

DOI: 10.3969/j.issn.1007-9580.2019.01.002

珍珠龙胆石斑鱼听觉阈值研究

刘滨^{1,2}, 刘新富^{1,2}, 张跃峰³, 刘晃⁴, 黄滨^{1,2}, 高莹莹^{1,2,5}

(1 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2 青岛市鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 山东 青岛 266071;

3 青岛海星仪器有限公司, 山东 青岛 266000;

4 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092;

5 上海海洋大学, 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) 是重要的海水养殖经济鱼类, 通过建立稳定的珍珠龙胆石斑鱼听性脑干反应(auditory brainstem response, ABR) 检测系统, 分别施加 100、200、300、500、800、1 000、1 500、2 000、3 000、5 000 和 10 000 Hz 的正弦波声音刺激信号, 并应用该系统检测 20 条体长为 32~35 cm 的珍珠龙胆石斑鱼的听觉阈值。结果显示: 该听性脑干反应检测系统获得的响应为听觉电生理反应, 所有珍珠龙胆石斑鱼的听频范围为 100~5 000 Hz, 其中最适听频范围为 100~2 000 Hz, 最敏感声音频率为 300 Hz, 听觉阈值约为 75.8 dB。根据得到的平均听觉阈值, 构建了珍珠龙胆石斑鱼的听性脑干反应听力曲线。研究表明: 研究获得的珍珠龙胆石斑鱼听觉阈值及曲线对于研究噪声对不同养殖模式下石斑鱼的动物福利具有重要意义, 不仅是评估噪声对石斑鱼影响的直接试验数据, 也能为养殖环境的优化提供间接参考。

关键词:珍珠龙胆石斑鱼; 听觉阈值; 听性脑干反应; 听力曲线

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1007-9580(2019)01-006-07

珍珠龙胆石斑鱼又称虎龙斑, 隶属鲈形目、鮨科、石斑鱼属, 是以鞍带石斑 (*Epinephelus lanceolatus*) (俗称龙趸) 为父本(♂)、棕点石斑 (*Epinephelus fuscoguttatus*) (俗称老虎斑) 为母本(♀) 进行杂交而产生的子一代, 因其体表布满黑褐色, 形似珍珠的斑点而得名。珍珠龙胆石斑鱼适温范围 22℃~32℃, 20℃以下食欲减退, 15℃以下不游动, 停止摄食, 11℃以下较小的个体出现死亡。珍珠龙胆为广盐性鱼类, 盐度范围 11~41, 最适生长盐度 25~35, 低于 5 出现死亡。珍珠龙胆石斑鱼具有生长速度快、摄食力旺盛、饲料系数低、存活率高、抗病力强等优良特性, 极明显表现出父本快速生长、母本抗病能力强的杂种优势。其商品鱼物美价廉, 市场供不应求, 销售前景广阔, 被称为石斑鱼的“明日之星”^[1]。国内珍珠龙胆石斑鱼目前的养殖模式呈现多样化趋势, 继网箱和池塘养殖成功后, 室内工厂化养殖也开始逐渐兴起, 特别是循环水养殖系统的应用, 更是

加快了石斑鱼工厂化养殖模式的快速发展, 但随之而来的疾病频发、养殖质量和效益下降等问题也开始出现, 严重制约着中国石斑鱼养殖业的可持续发展。对于鱼类养殖业而言, 如果鱼类不能在良好环境下生长, 其产量和品质都会受到极大影响。因此, 研究噪声对于鱼类的影响非常必要, 可以在养殖过程中为鱼类提供更舒适和健康的养殖环境, 提升养殖品质和产量提供理论指导和依据^[2]。

目前国内尚无对于石斑鱼听性脑干反应(auditory brainstem response, ABR) 的研究报道, 本研究利用自主构建的 ABR 检测系统对珍珠龙胆石斑鱼的听觉阈值和听频范围等指标进行检测, 研究结果将为研究水下噪声对石斑鱼类的潜在影响以及相应的环境优化提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

20 条体长 32~35 cm 的珍珠龙胆石斑鱼购

收稿日期: 2018-09-13

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目“鱼类对舱养环境的生理响应机制研究”(2016ZD1304); 鳌山科技创新计划项目(2015ASKJ02-03); 国家海水鱼产业技术体系(CARS-47-G24)

