

船舶噪声对鲈鱼和大黄鱼血浆皮质醇水平的影响

施慧雄¹, 焦海峰¹, 尤仲杰^{1,2,*}, 王亚军², 李松海³, 徐继林², 杨家锋¹

(1. 宁波市海洋与渔业研究院, 宁波 315012; 2. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 宁波 315211;

3. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 在实验室条件下研究了模拟船舶噪声对养殖鲈鱼、大黄鱼血液中皮质醇分泌量的影响。结果表明, 噪声刺激鲈鱼和大黄鱼后, 鱼类血液中皮质醇含量先上升、后下降, 后逐渐恢复原有水平或维持在较高的水平。鲈鱼血液中皮质醇水平在 155dB 的胁迫条件下于刺激 1h 左右达峰值, 为 112.23ng/mL, 大黄鱼血液皮质醇水平峰值出现在刺激后 20min—1h, 值为 17.18ng/mL。鲈鱼血液中皮质醇水平(C_{L155} , C_{L138})受重复噪声刺激后随时间(T)回归方程: $C_{L155} = 33.507e^{0.2425T}$ ($r = 0.8939$, $P < 0.01$); $C_{L138} = 36.187e^{0.1862T}$ ($r = 0.8002$, $P < 0.01$), 大黄鱼血液中皮质醇水平(C_{H155} , C_{H138})受间歇噪声刺激后随时间(T)回归方程为: $C_{H155} = 3.1208e^{0.2535T}$ ($r = 0.8833$, $P < 0.01$); $C_{H138} = 2.8369e^{0.1706T}$ ($r = 0.8064$, $P < 0.01$)。鲈鱼(C_L)、大黄鱼(C_H)血液中皮质醇水平与噪声源强(S)的回归方程为: $C_L = 33.05154e^{0.2461S}$, $r = 0.9563$; $C_H = 3.9706e^{0.2401S}$, $r = 0.9114$ 。

关键词: 船舶噪声; 鲈鱼; 大黄鱼; 皮质醇; 分泌

The effect of ship noise on the secretion of cortisol in *Lateolabrax japonicus* and *Pseudosciaena crocea*

SHI Huixiong¹, JIAO Haifeng¹, YOU Zhongjie^{1,2,*}, WANG Yajun², LI Songhai³, XU Jilin², YANG Jiafeng¹

1 Ningbo Academy of Ocean and Fishery, Ningbo 315012, China

2 Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China

3 Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

Abstract: The effect of ship noise on the secretion of cortisol was studied using the perch, *Lateolabrax japonicus*, and the yellowfish, *Pseudosciaena crocea* in controlled laboratory conditions. The results showed that after ship noise exposures (155dB, 1μPa²/Hz), cortisol level in both fish either increased, then gradually decreased to the original levels, or increased and remained at high levels. Blood cortisol levels in the perch reached 112.23ng/mL after 60min exposure. Yellowfish cortisol levels reached 17.18ng/mL after 20—60 min exposure. Perch cortisol levels (C_{L155} , C_{L138}) relative to the time (T) of intermittent noise exposure can be expressed as $C_{L155} = 33.507e^{0.2425T}$ ($r = 0.8939$, $P < 0.01$); $C_{L138} = 36.187e^{0.1862T}$ ($r = 0.8002$, $P < 0.01$), Yellowfish cortisol levels (C_{H155} , C_{H138}) in the same conditions may be expressed as $C_{H155} = 3.1208e^{0.2535T}$ ($r = 0.8833$, $P < 0.01$); $C_{H138} = 2.8369e^{0.1706T}$ ($r = 0.8064$, $P < 0.01$). Perch (C_L) and yellowfish (C_H) cortisol levels relative to ship noise (S) can be expressed by the model: $C_L = 33.05154e^{0.2461S}$, $r = 0.9563$; $C_H = 3.9706e^{0.2401S}$, $r = 0.9114$.

