

低温胁迫对云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂) 杂交后代血清生化指标的影响*

邵彦翔^{1,2} 陈超^{2①} 李炎璐² 张梦淇^{2,4} 陈建国^{2,4} 庞尊方³

(1. 大连海洋大学 大连 116023; 2. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点实验室
中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 莱州明波水产有限公司 烟台 264003;
4. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 选取云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*♀)×鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus*♂)的杂交种(俗称云龙石斑鱼)为研究对象,设定20℃、16℃、15℃、13℃和10℃共5个温度梯度(20℃为对照组),从20℃开始,采取1℃/d的降温速率,对其进行低温胁迫实验,并对云龙石斑鱼血清中生化指标和代谢酶活力进行检测。同时对棕点石斑鱼(*E. fuscoguttatus*♀)和鞍带石斑鱼(♂)的杂交种(俗称珍珠龙胆石斑鱼)、斜带石斑鱼(*E. coioides*♀)×鞍带石斑鱼(♂)的杂交种(俗称青龙石斑鱼)进行低温胁迫,每天记录3种杂交石斑鱼的存活率。当存活率低于50%时,记录半致死温度。结果显示,云龙石斑鱼半致死温度为8℃,珍珠龙胆石斑鱼的半致死温度为11℃,青龙石斑鱼的半致死温度为9.5℃。云龙石斑鱼血清中肌酐(CREA)含量和总胆固醇(T-CHO)含量随低温胁迫强度增加呈先降低后上升的趋势,血清甘油三酯(TG)含量呈现波动,在15℃和10℃时与对照组比较,出现显著性差异($P<0.05$)。血清葡萄糖(GLU)含量随胁迫强度的增加呈现波动,在16℃和13℃时与对照组之间有显著性差异($P<0.05$)。碱性磷酸酶(AKP)活性在16℃时有所升高,但整体上与对照组无显著性差异($P>0.05$)。过氧化氢酶(CAT)活性呈现波动,除13℃以外,其余各组均与对照组有显著性差异($P<0.05$)。血清中谷草转氨酶(GOT)的活性在13℃和16℃时略高于对照组。谷丙转氨酶(GPT)活性呈现先升后降的趋势,在16℃和15℃时,与对照组差异显著($P<0.05$)。结果表明,3种杂交石斑鱼中,云龙石斑鱼最耐受低温;低温胁迫会导致幼鱼免疫力和抗氧化能力下降,实际生产中仍应降低胁迫强度和缩短胁迫时间。

关键词 杂交石斑鱼; 低温胁迫; 生化指标; 低温耐受

中图分类号 S967 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)02-0070-07

鱼类是在水中生活的变温动物,体温伴随着外界生存水环境温度的变化而变化。当外界生存水环境的温度降低时,鱼类自身会发生一系列生理、生化指标的变化。探究鱼类对低温的耐受能力,有助于鱼类低温胁迫基础理论的研究及其培育和筛选抗寒品种,为其幼鱼和亲本的越冬提供理论依据。

在我国,石斑鱼的养殖品种多属于温水性或暖水性鱼类,养殖区域主要集中在福建、广东、广西及至海南省等南方海域。当我国北方冬季遭遇寒冷空气袭扰时,温度下降可达到8℃以上(李凯,2013)¹⁾。研究低温胁迫后石斑鱼血清生化指标的变化,对于耐低温新品种的繁育十分关键。本研究以云龙石斑鱼幼鱼为

* 青岛市市南区科技项目(2014-14-011-SW)、农业部东海海水健康养殖重点实验室(T61201406)和山东省自然科学基金项目(ZR2015PC015)共同资助 [This work was supported by Qingdao City South District Science and Technology Project (2014-14-011-SW), Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture (T61201406), and Natural Science Funds of Shandong Province (ZR2015PC015)]. 邵彦翔, E-mail: shaoyanxiang123@163.com

① 通讯作者: 陈超, 研究员, E-mail: ysfriechencao@126.com

收稿日期: 2016-01-03, 收修改稿日期: 2016-02-26

实验对象,探讨了鱼体在生活水温逐步降低的条件下,其体内生理生化指标的变化,并研究了3种杂交石斑鱼的半致死温度,为海水鱼类在北方海域的养殖和耐寒机理的研究提供了参考。

鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*)又称龙趸或龙胆石斑鱼,为暖水性中下层珊瑚礁鱼类,是石斑鱼中体型最大的种类,有巨石斑之称。鞍带石斑鱼主要分布在东南亚、澳大利亚海域,在中国的南海诸岛和海南岛等海域也有分布(周玲等, 2010)。鞍带石斑鱼生长快,从6 cm左右的幼鱼至1 kg左右的商品鱼只需7-8个月,达到1 kg以后生长更快,只需1年体重就可以长到3-6 kg(黄建辉等, 2002)。鞍带石斑鱼肉味鲜美,肌肉中所含的氨基酸与组成人体的氨基酸较接近,食用营养价值极高。其幼鱼抗病能力强,具有很好的养殖前景。本研究中的3种杂交石斑鱼均以鞍带石斑鱼为父本,利用其生长快、抗病能力强的优点,分别与云纹石斑鱼(*E. moara*)(俗称真油斑)、棕点石斑鱼(*E. fuscoguttatus*)(俗称老虎斑)和斜带石斑鱼(*E. coioides*)(俗称青斑)的3种母本杂交,以寻找具有耐受低温能力强、生长快,具有抗病力优势、更适合我国海域和工厂化养殖的新型石斑鱼养殖品种。

1 材料与方法

1.1 材料

2014年1月从山东莱州明波水产有限公司选取规格均匀、体色正常、体表无伤的3种石斑鱼幼鱼各90尾,珍珠龙胆石斑鱼体长为(22.50±0.35) cm,体重为(198.60±0.68) g;云纹石斑鱼体长为(25.40±0.42) cm,体重为(226.70±0.75) g;青龙石斑鱼的体长为(5.40±0.32) cm,体重为(3.20±0.22) g。随机分组进行低温胁迫实验,选择9个500 L的玻璃钢水槽,在每个水槽中放入30尾幼鱼,并于20℃条件下在水槽中暂养5 d,暂养期间水温为20℃,投喂石斑鱼配合饲料,每天上下午各饱食投喂1次。实验用水符合国家渔业水质标准(GB 11607-89)。盐度为28.2±0.5, pH为7.4±0.5。每日早晚各换水50%,换水前后温差不大于0.5℃。

1.2 实验设计

以20℃为对照组,从取样开始为实验的第1天,以1℃/d的速度降温。通过加热棒控制水温,分别在16℃、15℃、13℃、10℃时对云纹石斑鱼幼鱼进行取样。取

样时将样品鱼用MS-222麻醉后吸干鱼体表面水分,用一次性无菌注射器将血液从鱼尾静脉取出并存放于1.5 ml离心管,待4℃静置5-6 h后离心,取上清液备用,将待测样品置于-80℃超低温冰箱备用。每天分别统计3种杂交鱼的成活率,在死亡率达到50%时,分别记录3种杂交石斑鱼的半致死温度。

1.3 指标检测

采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法检测血清中葡萄糖(GLU)的含量;采用甘油磷酸氧化酶-过氧化物酶法检测血清中甘油三酯(TG)的含量;采用肌氨酸氧化酶法检测血清中肌酐(CREA)的含量。血清中谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、过氧化氢酶(CAT)和碱性磷酸酶(AKP),以上生化指标的测定的具体方法均参照南京建成试剂盒说明书。

1.4 数据统计与处理

采用Excel和SPSS 16.0对数据进行处理分析,显著性差异以($P < 0.05$)为标准,结果以平均值±标准误(Mean±SE)表示。对照组取5次取样的平均值,分别与实验组对比,进行单因素方差分析(One-way ANOVA)。

2 结果

2.1 低温胁迫下云纹石斑鱼的血清生化指标

低温胁迫条件下(图1),云纹石斑鱼幼鱼血清中CREA的含量随低温胁迫强度的增强呈现先降后升的趋势,并且在16℃和13℃时与20℃对照组之间出现显著性差异($P < 0.05$),最终与胁迫前差异不显著。血清甘油三酯(TG)含量呈现波动式变化,分别在15℃和10℃时与对照组呈现显著性降低($P < 0.05$),但在其他取样温度间差异都不显著($P > 0.05$)。血清GLU含量随胁迫强度的增加整体呈现波动性变化,在16℃和13℃时与对照组之间出现显著性降低($P < 0.05$),最终含量与胁迫前差异不显著。血清中总胆固醇(T-CHO)含量随低温胁迫的强度的增强呈现先降后升的趋势,并且分别在15℃、13℃、10℃时与对照组之间差异显著($P < 0.05$)。

2.2 低温胁迫下云纹石斑鱼血清酶活性

云纹石斑鱼幼鱼低温胁迫后(图2),血清中AKP活性在16℃时有所升高,但与对照组无显著性差异($P > 0.05$),实验结束时与胁迫初差异不显著。血清中CAT受到低温胁迫后活性呈现波动性,除13℃外,其

