



池塘循环水槽养殖模式下吉富罗非鱼的生长及生理响应变化

阴晴朗^{1,2}, 郭忠宝², 肖俊², 周毅²,
罗丽莉³, 张孝瑾^{1,2}, 罗永巨^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 广西水产科学研究院, 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 广西南宁 530021;

3. 广西新农人饲料有限公司, 广西南宁 530022)

摘要: 为探讨在池塘循环水槽养殖模式下吉富罗非鱼不同养殖密度的生长特性和生理指标变化, 评估吉富罗非鱼在池塘循环水槽养殖模式下的适宜养殖密度, 以吉富罗非鱼为实验对象, 设计传统池塘养殖模式放养密度 5 尾/m² (SD1 组), 池塘循环水槽养殖模式放养密度 180 尾/m² (SD2 组) 和 270 尾/m² (SD3 组), 比较各组吉富罗非鱼的生长性能, 分析血液生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达量的变化规律。结果显示, 经过 120 d 的养殖, SD2 组吉富罗非鱼终末体质量、特定生长率和绝对生长率显著高于 SD1 和 SD3 组。SD2 和 SD3 组存活率、体质量差异系数和饵料系数低于 SD1 组。SD2 组血清皮质醇、血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、溶菌酶水平和肝脏 HSP70 mRNA 的相对表达量在 30 d 时显著高于 SD1 组。SD3 组血清皮质醇和葡萄糖水平在 60 d 后持续上升, 120 d 时显著高于 SD1 组, 谷丙转氨酶、谷草转氨酶、溶菌酶水平和肝脏 HSP70 mRNA 的相对表达量在 60、90 d 时显著高于 SD1 组, 甘油三酯在整个实验期显著低于 SD1 组。SD2 组吉富罗非鱼在养殖前期受到环境胁迫, 中后期适应环境; SD3 组在养殖中后期受到环境胁迫, 长期处于应激状态。吉富罗非鱼生长和血清生理指标, 池塘循环水槽养殖吉富罗非鱼的适宜养殖密度为 180 尾/m², 在该密度下罗非鱼能适应养殖环境, 养殖效果优于传统养殖模式。

关键词: 吉富罗非鱼; 池塘循环水槽养殖模式; 高密度应激; 生长特性; 生理指标

中图分类号: S 954

文献标志码: A

罗非鱼是我国主要的水产养殖品种之一, 具有适应性强、生长速率快、肉质细嫩和无肌间刺等特点, 深受养殖者和消费者的青睐^[1]。近年来, 随着苗种繁育和成鱼养殖技术逐渐成熟, 罗非鱼养殖产量逐年提升, 2017 年全国罗非鱼产量 158.47 万 t^[2]。

池塘循环水槽养殖模式 (in-pond raceway system, IPRS) 是一种新兴的养殖模式^[3]。通过在池塘一边建设占总池塘面积 1%~3% 的流水槽, 配备推水增氧设备和吸污设备, 在水槽内形成富氧流水环境, 并有效收集排泄物^[4]。研究人员开

展了很多品种的适应性研究, 包括斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[5]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[6]、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)^[7] 等, 均取得了较好的养殖效果。

高密度养殖是 IPRS 的优势之一, 能提高养殖产量和水体利用率, 增加养殖效益。然而鱼类在生长发育过程中对环境依赖性较强, 容易受到外部环境的影响, 高密度养殖会引起鱼类产生应激反应, 导致其生长速率减缓、养殖风险增大^[8]。在长期高密度胁迫下, 鱼体会发生一系列生理变化。张磊等^[9]研究发现鲤 (*Cyprinus*

收稿日期: 2018-10-29 修回日期: 2019-04-10

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-46); 南宁市重点研发计划 (20172010)

通信作者: 罗永巨, E-mail: lfylzc123@163.com

carpio) 在长期高密度胁迫下血清中的皮质醇水平呈现上升趋势。Sadhu 等^[10]报道亚洲海鲈 (*Lates calcarifer*) 在高养殖密度下血清中的葡萄糖水平显著提高。郑乐云等^[11]发现斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 在高密度养殖环境下血清溶菌酶活性显著下降。殷述亭等^[12]发现高密度会导致大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 热休克蛋白 (HSP70) 表达量显著升高。近年来, 罗非鱼养殖病害频发, 可能与过度追求高密度养殖有关^[13]。本研究探讨吉富罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 在池塘循环水槽养殖模式下的生长情况及生理响应变化, 评估罗非鱼在池塘循环水槽养殖模式下的适宜养殖密度, 为罗非鱼池塘循环水槽养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 养殖系统

循环水槽位于 1 口面积为 1.28 hm² 的池塘内, 主体采用砖混结构, 规格为 (25.0 m×15.8 m×2.0 m), 由 3 条独立水槽组成, 每条水槽的规格为 (22.0 m×5.0 m×2.0 m), 沉淀槽在流水槽后部, 规格为 (15.0 m×3.0 m×2.0 m)。池塘靠近水槽的一侧建有 1 个沉淀池, 规格 (4.0 m×2.0 m×1.5 m), 连接 1 条 100.0 m 长的过滤渠, 过滤渠中铺设麦饭石、活性炭和海粗沙。池塘循环水槽养殖系统 (IPRS) 设备主要有 3 套气提式推水增氧系统、1 套底层增氧系统、1 套吸污系统、4 台水车式增氧机、1 台涌浪式增氧机和备用发电机, 图 1 为 IPRS 整体示意图。

1.2 实验用鱼及实验组设计

实验用吉富罗非鱼鱼种来自国家级广西南宁罗非鱼良种场, 投放规格为 (36.6±2.8) g。SD1 为对照组 (传统池塘养殖模式), 使用 1 口 0.47 hm² 的池塘, 投放鱼种 19 830 尾, 放养密度为 5 尾/m²。SD2 和 SD3 为实验组 (IPRS), 分别使用 1 号和 2 号流水槽, SD2 组投放鱼种 20 220 尾, 放养密度为 180 尾/m²; SD3 组投放鱼种 30 090 尾, 放养密度为 270 尾/m²。

