

文章编号: 1674 - 5566(2016)01 - 0078 - 08

低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼抗氧化和免疫指标的影响

潘桂平, 刘本伟, 周文玉

(上海市水产研究所, 上海 200433)

摘要: 低温是鱼类常见的环境胁迫因子之一, 有关云纹石斑鱼对低温胁迫的生理响应尚未见报道。本实验设置了 9、13、17 °C 3 个温度梯度, 研究短期低温胁迫(7 d)对云纹石斑鱼幼鱼肝脏和血清中抗氧化和免疫指标的影响。结果显示, 肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)随胁迫温度的降低和胁迫时间呈上升趋势; 不同温度组, 肝脏中总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)含量变化趋势不同, 胁迫过程中 9 和 13 °C 组均为先上升后下降趋势, 17 °C 组无显著变化。9 °C 组血清中 SOD 和 T-AOC 在 7 d 胁迫前后显著上升, 而其 MDA 含量在胁迫前后显著下降, 其余抗氧化指标变化不显著。就血清免疫指标而言, 各温度组血清中溶菌酶(LZM)活力和免疫球蛋白 M(Ig M)含量在低温胁迫条件下均呈先下降后上升趋势, 但 Ig M 含量变化并不显著。综上, 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼抗氧化和免疫性能影响显著, 低温胁迫导致该鱼体内的 MDA 含量升高, 因而肝脏合成更多的抗氧化物质来进行抗氧化防御。

关键词: 云纹石斑鱼; 幼鱼; 低温胁迫; 抗氧化保护; 免疫性能

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

鱼类抗氧化防御体系中的抗氧化酶主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)等。这些酶类和其他的非酶类抗氧化物质共同构成了机体内的抗氧化防御体系, 共同保护机体免受氧化伤害, 并与体内产生的活性氧物质之间达到一种平衡的状态^[1]。然而这种平衡会容易受到外界环境条件(如水温)的改变而破坏, 一旦失去平衡, 可能会造成氧化胁迫对细胞和机体的损伤。水温是鱼类代谢、生长、发育和繁殖过程中的重要环境因子, 大多数鱼类对水温都有相应的适应范围, 在适温范围内, 代谢水平与水温呈正比。有资料报道环境温度决定鱼类的抗氧化酶水平, 水温的变化与水生动物体内的活性氧水平和抗氧化能力之间有密切的联系^[2]。但当鱼类长期处于适温范围的边界, 则会造成胁迫, 降低机体的代谢水平, 这种温度胁迫与代谢水平之间具有显著的相关性^[3-4]。水温过低会使部分酶的活性降低和

抗氧化物质含量减少, 从而降低了鱼体清除自由基的能力, 导致脂质过氧化物增多, 如丙二醛(MDA)增多, 过量的 MDA 对鱼类机体会造成伤害^[5]。因此, MDA 含量常被用来衡量水生动物机体的抗氧化能力^[5-6]。同样, 环境因子也会影响鱼类机体非特异性免疫能力, 如溶菌酶(LZM)和免疫球蛋白 M(Ig M)的水平^[7-8]。溶菌酶具有破坏细菌细胞壁结构的功能, 而免疫球蛋白 M 是鱼类中唯一的免疫球蛋白, 主要存在于血液中, 可以防止菌血症、中和毒素和病毒的毒性作用, 从而实现了对机体的有效保护^[9]。由此可见, 保持适宜的水温条件, 对维持鱼类正常的代谢水平、正常抗氧化能力和免疫性能等均具有重要的生态学意义。

云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)属鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)^[10], 具有生长快、肉质鲜美等特点。其适温范围在 8 ~ 35 °C, 最适生长水温为 18 ~ 27 °C^[10], 由于其在中等体型的

收稿日期: 2015-04-11 修回日期: 2015-07-23

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2013)第 6-3 号、沪农科攻字(2009)第 5-6 号]