1) Li K. Taiwan Strait cold air formation and its effects on surface water temperature. Master's Thesis of the Third Institute of Oceanography State Oceanic Administration, 2013 [李凯. 台湾海峡冷空气过程及其对表层水温的影响研究. 国家海洋局第三海洋研究所硕士研究生学位论文, 2013]

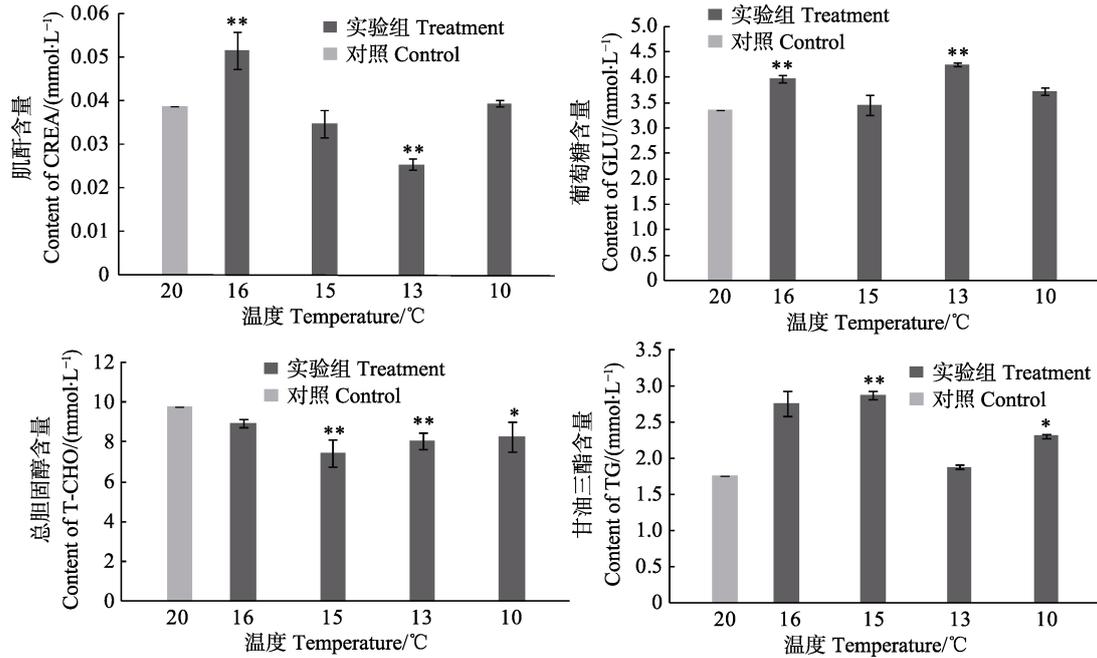


图 1 不同低温胁迫对云龙石斑鱼血清生化指标的影响

Fig.1 The effects of low temperature stress on the serum biochemical indices of *E. moara*♀×*E. lanceolatus*♂

实验组与对照组之间的差异显著性, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, 下同

Difference between the treatment and control group, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, the same as below

余各组均与对照组有显著性差异($P<0.05$)。血清中 GOT 的含量在 13°C 和 16°C 时略高于对照组, 低温胁迫实验过程中整体与对照组差异不显著($P>0.05$)。血清中 GPT 含量随低温胁迫强度的增加呈现先升后降的态势, 在 16°C 和 15°C 时与对照组相比显著降低($P<0.05$), 实验结束时基本与对照组持平。

2.3 几种杂交石斑鱼半致死低温研究

云龙石斑鱼在 20°C 以上摄食正常, 低温至 14°C 时停止摄食, 在 8.5°C 出现死亡, 8°C 时死亡超过 50%, 达到半致死温度。珍珠龙胆石斑鱼低温胁迫时, 温度下降至 15°C 前, 摄食维持在正常摄食量的 70%–80%, 13°C 时开始死亡, 12°C 时大部分鱼体表发红, 游泳能力下降, 11°C 时死亡过半。青龙石斑鱼低温胁迫后, 13°C 鱼体出现不适, 游泳能力下降, 基本不摄食, 9.5°C 死亡超过 50%, 达到半致死温度。

3 讨论

3.1 低温胁迫对云龙石斑鱼血清生化指标的影响

血液具有运输物质、调节免疫、防御病害等重要

作用, 若血液生理成分和理化性质发生变化, 将会引起鱼体内机体代谢混乱、生理功能障碍等严重后果, 直接影响鱼类的生长发育。鱼类血液中的血清生化指标在鱼病诊断、营养状况的判断等方面具有广泛的应用。血清的生化成分也常用来反映鱼体生理状况、代谢水平和健康情况等指标。血清生化指标与生理指标对外界条件胁迫的敏感性较低, 更能体现胁迫条件下机体的生理变化(高明辉, 2008)¹⁾。鱼类是群体生活的生物, 个体之间差异较显著, 施兆鸿等(2016)在对银鲳(*Pampus argenteus*)幼鱼肠道消化酶活性以及血清生化指标的研究中发现, 低温胁迫会对其消化系统及排泄系统造成一定的影响。可见, 研究温度胁迫对鱼类血清生化指标的影响对实际生产具有重要意义。