作者简介: 刘滨(1976—) 男, 副研究员, 博士, 研究方向: 鱼类养殖生物学与生物技术。E-mail: liubin@ysfri.ac.cn

通信作者: 刘新富(1968—) 男, 副研究员, 研究方向: 鱼类养殖生物学与生物技术。E-mail: liuxf@ysfri.ac.cn

自烟台养殖基地,每次试验前静养 2~3 d。麻醉试验根据相关论文^[3]进行了改进和优化,采用背鳍基部注射加拉碘铵 (Gallamine triethiodide, 购自 Sigma - Aldrich 公司),使用剂量为(1. 25 ± 0. 13) μg/g 鱼体质量,对试验鱼实施麻醉。在该剂量麻醉剂的作用下,麻醉状态可持续 2~3 h,且基本没有全身性的肌肉收缩,排除了试验过程中肌电的干扰。

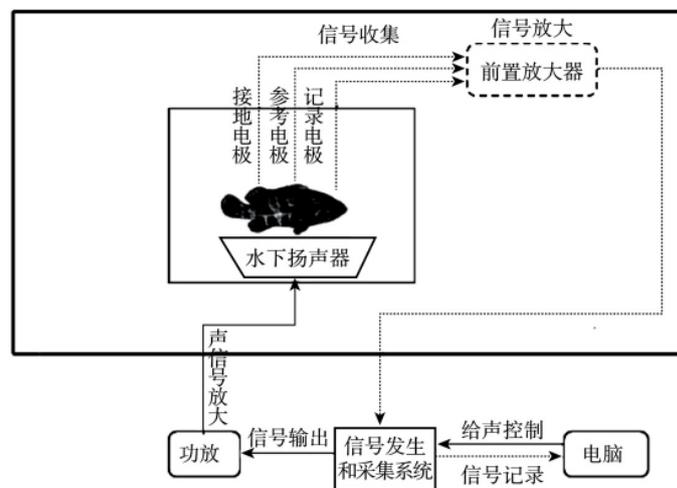
1. 2 仪器及 ABR 检测系统的组成

试验所用的 ABR 检测系统参照相关文献^[3-6]并进行了构建和优化,所需仪器见表 1,系统原理示意图见图 1。水槽材质为有机玻璃,尺寸为 120 cm × 50 cm × 50 cm,水下扬声器距水面 25 cm。将

水槽置于防震台上,通过固定装置将麻醉后试验鱼的身体基本没于水槽水面以下,并使水位保持低于石斑鱼头盖骨 2 cm 左右。在水槽中放置 1 台小型循环加氧泵,通过软管将富氧水流入鱼口中,保证正常供氧。系统进行检测时,首先使用医疗纱布蘸取蒸馏水擦拭鱼的头骨皮肤 3~5 次,待鱼表皮干燥后采用固定于防震台上的电极操纵器(WPI M3301, WPI) 将记录电极精准定位于两眼上头骨中缝的听神经位置,参考电极定位于记录电极前方两眼中间的位置,两个电极均插入皮下 0. 5~1 mm,记录电极和参考电极接地后连接至生物电信号放大器(ISO - 80, WPI),在鱼尾部肌肉中插入接地电极,以防止鱼体肌电造成的干扰。

表 1 主要试验仪器
Tab. 1 The main experimental instrument

仪器名称	生产商	型号
信号发生器	普源 RIGOL	DG1022U
示波器	普源 RIGOL	DS1054Z
生物电信号放大器	WPI	ISO - 80
生物电极(钨丝)	WPI	—
功率放大器	日本安桥	A - 9030
功率放大器	宁波海曙和润电子	L2B
水下换能器	726 所定制	0. 5~20 kHz
水下扬声器	PABGM	SX - 450
法拉第箱	自制	120 cm × 120 cm × 60 cm
四通道 24 位同步数据采集卡	启创电子	MPS - 140401 - U
显微操作手(M3301R)	WPI	M3301R
水下声音记录仪	新西兰 Ocean Instruments	Soudtrap 300HF
水听器	726 所自制	RST - 32



