

doi: 10.7541/2022.2021.0172

放养密度对IPRA养殖太湖鲢鱼生长、抗氧化酶及肠道微生物群落的影响

李倩 孙丽慧 姜建湖 陈建明 郭建林 高令梅 张海琪

(农业部淡水渔业健康养殖重点实验室, 浙江省淡水水产研究所, 湖州 313000)

摘要: 为探讨池塘内循环流水养殖(In-pond Raceway Aquaculture, IPRA)太湖鲢鱼幼鱼的合理放养密度, 以初始体重为 (5.58 ± 0.45) g的太湖鲢鱼幼鱼为研究对象, 设置3个放养密度: 0.5 (SD1)、1.0 (SD2)、1.5 kg/m³ (SD3), 在养殖第90、第120、第150、第180天采样, 对其生长性能、血清和肝脏抗氧化酶活力进行分析, 实验结束后分析肠道微生物群落组成。生长结果表明: 养殖120d, 当放养密度超过1.0 kg/m³时, 太湖鲢鱼幼鱼的体重和特定生长率(SGR)显著降低($P < 0.05$), 养殖150—180d, 体重和SGR随着放养密度的升高显著降低($P < 0.05$)。血清抗氧化酶结果表明: 养殖90d, 太湖鲢鱼血清抗氧化酶的活力随着放养密度的升高而增加, SD3组显著高于SD1组($P < 0.05$)。养殖150—180d, 血清抗氧化酶的活力随着放养密度的升高而降低, 养殖180d, SD3组抗氧化酶的活力显著低于SD1组($P < 0.05$)。肝脏抗氧化酶结果表明: 养殖150—180d, 肝脏中抗氧化酶活力随着放养密度的增加而升高, GSH-Px的活力随着放养密度的增加显著升高($P < 0.05$)。养殖前120d, 丙二醛(MDA)的水平随着放养密度的升高有所降低, 养殖180d, SD2和SD3组的MDA水平显著高于SD1组($P < 0.05$)。肠道微生物结果表明, 在属水平, 各密度组肠道微生物群落组成发生明显改变, 气单胞菌属(*Aeromonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)等在SD3组的相对丰度显著增加($P < 0.05$), 而Shannon多样性指数显著降低($P < 0.05$)。综上, 在试验条件下, 当养殖时间小于120d, 放养密度小于1.0 kg/m³时, 太湖鲢鱼幼鱼的生长和抗氧化能力未受显著影响, 建议放养密度小于1.0 kg/m³; 当养殖时间为150—180d, 放养密度大于0.5 kg/m³时, 放养密度对太湖鲢鱼幼鱼的生长产生了抑制, 肠道微生物群落组成中条件致病菌显著增加、多样性指数显著降低, 建议放养密度小于0.5 kg/m³。

关键词: 池塘内循环流水养殖; 放养密度; 生长; 抗氧化酶; 肠道微生物群落; 太湖鲢鱼

中图分类号: S964.8

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)03-0479-09



池塘内循环流水养殖(In-pond Raceway aquaculture, IPRA)于20世纪90年代由美国奥本大学开发^[1], 于2013年引进我国, 已在我国较多地区得到推广。该系统通过现代土建工程对池塘进行改造, 利用占池塘面积5%左右的水面作为养殖区, 其余95%的水面作为净化区, 实现池塘高密度养殖和水体循环利用。和传统养殖模式相比, IPRA具有水体利用率高、产量高、管理方便等优点^[2]。截至2019年, 全国已建成IPRA养殖系统2000条以上, 浙江省于2015年引进该模式并进行示范推广, 全省跑

道保有量超900条, 总体规模位居全国第二^[3, 4]。目前, 已有较多学者报道了有关IPRA在养殖模式、水环境变化、品质影响^[5-8]等方面的研究。

养殖密度是影响集约化养殖产量、收益和生态效益的重要因素, 养殖密度过低会降低资源利用率也不利于鱼类群体行为的形成^[9]。养殖密度过高会影响养殖对象的生长、造成应激反应, 增大养殖风险^[10]。目前, 已有研究报道了IPRA养殖大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[3]、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[11]、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[12]

收稿日期: 2021-08-03; 修订日期: 2022-04-13

基金项目: 浙江省重点研发计划(2018C02033和2016C02055-1); 国家现代农业产业技术体系(CARS-45); 所级探索性项目(2019TSX06)资助 [Supported by Key Research and Development Projects of Zhejiang Province (2018C02033 and 2016C02055-1); Modern Agricultural Industrial System (CARS-45); Exploratory Projects of ZIFF (2019TSX06)]

作者简介: 李倩(1984—), 女, 硕士研究生; 主要从事鱼类增养殖学方面的研究。E-mail: 2008feelkaka@sina.com

通信作者: 郭建林(1981—), 男, 高级工程师; E-mail: wavegil@aliyun.com

和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[13]等品种的适宜密度。太湖鲢鲈以翘嘴鲈为母本、三角鲂为父本,经群体选育和异源雌核发育技术,通过远缘杂交获得的国家水产新品种(GS-02-001-2017),具有食性杂、饲料转化率高、肌间刺少等优点^[14],适合池塘内循环流水养殖。目前,有关太湖鲢鲈的研究主要涉及肠道微生物、基因克隆、肌肉品质和饲料营养等方面^[15-18],但有关IPRA系统养殖太湖鲢鲈的最佳密度尚有待于确定。本研究以太湖鲢鲈幼鱼为研究对象,探讨了放养密度对太湖鲢鲈生长、抗氧化酶和肠道微生物群落的影响,旨在进一步探讨IPRA养殖模式下太湖鲢鲈的合理放养密度,为太湖鲢鲈IPRA养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验鱼为本所自行繁育的太湖鲢鲈冬片鱼种,平均初始体重为 (5.58 ± 0.45) g。试验跑道位于浙江省淡水水产研究所八里店综合试验基地,长22 m,宽5 m,高2.0 m,实际水深1.7 m。试验设置3个放养密度,SD1组放养密度为 0.5 kg/m^3 ,SD2组放养密度为 1.0 kg/m^3 ,SD3组放养密度为 1.5 kg/m^3 。每天早晚各投饲1次,投饲量为鱼体质量的2%—5%,放养时间为2019年4月17日,试验期180d。