Key Words: ship noise; *Lateolabrax japonicus*; *Pseudosciaena crocea*; cortisol; secretion

人为活动噪声能影响鲸、鸟类和鱼类的日常行为、摄食和生态学过程, 研究表明, 长期暴露于噪声等应激状态下会导致生物体处于一种异平衡负荷^[1], 生物体适应异平衡付出的代价是造成能量的消耗, 进而造成机

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)资助(2006AA10A410); 国家科技支撑计划资助项目(2007BAD43B09); 宁波市科技局重大招标资助项目(2006c100030)

收稿日期: 2009-06-03; 修订日期: 2009-09-04

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zuiyou@163.com

体各项机能的下降^[2]。噪声轻者可致捕食、种间交流和洄游等能力下降^[3],重者的可屏蔽动物听觉或引起听觉的暂时性失聪^[4]。Sverdrup^[5]研究发现,在不考虑鱼类听觉阈值的情况下,噪声能引发鱼类的内分泌学胁迫应答。

脊椎动物通过神经内分泌激素对强烈刺激所作出的反应将导致其生理或行为上的预警反应^[6],皮质醇水平是衡量预警反应的重要生理指标^[7]。例如:拥挤和剧烈振荡胁迫造成草鱼血液内皮质醇含量大幅度升高^[8-9],亚致死量重金属^[10]和高密度饲养模式^[11]都能提高机体内皮质醇水平,环境温度的变化也影响裸盖鱼(*Anoplopoma fimbria*)皮质醇的反应^[12]。Lidia^[4]研究发现,噪声可以促使3种淡水鱼皮质醇的分泌,欧洲大西洋鲑鱼(*Salmon salar*)^[13]与鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)^[14]呈现相同的应激应答。目前,噪声对生化压力的反应研究主要集中于哺乳动物,而海洋鱼类对噪声应激的反应研究资料相对匮乏^[15]。

近几年海洋开发活动的升温,在海洋环境中,船舶噪声会对鱼类产生胁迫且此类问题日益突出,本文在实验条件下就船舶噪声对浙江省象山港内两大重要养殖品种鲈鱼、大黄鱼的影响程度及其反应模式进行研究,以期为海洋生物应激生物学提供科学资料。

1 材料与方法

实验用鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)取自浙江省象山港海水网箱养殖区,规格见表1,置入水泥池中暂养7d以上,期间不投喂,每隔1—2d换水1/2,避免惊扰。

1.1 实验方法

刺激实验于300L塑料水箱中进行,挑选健康的鲈鱼、大黄鱼用丁香酚麻醉后移转入实验水箱中,稳定24h以上进行实验,鲈鱼每箱放置3尾、大黄鱼每箱放置5尾,每一实验组设置3个平行。船舶噪声源采用水听器(OKI ST1020)、水下声音水平(sound level)测量仪(OKI SW1020)和高频数字数据录音机(索尼PCHB244)在3.5万t船舶满载经过时现场录制。声信号由基于个人电脑的DTDiskTM(Version 1.11)软件和SIGNALTM(Version 4.03)软件分析处理后存储,测点声音信号能谱水平约为108dB re:1μPa²/Hz(图1,图2),以笔记本电脑(IBM T43)配合音箱信号放大器为音频输出,水下扬声器置于容器中间。

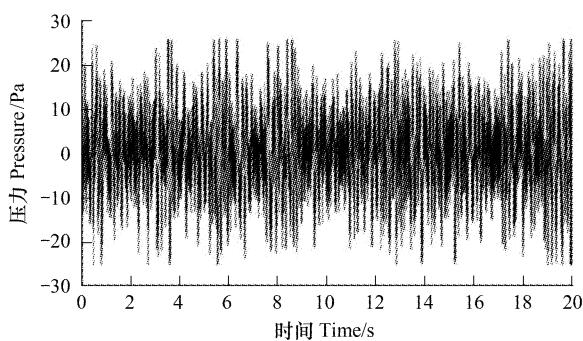


图1 水下船舶噪声的波形图

Fig. 1 Waveforms of ship noise

表1 实验鲈鱼、大黄鱼体征指标

Table 1 Body Index of *Lateolabrax japonicus* and *Lateolabrax japonicus*

动物 Animal	体重 weight(g) M ± SD	全长 Length(cm) M ± SD
鲈鱼 <i>Lateolabrax japonicus</i>	669.51 ± 62.76	36.8 ± 3.1
大黄鱼 <i>Lateolabrax japonicus</i>	284.78 ± 50.39	26.3 ± 2.2