1.3 养殖管理

实验采用粗蛋白含量 30%、粗脂肪含量 7% 的浮性颗粒饲料, 每天投喂 2 次, 上午 (7:00—9:00) 投喂 40%, 下午 (16:00—18:00) 投喂 60%,

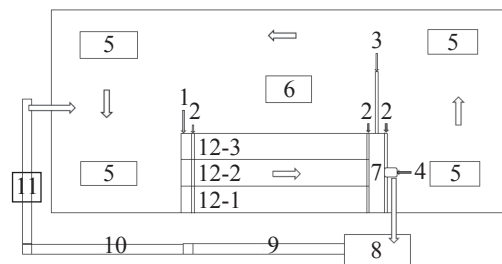


图 1 池塘循环水槽

1. 推水增氧设备; 2. 拦网; 3. 隔流堤; 4. 吸污泵; 5. 水轮式增氧机; 6. 涌浪式增氧机; 7. 沉淀槽; 8. 沉淀池; 9. 麦饭石; 10. 海粗沙; 11. 活性炭; 12. 养殖槽

Fig. 1 Trough structure of IPRS

1. push water aeration equipment; 2. block; 3. separation levee; 4. sewage pumps; 5. water wheel aerator; 6. surge aerator; 7. gravity filter; 8. sedimentation tank; 9. medical stone; 10. coarse sand sea; 11. activated carbon; 12. aquaculture runway

投喂量为鱼体质量的 3%~10%。投料时适当控制投料速率, 保证饲料不漂出流水槽, 并根据天气、水温和鱼类活动情况及时调整投喂量。

实验期间不换水, 适时添补因蒸发、渗漏损失的水体。每天开启吸污装置 2 次, 吸污持续时间 20~30 min, 抽提出的养殖尾水排放到池塘外的收集池, 再经过过滤水渠过滤后流回池塘, 沉淀物用作农作物肥料。

气提式推水增氧系统保持 24 h 不间断运行, 并根据养殖水槽的载鱼量及溶解氧等情况, 适时调整气提式推水增氧机阀门, 控制水槽内的水流速度。每天定时巡塘, 观察鱼类摄食及系统设备运行情况。在养殖中后期, 适时开启底层增氧设备, 保证水体的溶解氧满足鱼类的生长需求。

1.4 样本采集

分别于 0、30、60、90 和 120 d 采集血液和肝脏样本。每组随机选取 30 尾鱼, 使用 MS-222 麻醉, 尾静脉采血。血液置于常温 2 h, 4 °C 冰箱中静置过夜, 在 4 °C, 2 500 r/min 离心 10 min 制备血清, 保存于 -80 °C 冰箱中备用。鱼体采血后立即解剖, 取肝脏并用液氮速冻, -80 °C 保存。实验结束后, 每组随机选取 30 尾鱼称量体质量, 统计各组吉富罗非鱼存活数和饵料总摄食量。

1.5 生长性能指标测定

特定生长率 (specific growth rate, SGR)、绝对生长率 (absolute growth rate, AGR)、饲料系数 (feed coefficient rate, FCR)、存活率 (survival rate, SR) 和体质量差异系数 (coefficient of variation of

weight, CVW)按下式计算:

$$\text{特定生长率 } (\%/d) = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{绝对生长率 } (g/d) = (W_t - W_0) / t$$

$$\text{饲料系数} = F / (W_t - W_0)$$

$$\text{存活率 } (\%) = N_t / N_0 \times 100\%$$

$$\text{体质量差异系数} = S / W_t \times 100$$

式中, $W_0(g)$ 为鱼的初始平均体质量; $W_t(g)$ 为鱼的终末平均体质量; $t(d)$ 为饲养天数; $F(g)$ 为每尾鱼的平均总摄食量(湿重); N_0 为初始鱼尾数; N_t 为终末鱼尾数; S 为终末体质量标准差。

1.6 血清生化指标测定

溶菌酶和皮质醇用比色法进行检测,葡萄糖、甘油三酯、胆固醇、谷丙转氨酶、谷草转氨酶采用迈瑞 BS-420 全自动生化仪测定,试剂盒均购自中生北控股份有限公司,检测方法按照试剂盒说明书操作。

1.7 吉富罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达量测定

取吉富罗非鱼肝脏 20 mg, 利用 trizol 法提取总 RNA, 然后用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。使用反转录试剂盒 PrimeScript RT reagent Kit With gDNA Eraser(TaKaRa) 将提取的总 RNA 反转录为 cDNA, 合成的 cDNA 保存于 -80°C 。

在 NCBI 网站查找罗非鱼 HSP70 (FJ207463.1) 和内参基因 $\beta\text{-actin}$ (EU887951.1) 相关序列, 采用 Primer Express 3.0 软件设计引物。HSP70 引物序列, F:CATCGCCTACGGTCTGGAC-AA, R:TGCCG TCTCAATGGTCAGGAT, 扩增片段位于 HSP70 序列 546~652bp。 $\beta\text{-actin}$ 引物序列, F:CCACACAGTG CCCATCTA-CGA, R:CCACGCTCTGTCAGGATC TTCA。扩增片段位于 $\beta\text{-actin}$ 序列 381~491 bp。