1.2 方法

生长性能测定 分别于养殖第90、第120、第150和第180天,每个密度组随机选取30尾鱼,测量其体重、体长,解剖后取内脏和肝脏,称重,计算各组太湖鲢鲈的特定生长率(SGR)、肥满度(CF)、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)和成活率(SR)。各指标按下式计算:

$$\text{SGR} (\%/d) = 100 \times [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)]$$

$$\text{CF} (\text{g/cm}^3) = 100 \times W/L^3$$

$$\text{HSI} = 100 \times W_{\text{肝脏}}/W$$

$$\text{VSI} = 100 \times W_{\text{内脏}}/W$$

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

式中, W_1 和 W_2 分别为时间 t_1 与 t_2 时的体重(g); $W_{\text{肝脏}}$ 表示肝脏重(g); $W_{\text{内脏}}$ 表示内脏重(g); L 表示体长(cm); N_0 表示初始鱼尾数, N_t 为养殖 t 时间时成活的尾数。

血清酶活测定 各实验组随机选取3尾鱼,MS-222麻醉后尾静脉采血,在4℃,2500 r/min离心20min制备血清,保存于-80℃冰箱中备用。分别测定血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(T-AOC)和酚氧化酶(PO)活力。

肝脏组织酶活测定 各实验组随机选取3尾

鱼,解剖后取肝脏,用预冷的0.9%生理盐水快速冲洗,准确称取肝脏组织,按重量(g):体积(mL)=1:9的比例加入9倍体积的生理盐水,在冰浴条件下机械匀浆,在4℃下2500 r/min低温离心15min,取上清液,-80℃冰箱保存备用。检测指标为T-SOD、CAT、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)和丙二醛(MDA),以上试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

肠道微生物群落组成分析 在试验结束后,每个密度组随机挑选太湖鲢鲈5尾,解剖后取全肠,剔除肠道表面的脂肪组织,灭菌去离子水冲洗,用无菌剪刀剪开肠道,然后用灭菌的解剖刀轻刮肠道内容物,样本混合后保存在无菌离心管,-80℃保存,每个实验组3个重复。细菌总DNA的提取参照Bacterial DNA Kit试剂盒(Omega, 美国)的说明步骤。16S rRNA基因测序以V3和V4区为目标设计引物,引物序列为338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCA GCAG-3')和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTC TAAT-3')。PCR采用TransGen AP221-02,反应体系20 μL: 5×FastPfu缓冲液4 μL、2.5 mmol/L dNTPs 2 μL、5 μmol/L上下游引物各0.8 μL、FastPfu聚合酶0.4 μL、BSA 0.2 μL、DNA模板10 ng,补双蒸水至20 μL。PCR反应条件:95℃ 3min;95℃ 30s,55℃ 30s,72℃ 45s,27个循环;72℃延伸10min。PCR反应在PCR反应仪9700 (Applied Biosystems® GeneAmp®, CA, 美国)上进行。PCR产物经Beads纯化后委托上海美吉生物医药科技有限公司(上海, 中国)进行高通量测序。

1.3 数据分析

采用SPSS16.0统计软件进行差异显著性分析,利用方差分析(ANOVA)中Duncan多重比较检验显著性,当 $P < 0.05$ 时差异显著。

2 结果

2.1 放养密度对太湖鲢鲈生长的影响

不同放养密度组太湖鲢鲈的生长参数见表1。在养殖120d前,SD1和SD2组太湖鲢鲈的体重显著大于SD3组($P < 0.05$),SD1和SD2组之间无显著差异($P > 0.05$)。养殖150—180d,太湖鲢鲈的体重随着养殖密度的增加显著降低($P < 0.05$)。不同放养密度组太湖鲢鲈的CF、HSI和VSI在养殖120d前无显著差异($P > 0.05$)。养殖150—180d,SD2和SD3组的CF和VSI显著低于SD1组($P < 0.05$),而SD2和SD3组之间无显著差异($P > 0.05$)。养殖150d前无发病和死亡现象,太湖鲢鲈的存活率均为100%,养殖后期存活率随着放养密度增加有所降低。

如图1所示,养殖90—120d,SD1和SD2组

表 1 不同放养密度组太湖鲢鲈的生长参数(平均值±标准误, n=30)
Tab. 1 Growth parameters of hybrid strain at different stocking densities (mean±SE, n=30)

时间Time	组别Group	体重BW (g)	肥满度CF (g/cm ³)	肝体比HIS	脏体比VSI	成活率Survival rate (%)
90d	SD1	81.44±1.81 ^b	1.47±0.14	1.13±0.02	7.01±0.10	100
	SD2	77.12±2.18 ^b	1.45±0.17	1.11±0.02	6.84±0.11	100
	SD3	68.04±1.84 ^a	1.44±0.17	1.10±0.03	6.79±0.11	100
120d	SD1	136.20±3.48 ^b	1.47±0.02	1.24±0.02	7.10±0.11	100
	SD2	133.49±4.52 ^b	1.49±0.02	1.21±0.03	6.97±0.22	100
	SD3	109.81±3.54 ^a	1.52±0.01	1.16±0.02	6.86±0.14	100
150d	SD1	247.05±5.09 ^c	1.57±0.01 ^b	1.15±0.03 ^b	7.44±0.15 ^b	100
	SD2	207.39±4.89 ^b	1.52±0.01 ^a	1.05±0.03 ^a	6.87±0.10 ^a	100
	SD3	148.88±4.20 ^a	1.51±0.02 ^a	1.03±0.02 ^a	6.57±0.10 ^a	100
180d	SD1	400.34±10.26 ^c	1.57±0.01 ^b	1.06±0.04	6.88±0.60 ^b	99.83
	SD2	286.91±8.99 ^b	1.50±0.02 ^a	1.01±0.02	6.23±0.34 ^a	97.67
	SD3	206.30±6.59 ^a	1.47±0.01 ^a	0.98±0.02	6.15±0.37 ^a	96.51

注: 同一时间同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同
Note: In the same column of the same time, values with different small letter superscripts are significantly different ($P<0.05$), the same applies below