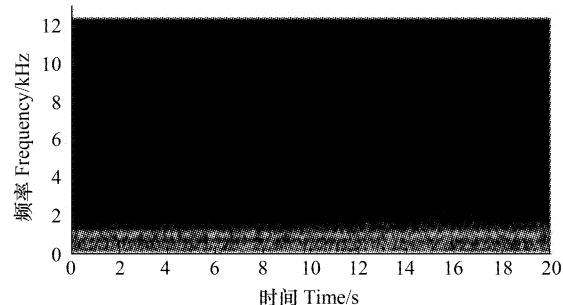


图2 水下船舶噪声的声谱图

Fig. 2 Sampling frequency of ship noise

单次刺激和重复刺激噪声源强均为138dB和155dB两个水平,单次刺激为实验初期以噪声源刺激10min后在每天的规定时间点取样,重复刺激为每隔24h以固定源强的噪声刺激10min,作用停止30min后取样;梯度噪声刺激源强分别为112dB(对照组)、138 dB、144 dB、146 dB、151 dB和155dB等6个梯度水平,刺激时间均为10min。

1.2 皮质醇测试

实验结束后,鱼体在3—5min内用丁香酚深度麻醉,5mL注射器尾部脊椎取血,血液样品于低温下凝固1—2h,8000r/min离心取上层血清,置于-70℃超低温冰箱中保存待测。

血清中皮质醇的测定按照徐继林^[16-17]方法进行。

对实验结果利用SPSS11.5统计软件分析。

2 结果

2.1 鱼类受单次刺激后血液中皮质醇水平

图3和图4表明,实验周期内,噪声刺激鲈鱼和大黄鱼后,鱼类血液中皮质醇含量先上升、后下降,后逐渐恢复原有水平或维持在较高的水平,结果显示稳定后受155dB噪声刺激的实验组皮质醇含量高于受138dB噪声刺激的实验组。

鲈鱼血液中皮质醇水平在155dB的胁迫条件下于刺激1h左右达峰值,为112.23ng/mL,显然,时间对皮质醇水平有明显影响,经F检验,其影响程度达极显著水平($P < 0.01$),而在138dB噪声胁迫下血液中皮质醇的峰值出现在1—6h之间,为61.51ng/mL,随后,至刺激后3—6d血液中皮质醇含量逐渐下降并维持在一定水平。

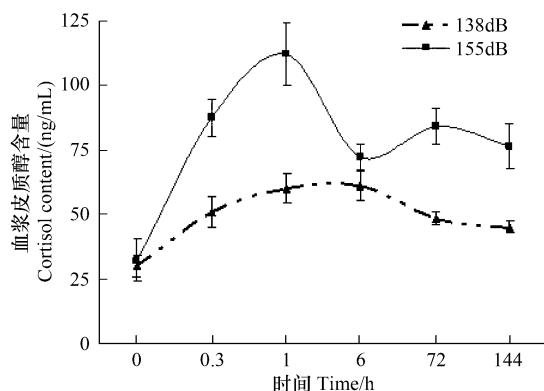


图3 鲈鱼血浆皮质醇随时间变化规律

Fig. 3 Change of cortisol secretion with time in blood of *Lateolabrax japonicus*

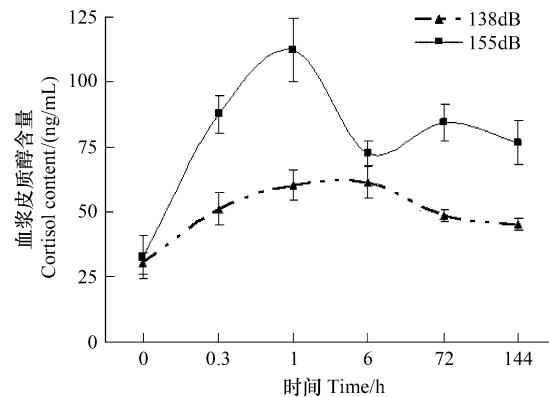


图4 大黄鱼血浆皮质醇随时间变化规律

Fig. 4 Change of cortisol secretion with time in blood of *Pseudosciaena crocea*

大黄鱼血液皮质醇水平的变化趋势与鲈鱼类似,峰值分别出现在刺激后20min—1h,值为19.63ng/mL和17.18 ng/mL,经F检验,时间均对皮质醇水平有显著影响($P < 0.01$)。