表 1 吉富罗非鱼生长性能的比较

Tab. 1 Comparison on growth performance of GIFT *O. niloticus*

实验组 test group	初始体质量/g initial body weigh	终末体质量/g final body weigh	体质量差异系数 CVW	特定生长率(%/d) SGR	绝对生长率(g/d) AGR	存活率/% SR	饵料系数 FCR
SD1	36.60±6.04	563.95±85.84 ^a	15.22	2.28±0.04 ^a	4.40±0.67 ^a	92.28	1.35
SD2	36.60±6.04	635.65±86.60 ^b	13.62	2.38±0.06 ^b	4.99±0.68 ^b	87.98	1.17
SD3	36.60±6.04	529.85±70.63 ^a	13.33	2.23±0.04 ^c	4.11±0.54 ^a	80.12	1.09

注: 同一列数值右上角标有不同字母者表示差异显著($P<0.05$)

Notes: values in the same column with different letters have significant difference ($P<0.05$)

2.2 血清皮质醇和葡萄糖水平变化

SD1 组血清皮质醇水平无显著变化 ($P>0.05$) (图 2-a), SD2 组血清皮质醇水平呈现先上升后下

引物由天地杨(南宁)贸易有限公司合成。

使用 ABI 7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪进行实时定量 PCR 反应, 以 $\beta\text{-actin}$ 为内参, PCR 的反应体系 (10 μL) 包括 SYBR Premix Ex Tap II 0.8 μL , 正向和反向引物各 0.4 μL , cDNA 0.8 μL 和 ddH₂O 3.4 μL 。反应条件为 95°C 7 min, 然后 40 个循环 (95°C 5 s, 60°C 30 s, 读板记录荧光量), 最后 72°C 3 min。以 $\beta\text{-actin}$ 为内参, 对各组样品 CT 值进行均一化处理, 以各组 0 d 时 HSP70 mRNA 的表达量为基准, 应用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法确定不同时间点各组 mRNA 的相对表达量。

1.8 数据分析

数据结果用平均值±标准差表示。数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件, 不同实验组在同一时间点的比较采用 Duncan 氏多重比较; 同实验组在不同时间点比较采用独立样本 t 检验 ($P<0.05$ 时, 表示有显著差异)。

2 结果

2.1 池塘循环水槽养殖模式下吉富罗非鱼生长性能的比较

经过 120 d 养殖, SD1 组吉富罗非鱼体质量差异系数、存活率和饵料系数明显高于 SD2 和 SD3 组, SD2 组吉富罗非鱼终末体质量、特定生长率和绝对生长率显著高于 SD1 和 SD3 组 ($P<0.05$)。实验组中, SD2 与 SD3 组相比, 存活率和生长速率明显升高, 饵料系数降低。结果显示, 实验组 SD2 组吉富罗非鱼生长速率、饵料系数和规格均一性方面优于对照组; 实验组中, SD2 养殖结果优于 SD3 组 (表 1)。

降的趋势, 30 d 时达到最大值 8.43 ng/mL, 与 SD1 组无显著差异 ($P>0.05$), 120 d 时显著低于 SD1 组 ($P<0.05$)。SD3 组血清皮质醇水平在 30 d

后呈现上升趋势, 120 d时达到最大值 16.76 ng/mL, 显著高于 SD1 组 ($P<0.05$)。

SD1 和 SD2 组血清葡萄糖水平在整个养殖期内均呈现下降趋势, 2 组之间无显著差异 ($P>0.05$); SD3 组血清葡萄糖水平在整个养殖期内呈现波动变化, 60、90 和 120 d 时显著高于 SD1 和 SD2 组 ($P<0.05$) (图 2-b)。

2.3 血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性变化

各组血清谷丙转氨酶活性均呈现先上升后下降的趋势。SD2 组在 30 d 时达到最大值 81.75 U/L, 显著高于 SD1 组 ($P<0.05$), 30 d 之后活性逐渐降低; SD3 组在 60 d 时达到最大值 118.39 U/L, 与 SD1 组相比显著提高 ($P<0.05$), 60 d 后逐渐降低 (图 3-a)。

各组血清谷草转氨酶活性均呈现先上升后下降的趋势。SD2 组在 30 d 时达到最大值 360.38

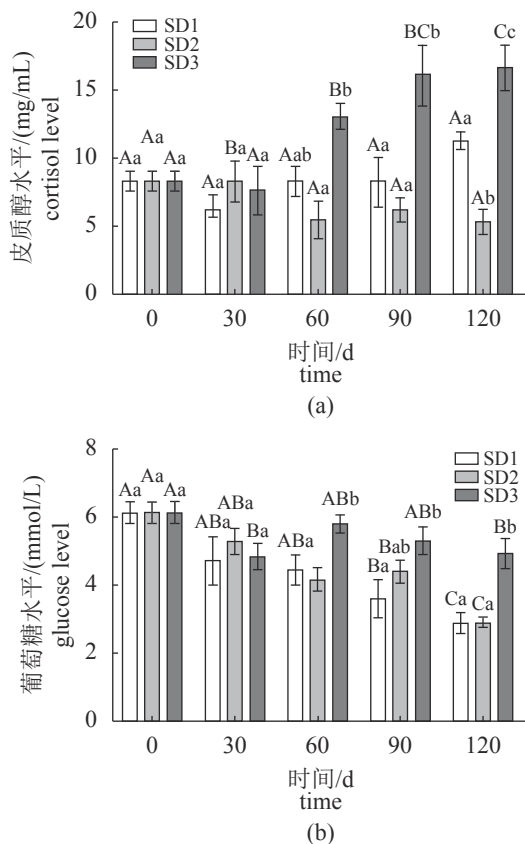


图 2 血清皮质醇 (a) 和葡萄糖 (b) 的水平变化

不同大写字母表示同一实验组前后有显著差异 ($P<0.05$); 不同小写字母表示不同实验组在同一时间点差异显著 ($P<0.05$), 下同

Fig. 2 Cortisol (a) and glucose (b) levels change in serum

Different capital letters above the bars indicate significant differences at different time points of the same set ($P<0.05$); different small letters above the bars indicate significant differences between different sets at the same time ($P<0.05$), the same below