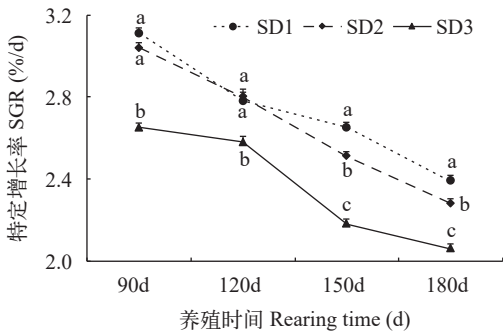


图 1 各密度组太湖鲢鲈SGR曲线

Fig. 1 The SGR curve of hybrid strain of different stocking densities

SGR显著大于SD3组($P<0.05$), SD1和SD2组之间无显著差异($P>0.05$)。养殖150—180d, 各实验组的SGR随着放养密度的增加显著降低, 即SD3<SD2<SD1($P<0.05$)。

2.2 放养密度对太湖鲢鲈血清抗氧化酶的影响

如表 2 所示, 养殖90d时, 血清中各抗氧化酶的活力随着放养密度的增加而升高, SD3组显著高于SD1组($P<0.05$)。养殖120d, SD2和SD3组抗氧化酶的活力无显著差异($P>0.05$)。养殖150—180d, 血清中各抗氧化酶的活力随着放养密度的增加有所降低, SD3组抗氧化酶的活力显著低于SD1组($P<0.05$)。

2.3 放养密度对太湖鲢鲈肝脏抗氧化酶的影响

如表 3 所示, 养殖90d, 不同密度组肝脏中T-SOD和CAT的活力无显著差异($P>0.05$), 养殖120d, 随着放养密度的增加, 肝脏中抗氧化酶的活力有所升高, SD2和SD3组显著高于SD1组($P<0.05$)。养

表 2 各实验组太湖鲢鲈血清抗氧化酶活力(平均值±标准误, n=3)

Tab. 2 Antioxidant enzyme activities in serum of hybrid strain at different stocking densities (mean±SE, n=3)

时间Time (d)	组别Group	T-SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	T-AOC (U/mL)	PO (ng/mL)
90	SD1	361.44±21.55 ^a	7.84±0.14 ^a	1.65±0.07 ^a	8.98±0.12 ^a
	SD2	418.41±10.03 ^{ab}	15.52±0.61 ^b	2.40±0.08 ^b	10.13±0.44 ^a
	SD3	470.98±18.55 ^b	15.67±0.97 ^b	2.64±0.25 ^b	12.51±0.39 ^b
120	SD1	364.29±17.59	14.36±0.54 ^b	2.06±0.01	16.46±0.78 ^a
	SD2	393.45±24.61	12.92±0.25 ^a	2.10±0.05	17.32±0.30 ^{ab}
	SD3	326.46±24.36	13.51±0.33 ^{ab}	2.14±0.02	18.51±0.45 ^b
150	SD1	489.47±10.57 ^c	21.27±0.80 ^b	6.77±0.74	26.84±0.64 ^b
	SD2	449.83±10.81 ^b	20.29±0.44 ^{ab}	6.51±0.09	29.81±0.88 ^c
	SD3	331.94±6.36 ^a	18.05±0.67 ^a	5.51±0.26	24.49±0.40 ^a
180	SD1	472.75±27.93 ^b	15.67±0.97 ^c	5.14±0.02 ^b	24.94±0.52 ^c
	SD2	423.18±21.10 ^b	8.14±0.49 ^b	3.15±0.02 ^a	19.36±0.67 ^b
	SD3	265.46±10.02 ^a	5.52±0.06 ^a	3.12±0.02 ^a	14.48±1.01 ^a

殖150—180d, 肝脏中抗氧化酶的活力随着放养密度的增加有所上升, 其中GSH-Px的活力随着放养密度的增加显著升高($P<0.05$)。在养殖前120d, 丙二醛(MDA)水平随着放养密度的升高有所降低, 养殖150d, MDA水平随着放养密度的升高有所上升, 各组间无显著差异($P>0.05$)。养殖180d, SD2和SD3组的MDA含量显著高于SD1组($P<0.05$)。

2.4 放养密度对太湖鲢鲈肠道微生物群落的影响

在门水平, 各密度组太湖鲢鲈肠道微生物的优

势菌相同, 主要包含变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)和厚壁菌(Firmicutes), 其中, SD3组变形菌门的丰度比SD1和SD2组增加了33.27%(图 2)。各密度组在属水平的物种组成见图 3, SD1和SD2组优势菌相

表 3 各实验组太湖鲂鮨肝脏抗氧化酶活力(平均值±标准误, n=3)

Tab. 3 Antioxidant enzyme activities in liver of hybrid strain at different stocking densities (mean±SE, n=3)

时间 Time(d)	组别 Group	T-SOD (U/mg prot)	CAT (U/mg prot)	GSH-PX (U/mg prot)	MDA (nmol/mg prot)
90	SD1	100.88±4.10	10.15±0.51	239.53±2.49 ^a	3.22±0.06 ^b
	SD2	103.08±5.14	11.53±0.54	241.04±4.95 ^{ab}	2.98±0.04 ^a
	SD3	100.02±5.06	11.94±0.95	255.71±4.99 ^b	2.95±0.07 ^a
120	SD1	102.23±2.39 ^a	9.67±0.60 ^a	300.13±1.98 ^a	1.97±0.06 ^b
	SD2	127.86±3.84 ^b	12.93±0.96 ^b	314.44±3.50 ^b	1.79±0.04 ^b
	SD3	130.89±4.62 ^b	14.40±0.39 ^b	327.07±5.33 ^b	1.40±0.09 ^a
150	SD1	80.26±3.21 ^a	9.71±0.11 ^a	215.21±0.89 ^a	1.09±0.10
	SD2	98.17±4.61 ^b	11.46±0.27 ^b	239.08±3.69 ^b	1.14±0.06
	SD3	103.42±2.66 ^b	11.57±0.70 ^b	275.91±1.14 ^c	1.19±0.04
180	SD1	120.17±3.66	10.53±0.92 ^a	247.38±1.23 ^a	1.29±0.07 ^a
	SD2	124.02±4.51	11.86±0.32 ^a	306.62±4.75 ^b	1.53±0.07 ^b
	SD3	124.75±4.78	14.53±0.49 ^b	327.65±2.91 ^c	1.67±0.05 ^b

同, 分别为norank_c_Cyanobacteria、分枝杆菌(Mycobacterium)、norank_f_Hados_Sed.Eubac.3, norank_o_PeM15。SD3组的优势菌发生改变, 以为气单胞菌(Aeromonas)、假单胞菌(Pseudomonas)和分枝杆菌(Mycobacterium)属为主要优势菌。对属水平的物种组成差异性进行分析(图 4), 微鞘藻属(Microcoleus)、鲸杆菌属(Cetobacterium)、气单胞菌属(Aeromonas)、假单胞菌属(Pseudomonas)和不动杆菌属(Acinetobacter)的相对丰度在SD3组显著高于SD1和SD2组($P<0.05$)。