2.2 鱼类受重复噪声刺激后血液中皮质醇水平

鱼类对先前所经历的应激过程可能存在着某种生理记忆。由图5可看出,鲈鱼血液中皮质醇水平(C_{L155} , C_{L138})受固定时间间隔的重复噪声刺激后随时间(T)分别以指数函数拟合,经Duncan分析,实验组间差异极显著($P < 0.01$),相关性方程为:

$$C_{L155} = 33.507e^{0.2425T} \quad R = 0.8939; \quad C_{L138} = 36.187e^{0.1862T} \quad R = 0.8002$$

大黄鱼血液中皮质醇水平(C_{H155} , C_{H138})受间歇噪声刺激后随时间以指数函数拟合(图6),相关性方程为:

$$C_{H155} = 3.1208e^{0.2535T} \quad R = 0.8833; \quad C_{H138} = 2.8369e^{0.1706T} \quad R = 0.8064$$

鲈鱼、大黄鱼血液皮质醇水平在低噪声(138dB)胁迫条件下随时间的拟合度较低。

2.3 鱼类受不同强度噪声刺激后血液皮质醇水平

从图7和图8可以看出,处理组鱼体血液中皮质醇的水平明显高于对照组(112dB),方差分析表明(表2),鲈鱼(C_L)、大黄鱼(C_H)实验组间皮质醇水平差异极显著,血液中皮质醇水平与噪声源强(S)以指数型为优,相关方程为:

$$C_L = 33.051e^{0.2461S} \quad R = 0.9563; \\ C_H = 3.9706e^{0.2401S} \quad R = 0.9114$$

3 讨论

3.1 动物应激的指标

应激是生活的一部分,生物体的进化和发展,正是各种应激源作用的结果^[7],应激的行为和生理反应部分或完全受中枢神经内分泌系统控制,它受控于下丘脑-垂体-肾上腺(HPA轴)^[18],而鱼类是受控于下丘脑-垂体-肾脏髓质(HPI轴)^[19]。剧烈刺激或应激可改变激素对动物的新陈代谢、繁殖、生长和免疫功能,但轻微应激时,动物首先表现出肾上腺糖皮质激素分泌量的增加,研究者们将皮质醇水平增加作为应激判断指标。王文博^[10]等证实,鲫(*Carassius auratus*)受振荡后,血液皮质醇浓度剧增,说明鱼体产生了强烈的应激反应;酸中毒会引起虹鳟鱼(*Salmo gairdneri*)血浆皮质醇水平的瞬时增加^[20],Lidia^[4]等研究表明,船舶噪声能促使欧洲河鲈(*Perca fluviatilis*)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)和鮰鱼(*Gobio gobio*)皮质醇的分泌,尽管欧洲鲈与大西洋鲑听觉能力较低,他们受刺激后也呈现类似的应激应答^[13-14]。本研究结果发现,鲈鱼和大黄鱼在受到单一噪声刺激后,体内皮质醇均出现先升高后降低的趋势,且无论高噪声组亦或低噪声组均出现相同的变化趋势,但高噪声组处理后,血液中皮质醇水平升高迅速,经过6h左右,血液中皮质醇仍维持在较高水平,而低噪声组虽也出现了皮质醇的暂时性升高,但经较短时间(通常在6h之后)即恢复到刺激前水平或略有差异。鲈鱼、大黄鱼血液中皮质醇于刺激72h后均维持在一定的水平。