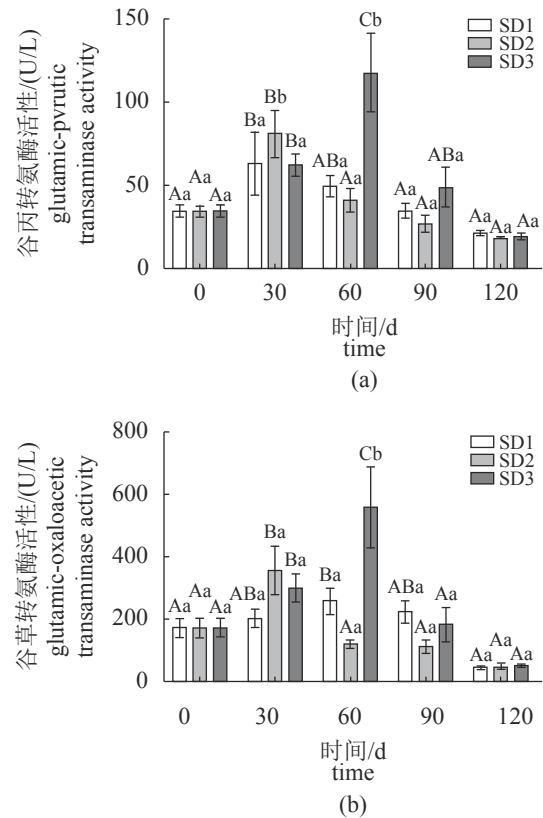


图 3 血清谷丙转氨酶 (a) 和谷草转氨酶 (b) 活性变化

Fig. 3 Glutamic-pyruvic transaminase (a) and glutamic-oxaloacetic transaminase (b) activities change in serum

U/L, 30 d 之后活性逐渐降低, 整个养殖周期内与 SD1 组相比变化不显著 ($P>0.05$); SD2 组在 60 d 时达到最大值 563.756 U/L, 与 SD1 组相比显著提高 ($P<0.05$), 60 d 后逐渐降低 (图 3-b)。

2.4 血清甘油三酯水平变化

SD1 组吉富罗非鱼血清甘油三酯在整个养殖期内呈现上升趋势。SD2 组在 90 d 后显著升高 ($P<0.05$), 30、60 和 90 d 时显著低于对照组 ($P<0.05$), 120 d 时与 SD1 组相比无显著变化 ($P>0.05$)。SD3 组在整个养殖周期内无显著变化 ($P>0.05$), 显著低于 SD1 组 ($P<0.05$) (图 4)。

2.5 血清溶菌酶活性变化

SD1 组吉富罗非鱼血清溶菌酶活性整个养殖期无显著变化, SD2 和 SD3 组呈现先上升后下降的趋势。SD2 组在 30 d 时达到最大值 259.47 U/L, 30 d 后逐渐降低。SD3 组在 60 d 时达到最大值 319.24 U/L, 显著高于对照组 ($P<0.05$), 60 d 后逐渐降低, 120 d 时与 SD1 组相比显著降低 ($P<0.05$) (图 5)。

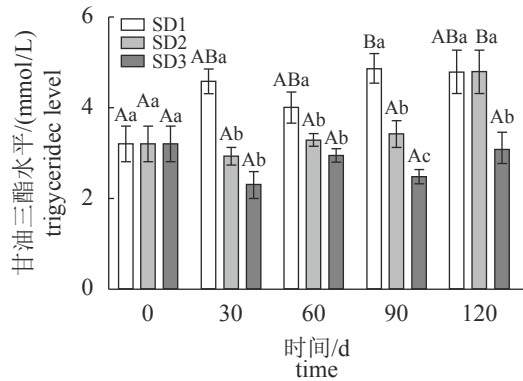


图4 血清甘油三酯水平变化

Fig. 4 Triglyceride levels change in serum

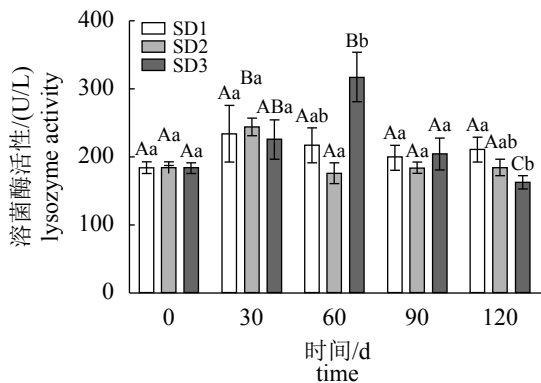


图5 血清溶菌酶活性变化

Fig. 5 Lysozyme activities change in serum

2.6 肝脏 HSP70 mRNA 表达量变化

SD2 和 SD3 组吉富罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达量在整个养殖期内均呈现先上升后下降的变化趋势。SD2 组在 30 d 时达到最大值, 与 SD1 组相比显著升高 ($P < 0.05$), 30 d 之后表达量逐渐下降, 120 d 时与 SD1 组相比显著降低 ($P < 0.05$); SD3 组在 60 d 时达到最大值, 之后逐渐下降, 60、90 d 时显著高于 SD1 组 ($P < 0.05$), 120 d 时与 SD1 组相比无显著差异 ($P > 0.05$) (图 6)。

3 讨论

3.1 池塘循环水槽养殖模式下吉富罗非鱼生长特性

在整个养殖期内, 各组池塘水体中溶解氧含量 ≥ 3 mg/L, 温度 28~33 °C, pH 7.0~8.0, 氨氮浓度 ≤ 1 mg/L, 亚硝酸盐浓度 ≤ 0.1 mg/L, 相关水质指标均在吉富罗非鱼的适宜范围之内。