作者简介: 潘桂平(1962—), 男, 高级工程师, 研究方向为鱼类繁育生物学和设施渔业。E-mail: gppan@126.com

通信作者: 周文玉, E-mail: wyzh265@163.com

石斑鱼类中,比斜带石斑鱼(*E. bontoides*)、棕点石斑鱼(*E. fuscoguttatus*)以及一些杂交石斑鱼种类更耐低温,故其养殖前景被看好^[11]。在人工养殖过程中,由于季节更替等原因云纹石斑鱼可能会遭受低温胁迫的影响,从而出现异常的生理生化反应。迄今为止,有关低温胁迫对云纹石斑鱼抗氧化和免疫性能的影响尚未见报道。因此,本实验研究了不同低温条件(低于最适生长水温,9℃、13℃、17℃)对云纹石斑鱼幼鱼抗氧化和免疫指标的影响,旨在探讨低温胁迫对云纹石斑鱼生理生化的影响,为该鱼的养殖生产提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 供试 用 鱼 和 实 验 条 件

实验用鱼为当年繁育的幼鱼,挑选体长为(14.28±0.82)cm、体质量(34.14±5.17)g、体表无伤、体色正常的幼鱼用于实验。实验时间为2013年12月,实验开始前采用随机分组法,在9个800L的玻璃缸实验桶中各随机放入30尾鱼,个体间无显著差异($P < 0.05$),正式实验前暂养14d,暂养期间饲喂日本林兼株式会社生产的鱼宝牌配合饲料,每天2次饱食投喂。饲养用水为经暗沉淀和沙滤的天然海水,每天换水量为1/2。盐度为28.0±0.5,pH为8.0±0.5,溶解氧为6~8mg/L,控温电加热棒控制水温,水温为(18.0±0.5)℃,24h不间断充气。养殖水总氨氮浓度小于0.1mg/L。

1.2 实 验 设 计 和 取 样

根据预实验,相似体质量的云纹石斑鱼17℃停止摄食,6℃开始出现死亡。因此本实验设置3个温度组(9℃、13℃、17℃),每个温度组各3个重复。实验正式开始前,通过换水将水温同步调节至设定温度,采用控温仪(型号:ZNHW-III,上海越从仪器厂生产)控制水温,正式实验周期为7d,分别在第0、3和7天进行采样,每重复每次各取3尾鱼,置于冰盘上进行尾静脉采血,然后精确称重和测量体长,将3尾鱼的血液混合后作为一个样本,血样在3000r/min离心20min,取上层血清移入离心管中,血清样品放置于-70℃超低温冰箱中保存备用。取血后对实验鱼进行麻醉和解剖,取肝脏于-70℃超低温冰箱中保存。

1.3 指 标 检 测

采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定血清与肝脏中的超氧化物歧化酶(SOD)活力、过氧化氢酶(CAT)活力、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)活力、总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)含量。SOD采用黄嘌呤氧化酶法测定,SOD活力单位定义:在反应体系中SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位(U)。CAT活力采用比色法测定,CAT活力单位定义:每毫升血清(或每毫克组织)每秒分解1μmol双氧水的量为1个活力单位(U/mL)。GSH-Px活力检测采用比色法,GSH-Px酶活定义:每0.1mL血清(或每毫克组织)在37℃反应5min,扣除非酶促反应,使反应体系中GSH浓度降低1μmol/L为一个酶活力单位(U/mL)。T-AOC采用化学比色法测定,单位定义:在37℃时,每分钟每毫升血清(或毫克组织)使反应体系的吸光度(OD)值每增加0.01时,为一个总抗氧化能力单位(U/mL)。GSH采用分光光度法测定,酶活单位定义:每毫升血清每分钟扣除非酶反应的log(GSH)降低1为一个酶活力单位。MDA采用比色法测定(mmol/mL)。

采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定血清中溶菌酶(LZM)和免疫球蛋白M(IgM)含量。LZM采用比浊法(U/mL);IgM采用免疫比浊法(mg/mL)。

1.4 数 据 统 计 与 分 析

实验结果用SPSS 13.0软件进行统计与分析。采用Levene's法对实验数据进行方差齐性检验,当不满足方差齐性时,对数据进行自然对数或平方根转换,采用ANOVA对实验结果进行方差分析,采用Duncan's法进行多重比较,当 $P < 0.05$ 时为差异显著。所有数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示。

2 结 果

2.1 血 清 和 肝 脏 抗 氧 化 指 标

2.1.1 超 氧 化 物 歧 化 酶

9℃和17℃组鱼体血清中在胁迫3d和7d显著升高($P < 0.05$),0d和3d无显著差异($P > 0.05$),13℃组鱼体血清中SOD在0~7d无显著变化。肝脏中的SOD变化趋势与血清有所不同,9℃和13℃组鱼体肝胰腺中SOD在0~7d一直