巫向前(2009)报道指出, 血清肌酐(CREA)来源于肌酸的代谢, 是反映肾功能健全与否的重要指标; Sano(1962)研究发现, 当外界环境温度降低时, 养殖鱼体的肾脏和鳃等器官会出现损伤, 对 CREA 的滤过或者渗出发生障碍, 进而造成血清中肌酐水平的升高。陈超等(2012)研究指出, 5 d 的低温胁迫未对七带石斑鱼(*E. septemfasciatus*)幼鱼肾组织造成损害, 幼鱼

1) Gao MH. The effects of V_C , V_E on carp blood indicators and antioxidant capacity under isobutyl nitrite stress. Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2008, 56–62 [高明辉. V_C 、 V_E 对亚硝酸盐胁迫下异育银鲫血液指标及抗氧化能力的影响. 华中农业大学硕士研究生学位论文, 2008, 56–62]

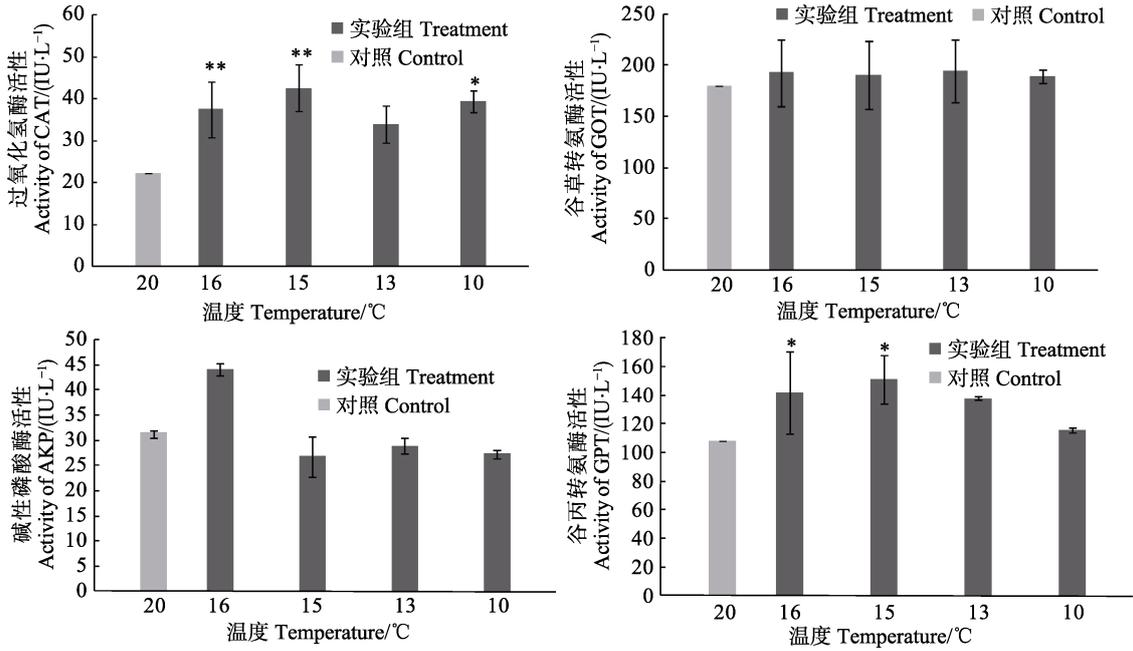


图 2 不同低温胁迫对云龙石斑鱼血清酶活性的影响

Fig.2 The effects of different low temperature stress on serum enzyme activities of *E. moara*♀×*E. lanceolatus*♂

表 1 不同温度下几种杂交石斑鱼的半致死温度

Tab.1 The semi-lethal temperatures for different hybrids at different temperatures