IPRS 养殖吉富罗非鱼生长速率和饲料系数

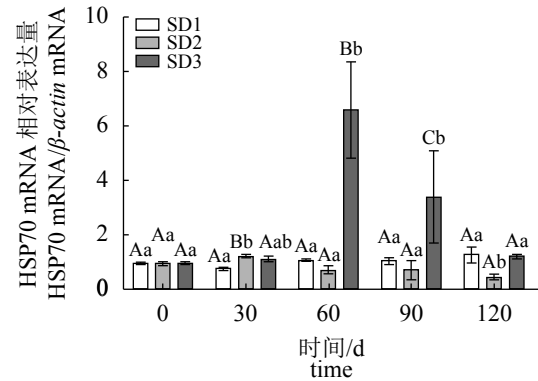


图6 吉富罗非鱼肝脏 hsp70 mRNA 表达量变化

Fig. 6 Relative expression change of liver hsp70 mRNA

优于对照组传统池塘养殖模式。在 IPRS 中, 外池塘水体一直处于循环流动状态, 研究发现均匀的水流流场能促进藻类的生长, 提高水体的初级生产力^[14]。罗非鱼属于杂食性鱼类, 水体中富含的藻类微生物对罗非鱼的生长有促进作用^[15]。低速游泳能够提高鱼类生长速率, 提高蛋白质合成速率^[16]。李大鹏等^[17]研究表明水流速度为 0.06~0.18 m/s 时对史氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 的生长有积极的影响。本实验中, 流水槽内水流速度为 0.04~0.07 m/s, SD2 组中吉富罗非鱼的生长速率显著高于 SD1 组, 饲料系数也明显低于 SD1 组。利用 IPRS 养殖吉富罗非鱼, 随着养殖密度升高, 生长速率和存活率降低, 饵料系数升高, SD3 吉富罗非鱼绝对对生长率和存活率低于 SD2 组, 主要原因是养殖密度过高, 导致鱼类长期处于高密度胁迫状态, 生长速率减缓, 死亡率升高, 这与宋红桥等^[18]利用循环水养殖系统养殖罗非鱼幼鱼的研究结果一致。

IPRS 养殖吉富罗非鱼规格较对照组均匀。体质量差异系数是一个重要的环境适应性指标, 个体体质量差异系数越大, 说明群体的等级分化越严重, 个体均一性差, 影响养殖效果。本实验中, SD2 和 SD3 组体质量差异系数显著低于 SD1 组。IPRS 将鱼集中到流水槽内养殖, 利于养殖者对鱼类摄食情况的观察, 并及时调整投食量, 使水槽内绝大多数吉富罗非鱼能够摄食到充足的饲料, 个体间差异减小。

3.2 池塘循环水槽养殖模式对吉富罗非鱼血液中各指标的影响

IPRS 相对于传统池塘养殖模式, 单位放养密度大幅提高, 此前进行的 IPRS 养殖罗非鱼研

究中, 养殖中期水槽内罗非鱼暴发链球菌病, 推测可能与放养密度过高有关^[19]。针对此问题, 本研究分析吉富罗非鱼在IPRS放养不同密度的血液生化指标变化, 并对IPRS和传统池塘养殖模式的差异进行比较, 评估吉富罗非鱼在IPRS的适宜养殖密度。血清生化指标在血液中保持相对恒定状态, 对负面环境的敏感度较低, 因此, 在研究中检测吉富罗非鱼体内血液生化指标的变化, 能预测和分析鱼体的生理状态^[20-21]。

血清皮质醇水平常被用作应激反应的重要指标。当鱼体受到环境胁迫时, 血清中皮质醇含量会升高, 而随着时间的推移, 皮质醇水平下降, 说明鱼体的应激反应减弱, 逐渐适应环境^[22-23]。本研究中, SD2组吉富罗非鱼血清皮质醇水平呈现先上升后下降的趋势, 前期鱼体受到高密度环境胁迫, 导致血清皮质醇水平升高, 而养殖中后期逐渐适应环境, 血清皮质醇呈现下降趋势。高密度胁迫强度与其放养密度有关, SD3组吉富罗非鱼放养密度相对较高, 应激胁迫强度大, 皮质醇水平在养殖中后期持续上升, 且显著高于SD1和SD2组。SD3组吉富罗非鱼在养殖中后期长时间处于应激状态, 无法适应养殖环境, 这与张磊等^[9]研究慢性胁迫对鲤影响的结果相似。血清皮质醇水平短时间升高, 能缓解鱼体的应激反应, 长时间处于较高水平, 则会降低血液中淋巴细胞流动, 鱼体免疫能力受到抑制, 对病毒的易感性增强^[24-25], 本研究中SD3组养殖存活率与SD1和SD2组相比较低。

血液葡萄糖水平是鱼类应激状态代谢的重要响应指标之一。在面临环境胁迫时, 鱼体需要消耗大量能量应对不利的环境, 皮质醇含量升高会促进机体糖异生作用和肝糖原分解, 使血液葡萄糖水平升高^[26-27]。逮尚尉等^[28]对点带石斑鱼(*E. malabaricus*)的研究表明, 随养殖密度增加, 血液中葡萄糖水平升高。这与本研究SD3组结果一致, SD3组吉富罗非鱼养殖中后期处于高密度应激状态, 血清葡萄糖水平也显著高于SD1和SD2组。

谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性可以作为鱼体肝脏损伤的指示物^[29]。正常生理状态下, 这2种酶主要集中在肝脏组织中, 在血清中的水平较低, 当鱼体受到环境胁迫导致肝脏组织受损时, 组织细胞通透性增加, 血清中这2种酶的活性上升。SD2和SD3组吉富罗非鱼血清中这2种