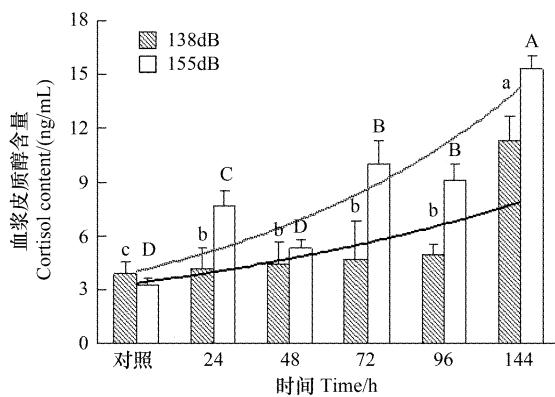


图6 重复刺激对大黄鱼血浆皮质醇的影响

Fig. 6 Effect of intermittent stress noise to cortisol secretion of *Pseudosciaena crocea*

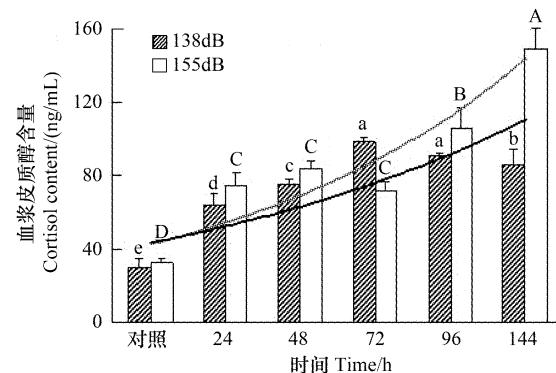


图5 重复刺激对鲈鱼血浆皮质醇的影响

Fig. 5 Effect of intermittent noise stress to cortisol secretion of *Lateolabrax japonicus*

* 图中字母表示利用 Duncan 分析得出的平均值和显著性关系(鲈鱼:n=3, 大黄鱼:n=5), 相同字母表示数值在P=0.01 水平不显著, 下同。

图中字母表示利用 Duncan 分析得出的平均值和显著性关系(鲈鱼:n=3, 大黄鱼:n=5), 相同字母表示数值在P=0.01 水平不显著, 下同。

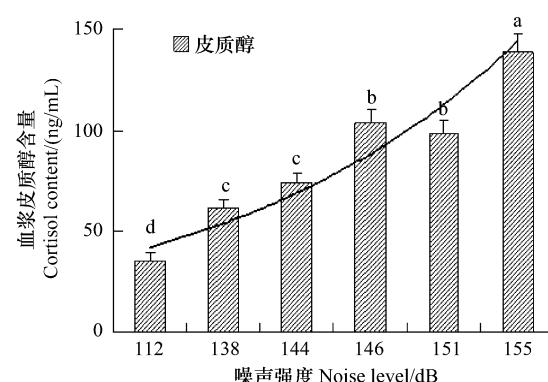


图7 不同噪声强度对鲈鱼的影响

Fig. 7 Effect of gradient noise stress to cortisol secretion of *Lateolabrax japonicus*

虽然肾上腺素也可作为判别应激的重要指标^[7,21-22],但目前国内学者更多的以皮质醇作为判别检测动物遭受胁迫的灵敏因子^[4-10]。应激造成皮质醇水平升高并非完全有害,Colborn 等^[23]研究发现,当公马受到限制、训练或是交配时分泌的皮质醇量相近,因此皮质醇仅能作为机体遭受应激的指标,却很难区分机体的有害与无害应激,在实际工作用应根据动物机体所处的环境,结合皮质醇水平的变动规律判断应激的优劣。

3.2 船舶噪声胁迫对鱼类的影响

人类活动产生的噪声源不仅给陆生生态环境造成影响,现在给海洋生态环境造成的影响也越来越严重,

人为噪声对陆生动物和海洋哺乳动物生理、行为、种间交流和繁殖造成的影响已经得到了普遍的关注^[24-25], 目前关注的焦点也逐步转向鱼类和淡水生态系统^[4,26]。在本实验中, 鲈鱼、大黄鱼体内皮质醇水平与噪声强度呈明显的指数型正相关关系(相关系数P分别为0.9536和0.9114), 随着噪声强度的增加血液中皮质醇水平升高, 同时研究发现, 剧烈的环境造成的影响远大于轻微环境胁迫的影响, 于155dB刺激后, 分别为对照前的3.0倍和4.4倍。由此推断, 大黄鱼对噪声的反应较鲈鱼明显, 原因可能大黄鱼属于石首科, 对声音敏感, 但详细的结论尚待科学论证。