如表 4 所示, Shannon 指数可以反映群落的多样性, 其值越大, 群落多样性越高, Simpson 指数相反。本试验结果表明, 随着放养密度的增加, 各密度组的Shannon 多样性指数显著降低($P<0.05$), Simpson 指数显著升高($P<0.05$)。所有样品的覆盖率均达到99%以上, 表明样本中的所有微生物都被检测到, 可以代表样本的真实情况。

3 讨论

3.1 放养密度对太湖鲂鮨生长性能的影响

本研究结果表明, 养殖初期, 放养密度未对太湖鲂鮨的肥满度、肝体指数和脏体指数产生显著影响, 这是因为养殖初期鱼体较小, 太湖鲂鮨对空间、食物的竞争较小, 养殖环境差异不大, 密度胁迫效应尚未对太湖鲂鮨形体指标产生显著影响。有学者研究了放养密度对跑道养殖大口黑鲈生长

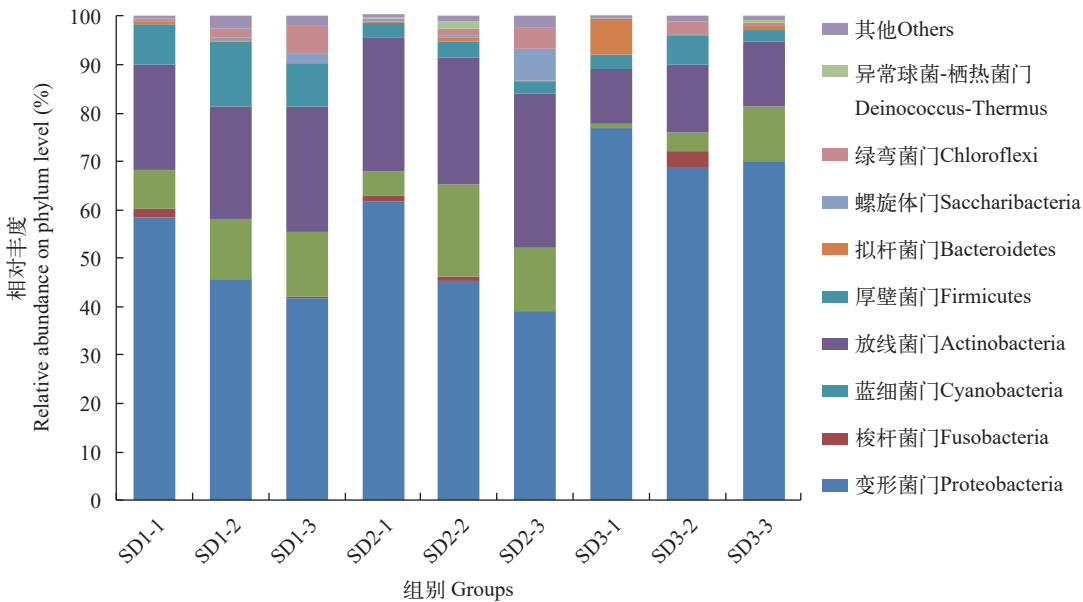


图 2 各实验组在门分类水平的细菌微生物群落组成

Fig. 2 The bacterial communities in all of the samples on phylum level

将在所有样本中相对丰度小于1%的门归为其他

Others mean the relative abundance below 1% in all of the samples

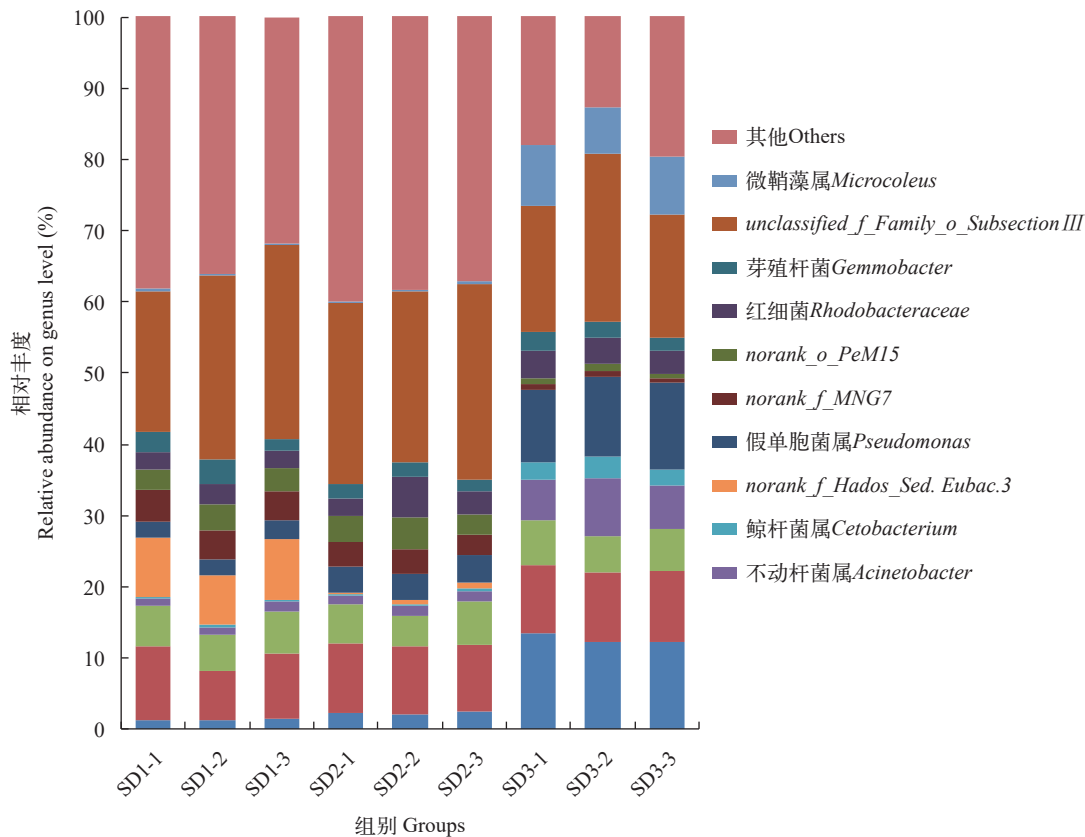


图3 各实验组在属分类水平的细菌微生物群落组成

Fig. 3 The bacterial communities in all of the samples on genus level
将在所有样本中相对丰度小于2%的属归为其他
Others mean the relative abundance below 2% in all of the samples