显著上升,17 ℃实验组中肝脏中 SOD 活力在 0 d 和 3 d 没有显著变化,但是第 7 d 显著上升($P < 0.05$)。就不同水温对血清和肝脏中 SOD 活力影响而言,实验第 7 d,各温度组血清中 SOD 变化不

显著,各温度组肝脏中 SOD 均存在显著差异,随着胁迫温度升高肝脏中的 SOD 呈显著下降趋势($P < 0.05$),见图 1。

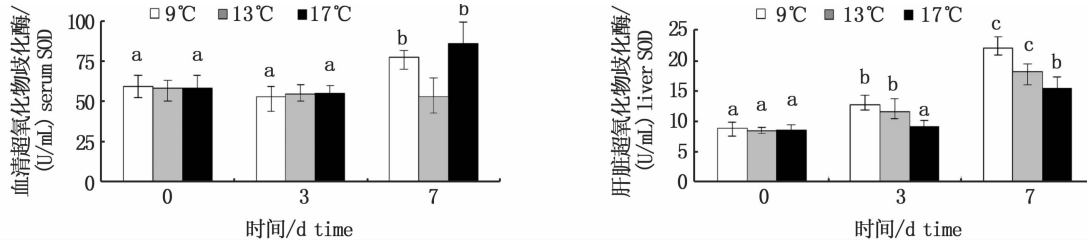


图 1 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清和肝脏中超氧化物歧化酶活力的影响

Fig. 1 Effects of low temperature stress on the SOD activity in serum and liver of juvenile *E. moara*

柱上方含有不同小写字母表示同一实验组不同时间的差异显著($P < 0.05$),图 2-6 注释同此, $n = 3$ 。

Different lowercase letters indicate there are significant differences among the different sampling periods. The same in fig. 3-6, $n = 3$.

2.1.2 过氧化氢酶

不同的温度组中 CAT 活力在血清中呈现先下降后上升的趋势,胁迫前(0 d)与实验结束时(7 d)之间差异不显著($P > 0.05$),但都与实验中期(3 d)呈显著性差异($P < 0.05$)。肝脏中 9 ℃实验组随胁迫时间的延长均呈上升态势,但 13

℃实验组和 17 ℃实验组胁迫前(0 d)与实验中期(3 d)无显著性差异($P > 0.05$),但实验结束时(7 d)均与胁迫前(0 d)差异显著($P < 0.05$)。实验第 7 d,随着胁迫温度升高肝脏中的 CAT 呈显著下降趋势($P < 0.05$),见图 2。

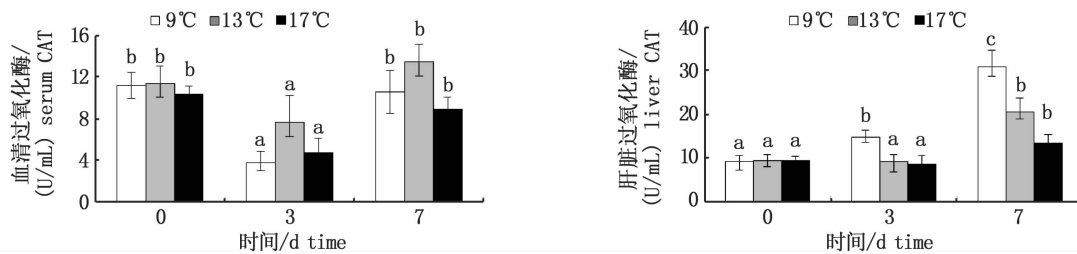


图 2 低温胁迫条件对云纹石斑鱼幼鱼血清和肝脏中过氧化酶活力的影响

Fig. 2 Effects of low temperature stress on the CAT activity in serum and liver of juvenile *E. moara*