持续的高斯噪声并没有造成淡水鱼皮质醇水平的提高, 虽然噪声强度可以引起鲤鱼听觉的暂时性失聪, 但鱼类具有对持续噪声的免疫能力。而Barton^[20]发现, 两次应激仅间隔3h, 随后的任何一次应激导致的生理反应都会与先前的应激反应发生累加效应, Maule^[27]也在大麻哈鱼中发现了累加效应。本实验进一步证实了重复性刺激的累加效应的存在, 实验期间, 间隔24h的应激刺激使鲈鱼、大黄鱼血液中皮质醇水平持续升高。研究发现, 长期的胁迫累加效应会造成雌性虹鳟鱼排卵提前并是晶胚变小^[28], 累加效应对鲈鱼、大黄鱼的长期影响尚不明确。

船舶噪声是非持续性的, 但在海洋或淡水环境中却非常常见, 是现代海洋航运业兴起后影响海洋渔业健康发展的又一重要因素, 证据表明噪声能破坏有机体的繁殖发育和生长, 因此, 船舶噪声对养殖鱼类的影响需要得到关注。

References:

- [1] McEwen B, Stellar E. Stress and the individual. *Archives of Internal Medicine*, 1993, 153, 2093-2101.
- [2] Davis L E, Schreck C B. The energetic response to handling stress in juvenile coho salmon. *Transaction of the American Fisheries Society*, 1997, 126:248-258.
- [3] Waynert D F, Stookey J M, Schwartzkopf-Genswein K S, Watts J M, Waltz C S. The response of beef cattle to noise during handling. *Applied Animal Behaviour Science*, 1999, 62:27-42.
- [4] Lidia E W, John P D, Friedrich L. Ship noise and cortisol secretion in European freshwater fishes. *Biological Conservation*, 2006, 128:501-508.
- [5] Sverdrup A, Kjellsby E, Kruger P G, Floysand R, Knudsen E R, Enger P S, Serck-Hanssen G, Helle K B. Effects of experimental seismic shock on vasoactivity of arteries, integrity of the vascular endothelium and on primary stress hormones of the Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology*, 1994, 45:973-995.
- [6] Selye H. The evolution of the stress concept. *American Scientist*, 1973, 61:692-699.
- [7] Moberg G P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? // Moberg, G. P. *Animal Stress*. Maryland: American Physiological Society, Bethesda, Maryland, 1985:27-49.
- [8] Wang W B, Li A H, Wang J G, Cai T Z. The effect of crowding stress on non-specific immune functions of *Ctenopharyngodon idellus*. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(2):139-144.
- [9] Wang W B, Wang J G, Li A H, Cai T Z. Changes of cortisol and lysozyme levels in *Carassius auratus* blood after handling stress. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(6):682-684.
- [10] Schreck C B, Lorz H W. Stress response of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) elicited by cadmium and copper and potential use of cortisol as an indicator of stress. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1978, 35:1124-1129.
- [11] Schreck C B, Patino R, Pring C K, Winton J R, Holway J E. Effects of rearing density on indices of smoltification and performance of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 1985, 45:345-358.
- [12] Olla B L, Davis M W, Schreck C B. Temperature magnified post-capture mortality in adult stargrassfish after simulated trawling. *Journal of Fish Biology*, 1998, 53:743-751.

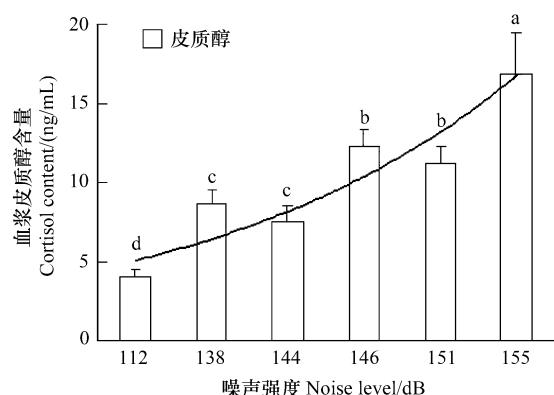


图8 不同噪声强度对大黄鱼的影响

Fig. 8 Effect of gradient noise stress to cortisol secretion of *Pseudosciaena crocea*