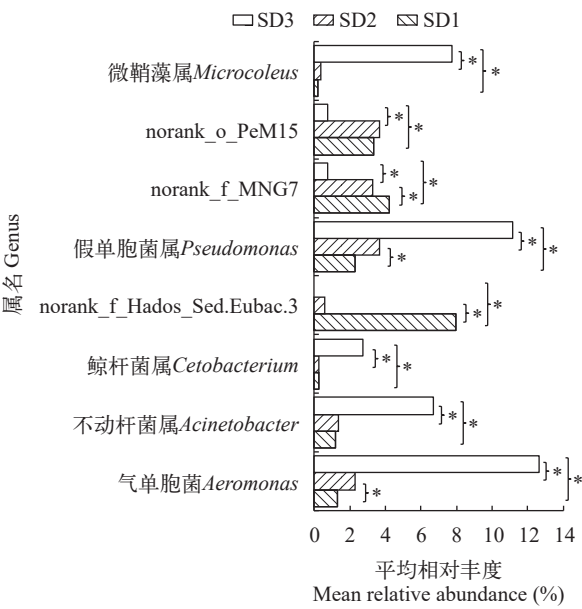


图4 各组在属水平的差异比较

Fig. 4 Comparison between different groups in the level of genus
“*”表示差异显著($P<0.05$)
The “*” represent significant difference ($P<0.05$)

表4 肠道微生物样本的多样性指数(平均值±标准误, $n=3$)

Tab. 4 Alpha-diversity indexes of gut microbiota in all of samples (mean±SE, $n=3$)

样本 Sample	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	覆盖率 Good coverage
SD1	4.71±0.11 ^a	0.05±0.00 ^c	0.99±0.00
SD2	3.58±0.06 ^b	0.15±0.02 ^b	0.99±0.00
SD3	2.79±0.07 ^c	0.24±0.01 ^a	0.99±0.00

的影响^[19], 结果表明, 养殖30d时, 中密度组(0.4 kg/m³)的体重和特定生长率显著高于低密度组和高密度组。当养殖时间为90—120d, 低密度组(0.2 kg/m³)生长最快, 增加养殖密度会显著降低大口黑鲈的生长, 这一结果和本研究结果相同。已有研究表明, 不同鱼类的养殖密度都有一个阈值, 当超出阈值后, 随着放养密度的增加, 鱼类的摄食量、饲料转化率会随着密度的增加显著降低, 鱼体对水体空间、溶解氧、食物竞争增大, 抑制其生长^[20-23]。本研究结果提示, 当养殖时间为120d, 太湖鲂鮈幼鱼的放养密度为0.5—1.0 kg/m³时, 增加放养密度会提高太湖鲂鮈幼鱼的生长, 当放养密度达到SD3设定

值时,太湖鲢鲢的SGR和体重随着放养密度的增加显著下降,根据体重推算,SD2组对应的养殖密度为 13.82 kg/m^3 ,因此,养殖时间为120d时,建议太湖鲢鲢的养殖密度阈值为 13.82 kg/m^3 。当养殖时间超过150d,SD1组对应的养殖密度为 22.14 kg/m^3 ,增加放养密度会显著降低太湖鲢鲢的特定生长率和体重,而且当养殖至180d,各密度组太湖鲢鲢的存活率有所降低,因此,当养殖时间超过150d,建议太湖鲢鲢的养殖密度阈值为 22.14 kg/m^3 。

3.2 放养密度对太湖鲢鲢血清抗氧化酶的影响

鱼类的血液生化指标是反应鱼体健康状况的一类重要指标,当外界环境变化时,其血液生化指标会随之改变^[24, 25]。SOD是清除体内氧自由基的重要抗氧化酶,可将鱼体内超氧自由基(O_2^-)转化为 H_2O_2 和 O_2 ,而CAT可以将 H_2O_2 分解成无毒的 H_2O 和 O_2 ^[26, 27]。养殖初期T-SOD和CAT水平的升高可能是为了保护机体免遭 H_2O_2 的伤害。T-AOC作为抗氧化能力的重要酶活,可以反映机体的抗氧化能力。本试验中各密度组的T-AOC活力呈现先升高后降低的趋势,这可能和养殖后期太湖鲢鲢已经逐渐适应养殖环境有关,也可能和太湖鲢鲢的抗氧化能力受到抑制有关。当养殖对象受到胁迫时,细胞中的酚氧化酶原(proPO)可以转化为酚氧化酶(PO)从而发挥免疫功能^[28]。在养殖120d前,高密度组PO活力的升高可能是太湖鲢鲢应对高密度胁迫的结果。但在养殖后期,PO活力随着放养密度的增加而显著降低,这可能是由于受放养密度的胁迫,太湖鲢鲢的机体免疫系统受到抑制,导致PO的活力显著降低。

3.3 放养密度对太湖鲢鲢肝脏抗氧化酶的影响

肝脏是鱼类重要的新陈代谢器官,参与鱼体中抗氧化、糖原合成等重要的生理过程,已有较多研究报道了环境因子对鱼类肝脏酶活的影响^[29-31]。除SOD和CAT外,GSH- P_x 也可以通过催化GSH的氧化偶联而去除 H_2O_2 ,可以保护细胞免受损伤^[32]。本试验结果表明,在养殖初期,太湖鲢鲢肝脏中T-SOD和CAT活力在各组间无显著差异,这可能是由于养殖初期鱼体较小,放养密度尚未对环境和鱼体肝脏造成显著负荷。在养殖120d后,太湖鲢鲢肝脏中抗氧化酶的活力随着放养密度的增加而升高,尤其在养殖中后期,SD3组肝脏中抗氧化酶的活力显著高于SD1组,说明随着养殖时间的延长,受放养密度胁迫,鱼体代谢加快,太湖鲢鲢利用肝脏中抗氧化酶活性升高以清除产生的大量活性氧,以适应密度胁迫带来的应激状态。