注: 实线为信号传出, 虚线为信号传入

图 1 ABR 检测系统示意图

Fig. 1 Schematic diagram of ABR detection system

1.3 参数设定

水下声音信号由信号发生器(DG1022U, 普源, 中国)产生纯短音信号, 经过前级和功率放大器(A-9030, 安桥, 日本)将信号放大之后由水下扬声器给出。通过信号发生器设置声音输出模式, 声音信号时程根据频率的不同设置为10~20 ms, 间歇3 s, 记录时长50 ms, 测试石斑鱼100、200、300、500、800、1 000、1 500、2 000、3 000、5 000、10 000 Hz各频率的AEP阈值(AEP单位为dB)。刺激信号声强从高到低, 以5 dB递减, 接近阈值时, 每次减小2 dB, 直至确定阈值。刺激声强度由最高160 dB, 再以5 dB依次递减。滤波范围为100 Hz~1 kHz, 叠加1 000次^[3]。声压水平(SPL)的校准和水下背景噪声的记录使用水下声音记录仪(Soudtrap 300HF, Ocean Instruments 新西兰)和水听器(中船重工726所自制, 型号: RST-32, 工作频率范围: 20 Hz~50 kHz, 低频接收灵敏度: ≥ -202.7 dB)辅助完成, 使用1 μ Pa为水下参考声压, 测量实际声压并完成修正后得到正确声压值。

通过放大器将石斑鱼的听觉诱发电位(AEP)放大10 000倍后输入四通道24位同步数据采集卡进行模数转换, 导入电脑, 使用采集卡配套软件记录数据。每个频率、每个强度的试验过程均重复2次, 以确定获得的ABR具有二次重复性, 能够获得可重复ABR波形的最小声压级, 即为该频率下的听觉阈值。通过多次重复后对结果进行平均, 能够消除单次试验误差和环境噪声信号的干扰。本研究在对试验结果重复500次时, 已经能够得到较理想的ABR曲线, 最终选择1 000次重复作为本研究的最终结果。

1.4 数据处理

采用Clampfit 8.1软件分析处理试验中记录的ABR数据, 通过Sigmaplot 12.0作图和SPSS统计软件(SPSS Inc.)进行统计分析。

2 结果

2.1 珍珠龙胆石斑鱼 ABR 波形特点

共对20尾珍珠龙胆石斑鱼进行了ABR测试, 结果显示, 20尾鱼均对100 Hz~10 kHz纯音有较明确的响应, 且能够记录到放大后的AEP。

在100 Hz~10 kHz的频率范围内, ABR波形存在1个较明显的负向主波峰和1个正向主波峰, 如200 Hz 95 dB刺激下的ABR波形(图2); 并且在特定频率范围内还会在正向主波峰后伴随1~3个小型正向波峰(图3)。每个AEP信号的响应潜伏期为3~6 ms, 并且响应潜伏期的时间会随着刺激声强度的增强而呈现缩短的趋势, 每增强10 dB约缩短0.1~0.3 ms, 但潜伏时间对于频率的变化并不敏感(图3)。对照组的死亡石斑鱼在同样声音刺激下, 没有记录到AEP信号。

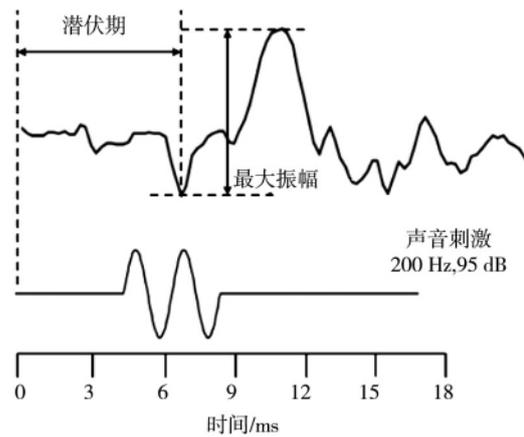


图2 200 Hz的珍珠龙胆石斑鱼的ABR波形

Fig. 2 ABR waveform of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ at 200 Hz

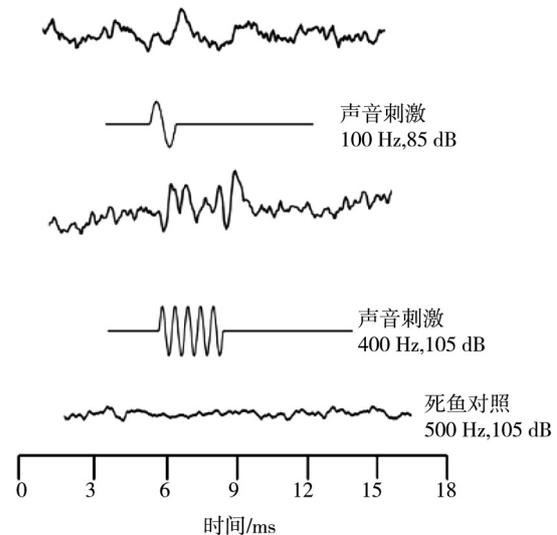


图3 不同频率、声强刺激下的珍珠龙胆石斑鱼的ABR波形

Fig. 3 ABR waveforms of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ under the stimulation of different frequencies and sound intensities