2.1.3 谷胱甘肽过氧化酶

如图 3 所示,各温度组血清中 GSH-Px 活力在胁迫过程中无显著性差异($P > 0.05$)。肝脏中 GSH-Px 活力随胁迫强度的增加呈上升态势,9 ℃实验组和 13 ℃实验组在实验中期(3 d)就与胁迫前之间有显著性差异($P < 0.05$),分别达到 (265.024 ± 34.275) U/mL 和 (184.478 ± 24.939) U/mL,分别是胁迫前的 1.6 倍和 0.8 倍。实验结束时(7 d)3 个实验组都达到了 300

U/mL 以上,3 个温度组间无显著差异。

2.1.4 总抗氧化能力

低温胁迫对血清和肝脏中 T-AOC 的影响见图 4。各温度组血清中的 T-AOC 变化规律并不相同,9 ℃组中血清 T-AOC 随胁迫时间延长而显著上升($P < 0.05$),13 ℃组先上升后下降,17 ℃组仅在 0~3 d 显著上升。各温度组肝脏 T-AOC 的变化趋势与血清中基本一致,但实验第 7 d 肝脏中的 T-AOC 显著低于血清(图 4)。

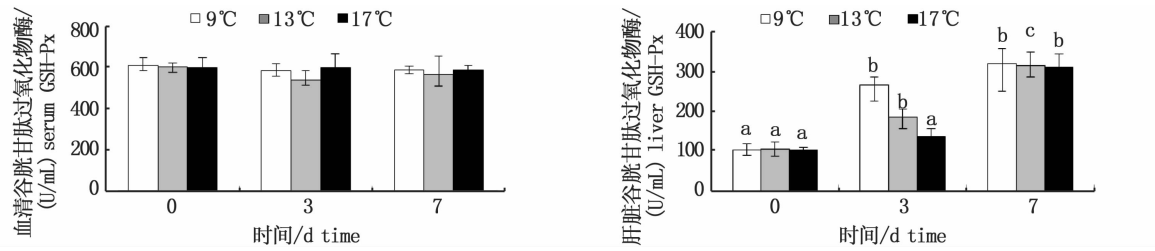


图3 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清和肝脏谷胱甘肽过氧化酶活力的影响

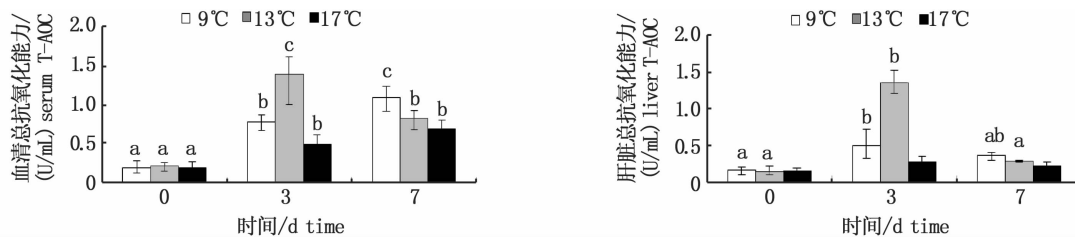
Fig. 3 Effects of low temperature stress on the GSH-Px activity in serum and liver of juvenile *E. moara*

图4 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清和肝脏总抗氧化能力的影响

Fig. 4 Effects of low temperature stress on the T-AOC activity in serum and liver of juvenile *E. moara*

2.1.5 丙二醛

9 °C 组血清中 MDA 含量呈显著下降趋势 ($P < 0.05$), 13 °C 组在 0 d 和 3 d 显著上升, 此后无显著变化, 而 17 °C 组血清中 MDA 含量在实验过程中无显著变化。低温胁迫对肝脏中 MDA 含

量变化的影响与血清中变化规律有所差异, 9 °C 组和 13 °C 组肝脏中 MDA 在胁迫过程中均呈现上升趋势, 实验第 7 d, 随着胁迫温度降低, 肝脏中 MDA 呈上升趋势 ($P < 0.05$), 见图 5。

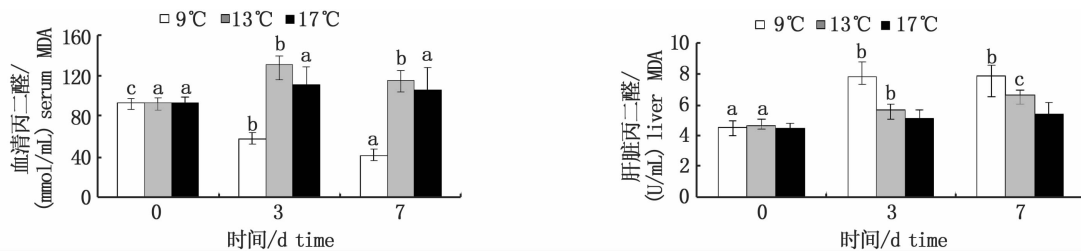


图5 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清和肝脏中丙二醛含量的影响

Fig. 5 Effects of low temperature stress on the MDA contents in serum and liver of juvenile *E. moara*

