamada Y, Okamura A, *et al.* Effect of water temperature on embryonic development and hatching time of the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Aquaculture*, 2012, 330: 100 - 105.
- [4] Wen H S, Lin H R. Effect of environmental factors on gonadal maturation as well as its ovulation and spawning in teleosts [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(1): 151 - 155. [温海深, 林浩然. 环境因子对硬骨鱼类性腺发育成熟及其排卵和产卵的调控. 应用生态学报, 2001, 12(1): 151 - 155.]
- [5] Shi D, Wen H S, Yang Y P. The annual change of ovarian development in female *Sebastes schlegelii* [J]. Periodical of Ocean University of China: Natural Science Edition, 2011, 41(9): 25 - 30. [史丹, 温海深, 杨艳平. 许氏平鲷卵巢发育的周年变化研究. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2011, 41(9): 25 - 30.]
- [6] Hong L, Zhang X M. Effects of environmental stress on physiological function of fish [J]. *Advances in Marine Science*, 2004, 22(1): 114 - 121. [洪磊, 张秀梅. 环境胁迫对鱼类生理机能的影响. 海洋科学进展, 2004, 22(1): 114 - 121.]
- [7] Simontacchi C, Poltronieri C, Carraro C, *et al.* Alternative stress indicators in sea bass *Dicentrarchus labrax*, L. [J]. *Journal of Fish Biology*, 2008, 72(3): 747 - 752.
- [8] Pang Q H, Huang W F, Xie F. Pathological changes of blood induced by bacterial septicemia in *Carassius auratus* of pengze (♀) × *Cyprinus acutidorsalis* (♂) [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2004, 10(3): 315 - 317. [庞启华, 黄文芳, 谢凤. 丰产鲫细菌性败血症的血液病理变化. 应用与环境生物学报, 2004, 10(3): 315 - 317.]
- [9] Chen D G, Ye Z J, Duan Y, *et al.* A preliminary study on propagation population biology and fry rearing of *Sebastes schlegelii* [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 1994, 16(3): 94 - 101. [陈大刚, 叶振江, 段钰, 等. 许氏平鲷繁殖群体的生物学及其苗种培育的初步研究. 海洋学报, 1994, 16(3): 94 - 101.]
- [10] Kim K H, Hwang Y J, Kwon S R. Influence of daily water temperature changes on the chemiluminescent response and mortality of cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *Aquaculture*, 2001, 192(2): 93 - 99.
- [11] Wiebe J P. The effects of temperature and daylength on the reproductive physiology of the viviparous seaperch, *Cymatogaster aggregata* Gibbons [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 1968, 46(6): 1207 - 1219.
- [12] Kumar S, Sahu N P, Pal A K, *et al.* Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 19(4): 331 - 344.
- [13] Ni M, Wen H, Li J, *et al.* The physiological performance and immune responses of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) to stocking density and hypoxia stress [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 36(2): 325 - 335.
- [14] Mommsen T P, Vijayan M M, Moon T W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1999, 9(3): 211 - 268.
- [15] Foss A, Grimsbø E, Vikingstad E, *et al.* Live chilling of Atlantic salmon: physiological response to handling and temperature decrease on welfare [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(2): 565 - 571.
- [16] Cui X S, Zhou C W, Li Z Q. Experiment of fasting and thermal stress on biochemical indices of *Schizothorax prenanti* [J]. *Feed Research*, 2010(2): 63 - 65. [崔学升, 周朝伟, 李志琼. 禁食和热应激对齐口裂腹鱼生化指标的试验. 饲料研究, 2010(2): 63 - 65.]
- [17] Costas B, Conceição L E C, Aragão C, *et al.* Physiological responses of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) after stress challenge: Effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism [J]. *Aquaculture*, 2011, 316(1): 68 - 76.
- [18] Vijayan M M, Leatherland J F. High stocking density