2.2 珍珠龙胆石斑鱼的 ABR 听觉阈值曲线

应用构建的 ABR 检测系统, 20 条石斑鱼在 100 ~ 5 000 Hz 的听频范围内均记录到短纯音诱发的 AEP 信号, 将每一频率的阈值平均, 绘制出鱼在各频率下的听觉阈值曲线(图 4)。经过分析, 鱼的最适听频范围为 100 ~ 2 000 Hz, 最敏感的声音频率为 300 Hz, 听觉阈值约为 75.8 dB。

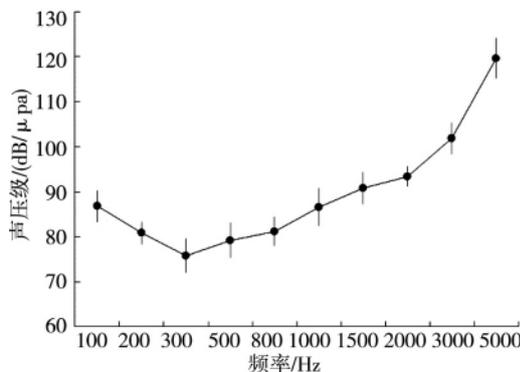


图 4 珍珠龙胆石斑鱼听觉阈值曲线

Fig. 4 Audiogram of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

3 讨论

3.1 鱼类听觉能力测定的方法

鱼类的听觉特性包括听觉阈值、环境噪声对鱼类听觉的遮蔽效果、音频辨别能力、声源定位能力、对学习音的记忆力等^[7]。听觉阈值是指鱼类刚能听到声音的最小声压值, 是鱼类最基本的听觉特性, 目前对于鱼类听觉阈值进行测定的方法主要分为行为学、电生理学和神经电位测量 3 种手段。行为学研究主要是根据鱼类对声音刺激的条件反射, 判断鱼类对刺激声音的反应以及阈值; 电生理学研究是通过对鱼进行驯化, 将声音刺激和电击相结合, 使鱼对刺激产生条件反射, 然后只采用声音刺激并根据心电图或鳃盖运动的变化判断鱼对声音的反应; 神经电位测量则通过采集鱼的中枢神经系统发出的动作电位, 根据电位的变化判断鱼对声音刺激的反应, 测定鱼类的听觉阈值^[8]。

采集听性脑干反应(ABR)作为一种非侵入性的神经电位研究方法, 其原理是收集由声音引起的第 8 神经及脑干听觉核的同步神经电位^[9-10]。ABR 技术优点是能够实现无创伤、快

速、反复测定听力, 对试验鱼大小无要求, 能够对不同种类鱼类的听觉进行研究^[4], 但是 ABR 技术对试验环境特别是电磁环境要求极其严格。试验结果还经常会受到背景环境噪声的干扰, 在不同环境下使用不同检测仪器时, 结果往往会有所差别^[3]。尽管如此, 凭借非侵入性检测手段的巨大便利, 听性脑干反应(ABR)从 1998 年被应用于鱼类听力研究以来, 该技术被迅速推广^[4, 11]。国内鱼类听觉电生理研究发展较晚, 目前研究水平还相对落后, 该领域的报道还仅见于胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)、斑马鱼(*Danio rerio*)和褐菖鲉(*Sebasticus marmoratus*)等淡水鱼类^[3, 6, 12]。