酶的活性均在实验前中期呈现递增趋势, 说明实验组罗非鱼均受到环境胁迫, 导致肝脏组织损伤。薛宝贵等^[30]研究密度胁迫对黄姑鱼(*Nibea albiflora*)幼鱼影响时发现, 谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性随胁迫强度增大而上升。本研究中SD3组2种酶的活性高于SD1和SD2组, 说明SD3组的吉富罗非鱼受到的环境胁迫更严重。养殖后期SD2和SD3组2种酶的活性逐渐降低, 说明吉富罗非鱼可通过自身的调节机制降低环境胁迫对肝脏的损伤。

甘油三酯水平变化与鱼类的抗应激能力有关。血清中甘油三酯是脂质代谢的最终产物, 主要来源于肠道对脂类物质的吸收和肝脏组织的脂代谢^[31]。张墨等^[32]发现鱼体受到环境胁迫时, 会通过消耗血清中的甘油三酯来维持机体的平衡。SD1组吉富罗非鱼血清中的甘油三酯水平随养殖时间递增, 说明随着鱼体规格增大, 抗应激能力增强。SD2组吉富罗非鱼血清甘油三酯在实验前期无明显变化, 因为罗非鱼放养密度较高, 鱼类面临高密度的应激环境, 需要消耗大量的能量来应对环境胁迫。养殖后期SD2组吉富罗非鱼血清甘油三酯水平升高, 说明鱼类适应了环境, 环境胁迫强度减弱; SD3组由于放养密度高于SD2组, 导致其环境胁迫强度更高, 需要消耗更多能量来维持鱼体的稳态, 在整个养殖期内甘油三酯处于较低的水平。

溶菌酶是鱼类血淋巴细胞酶系统的重要成分, 能反映鱼体免疫水平的变化。溶菌酶广泛存在于血液、皮肤黏液和部分组织中, 能催化细菌细胞壁N-乙酰胞壁酸和N-乙酰肽聚糖葡糖胺的水解, 降低细菌的毒性^[33]。实验中SD2和SD3组吉富罗非鱼血清中的溶菌酶活性均显著上升。鱼类受到环境胁迫时, 通过自身调节将更多的能量用于增加血清中的溶菌酶, 从而提高鱼体的免疫力。随着养殖时间延长, SD2组吉富罗非鱼血清中的溶菌酶活性逐渐恢复正常, 与对照组无差异, 说明SD2组吉富罗非鱼适应环境, 应激反应强度减弱。SD3组溶菌酶活性呈现下降趋势, 120d时显著低于SD1组, 这与Jia等^[34]和Yarahmadi等^[35]的研究结果一致, 长时间处于高密度胁迫下, 血清中的溶菌酶活性会显著降低。SD3组吉富罗非鱼养殖中后期长时间处于应激状态下, 造成鱼体血液溶菌酶活性降低, 免疫力下降。

3.3 池塘循环水槽养殖模式对吉富罗非鱼肝脏 *hsp70* mRNA 表达量的影响

HSP70 在鱼类应对环境胁迫中发挥重要作用。当鱼体受到环境胁迫时, 会合成高度保守的 HSP70 来应对不良环境^[36]。本研究中, SD2 和 SD3 组吉富罗非鱼在养殖前中期均受到环境胁迫, 肝脏 *hsp70* mRNA 表达量显著升高。由于 SD3 吉富罗非鱼放养密度更高, 应激胁迫强度更高, 60 d 后肝脏 *hsp70* mRNA 表达量显著高于 SD1 和 SD2 组, 这与殷述亭等^[12]的研究结果相似。在本研究中后期, SD2 和 SD3 组吉富罗非鱼肝脏 *hsp70* mRNA 表达量逐渐降低。推测 SD2 组吉富罗非鱼对高密度环境胁迫逐步适应; SD3 组吉富罗非鱼长期处于应激状态, 导致鱼体肝脏组织细胞膜和蛋白质组成的异常, HSP70 分布发生改变, 肝脏 *hsp70* mRNA 相对表达量下降。皮质醇可以调控 *hsp70* mRNA 的相对表达量, 长期高水平皮质醇能抑制机体免疫功能, 可导致 *hsp70* mRNA 相对表达量下降, 降低 HSP70 对机体的保护。

综上所述, 利用 IPRS 养殖吉富罗非鱼, 由于单位放养密度相对较高, 容易受到高密度胁迫, 产生应激反应。研究结果显示, 养殖密度为 180 尾/m² 时, 养殖结果优于 SD1 和 SD3 组。血清皮质醇、葡萄糖、甘油三酯、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、溶菌酶和肝脏 HSP70 mRNA 的相对表达量等指标在养殖前期与 SD1 组有差异, 但在养殖中后期与对照组无差异。IPRS 养殖吉富罗非鱼的适宜密度为 180 尾/m², 在该密度下吉富罗非鱼能适应 IPRS 的养殖环境, 养殖结果优于传统池塘养殖模式, 具有良好的发展前景。

参考文献:

- [1] 唐瞻杨. 广西罗非鱼产业化发展现状的研究 [D]. 桂林: 广西大学, 2012: 1-4.
Tang Z Y. The study of tilapia industry development situation in guangxi[D]. Guilin: Guangxi University, 2012 (in Chinese).
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2018 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
Fisheries and Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fisheries statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018 (in Chinese).
- [3] 鲍伟君. 淡水池塘工程化循环水养殖系统性能评估及基于粒径分布的悬浮颗粒物去除研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
Bao W J. Performance evaluation of an in-pond raceway system and study on suspended solids removal based on particle size distribution[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019 (in Chinese).
- [4] 金武, 罗荣彪, 顾若波, 等. 池塘工程化养殖系统研究综述[J]. 渔业现代化, 2015, 42(1): 32-37.
Jin W, Luo R B, Gu R B, et al. A review about pond engineering aquacultural systems[J]. *Fishery Modernization*, 2015, 42(1): 32-37(in Chinese).
- [5] Brown T W, Boyd C E, Chappell J A. Approximate water and chemical budgets for an experimental, in-pond raceway system[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2012, 43(4): 526-537.
- [6] 王浩伟. 草鱼池塘循环水养殖系统生态及经济效益分析与评价 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
Wang H W. Ecologies and economic analysis and evaluation of grass carp pond recirculating aquaculture system[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015(in Chinese).
- [7] 邹礼根, 郭水荣, 翁丽萍, 等. 两种不同养殖模式对青鱼肌肉营养品质的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2018, 31(4): 25-30.
Zou L G, Guo S R, Weng L P, et al. Effects of two different culture modes on muscle nutrients of black carp[J]. *Journal of Ningbo University(Natural Science & Engineering Edition)*, 2018, 31(4): 25-30(in Chinese).
- [8] 刘宝良, 雷霖霖, 贾睿, 等. 养殖密度对鱼类福利影响研究进展[J]. 中国工程科学, 2014, 16(9): 100-105.
Liu B L, Lei J L, Jia R, et al. A review: the influence of stocking density on fish welfare[J]. *Engineering Science*, 2014, 16(9): 100-105(in Chinese).
- [9] 张磊, 樊启学, 赵志刚, 等. 慢性拥挤胁迫对鲤生长及血液生化指标的影响[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(6): 465-469.
Zhang L, Fan Q X, Zhao Z G, et al. The effects of chronic crowding stress on growth and blood biochemical indexes in common carp *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2007, 22(6): 465-469(in Chinese).

- [10] Sadhu N, Sharma S R K, Joseph S, *et al.* Chronic stress due to high stocking density in open sea cage farming induces variation in biochemical and immunological functions in Asian seabass (*Lates calcarifer*, Bloch)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, 40(4): 1105-1113.
- [11] 郑乐云, 杨求华, 黄种持, 等. 循环水养殖密度和氨氮对斜带石斑鱼生长和免疫力的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(5): 706-712.
- Zheng L Y, Yang Q H, Huang Z C, *et al.* Effect of the breeding density and ammonia-nitrogen on growth and immunity of *Epinephelus coioides* in recirculating system[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(5): 706-712(in Chinese).
- [12] 殷述亭, 刘宝良, 黄滨, 等. 拥挤胁迫对已接种疫苗的大菱鲆部分免疫和应激指标的影响[J]. *渔业现代化*, 2017, 44(1): 26-34.
- Yin S T, Liu B L, Huang B, *et al.* Effects of crowding stress on immunity and stress index of turbot injected with vaccine[J]. *Fishery Modernization*, 2017, 44(1): 26-34(in Chinese).
- [13] 卢迈新. 罗非鱼链球菌病研究进展[J]. *南方水产*, 2010, 6(1): 75-79.
- Lu M X. Review of research on streptococcosis in tilapia[J]. *South China Fisheries Science*, 2010, 6(1): 75-79(in Chinese).
- [14] Brune D E, Schwartz G, Eversole A G, *et al.* Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems[J]. *Aquacultural Engineering*, 2003, 28(1-2): 65-86.
- [15] 粟丽, 朱长波, 张汉华, 等. 混养罗非鱼对虾池浮游微生物群落的影响及浮游微生物优势种组成与罗非鱼生长的关系[J]. *广东农业科学*, 2011, 38(14): 101-104.
- Su L, Zhu C B, Zhang H H, *et al.* Impact of polycultured tilapia with shrimp on phytoplankton community and the relationship between the composition of phytoplankton dominant species and the growth of tilapia[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38(14): 101-104(in Chinese).
- [16] Houlihan D F, Laurent P. Effects of exercise training on the performance, growth, and protein turnover of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1987, 44(9): 1614-1621.
- [17] 李大鹏, 庄平, 严安生, 等. 光照、水流和养殖密度对史氏鲟稚鱼摄食、行为和生长的影响[J]. *水产学报*, 2004, 28(1): 54-61.
- Li D P, Zhuang P, Yan A S, *et al.* The influences of illumination, water current and stocking density on feeding, behavior and growth in juveniles *Acipenser schrenckii*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(1): 54-61(in Chinese).
- [18] 宋红桥, 张海耿, 张宇雷, 等. 循环水养殖系统中饲养密度对罗非鱼幼鱼生长及经济效益的影响[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(11): 94-97.
- Song H Q, Zhang H G, Zhang Y L, *et al.* Effect of stocking density on growth and economic benefit of juvenile *Oreochromis niloticus* in recirculating aquaculture system[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(11): 94-97(in Chinese).
- [19] 阴晴朗, 罗永巨, 郭忠宝, 等. 罗非鱼池塘循环水槽养殖初探[J]. *渔业现代化*, 2018, 45(4): 15-20.
- Yin Q L, Luo Y J, Guo Z B, *et al.* Preliminary study on culture of tilapia in circulating flow water tank of pond[J]. *Fishery Modernization*, 2018, 45(4): 15-20(in Chinese).
- [20] Davis K B. Temperature affects physiological stress responses to acute confinement in sunshine bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2004, 139(4): 433-440.
- [21] 周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展[J]. *上海水产大学学报*, 2001, 10(2): 163-165.
- Zhou Y, Guo W C, Yang Z G, *et al.* Advances in the study of haematological indices of fish[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2001, 10(2): 163-165(in Chinese).
- [22] 宋志飞, 温海深, 李吉方, 等. 养殖密度对流水池塘系统中俄罗斯鲟幼鱼代谢机能的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(4): 393-398.
- Song Z F, Wen H S, Li J F, *et al.* Influence of stocking density on physiological metabolism function of juvenile Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedti* in running water cultivation[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(4): 393-398(in Chinese).
- [23] Di Marco P, Priori A, Finoia M G, *et al.* Physiological responses of European sea bass *Dicentrarchus labrax* to different stocking densities and acute stress challenge[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1-4): 319-328.
- 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- [24] 王宇, 卢丹琪, 李伟萍, 等. 急性操作胁迫对刀鲚应激反应相关神经内分泌因子的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(6): 803-812.
Wang Y, Lu D Q, Li W P, *et al.* The effect of acute handling stress on the stress-related neuroendocrine factor in *Coilia nasus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(6): 803-812(in Chinese).
- [25] Houghton G, Matthews R A. Immunosuppression in juvenile carp, *Cyprinus carpio* L.: the effects of the corticosteroid triamcinolone acetonide and hydrocortisone 21 - hemisuccinate (cortisol) on acquired immunity and the humoral antibody response to *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet[J]. Journal of Fish Diseases, 1990, 13(4): 269-280.
- [26] 张廷军, 杨振才, 孙儒泳. 鱼类对高密度环境的适应[J]. 水产科技情报, 1998, 25(3): 110-113.
Zhang T J, Yang Z C, Sun R Y. The acclimation of fishes to high stocking density[J]. Fisheries Science & Technology Information, 1998, 25(3): 110-113(in Chinese).
- [27] Caipang C M A, Berg I, Brinchmann M F, *et al.* Short-term crowding stress in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. modulates the humoral immune response[J]. Aquaculture, 2009, 295(1-2): 110-115.
- [28] 逯尚尉, 刘兆普, 余燕. 密度胁迫对点带石斑鱼幼鱼生长、代谢的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 322-328.
Lu S W, Liu Z P, Yu Y. Effects of density stress on growth and metabolism of juvenile *Epinephelus malabaricus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 322-328(in Chinese).
- [29] Casillas E, Myers M, Ames W E. Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in English sole (*Parophrys vetulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride[J]. Aquatic Toxicology, 1983, 3(1): 61-78.
- [30] 薛宝贵, 楼宝, 徐冬冬, 等. 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长、代谢及非特异性免疫的影响[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(2): 45-51.
Xue B G, Lou B, Xu D D, *et al.* Impact of density stress on growth, metabolism and non-specific immune functions of juvenile *Nibea albiflora*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(2): 45-51(in Chinese).
- [31] 强俊, 杨弘, 王辉, 等. 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标和肝脏HSP70 mRNA表达的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(6): 958-968.
Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* Studies on blood biochemical indices and expression of hepatic HSP70 mRNA of different tilapia strains artificially challenged with *Streptococcus iniae*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(6): 958-968(in Chinese).
- [32] 张墨, 李吉方, 温海深, 等. 放养密度对大杂交鲟大规格鱼种血液生理生化指标的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2014(2): 67-72.
Zhang M, Li J F, Wen H S, *et al.* Effect of stocking density on blood physiology and serum biochemistry indicators in hybrid sturgeon[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2014(2): 67-72(in Chinese).
- [33] Saurabh S, Sahoo P K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system[J]. Aquaculture Research, 2008, 39(3): 223-239.
- [34] Jia R, Liu B L, Feng W R, *et al.* Stress and immune responses in skin of turbot (*Scophthalmus maximus*) under different stocking densities[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 55(1): 131-139.
- [35] Yarahmadi P, Miandare H K, Hoseinifar S H, *et al.* The effects of stocking density on hemato-immunological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture International, 2015, 23(1): 55-63.
- [36] Salas-Leiton E, Anguis V, Martín-Antonio B, *et al.* Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 28(2): 296-302.