- affects cortisol secretion and tissue distribution in brook charr, *Salvelinus fontinalis* [J]. Journal of Endocrinology, 1990, 124(2):311 - 318.
- [19] Peng T, Hu T J, Lin Y, *et al.* Effects of low temperature stress on indices of biochemistry, immunity and antioxidation in Nile Tilapia [J]. Fisheries Science, 2012, 31(5):259 - 263. [彭婷, 胡庭俊, 林勇, 等. 低温胁迫对罗非鱼血液生化, 免疫及抗氧化指标的影响. 水产科学, 2012, 31(5):259 - 263.]
- [20] Lermen C L, Lappe R, Crestani M, *et al.* Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen* [J]. Aquaculture, 2004, 239(1):497 - 507.
- [21] Ji D W, Li M Y, Wang T Z, *et al.* effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. Fisheries Science, 2009, 28(1):1 - 4. [冀德伟, 李多云, 王天柱, 等. 不同低温胁迫时间对大黄鱼血清生化指标的影响. 水产科学, 2009, 28(1):1 - 4.]
- [22] 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.]
- [23] Biswas A K, Seoka M, Takii K, *et al.* Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation [J]. Aquaculture, 2006, 252(2):566 - 572.
- [24] Eslamloo K, Akhavan S R, Fallah F J, *et al.* Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to recurrent acute stress [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 37(1):147 - 153.
- [25] He F L, Xiang J G, Li C J, *et al.* Preliminary study on the effect of water temperature on hematology indices of rainbow trout [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(3):363 - 369. [何福林, 向建国, 李常健, 等. 水温对虹鳟血液学指标影响的初步研究. 水生生物学报, 2007, 31(3):363 - 369.]
- [26] Zhang X G. A preliminary study on effect of water temperature on several hematological indices of Nile Tilapia [J]. Freshwater Fisheries, 1991(2):15 - 17. [张贤刚. 水温对尼罗罗非鱼几种血液学指标影响的初步研究. 淡水渔业, 1991(2):15 - 17.]
- [27] Sauer D M, Haider G. Enzyme activities in the serum of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson; the effects of water temperature [J]. Journal of Fish Biology, 1977, 11(6):605 - 612.
- [28] Feng G P, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of water temperature on metabolic enzyme and antioxidase activities in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(1):137 - 142. [冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 温度对中华鲟幼鱼代谢酶和抗氧化酶活性的影响. 水生生物学报, 2012, 36(1):137 - 142.]
- [29] Wang H Y, Huang S F, Xu J B, *et al.* The influence of thermal pollution on the activities of four kinds of enzyme in organization of *Carassius auratus* [J]. China Environmental Science, 2006, 26(3):372 - 375. [王虹扬, 黄沈发, 徐镜波, 等. 热污染对金鲫鱼组织内四种酶活性的影响. 中国环境科学, 2006, 26(3):372 - 375.]
- [30] Xue J H, Zhang J G, Shi J H, *et al.* The comparison of hematological indices of common carp in different ecological environment [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 1995, 2(4):112 - 117. [薛家华, 张家国, 师吉华, 等. 不同生态环境内鲤的几项血液指标的比较. 上海水产大学学报, 1995, 2(4):112 - 117.]
- [31] Collazos M E, Ortega E, Barriga C, *et al.* Seasonal variation in haematological parameters in male and female *Tinca tinca* [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 1998, 183(1-2):165 - 168.
- [32] Chang Y M, Kuang Y Y, Cao D C, *et al.* Effects of cooling temperature stress on hematology and serum chemistry values of *Cyprinus carpio* [J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(5):701 - 706. [常玉梅, 匡友谊, 曹鼎臣, 等. 低温胁迫对鲤血液学和血清生化指标的影响. 水产学报, 2006, 30(5):701 - 706.]
- [33] Perry S F, Wood C M, Walsh P J, *et al.* Fish red blood cell carbon dioxide transport in vitro: A comparative study [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1996, 113(2):121 - 130.
- [34] Finstad B, Staurnes M, Reite O B. Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Aquaculture, 1988, 72(3):319 - 328.
- [35] Ganim R B, Peckol E L, Larkin J, *et al.* ATP-sensitive K^+ channels in cardiac muscle from cold-

- acclimated goldfish; characterization and altered response to ATP[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Molecular & Integrative Physiology*, 1998, 119(1): 395 - 401.
- [36] Liu X L, Yan A S. Recovery of earth-pond-reared *Pelteobagrus fulvidraco* from transport stress in acclimatization of laboratory system [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(4): 495 - 501. [刘小玲, 严安生. 池养黄颡鱼运输应激后在实验循环系统中的恢复和适应过程. 水产学报, 2006, 30(4): 495 - 501.]
- [37] Koichi Okuzawa, Koichiro Gen. High water temperature impairs ovarian activity and gene expression in the brain-pituitary-gonadal axis in female red seabream during the spawning season [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 194: 24 - 30.
- [38] King H R, Pankhurst N W, Watts M. Reproductive sensitivity to elevated water temperatures in female Atlantic salmon is heightened at certain stages of vitellogenesis [J]. *Journal of Fish Biology*, 2007, 70(1): 190 - 205.

Effect of acute temperature stress on serum cortisol and hematological physiology of gestated *Sebastes schlegelii*

ZHANG Yachen, WEN Haishen*, LI Lanmin, FENG Qichao

(Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: To explore the adaptability and restoring ability in water with mutant temperature, gestated *Sebastes schlegelii* were moved from normal temperature (16 °C) to high (25 °C) or low (7 °C) temperature water, being exposed for 2 h, and subsequently transferred to original seawater of 16 °C. Samples were collected at 0, 6, 12, 24, 48 and 72 h during recovery to detect changes of serum cortisol (COR) and hematological and physiological parameters of gestated *Sebastes schlegelii*. The data showed that acute thermal stress led to parturition behavior of two fish; It was noted that COR, glucose (GLU), globulin (GLB), glutamic-pyruvic transaminase (GPT), glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) and white blood cell (WBC) levels in serum increased significantly ($P < 0.05$) whereas concentrations of total protein (TP), albumin (ALB), total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) became lower obviously during recovery process after acute stress of 25 °C and 7 °C ($P < 0.05$). Besides, there was no difference in Ca^{2+} , Mg^{2+} and P contents. Interestingly, red blood cell (RBC) and hemoglobin (HGB) levels arose remarkably after acute heat stress ($P < 0.05$) while those were detected down-regulated by acute chilling stress ($P < 0.05$). It was observed that thermal stress had a sharper effect on physiological status compared with acute chilling stress. Moreover, most indexes, except for COR and inorganic ions, did not restore to normal level after 72 hours. Our results suggest that acute temperature stress results in distinct impact on physiological function and metabolic levels of gestated *Sebastes schlegelii*, and even parturition behavior in advance. It is of high importance to monitor closely water temperature fluctuation, especially elevation, as for female fish entering the reproductive phase, in order to decrease injury induced by temperature stress during pregnancy.

Key words: *Sebastes schlegelii*; temperature; cortisol; hematological physiology

Corresponding author: WEN Haishen. E-mail: wenhaishen@ouc.edu.cn

Funding projects: Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China (20120132110008); National Natural Science Funds (41176122)