3.2 石斑鱼类的听觉阈值特征

目前, 石斑鱼属鱼类的听觉研究资料十分匮乏, 仅有 1999 年韩国科学家 Yang 等^[13]采用心电图(ECG)技术对七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)的听觉阈值进行了研究, 在 100 ~ 1 000 Hz 的频率范围内, 七带石斑鱼的听觉曲线呈“U”形, 其最佳听觉频率为 350 Hz, 阈值为 94.8 dB。本研究中, 珍珠龙胆石斑鱼的听力曲线与报道的七带石斑鱼的听力曲线十分相似, 但最佳听力频率和阈值均有所不同, 分析原因, 可能既与试验鱼的大小、来源等有关, 也与两项研究中所采用的鱼类听觉检测技术在性能上的差异有关。根据 Takahito 等^[14]使用听性脑干反应(ABR)和心电图(ECG)技术测定鲤鱼(*Cyprinus carpio*)听觉阈值的研究结果, ABR 测得的最敏感频率为 505 Hz, 而用 ECG 测得的最敏感频率为 1 000 Hz, 尽管使用 ABR 技术和 ECG 技术得到的听觉图的形状相似, 但两个图中阈值水平有所不同。张旭光等^[12]比较了褐菖鲉在行为听觉和听觉诱发电位反应的差异, 发现行为听觉获得的敏感频率范围为 80 ~ 300 Hz, 其中对 100 Hz 声音最为敏感, 对应的听觉阈值为 90 dB, 而 ABR 获得的试验结果为: 敏感频率范围 100 ~ 300 Hz, 其中 150 Hz 为最敏感频率, 对应阈值为 70 dB, 行为听觉曲线与听觉诱发电位法所得到的褐菖鲉听觉曲线基本相似。与鲤鱼和褐菖鲉相似, 本研究利用 ABR 技术获得的珍珠龙胆石斑鱼的最敏感听觉频率为 300 Hz, 阈值为 75.8 dB, 也低于采用 ECG 技术获得的七带石斑鱼最佳听觉频率(350 Hz)和阈值(94.8 dB)的试验结果, 以上试验结果能够在—

一定程度上反映 ABR 和 ECG 技术的差异和各自特点。目前大多数鱼类的 ABR 听觉曲线为“U”形,如鲫鱼(*Carassius auratus*)^[4]、橙鳍沙鳅(*Botia modesta*)^[15]、胭脂鱼等^[3];少数鱼类的 ABR 听觉曲线为直线形,如地图鱼(*Astronotus cellatus*)^[4];极少数鱼类呈现“W”形,如美洲鲈(*Alosa sapidissima*)^[16]。

3.3 石斑鱼类的听觉能力与其他鱼类的比较

鱼类的听觉器官有两种类型:一种与鳔不连接;另一种与鳔相连接,使鳔成为听觉器官的一部分,特别是鲤科鱼类。有一个称为魏勃氏器(Weberian apparatus)的器官,是由脊柱前端的数个骨所形成,借鳔连接内耳,具有听骨的功用。鳔壁的振动,借着魏勃氏器的传导而形成具有一定频率与强度的波动,再传入鱼的内耳。通常认为,骨鳔鱼类听觉最敏感,非骨鳔类次之,无鳔类听觉能力较差,有鳔鱼类相比无鳔鱼类具有更宽的听频范围和更低的听力阈值^[6]。因此,可以认为鳔不仅使鱼类听觉敏锐,也扮演着扩大声音频率范围的角色^[17]。刘猛等^[3]研究发现,胭脂鱼的听频范围为 100~5 000 Hz,100~2 000 Hz 范围敏感度较高,800 Hz 最敏感,听觉阈值约 69.8 dB。Kenyon 等^[4]研究发现,金鱼(*Carassius auratus*)的听频范围为 100~5 000 Hz,最低阈值为 64.0 dB。鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)和鳙(*Aristichthys nobilis*)的听频范围为 100~3 000 Hz,鲢的最低阈值为 104.2 dB,鳙的最低阈值为 105.7 dB^[18]。石斑鱼类作为一种有鳔鱼类,其听频范围为 100~5 000 Hz,最适听频范围为 100~2 000 Hz,这一范围基本与大多数鱼类的听觉频率接近,属于低频声响。有鳔的杜父鱼(*Pseudoblennius cottoides*)的听频范围为 40~6 000 Hz,而 Mann 等^[16,19]研究发现鲱形目的美洲鲈(*Alosa sapidissima*)和大鳞油鲱(*Brevoortia patronus*)甚至可以听到高达 180 kHz 的超声波。底栖无鳔的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)则对 60~200 Hz 的低频音较敏感,最敏感频率为 100 Hz,其听觉阈值为(94±1.5) dB^[20]。而没有韦伯氏器的鱼类,如鲈形目鱼类,虾虎鱼(*Gobius cruentatus*)阈值均高于 108 dB,而且听频范围窄,不超过 1 000 Hz^[21]。