MDA是生物体内脂质过氧化物的终产物,毒

性积累过高会引起细胞损伤。养殖前120d,太湖鲢鲢肝脏中MDA的含量随着放养密度的升高而降低,说明在养殖中前期,肝脏中抗氧化酶的水平可以清除随着放养密度的升高而引发的脂质过氧化物,导致MDA含量降低。但在养殖后期,MDA含量随着放养密度的升高而增加,且在养殖180d时,SD3组和SD2组的MDA水平显著高于SD1组。这表明随着太湖鲢鲢幼鱼的生长,密度和环境胁迫逐渐显现,虽然太湖鲢鲢肝脏中的抗氧化酶水平有所升高,但已不足以清除过多的脂质过氧化物,导致其肝脏中MDA水平积累,这和颌鲴幼鱼的研究结果相似^[33]。因此,在养殖后期,要注意高密度组太湖鲢鲢肝脏细胞中MDA积累过高引起的细胞损伤。

3.4 放养密度对太湖鲢鲢肠道微生物群落的影响

肠道微生物是肠道的重要组成部分,在养殖对象的发育、消化、机体代谢方面发挥重要作用^[34, 35]。有报道表明,变形菌门中的许多物种被认为是水产动物的有害菌,变形菌门的增加是疾病的潜在诊断标志^[36]。本研究结果表明,SD3组变形菌门的丰度显著增加,且来自变形菌门的不动杆菌属、气单胞菌属及假单胞菌属在高密度组显著增加,这和团头鲂^[37]的研究结果一致。不动杆菌属、气单胞菌属、假单胞菌属等是常见的病原菌,虽然在本试验条件下未出现鱼体发病情况,但病原菌数量增加可能会影响肠道健康、增加患病风险。随着放养密度的增加,SD3组肠道菌群多样性显著降低,这一结果和课题组前期的研究结果一致^[15]。微生物群落多样性是维持群落稳定的重要因素,肠道微生物生态系统的平衡对于水产动物肠道健康的维持十分关键^[38]。在本研究中,SD3组太湖鲢鲢肠道微生物群落多样性显著降低,且气单胞菌属、假单胞菌属及弧菌属等病原菌属显著增加,表明受养殖密度胁迫,高密度养殖组微生物群落结构发生显著变化,群落多样性显著降低,群落均一性较差,而微生物群落失衡对鱼体会产生不利的影响,因此,要注意高密度养殖模式下太湖鲢鲢的肠道健康。

4 结论

综上所述,当养殖时间小于120d时,SD1和SD2组太湖鲢鲢的生长性能、抗氧化酶等无显著差异,建议IPRA模式下太湖鲢鲢幼鱼的放养密度以 1.0 kg/m^3 为宜;当养殖时间为150—180d时,太湖鲢鲢的体重和SGR随着放养密度的增加显著降低,建议放养密度不超过 0.5 kg/m^3 。肠道微生物群落分析结果表明,随着放养密度的增加,太湖鲢鲢肠道微生物群落组成发生改变,多样性显著降低,养

殖后期, 应注意高密度养殖组太湖鲢鳙的肠道健康。

参考文献:

- [1] Wang P, Xu G C, Xu P. Temporal and spatial variation of dissolved oxygen and reaction of bacterial community in in-pond raceway system (iprs) of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1290-1299. [王朋, 徐钢春, 徐跑. 大口黑鲈池塘工程化循环水养殖系统的溶解氧时空变化及菌群响应特征 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(6): 1290-1299.]
- [2] Wang Y Y, Xu G C, Nie Z J, *et al.* Growth performance of bluntnose black bream, channel catfish, yellow catfish, and largemouth bass reared in the in-pond raceway recirculating culture system [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2019, **81**(2): 153-159.
- [3] Feng S S, Zhou F, Lou J F, *et al.* Study on suitable density of *Micropterus salmoides* under in-pond raceway aquaculture system (IPAS) [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2020, **48**(2): 70-73. [冯双双, 周凡, 娄剑锋, 等. 池塘循环流水跑道养殖大口黑鲈的适宜密度 [J]. *贵州农业科学*, 2020, **48**(2): 70-73.]
- [4] Ma W J, Ding X Y, Zhou F, *et al.* Development status and countermeasures of in-pond raceway aquaculture in Zhejiang Province [J]. *Chinese Fisheries Economics*, 2019, **37**(5): 76-81. [马文君, 丁雪燕, 周凡, 等. 浙江省池塘内循环流水“跑道”养殖模式发展现状及建议 [J]. *中国渔业经济*, 2019, **37**(5): 76-81.]
- [5] Pi J, Fu Y, Yu J B, *et al.* The application and extension of in-pond raceway aquaculture in Hunan province [J]. *Aquaculture*, 2020, **41**(8): 46-49. [皮杰, 付莹, 余建波, 等. 湖南省池塘内循环流水养殖模式的推广应用 [J]. *水产养殖*, 2020, **41**(8): 46-49.]
- [6] Zhang L M, Yuan J L, Ni M, *et al.* A study on water quality factors and microbial community structure in two aquaculture models [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2020, **42**(3): 537-545. [张雷鸣, 原居林, 倪蒙, 等. 两种养殖模式水质因子及微生物群落结构研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2020, **42**(3): 537-545.]
- [7] Liu M, Mi G Q, Guo J L, *et al.* Effects of internal-circulation pond aquaculture model on growth performance, morphological indices, serum biochemical indices and muscle nutritional components of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(4): 1704-1717. [刘梅, 宓国强, 郭建林, 等. 池塘内循环流水养殖模式对黄颡鱼生长性能、形体指标、血清生化指标及肌肉营养成分的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, **31**(4): 1704-1717.]
- [8] Dong L X, Yu Y L, Mao T, *et al.* Analysis of muscle quality variations of *Ictalurus punctatus* reared in internal-circulation pond aquaculture [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, **28**(7): 914-924. [董立学, 喻亚丽, 毛涛, 等. 池塘内循环流水养殖斑点叉尾鲷肌肉品质的分析 [J]. *中国水产科学*, 2021, **28**(7): 914-924.]
- [9] Jørgensen E H, Christiansen J S, Jobling M. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) [J]. *Aquaculture*, 1993, **110**(2): 191-204.
- [10] Liu B L, Lei J L, Jia R, *et al.* A review: the influence of stocking density on fish welfare [J]. *Engineering Sciences*, 2014, **16**(9): 100-105. [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.]
- [11] Wang Y Y, Xu P, Nie Z J, *et al.* Growth, digestive enzymes activities, serum biochemical parameters and antioxidant status of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at different stocking densities in in-pond raceway recirculating culture system [J]. *Aquaculture Research*, 2019, **50**(4): 1338-1347.
- [12] Yang Z F, Liu B, Xu P, *et al.* Effects of crowding stress on gene expression of antioxidant enzymes and Nrf2-Keap1 signaling pathway in different tissues of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) for in-pond raceway aquaculture systems [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, **26**(2): 232-241. [杨震飞, 刘波, 徐跑, 等. 池塘工业化跑道式循环水高密度应激对团头鲂组织抗氧化酶及其Nrf2-Keap1信号通路的影响 [J]. *中国水产科学*, 2019, **26**(2): 232-241.]
- [13] Zhou E H, Zhang J, Li N S, *et al.* The comparative experiment of grass carp culturing in different density in in-pond recirculating aquaculture [J]. *Chinese Aquaculture*, 2019(7): 85-87. [周恩华, 张建, 李乃顺. 利用池塘循环流水技术进行不同密度养殖草鱼的对比试验 [J]. *中国水产*, 2019(7): 85-87.]
- [14] Jiang W P, Jia Y Y, Liu S L, *et al.* Comparative analysis of intermuscular bones in hybrid f_1 , f_2 of (*C. alburnus*) ($\varnothing$) $\times$ (*M. amblycephala*) (σ) and its parents [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(2): 277-286. [蒋文枰, 贾永义, 刘士力, 等. 鲢鳙 F_1 、 F_2 及其亲本肌间骨的比较分析 [J]. *水生生物学报*, 2016, **40**(2): 277-286.]
- [15] Li Q, Guo J L, Wang Y C, *et al.* On changes of intestinal microbiota of a new hybrid strain of (female *Culter alburnus*) $\times$ (male *Megalobrama terminalis*) reared in in-pond raceway aquaculture system [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2020, **51**(2): 364-370. [李倩, 郭建林, 王雨辰, 等. 池塘内循环流水养殖下太湖鲢鳙(翘嘴鲌 $\varnothing$) $\times$ 三角鲂 σ)肠道微生物群落变化的研究 [J]. *海洋与湖沼*, 2020, **51**(2): 364-370.]
- [16] Liu J L, Jia Y Y, Liu S L, *et al.* Structure, phylogeny and tissue distribution of GH in *Culter alburnus* $\varnothing$ $\times$ *Megalobrama terminalis* σ [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2020, **51**(6): 1440-1451. [刘加林, 贾永义, 刘士力, 等. 太湖鲢鳙 F_2 代GH基因结构、系统发育和表达特征 [J]. *海洋与湖沼*, 2020, **51**(6): 1440-1451.]
- [17] Jiang J H, Shen B Q, Chen J M, *et al.* Analysis and evaluation of nutritional composition in muscle of hybrid f_1 of