2.2 血清免疫指标

云纹石斑鱼幼鱼在遭受低温胁迫后, 9 °C 组和 13 °C 组血清中溶菌酶 (LZM) 在 0 d 和 3 d 呈现显著下降 ($P < 0.05$), 实验第 7 天有所恢复, 但仍未达到胁迫前水平。尽管 9 °C 组和 13 °C 组血清中免疫球蛋白 M (Ig M) 在整个实验过程中也呈先下降后上升趋势, 但是各温度组胁迫过程中均无显著性差异 ($P > 0.05$), 见图 6。

3 讨论

3.1 低温胁迫对血清和肝脏抗氧化性能的影响

水温通过影响鱼类的生理代谢来调控其生长发育、能量收支和免疫抗病等^[12-13]。有研究表明, 鱼体的抗氧化能力与水温具有较高的相关性^[14], 因此, 低温胁迫条件对鱼类机体的抗氧化防御系统的影响较大, 可能会影响到 SOD、CAT、

GSH-Px、T-AOC 和 MDA 等相关的酶活力及其含量,这些指标通常用来评价鱼类的抗氧化能力。由于单个指标评价机体抗氧化能力存在一些缺

陷,不能很好地解释低温胁迫条件下鱼类的响应过程。因此,应该对低温胁迫条件下,鱼类血清和肝脏中的多种抗氧化指标进行综合研判。

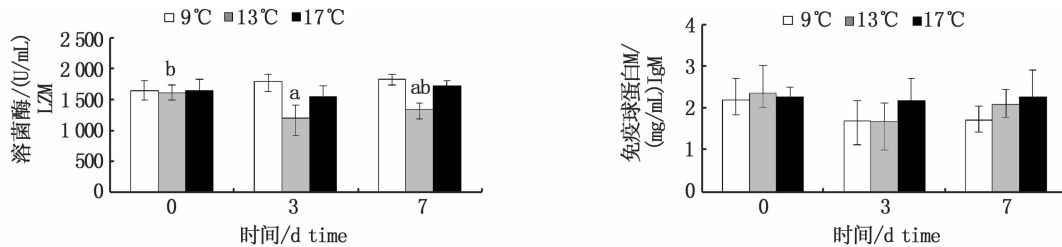


图6 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清中免疫指标的影响

Fig. 6 Effects of low temperature stress on the immune parameters in serum of juvenile *E. moara*

SOD 活性主要反映机体清除氧自由基的能力^[15],而 CAT 是将机体内 H_2O_2 分解为 H_2O 的主要酶;GSH-Px 能将脂质过氧化物还原成醇,减少脂类被氧化的机会及 MDA 对细胞的损伤^[16]。由此,SOD、CAT 和 GSH-Px 是通过协同完成抗氧化过程的。MDA 是脂质被氧化后的终产物,机体内 MDA 的水平显示机体脂质受活性氧、自由基氧化损害的程度。一般认为,SOD 酶活力与 MDA 含量相互配合更能说明机体的抗氧化能力。本实验中 9 °C 组胁迫 7 d 过程中,肝脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力都呈上升趋势,且与胁迫前有显著性差异($P < 0.05$);而血清中除 SOD 在胁迫前后有显著差异外,CAT 和 GSH-Px 活力在 7 d 胁迫前后均无差异($P > 0.05$)。这说明,低温胁迫后云纹石斑鱼幼鱼肝脏中抗氧化酶活力持续升高,该鱼通过启动肝脏中的抗氧化防御系统来进行抗氧化。这与先前中华鲟中“适温范围内血清中抗氧化酶活力与水温呈正比”的研究结果有所不同^[17],这可能是由于不同鱼类及实验中温度梯度设置差异造成的。脂质过氧化反应中形成的过氧化物主要在肝脏分解,所以肝脏中的脂质过氧化产物 MDA 含量会随着胁迫加强而升高(图 5),正常状态下,机体内 MDA 的含量是极低的^[18]。本实验中肝脏的 MDA 含量在低温胁迫后都出现上升,且与胁迫前差异显著。由于 MDA 是组织中脂质过氧化的最终产物,具有很强的细胞毒性^[19]。因此从 MDA 含量随胁迫强度和胁迫时间的升高,预示着低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼抗氧化能力造成了影响,肝脏在低温胁迫下抗氧化能力有所下降,易受自由基的攻击;而在 9 °C