3.4 麻醉剂对鱼类 ABR 研究结果的影响

在检测鱼类脑干电信号的过程中,使用不同

类型的麻醉剂以及不同剂量会对试验结果产生影响。潘豪来等^[6]采用 0.01% 和 0.1% 的三卡因甲基磺酸盐(MS-222)对斑马鱼进行短暂麻醉和深度麻醉后,应用 AEP 检测系统记录不同时间点的 AEP,结果表明,过度麻醉会导致响应波形潜伏期延长、幅值下降,相反,麻醉程度变浅后所记录的斑马鱼响应波形潜伏期缩短、幅值升高。而 Kenyon 等^[4]发现使用加拉碘铵作为麻醉剂不会对金鱼 ABR 产生影响。Yan 等^[22]、Cordova 等^[23]的研究也证实使用加拉碘铵作为麻醉剂不会对鱼类的 ABR 产生影响。根据以上研究报道,本试验中也将加拉碘铵作为珍珠龙胆石斑鱼的麻醉剂,并根据鱼体质量和预试结果对使用的剂量进行优化,也为今后开展更大规格石斑鱼以及其他大型海洋游泳性鱼类的麻醉剂剂量使用提供参考。

4 结论

石斑鱼是中国沿海养殖的高值鱼类代表,属于趋触性岩礁鱼类,喜栖息于鱼礁孔隙中,特别的生活习性使其既适合于工厂化高密度养殖,也适合于人工鱼礁增殖。随着近年来石斑鱼人工繁殖和养殖技术的突破,石斑鱼养殖规模不断扩大,池塘、网箱、陆海接力、工厂化循环水、深远海养殖工船等养殖模式不断涌现。本研究建立的珍珠龙胆石斑鱼听性脑干反应(ABR)检测系统和初步获取的听觉阈值,以及珍珠龙胆石斑鱼的听性脑干反应(ABR)听觉曲线能够为研究噪声对不同养殖模式下石斑鱼的动物福利提供重要的试验数据,在下一步研究中还需要对 ABR 检测系统进行改进和优化,提高检测系统的抗干扰能力和稳定性。与此同时,也需要对不同体型和不同生长阶段的石斑鱼进行研究,如石斑鱼苗种和亲鱼等,以更好地评估噪声对养殖石斑鱼健康生长的影响。

□

参考文献

- [1] 梁友,黄滨,倪琦,等.珍珠龙胆工厂化循环水养殖技术的研究[J].海洋与渔业(水产前沿) 2016(3):61-63.
- [2] 宋红桥,王振华,单建军,等.人为噪音对鱼类影响的研究进展[J].农学学报 2017(11):46-50.
- [3] 刘猛,危起伟,杜浩,等.胭脂鱼听觉阈值研究[J].中国水产科学 2013(4):750-757.