- female *Culter alburnus* × male *Megalobrama terminalis* and its parent fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(2): 388-394. [姜建湖, 沈斌乾, 陈建明, 等. “太湖鲂鲌”及其亲本肌肉营养成分的分析与评价 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(2): 388-394.]
- [18] Chen J M, Huang A X, Tian R P, *et al.* Effects of dietary protein level on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of juvenile hybrid of *Culter alburnus* (♀) × *Megalobrama terminalis* (♂) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(10): 4843-4851. [陈建明, 黄爱霞, 田儒品, 等. 饲料蛋白质水平对太湖鲂鲌幼鱼生长性能、体组成和消化酶活性的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, **31**(10): 4843-4851.]
- [19] Wang Y Y, Ni J J, Nie Z J, *et al.* Effects of stocking density on growth, serum parameters, antioxidant status, liver and intestine histology and gene expression of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) farmed in the in-pond raceway system [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(12): 5228-5240.
- [20] Cao Y, Li E C, Chen L Q, *et al.* Effects of stocking density on growth, physiological and immune responses in juvenile Russian sturgeon [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(5): 968-974. [曹阳, 李二超, 陈立桥, 等. 养殖密度对俄罗斯鲟幼鱼的生长、生理和免疫指标的影响 [J]. *水生生物学报*, 2014, **38**(5): 968-974.]
- [21] Yao Q H, Yan S A, Guo Q X, *et al.* Effects of stocking density on growth performance and parameters of *Pelteobagrus vachelli* juveniles [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, **33**(7): 670-675. [姚清华, 颜孙安, 郭清雄, 等. 养殖密度对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长品质和生化指标的影响 [J]. *福建农业学报*, 2018, **33**(7): 670-675.]
- [22] Ren H, Lan Z Q, Wang Y M, *et al.* Effect of different farming densities to the feeding behavior, growth and survival of sturgeon juvenile [J]. *Fishery Modernization*, 2013, **40**(2): 12-16. [任华, 蓝泽桥, 王一明, 等. 循环水养殖系统中放养密度对杂交鲟仔鱼摄食行为、生长和存活的影响 [J]. *渔业现代化*, 2013, **40**(2): 12-16.]
- [23] Song Z F, Wen H S, Li J F, *et al.* The influence of stocking density on the growth performance of juvenile Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) in flowing water cultivation [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, **38**(6): 835-842. [宋志飞, 温海深, 李吉方, 等. 养殖密度对流水养殖系统中俄罗斯鲟幼鱼生长的影响 [J]. *水产学报*, 2014, **38**(6): 835-842.]
- [24] Hong L, Zhang X M. Effects of environmental stress on physiological function of fish [J]. *Advances in Marine Science*, 2004, **22**(1): 114-121. [洪磊, 张秀梅. 环境胁迫对鱼类生理机能的影响 [J]. *海洋科学进展*, 2004, **22**(1): 114-121.]
- [25] Cheng J J, Li J F, Wen H S, *et al.* Effect of stocking density on growth, muscle composition and blood parameters of hybrid sturgeon juveniles [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, **22**(3): 433-441. [程佳佳, 李吉方, 温海深, 等. 养殖密度对杂交鲟幼鱼生长、肌肉组分和血液生理生化指标的影响 [J]. *中国水产科学*, 2015, **22**(3): 433-441.]
- [26] Fang Z H, Tian X L, Dong S L, *et al.* Analysis of the activity of non-specific immune enzymes of juvenile tongue soles cultured in various salinities [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2014, **44**(5): 46-53. [房子恒, 田相利, 董双林, 等. 不同盐度下半滑舌鲷幼鱼非特异性免疫酶活力分析 [J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2014, **44**(5): 46-53.]
- [27] 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.
- [28] Söderhäll K, Aspán A, Duvic B. The pro-PO-system and associated proteins; role in cellular communication in arthropods [J]. *Research in Immunology*, 1990, **141**(9): 896-907.
- [29] Lu L Z, Wang Y, Mehadi H. Effect of pH variation on survival of *Litopenaeus vannamei* reared in ponds and its physiological mechanisms [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, **44**(7): 1086-1099. [陆羚子, 王岩, Mehadi H. pH水平和昼夜变化对池塘养殖凡纳滨对虾成活率的影响 [J]. *水产学报*, 2020, **44**(7): 1086-1099.]
- [30] Yin F, Sun P, Peng S M, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APTase activities in its gill and kidney [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, **22**(4): 1059-1066. [尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲈幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活力的影响 [J]. *应用生态学报*, 2011, **22**(4): 1059-1066.]
- [31] Sun P, Yin F, Peng S M, *et al.* Effects of salinity on the activity of antioxidant enzymes in livers of juvenile *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Marine Fisheries*, 2010, **32**(2): 154-159. [孙鹏, 尹飞, 彭士明, 等. 盐度对条石鲷幼鱼肝脏抗氧化酶活力的影响 [J]. *海洋渔业*, 2010, **32**(2): 154-159.]
- [32] Bian P J, Qiu C G, Xu S L, *et al.* Effects of salinity on growth, activity of non-specific immune and antioxidant enzymes in obscure puffer *Takifugu obscurus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(1): 108-114. [边平江, 邱成功, 徐善良, 等. 盐度对暗纹东方鲀生长、非特异性免疫和抗氧化酶活力的影响 [J]. *水生生物学报*, 2014, **38**(1): 108-114.]
- [33] Wang Y, Chen C G, Zhang J R, *et al.* Effects of stocking density on growth, feed utilization and intestinal oxidative stress resistance of juvenile *Megalobrama pellegrini* (Tchang, 1930) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, **43**(1): 106-114. [王尧, 陈晨光, 张洁若, 等. 养殖密度对厚颌鲂幼鱼生长、饲料利用及肠道抗氧化应激性能的影响 [J]. *渔业科学进展*, 2022, **43**(1): 106-114.]