和 13 °C 的胁迫条件下能激活抗氧化防御系统。JOBLING 在对鲈(*Pleuronectes platessa*)的研究中认为,代谢率在可耐受温度范围内的反应是可逆的^[20]。从实验中 MDA 含量的变化推测,7 d 后仍持续 9 °C 低温胁迫,则可能导致肝脏积累过多的有害物质而遭受损害。

本实验中,肝脏 SOD 在低温下增强,而血清 SOD 则在 7 d 时才显著增强,说明肝脏是 SOD 抗氧化酶促反应的主要场所,血清指标的变化则相对滞后。而 CAT 是红血素酶,主要存在于肝脏和红细胞中,肝脏含量较高,本实验中,血清 CAT 活力在 3 d 时出现下降,暗示血液的 CAT 储备减弱,此时肝脏 CAT 活力持续增强,7 d 时血清 CAT 活力得到恢复。另外,血清中各抗氧化酶的活力没有肝脏中那样变化明显,推测血清和肝脏在鱼类机体抗氧化功能上的作用有所不同。MEAD 认为肝脏主要合成 SOD 及其他抗氧化物质,此后由血液等运送至其他器官组织用于抗氧化^[21]。本实验低温胁迫条件下,肝脏中 T-AOC 的变化幅度较大,也暗示肝脏在抗氧化物质合成中的作用较大。

3.2 低温胁迫对血清免疫指标的影响

水温是鱼类生命活动中最重要的环境因子之一。温度对鱼类免疫系统的影响非常复杂,至今尚存在许多争议^[22]。有学者认为低温可以减慢代谢循环因而抑制或延迟抗体的释放^[23];另有研究者发现虹鳟(*Salmo gairdneri*)在人工条件下低温时能较好地产生抗体^[24];侯亚义等报道了虹鳟血浆中 IgM 的浓度是温度依赖型的,即高温时它们的浓度升高,反之低温时它们的浓度降

低^[22]。本研究期望通过低温胁迫找出相关免疫指标的响应范围。LZM 是生物体内非特异性免疫防御体系中具有广谱抗菌作用的碱性酶,其作用机理是水解致病菌中的黏多糖,具有抗菌、消炎、抗病毒等作用^[9]。很多研究认为其活性与温度同样具有明显的相关性^[7,25]。LE 等在对鲤 (*Cyprinus carpio*) 非特异免疫系统的研究中认为在低温环境下非特异性免疫占有主导地位^[26]。本实验中血清 LZM 活力随低温胁迫的强度增加呈显著下降趋势,但达到一定值后随时间的延后溶菌酶活力不再下降反略有回升,且稳定在某一范围内,推测随时间的延续机体适应了环境的低温,LZM 活力不再持续下降。此结果符合在低温胁迫时 LZM 活力与环境温度有较强的依赖性的论点^[7],也与大西洋庸鲷 (*Hippoglossus hippoglossus*)^[27] LZM 活力在低温条件下受到抑制的报道一致。

本实验中云纹石斑鱼幼鱼血清 Ig M 含量在胁迫中期(3 d)有所下降,表明低温胁迫对 Ig M 产生了影响,但不足以达到显著性差异水平。到实验结束时(7 d)时各组都恢复到胁迫前水平。说明 Ig M 在本实验的胁迫强度和胁迫时间条件下均没有明显的响应。因此本实验条件还不足以对云纹石斑鱼幼鱼血清 IgM 产生影响。

参考文献:

- [1] 亢玉静,郎明远,赵文. 水生生物体内抗氧化酶及其影响因素研究进展[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(3): 75-80.
KANG Y J, LANG M Y, ZHAO W. Advance in antioxidant enzymes and its effect factors in aquatic organisms [J]. Journal of Microbiology, 2013, 33(3): 75-80.
- [2] FILHO D W, TORRES M A, ZANIBONI-FILHO E, et al. Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847) [J]. Aquaculture, 2005, 244(1/4): 349-357.
- [3] HANDELAND S O, IMSLAND A K, STEFANSSON S O. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts [J]. Aquaculture, 2008, 283(1/4): 36-42.
- [4] JOBLING M. Influence of body weight and temperature on growth rates of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) [J]. Journal of Fish Biology, 1983, 22(4): 471-475.
- [5] HOCHACHKA P W, SOMERO G N. Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution [M]. Oxford, UK: Oxford University Press, 2002.
- [6] 刘小兵,朴建华. 生物活性物质的抗氧化能力评价方法及其研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 440-444.
LIU X B, PIAO J H. Progress in evaluation methods of antioxidant capacity of bioactive substances [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2008, 20(5): 440-444.
- [7] MORGAN A L, THOMPSON K D, AUCHINACHIE N A, et al. The effect of seasonality on normal haematological and innate immune parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* L. [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 25(6): 791-799.
- [8] 李亚南,陈全震,邵健忠,等. 鱼类免疫学研究进展[J]. 动物学研究, 1995, 16(1): 83-94.
LI Y N, CHEN Q Z, SHAO J Z, et al. Advances in research of fish immunology [J]. Zoological Research, 1995, 16(1): 83-94.
- [9] 钟国防,钱曦,华雪铭,等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对暗纹东方鲀溶菌酶活性及c型溶菌酶 mRNA 表达的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1121-1128.
ZHONG G F, QIAN X, HUA X M, et al. Effects of feeding with corn gluten meal on lysozyme activity and c-lysozyme gene expression in *Fugu obscurus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(7): 1121-1128.
- [10] 刘秉忠. 石斑, 石斑鱼养殖要点 [M]. 基隆: 台湾渔业经济发展协会, 2007: 38-47.
LU B Z. Grouper, Grouper farming important point [M]. Keelung: Chinese Taiwan Fishery Economy Develop Association, 2007: 38-47.
- [11] 张雅芝,刘冬娥,方琼珊,等. 温度和盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长与存活的影响 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2009, 14(1): 8-13.
ZHANG Y Z, LIU D E, FANG Q S, et al. Effects of temperature and salinity on growth and survival rate of young *Epinephelus coioides* [J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2009, 14(1): 8-13.
- [12] LAHNSTEINER F, CABERLOTTO S. Motility of gilthead seabream *Sparus aurata* spermatozoa and its relation to temperature, energy metabolism and oxidative stress [J]. Aquaculture, 2012, 370-371: 76-83.
- [13] SŁOWINSKA M, NYNCA J, CEJKO B I, et al. Total antioxidant capacity of fish seminal plasma [J]. Aquaculture, 2012, 400-401: 101-104.
- [14] GIESEG S P, CUDDIHY S, HILL J V, et al. A comparison of plasma vitamin C and E levels in two Antarctic and two temperate water fish species [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 125(3): 371-378.
- [15] 李彦,杨在宾,杨维仁,等. 日粮维生素 A 和维生素 E 水平对肉鸡抗氧化和免疫性能的影响 [J]. 动物营养学报, 2008, 20(4): 417-422.
LI Y, YANG Z B, YANG W R, et al. Effects of different