温度 Temperature (°C)	云纹石斑鱼(<i>E. moara</i> ♀)× (<i>E. lanceolatus</i> ♂)		珍珠龙胆石斑鱼(<i>E. fuscoguttatus</i> ♀) ×(<i>E. lanceolatus</i> ♂)		青龙石斑鱼(<i>E. coioides</i> ♀) ×(<i>E. lanceolatus</i> ♂)	
	持续时间 Time of duration (h)	成活率 Survival rate (%)	持续时间 Time of duration (h)	成活率 Survival rate (%)	持续时间 Time of duration (h)	成活率 Survival rate (%)
20	120	100	120	100	120	100
19	24	100	24	100	24	100
18	24	100	24	100	24	100
17	24	100	24	100	24	100
16	24	100	24	100	24	100
15	24	100	24	100	24	100
14	24	100	24	100	24	100
13	24	100	24	94	24	100
12	24	100	24	90	24	100
11	24	100	48	10	24	100
10	24	100			24	90
9	24	90			48	10
8	48	10				

血清 CREA 水平随着低温胁迫作用的增强而呈现下降趋势。施兆鸿等(2015)研究发现, 云纹石斑鱼幼鱼血清 CREA 含量随低温胁迫作用的增强而呈现下降的趋势, 且胁迫前后含量有显著性差异。本研究中, 血清 CREA 含量随低温胁迫强度的增加以及胁迫时间的延长, 先出现下降的趋势, 但在 10°C 时又出现上升。水温为 10°C 时, 接近云龙石斑鱼的半致死温度。作者认为, 温度过低引起云龙石斑鱼肾功能的损

害, 从而导致血清 CREA 的含量有所上升。

葡萄糖(GLU)是鱼体内重要的能源物质, 受肾上腺素、胰岛素等多种激素的调控, 还受到外界环境如温度、饵料等因素的影响。正常情况下, 血清中血糖含量维持在动态平衡状态。常玉梅等(2006)研究发现, 随着低温胁迫时间的延长, 鲤鱼(*Cyprinus carpio*)血清中 GLU 水平先升高后降低, 认为降温初期鱼体内糖原会转化为 GLU, 进而使得血液中 GLU 水平升高,

但后期大量的 GLU 被分解为 ATP 以提供能量来应对低温环境,进而使得血清中 GLU 水平降低。邵同先等(2013)也发现,鱼体内血糖水平随着低温作用强度的增强呈现先升高后降低的趋势,可能低温胁迫前期鱼体通过血糖代谢来产生热量以提高抵御寒冷的能力,而后期身体机能明显下降。本研究中,云龙石斑鱼在低温胁迫的早期,血糖浓度升高,之后下降。但在 13℃ 时出现略微上升之后又下降,作者认为,因其在 14℃ 时停止摄食,机体内肌糖元转化成葡萄糖,导致血糖浓度出现短时间上升,具体原因有待进一步研究。

总胆固醇(T-CHO)和甘油三酯(TG)是血脂中的主要成分,它们是生命细胞代谢的必需物质,也是反应机体摄取和合成蛋白能力的重要指标。它们以不同的脂蛋白形式存在于肝脏和其他细胞中,通过肝肠循环的形式合成和分泌。TG 是一种高效的能量物质,通常以热量源的形式被存储起来。贾明亮(2010)¹⁾实验表明,低温胁迫条件下,奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aures*)血清中 TG 和 T-CHO 含量都显著降低。本研究中,血清 TG 的含量在实验初期出现上升,之后下降,最终高于对照组,且差异显著,与陈超等(2012)的研究结果相似。推测机体不饱和脂肪酸在低温条件下被诱导合成,能够帮助鱼体提高抵御寒冷的能力,是鱼类机体在低温作用下调整适应的结果。

胆固醇是细胞膜的主要组成成分,Dey 等(1993)研究表明,在温度较高时,胆固醇能组织细胞膜磷脂双层分子的无序化;当环境温度降低时,胆固醇又能够干扰膜磷脂双层分子的有序化,从而通过防止晶体形成的方式来保证细胞膜的完整性和流动性。本研究中,T-CHO 的含量随着低温胁迫时间的延长逐渐降低,与之前的研究结果相似。作者认为,T-CHO 含量的减少是由于肝细胞受到损伤致使与胆固醇合成相关的酶反应受到抑制而导致。

3.2 低温对云龙石斑鱼血清酶活性的影响

血清中的碱性磷酸酶(AKP)在生物体内分布广泛,是一种重要的水解酶,与机体内磷酸基团的转移密切相关,通常此酶活力高,表明机体代谢能力较强且生长速度较快。章龙珍等(2010)报道指出,外界环境、疾病和年龄等因素会对 AKP 的活力造成影响,并带来一系列的生理变化。本研究发现,随着外界环境温度的降低,AKP 活力呈短暂升高后又降回到与对照组接近的水平。当生物体代谢或胆道排泄异常时

可能会引起 AKP 活力的升高。曹莉萍等(2008)和韦仕高等(2010)研究发现,当肝脏受损或功能出现异常时,血清中 AKP 活性的升高是由于其通过淋巴道和肝窦进入血液。本研究中,AKP 活力与对照组接近,低温胁迫未对云龙石斑鱼幼鱼的免疫机制或代谢造成损害。

谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)是糖类、脂肪和蛋白质三大能源物质代谢的关键酶,是维持生物体正常生命活动必不可少的酶。Samsonova 等(2003)研究发现,GPT 和 GOT 的活性对于鱼体生存环境、摄食情况和生长发育具有一定的指示作用。当鱼体受到外界低温环境胁迫时,机体细胞膜通透性改变,GPT 和 GOT 大量释放到血清中,导致血清转氨酶活性迅速升高,进而影响鱼体正常的代谢功能。冀德伟等(2009)在对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)低温胁迫实验中发现,GPT 和 GOT 活性均随着胁迫时间的延长和强度的增加而不断升高。何福林等(2007)发现,随着外界水温的升高,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)血清中 GPT 和 GOT 活性有不断升高的趋势。通常情况下,GOT 在血清中的浓度较低,而在肝细胞中的含量较高。一旦肝细胞受损,GOT 将会被大量释放至血液中,进而血液中的酶浓度升高或酶活性增强。本研究中,云龙石斑鱼血清 GOT 与降温的关系:在低温胁迫的开始阶段,GOT 活性明显上升,但随着低温胁迫的持续,GOT 活性出现下降,略高于对照组。具体原因还需要进一步研究。

正常情况下,GOT 多存在于心脏中,只有少量存在于细胞中,其催化谷氨酸与草酰乙酸间的转氨反应。因此,GOT 活性高低常用来检测心脏功能是否健全。影响 GOT 活性的因素很多,如机体发育阶段、饵料质量、温度、化学污染等均会对其活性产生影响,其中,温度是影响 GOT 活性最大的环境因子。本研究中,随着低温的延续,GOT 的含量整体呈现上升趋势,与施兆鸿等(2015)对云纹石斑鱼的研究结果相似,表现出云纹石斑鱼耐受低温的特性。

过氧化氢酶(CAT)是细胞内参与自由基清除系统的重要抗氧化酶,它能够减轻活性氧簇(ROS)对机体的伤害。然而,鱼体内的抗氧化酶活力受到多种环境因子的影响,如温度、饥饿、盐度、溶氧等。Martinez-Alvarez 等(2005)报道指出,水温的变化能直接影响鱼体的抗氧化体系。王晓杰等(2006)研究发现,随着环境温度的降低,在实验初期许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*)体内的 CAT 活性降低,后期 CAT 活性又随

1) Jia ML. The effects of low temperature stress on growth, muscle composition and hematological and biochemical indices of Tilapia(*Oreochromis niloticus*×*O. aures*). Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2010, 59–66 [贾明亮. 低温胁迫对奥尼罗非鱼的生长、肌肉组成和血液生理生化指标的影响. 广东海洋大学硕士研究生学位论文, 2010, 59–66]

着胁迫时间的延长呈上升趋势。本研究中, CAT 的含量在实验开始阶段出现上升, 中期出现略微下降, 之后又呈现上升趋势。本研究只选择了具有代表性的 CAT 作为鱼体抗氧化酶的研究对象, 观察了低温胁迫对云龙石斑鱼血清中抗氧化酶活性的影响, 而没有对鱼体内其他抗氧化酶的活性进行检测, 因此, 低温胁迫对云龙石斑鱼整体抗氧化酶的影响尚需进一步研究。

3.3 几种杂交石斑鱼低温半致死温度的研究

马旦梅等(2010)和徐镇等(2006)研究了不同品系的罗非鱼(*Tilapia*)和大黄鱼在低温胁迫下的致死温度。值得注意的是, 对于同样的鱼体采用不同的降温速率将会得到不同的起始致死低温点和不同的死亡温度范围。尽管目前测定鱼类起始致死低温的方法较多, 但学者多采用杨淞等(2006)报道的 1℃/24 h 的降温方法, 此低温条件下的降温速率对实验鱼体产生的冷冲击微乎其微, 能够客观真实地反应出鱼体对于低温胁迫的抵抗力。本研究以 1℃/24 h 的降温速率, 测定了 3 种杂交石斑鱼的致死低温, 较真实地反映出 3 种杂交石斑鱼对低温的最低耐受温度。研究表明, 珍珠龙胆石斑鱼作为大规模养殖的杂交石斑鱼品种, 耐受低温的能力明显比云龙石斑鱼弱, 适合在南方大规模养殖。青龙石斑鱼其生长特性、抗病抗寒能力均未出现相关报道, 还需要进一步研究。云龙石斑鱼比其他两种杂交石斑鱼能耐受更低温度的胁迫, 适合在我国北方和南方进行大规模工厂化养殖生产。