- [34] Zheng Y F, Yu M, Liu Y, *et al.* Comparison of cultivable bacterial communities associated with Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae at different health statuses and growth stages [J]. *Aquaculture*, 2016(451): 163-169.
- [35] Qi X Z, Xue M Y, Yang S B, *et al.* Ammonia exposure alters the expression of immune-related and antioxidant enzymes-related genes and the gut microbial community of crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(70): 485-492.
- [36] Shin N R, Whon T W, Bae J W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota [J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, **33**(9): 496-503.
- [37] Wang Y W. Effects of hypoxia and culture density on physiological and biochemical indexes and tissue structure of *Megalobrama amblycephala* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019: 25-26. [王隸纬. 低氧、养殖密度对团头鲂生理生化指标和组织结构的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2019: 25-26.]
- [38] Zhang M L, Shan C J, Du Z Y. Research advances on probiotics and fish gut health [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, **45**(1): 147-157. [张美玲, 单承杰, 杜震宇. 益生菌与鱼类肠道健康研究进展 [J]. 水产学报, 2021, **45**(1): 147-157.]

STOCKING DENSITIES ON GROWTH, ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES AND INTESTINAL MICROBIOTA OF HYBRID OF *CULTER ALBURNUS* (♀)×*MEGALOBrama TERMINALIS* (♂) IN IPRA SYSTEM

LI Qian, SUN Li-Hui, JIANG Jian-Hu, CHEN Jian-Ming, GUO Jian-Lin, GAO Ling-Mei and ZHANG Hai-Qi

(Agriculture Ministry Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the appropriate stocking density of a new hybrid strain of (♀*Culter alburnus*) × (♂*Megalobrama terminalis*) [initial body weight of (5.58±0.45) g] for in-pond raceway aquaculture (IPRA) system. The new hybrid strains were farmed in three stocking densities of 0.5 (SD1), 1.0 (SD2) and 1.5 kg/m³ (SD3). The growth and antioxidant enzyme activities were analyzed on 90, 120, 150 and 180 days while the intestinal microbiota composition was analysed when the experiment finished. Growth results showed that the body weight and specific growth rate (SGR) decreased significantly when stocking density was above 1.0 kg/m³ on 120 days ($P<0.05$). In the day of 150—180, indices of SGR and body weight decreased significantly with the increasing of rearing density ($P<0.05$). Antioxidant enzyme activities in serum increased with the increasing of stocking density on 90 days, and fish farmed at SD3 had significantly higher antioxidant enzyme activities than group of SD1 ($P<0.05$). In contrast, antioxidant enzyme activities in serum decreased with the increasing of stocking density in the day of 150—180, and the activities of catalase (CAT) and total antioxidant capacity (T-AOC) were significant lower in the group of SD3 than group of SD1 ($P<0.05$). Antioxidant enzyme activities in liver increased with increasing stocking density in the day of 150—180, and values of GSH-Px decreased significantly with the increasing of stocking density ($P<0.05$). MDA level decreased with increasing stocking density before the day of 120, whereas fish farmed at SD2 and SD3 groups had significant higher MDA values than the SD1 group on 180 days. The intestinal microbiota results demonstrated that microbiota community changed in genus level obviously, and the relative abundances of pathogenic genus such as *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* increased while Shannon diversity indices decreased significantly in group of SD3 ($P<0.05$). In conclusion, when culturing days below 120, the stocking density of SD2 had no great effect on the growth and antioxidant capacity, and the suitable stocking density is suggested below 1.0 kg/m³. When culturing time extends to 150 days, the stocking density of SD1 would inhibit growth and increase the relative abundances of pathogenic genus and decrease the Shannon diversity index of intestine microbiota, therefore 0.5 kg/m³ is suggested as an appropriate density.

Key words: In-pond raceway aquaculture (IPRA); Stocking density; Growth; Antioxidant enzyme; Intestinal microbiota; Hybrid of *Culter alburnus* (♀) × *Megalobrama terminalis* (♂)