- [13] Santulli A, Modica A, Messina C, Ceffa L, Curatolo A, Rivas G, Fabis G, Damelio V. Biochemical response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) to the stress induced by of shore experimental seismic prospecting. *Marine pollution Bulletin*, 1999, 38:1105-1114.
- [14] Simth M E, Kane A S, Popper A N. Noise-induced stress response and hearing loss in goldfish (*Carassius auratus*). *The Journal of Experimental Biology*, 2004, 207:427-435.
- [15] Sun J W C, Narins P M. Anthropogenic sounds differentially affect amphibian call rate. *Biological Conservation*, 2005, 121:419-427.
- [16] Xu J L, Yan X J, Wang Y J, You Z J, Li H Y, Tong L. Determination of cortisol in marine fish serum samples by UPLC-Q-TOF-MS. *Journal of Instrumental Analysis*, 2007, 26:71-74.
- [17] Xu J L, Yang J F, Yan X J, Li H Y, Tong L, You Z J. Determination of free cortisol in marine fish sera samples by liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistr*. 2008, 36(7) : 905-909.
- [18] Rushen J, Schwarze N, Ladweig J, Foxcroft G. Opioid modulation of the effect of repeated stress on ACTH, cortisol, prolactin, and growth hormone in pigs. *Physiology and Behavior*, 1993, 53:923-928.
- [19] Barton B A, Iwama G K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1991, 1:3-26.
- [20] Barton B A, Weiner G S, Schreck C B. Effect of prior acid exposure on physiological response of juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to acute handling stress. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1985, 42:710-717.
- [21] Hong L, Zhang X M. Effects of environmental stress on plasma levels of glucose and ESR of *Sebastes schlegeli* and *Lateolabrax maculatus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(4) : 414-418.
- [22] Strange R J, Schreck C B. Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 1978, 35:345-349.
- [23] Colborn D R, Thompson D L, Roth T L, Capehart J S, and White K L. Responses of cortisol and proclactin to sexual excitement and stress in stallions and geldings. *Journal of Animal Science*, 1991, 69:2556-2562.
- [24] Myrberg A A. The effects of man-made noise on the behavior of marine animals. *Environment International*, 1990, 16: 575-586.
- [25] Nowacek S M, Wells R S, Owen E C G, Speakman T R, Flamm R O, Nowacek D P. Florida manatees, *Trichechus manatus latirostris*, respond to approaching vessels. *Biological Conservation*, 2004;119:517-523.
- [26] Scholik A R, Yan H Y. Effects of boat engine noise on the auditory sensitivity of the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Environmental Biology of Fishes*, 2002, 63:203-209.
- [27] Maule A G, Schreck C B, Bradford C S, Barton B A. Physiological effects of collecting and transporting emigrating juvenile chinook salmon past dams on the Columbia River. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1988, 117:245-261.
- [28] Contreras-Sanchez W M, Schreck C B, Fitzpatrick M S, Pereira C B. Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction*, 1998, 58:439-447.

参考文献:

- [8] 王文博,汪建国,李爱华,蔡桃珍. 拥挤胁迫对草鱼非特异性免疫功能的影响. *水产学报*, 2004,28(2):139-144.
- [9] 王文博,汪建国,李爱华,蔡桃珍. 振荡胁迫后鲫鱼血液皮质醇和溶菌酶水平的变化. *水生生物学报*, 2004,28(6) : 682-684.
- [16] 徐继林, 严小军, 王亚军, 尤仲杰, 李海英, 童玲. UPLC-Q-TOF-MS 分析海洋鱼类血清皮质醇. *分析测试学报*, 2007;26:71-74.
- [17] 徐继林,杨家锋,严小军,李海英,童玲,尤仲杰. 海洋鱼类血清游离皮质醇液质分析研究. *分析化学*, 2008,36(7) : 905-909.
- [21] 洪磊,张秀梅. 环境胁迫对许氏平鲉和花鲈血糖、血沉降的影响. *中国水产科学*, 2005, 12(4) : 414-418.