Growth and physiological responses of GIFT *Oreochromis niloticus* in an in-pond raceway system

YIN Qinglang^{1,2}, GUO Zhongbao², XIAO Jun², ZHOU Yi²,
LUO Lili³, ZHANG Xiaojin^{1,2}, LUO Yongju^{1,2*}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Genetic Breeding and Healthy Aquaculture,

Guangxi Academy of Fisheries Sciences, Nanning 530021, China;

3. New Farmer Feed Co., Ltd., Guangxi, Nanning 530022, China)

Abstract: In this study, the growth and physiological parameters were compared between tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) cultured in a traditional pond and that in an in-pond raceway system (IPRS) for 120 days. For the traditional way, 5 ind./m² (stocking density 1, SD1) were reared, while 180 ind./m² (SD2) and 270 ind./m² (SD3) were cultured in an IPRS. The main objective of this study was to find the appropriate density of tilapia to be cultured in an IPRS. The results showed that after 120 days of culture, the body weight, specific growth rate and absolute growth rate of the SD2 fish were significantly higher than those of the SD1 and SD3 fish. The survival rate, coefficient of variation of weight and feed coefficient rate of SD2 and SD3 tilapia were lower than those of the SD1 tilapia. Compared with SD1 fish at 30 days, the relative expressions of serum cortisol, serum alanine aminotransferase, lysozymal aspartate aminotransferase and hepatic *hsp70* mRNA were significantly increased in the SD2 fish. The levels of serum cortisol and glucose in the SD3 fish were significantly higher after 120 days of culture than those in the SD1 fish. Compared with SD1, the levels of SAA, LAA and hepatic *hsp70* mRNA expressions of the SD2 fish were significantly higher after 60 and 90 days, while the level of triglyceride was significantly lower during the whole experimental period. The results implied that tilapia in the SD2 were stressed in the early stage of cultivation but gradually acclimated to the environment, while tilapia in the SD3 were stressed for a relatively longer time. Taken together, this study demonstrated that the appropriate stocking density of tilapia cultured in the IPRS might be 180 ind./m² or less in order to obtain a better growth performance than in the traditional culturing mode.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; in-pond raceway system (IPRS); high density; growth performance; physiological parameters

Corresponding author: LUO Yongju. E-mail: lfylzc123@163.com

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-46); Nanning Key Research and Development Plan (20172010)