- supplemental levels of vitamin A and vitamin E in diets on antioxidant and immune performance in broilers [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2008, 20(4): 417 - 422.
- [16] 李勇, 孔令青, 高洪, 等. 自由基与疾病研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(4): 85 - 88.
- LI Y, KONG L Q, GAO H, et al. Progress on free radical and diseases[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2008, 29(4): 85 - 88.
- [17] 李大鹏, 刘松岩, 谢从新, 等. 水温对中华鲟血清活性氧含量及抗氧化防御系统的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(3): 327 - 332.
- LI D P, LIU S Y, XIE C X, et al. Effects of water temperature on serum content of reactive oxygen species and antioxidant defense system in Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(3): 327 - 332.
- [18] 王奇, 范灿鹏, 陈锐慈, 等. 三种磺胺类药物对罗非鱼肝脏组织中谷胱甘肽转移酶(GST)和丙二醛(MDA)的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(5): 1014 - 1019.
- WANG Q, FAN C P, CHEN K C, et al. Effects of three typical sulfonamides on GST activity and MDA content in liver tissue of *Oreochromis niloticus* [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(5): 1014 - 1019.
- [19] PENG S M, CHEN L Q, QIN J G, et al. Effects of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fed oxidized fish oil[J]. Aquaculture Nutrition, 2009, 15(3): 329 - 337.
- [20] JOBLING M. A study of some factors affecting rates of oxygen consumption of plaice, *Pleuronectes platessa* L. [J]. Journal of Fish Biology, 1982, 20(5): 501 - 516.
- [21] MEAD J F. Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes [M]//PRYOR W A, ed. Free Radicals in Biology. New York: Academic Press, 1976: 51 - 68.
- [22] 候亚义, 韩晓冬. 温度和类固醇激素对虹鳟免疫球蛋白M(IgM)的影响[J]. 南京大学学报(自然科学版), 2001, 37(5): 563 - 568.
- HOU Y Y, HAN X D. Effects of temperature and steroid hormones on immunoglobulin M (IgM) in immature rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Journal of Nanjing University (Natural Science), 2001, 37(5): 563 - 568.
- [23] 龙华. 水生动物 10 种非特异性免疫分子的研究进展[J]. 长江大学学报:(自然科学版), 2005, 2(11): 67 - 72.
- LONG H. Research advances on 10 nonspecific immune molecules of aquatic animals [J]. Journal of Yangtze University: (Natural Science), 2005, 2(11): 67 - 72.
- [24] VAN GLNKEL F W, VAN MUISWINKEL W B, MERCHANT B, et al. Temperature comparisons for antibody production *in vitro* by plaque-forming cells from trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), and mice [J]. Journal of Fish Biology, 1985, 27(3): 265 - 272.
- [25] HAYMAN J R, BLY J E, LEVINE R P, et al. Complement deficiencies in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) associated with temperature and seasonal mortality[J]. Fish and Shellfish Immunology, 1992, 2(3): 183 - 192.
- [26] LE MORVAN C, DESCHAUX P, TROUTAUD D. Effects and mechanisms of environmental temperature on carp (*Cyprinus carpio*) anti-DNP antibody response and non-specific cytotoxic cell activity: A kinetic study [J]. Developmental and Comparative Immunology, 1996, 20(5): 331 - 340.
- [27] LANGSTON A L, HOARE R, STEFANSSON M, et al. The effect of temperature on non-specific defense parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2002, 12(1): 61 - 76.

The effects of cold stress on the antioxidant defense and immune parameters of juvenile *Epinephelus moara*

PAN Guiping, LIU Benwei, ZHOU Wenyu

(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai 200433, China)

Abstract: Low water temperature is one of the common environmental stressors for fishes, but no available information could be found on the physiological response to low water temperature for *Epinephelus moara*. The current study was conducted to investigate the effects of low water temperature stress (0–7 days) on the activities of antioxidant enzymes and immune parameters in serum and liver of juvenile *E. moara*, and three water temperatures were set at 9, 13 and 17 °C, respectively. The result demonstrated that the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) increased with the decreasing water temperature and the increasing stress time. The total antioxidant capacities (T-AOC) and malondialdehyde (MDA) contents showed different trends in the livers of the different temperature treatments, i. e., the trends of “increasing-decreasing” were found in the livers from 9 and 13 °C treatments while no significant difference was found in the liver of 17 °C treatment. The significant differences were detected in the serum T-AOC and SOD from the beginning to the end of the experiment, and the significant decrease was found on the MDA in the serum. However, the other parameters were not related significantly to the low temperature. As for immune indices in the serum, the trends of “high-low-high” were found in lysozyme (LZM) activities and contents of immunoglobulin M (IgM), but no significant difference was found on the IgM. In conclusion, the low water temperature stress had the significant effects on the antioxidant and immune abilities for juvenile *E. moara*, and the low temperature led to the increasing MDA in *E. moara*, which may induce the synthesis of some antioxidant in the liver.

Key words: *Epinephelus moara*; juvenile; low temperature stress; antioxidant defense; immunity