参 考 文 献

- Cao LP, Lv JF, Mou XP, *et al.* Serum GGT, ALP and LDH associated detection to cancer patients diagnosis and its meaning. *Experimental and Laboratory Medicine*, 2008, 26(4): 437-438 [曹莉萍, 吕娇凤, 牟秀萍, 等. 血清 GGT、ALP 和 LDH 联检测定对癌症患者的诊断及意义. *实验与检验医学*, 2008, 26(4): 437-438]
- Chang YM, Cao DC, Sun XW, *et al.* Changes of serum biochemical indices of common carp affected by cold temperatures. *Chinese Journal of Fisheries*, 2006, 19(2): 71-75 [常玉梅, 曹鼎臣, 孙效文, 等. 低温胁迫对鲤血清生化指标的影响. *水产学杂志*, 2006, 19(2): 71-75]
- Chen C, Shi ZH, Xue BG, *et al.* Influence of low-temperature stress on serum biochemical parameters in juvenile *Epinephelus septemfasciatus*. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(8): 1249-1255 [陈超, 施兆鸿, 薛宝贵, 等. 低温胁迫对七带石斑鱼幼鱼血清生化指标的影响. *水产学报*, 2012, 36(8): 1249-1255]
- Dey I, Buda C, Wiik T, *et al.* Molecular and structural composition of phospholipids membranes in livers of marine and freshwater fish in relation to temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(16): 7498-7502
- He FL, Xiang JG, Li CJ, *et al.* Preliminary study on the effect of water temperature on hematology indices of rainbow trout. *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]
- Huang JH, Wu TM, Lin QS, *et al.* Biological characteristics and breeding technology of gentian grouper. *China Fisheries*, 2002, 24(6): 57-59 [黄建辉, 吴天明, 林秋生, 等. 龙胆石斑鱼的生物学特性及养殖技术. *中国水产*, 2002, 24(6): 57-59]
- Ji DW, Li MY, Wang TZ, *et al.* Effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Fisheries Sciences*, 2009, 28(1): 1-4 [冀德伟, 李祥云, 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]
- Ma DM, Cheng GP, Yu HY, *et al.* The death reaction of Yoshitomi tilapia in different cooling rate stress. *Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 26(4): 200-202 [马旦梅, 程光平, 喻海燕, 等. 吉富罗非鱼对不同降温速率胁迫的死亡反应研究. *广西畜牧*, 2010, 26(4): 200-202]
- Martinez-Alvarez RM, Morales AE, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2005, 15(1): 75-88
- Sano T. Haematological studies of the culture fishes in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 1962(48): 105-109
- Samsonova MV, Minkova NO, Lapteva TI, *et al.* Aspartate and alanine amino transferase in early development of the keta. *Russian Journal of Developmental Biology*, 2003, 34(1): 14-18
- Shao TX, Lei WJ, Zhao WZ. *Hypothermal medicine*. Beijing: People's Military Medical Press, 2013 [邵同先, 雷万军, 赵文增. *低温医学*. 北京: 人民军医出版社, 2013]
- Shi ZH, Xie MM, Peng SM, *et al.* Effects of temperature stress on activities of digestive enzymes and serum biochemical indices of *Pampus argenteus* juveniles. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(5): 30-36 [施兆鸿, 谢明媚, 彭士明, 等. 温度胁迫对银鲳(*Pampus argenteus*)幼鱼消化酶活性及血清生化指标的影响. *渔业科学进展*, 2016, 37(5): 30-36]
- Shi ZH, Zhang YL, Gao QX, *et al.* Effects of low-temperature stress on serum biochemical parameters and metabolic enzyme activity in juvenile *Epinephelus moara*. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, 34(8): 2222-2228 [施兆鸿, 张艳亮, 高权新, 等. 云纹石斑鱼幼鱼血清生化指标对低温胁迫的响应. *生态学杂志*, 2015, 34(8): 2222-2228]
- Wang XJ, Zhang XM, Huang GQ, *et al.* Compensatory growth of rockfish (*Sebastes schlegeli*) following low temperature stress. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(4): 566-572 [王晓杰, 张秀梅, 黄国强, 等. 低温胁迫对许氏平鲈补偿生长的影响. *中国水产科学*, 2006, 13(4): 566-572]
- Wei SG, Wei X, Wei ZL, *et al.* The clinical value of serum enzymes indicators changes effecting liver cancer diagnosis. *Chinese Journal of Misdiagnosis*, 2010, 10(9): 2095-2096 [韦仕高, 韦霞, 韦忠理, 等. 血清酶类指标变化对原发性肝癌诊断的临床价值. *中国误诊学杂志*, 2010, 10(9): 2095-2096]