- [4] KENYON T ,LADICH F ,YAN H. A comparative study of hearing ability in fishes: the auditory brainstem response approach [J]. *Comp Physiol A* ,1998 ,182(3) : 307 – 318.
- [5] LADICH F ,WYSOCKI L E. Does speaker presentation affect auditory evoked potential thresholds in goldfish [J]. *Comp Biochem Phys A* 2009 ,154(3) : 341 – 346.
- [6] 潘豪来 ,王际平 ,于栋帧 等. 斑马鱼听觉诱发电位检测系统的建立和应用[J]. *听力学及言语疾病杂志* 2017(3) : 269 – 274.
- [7] 张国胜 ,傅恩波 ,许传才 等. 鱼类的听觉特性[A]//中国水产学会学术年会论文集[C]. 北京: 海洋出版社 2000: 413 – 419.
- [8] 张阳 ,戴媛媛 ,吴宇钢 等. 心电图技术和听性脑干反应技术在测定鱼类听觉性能上的比较[J]. *河北渔业* ,2009(5) : 51 – 55.
- [9] JEWETT D L. Volume – conducted potentials in response to auditory stimuli as detected by averaging in the cat [J]. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* ,1970 ,28(6) : 609 – 618.
- [10] JEWETT D L ,WILLISTON J S. Auditory – evoked far fields averaged from the scalp of humans [J]. *Brain* ,1971 ,94(4) : 681 – 696.
- [11] LECHNER W , WYSOCKI L E , LADICH F. Ontogenetic development of auditory sensitivity and sound production in the squeaker catfish *Synodontis schoutedeni* [J]. *BMC Biology* , 2010 8(1) : 1 – 12.
- [12] 张旭光 ,郭弘芝 ,宋佳坤. 褐菖鲉的听觉阈值研究[J]. *水生生物学报* 2018(3) : 593 – 598.
- [13] YANG Y S ,SEO D O ,LEE C H. A basic study for the behaviour control of sevenband grouper ,*Epinephelus septemfasciatus* ,to underwater low frequency sound I. The Auditory thresholds of sevenband grouper [J]. *Journal of Korea Information & Communications Society* ,1999 35(4) : 391 – 396.
- [14] TAKAHITO K ,HIROSUKE I ,TOMOYOKI K et al. Measurements of auditory sensitivity in common carp *Cyprinus carpio* by the auditory brainstem response technique and cardiac conditioning method[J]. *Fisheries Science* 2005 71(1) : 95 – 100.
- [15] LADICH F. Did auditory sensitivity and vocalization evolve independently in otophysan fishes [J]. *Brain ,Behavior and Evolution* ,1999 53(5/6) : 288 – 304.
- [16] MANN D ,HIGGS D M ,TAVOLGA W N ,et al. Ultrasound detection by clupeiform fishes[J]. *The Journal of the Acoustical Society of America* 2001 ,109(6) : 3048 – 3054.
- [17] 心视. 鱼类的听觉[J]. *垂钓* 2002(6) : 55 – 56.
- [18] LOVELL J M ,FINDLAY M M ,NEDWELL J R ,et al ,The hearing abilities of the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. *Comp Biochem Phys A* 2006 ,143(3) : 286 – 291.
- [19] MANN D ,LU Z ,POPPER A. A clupeid fish can detect ultrasound[J]. *Nature* ,1997 389: 341.
- [20] 邢彬彬 ,王振宇 ,张国胜 等. 基于心电图法(ECG) 的牙鲆听觉特性研究[J]. *中国水产科学* 2018(3) : 467 – 474.
- [21] CODARIN A ,WYSOCKI L E ,LADICH F et al. Effects of ambient and boat noise on hearing and communication in three fish species living in a marine protected area (Miramare ,Italy) [J]. *Mar Pollut Bull* 2009 58(12) : 1880 – 1887.
- [22] YAN H ,FINE M ,HORN N ,et al. Variability in the role of the gasbladder in fish audition [J]. *Journal of Comparative Physiology A* 2000 ,186(5) : 435 – 445.
- [23] CORDOVA M S ,BRAUN C B. The use of anesthesia during evoked potential audiometry in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *Brain Res* 2007 ,1153(1) : 78 – 83.

Study on auditory thresholds of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂

LIU Bin^{1,2}, LIU Xinfu^{1,2}, ZHANG Yuefeng³, LIU Huang⁴, HUANG Bin^{1,2}, GAO Yingying^{1,2,5}

(1 Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries Ministry of Agriculture;

Yellow Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences Qingdao 266071, Shandong, China;

2 Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology Qingdao 266071, Shandong, China;

3 Qingdao Starfish Instruments Co., Ltd. Qingdao 266000, Shandong, China;

4 Fishery Machinery and Instrument Institute Chinese Academy of Fishery Sciences Shanghai 200092, China;

5 College of Fisheries and Life Science Shanghai Ocean University Shanghai 201306, China)

Abstract: *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ is predominantly a commercial species cultured in seawater. An stable auditory brainstem response (ABR) detection system in *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ was established and sine wave acoustic stimulus signals of 100, 200, 300, 500, 800, 1 000, 1 500, 2 000, 3 000, 5 000 and 10 000 Hz were applied to test the auditory thresholds of 20 *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ with body length of 32–35 cm. The results showed that the response to the brainstem potential detection system was auditory electrophysiological response and the auditory frequency range of all *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ was 100–5 000 Hz, where the best hearing was observed at 100–2 000 Hz, and the most sensitive sound frequency was 300 Hz with threshold of 75.8 dB. ABR audiogram of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ was created based on the average auditory thresholds obtained. The study showed that the auditory thresholds and the audiogram of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ obtained have an important significance in studying effects of noise on animal welfare of *Epinephelus* in different aquaculture mode, and they are not only the direct data for evaluating the effect of noise on *Epinephelus*, but also can provide indirect reference for optimization of aquaculture environment.

Key words: *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂; auditory threshold; auditory brainstem response; audiogram