- Wu XQ. Evaluation of clinical test results (2nd Edition). Beijing: People's Health Press, 2009: 292–294 [巫向前. 临床检验结果评价(第2版). 北京: 人民卫生出版社, 2009, 292–294]
- Xu Z, Jiang JP, Chen YE, *et al.* Study on low lethal temperature of different strains of *Pseudosciaena crocea*. Journal of Ningbo University (Natural Science and Engineering Edition), 2006, 19(4): 462–464 [徐镇, 江锦坡, 陈寅儿, 等. 不同品系大黄鱼致死低温的研究. 宁波大学学报, 2006, 19(4): 462–464]
- Yang S, Du C, Lu MX, *et al.* Study on lethal temperature of five *Tilapia* hybrids F₁. Journal of Aquaculture, 2006, 27(2): 11–14 [杨淞, 杜诚, 卢迈新, 等. 5种杂交F₁代罗非鱼致死低温的初步研究. 水产养殖, 2006, 27(2): 11–14]
- Zhang LZ, Feng L, Hou JL, *et al.* Effects of lead exposure on the activities of alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase and creatine kinase in juvenile *Acipenser sinensis* blood. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(7): 1359–1364 [章龙珍, 冯琳, 侯俊利, 等. 铅暴露与排放对中华鲟幼鱼血液中碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶及肌酸激酶活力的影响. 生态学杂志, 2010, 29(7): 1359–1364]
- Zhou L, Weng WM, Li JL, *et al.* Studies on embryonic development, morphological development and feed change-over of *Epinephelus lanceolatus* larva. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(1): 293–302 [周玲, 翁文明, 李金亮, 等. 鞍带石斑鱼胚胎发育及仔鱼形态发育、饵料转变的观察研究. 中国农学通报, 2010, 26(1): 293–302]

(编辑 冯小花)

Effects of Low Temperature Stress on Serum Biochemical Indices of the Juvenile Hybrid of *Epinephelus moara* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

SHAO Yanxiang^{1,2}, CHEN Chao^{2①}, LI Yanlu², ZHANG Mengqi^{2,4}, CHEN Jianguo^{2,4}, PANG Zunfang³

(1. Dalian Ocean University, Dalian 116023; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laizhou Mingbo Aquatic Limited Corporation, Yantai 264003; 4. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract Low temperature tolerance of *Epinephelus moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ (hereinafter *Yunlong*) was investigated in this study. The initial water temperature (20°C) was served as control, and then was dropped at a rate of 1°C/d, the changes in serum biochemical indices and metabolic enzyme activities of *Yunlong* were determined when the water temperatures reached 16°C, 15°C, 13°C and 10°C. During the cold stress period, survival rates and the semi-lethal temperatures of *Yunlong*, *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ (Pearl Gentian), and *E. coioides* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ (*Qinglong*) were observed and recorded. The semi-lethal temperature was recorded when the survival rate reached 50%. We found that the semi-lethal temperatures for *Pearl Gentian*, *Qinglong* and *Yunlong* were 11°C, 9.5°C, 9°C, and 8°C respectively. The levels of serum creatinine (CREA) and total cholesterol (T-CHO) were first increased and then decreased along with increase of the intensity and duration of the low temperature stress. The level of serum triglycerides (TG) fluctuated at different temperatures, and the values at 15°C and 10°C were significantly different from that of the control group ($P < 0.05$). The content of serum glucose (GLU) also varied with the temperatures, the levels at 16°C and 13°C were different from that of the control group ($P < 0.05$). The activity of serum alkaline phosphatase (AKP) at 16°C was slightly and insignificantly increased ($P > 0.05$). The activity of serum catalase (CAT) fluctuated and showed significant differences between the control group and low temperatures at 16°C, 15°C and 10°C ($P < 0.05$). The activity of serum glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) was slightly higher than that of the control group ($P > 0.05$). The activity of serum glutamate pyruvate transaminase (GPT) was elevated followed by a decline along with the increase in the intensity and duration of low temperature stress. At 16°C and 15°C, the activity of GPT was different from that of the control group ($P < 0.05$). In conclusion, *Yunlong* was the most tolerant to low temperature stress among the three hybrids. Our data also suggested that low temperature could impair the immunity and the antioxidant capacity of juvenile fish, therefore the intensity and duration of the low temperature condition should be limited during practice.

Key words Hybrid grouper; Low temperature stress; Biochemical indicators; Low temperature tolerance

① Corresponding author: CHEN Chao, E-mail: ysfrichenchao@126.com