



养殖密度对西伯利亚杂交鲟幼鱼生长、抗氧化酶活性和相关基因表达的影响

赵大显¹, 程超¹, 肖敏², 朱敏杰¹, 李琳洁¹,
梅峰¹, 查云飞³, 简少卿^{1*}

(1. 南昌大学生命科学学院, 江西省水产动物资源与利用重点实验室, 江西 南昌 330031;

2. 吉安市井冈山农业科技园, 江西 吉安 343000;

3. 井冈山沐云特种动物养殖有限公司, 江西 吉安 343000)

摘要: 为了研究流水养殖系统中养殖密度对井冈山地区西伯利亚杂交鲟 [西伯利亚鲟(♀)×施氏鲟(♂)] 幼鱼生长性能的影响, 本研究以初始体质量为 (7.89±0.45) g 的西伯利亚杂交鲟幼鱼为对象, 设置了低密度组 (1.16 kg/m³)、中密度组 (1.74 kg/m³) 和高密度组 (2.32 kg/m³) 三个密度组进行为期 90 d 的养殖生产实验, 通过比较分析不同密度组西伯利亚杂交鲟生长指标、体成分含量、抗氧化酶活性和相关基因表达水平, 发现低密度组幼鱼终末体质量、增重率及特定生长率显著高于中密度组和高密度组, 各密度组实验鱼的存活率无显著差异。水分和灰分含量随着养殖密度的增加而增加, 且存在显著差异, 粗脂肪和粗蛋白未出现显著差异。肝脏超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽硫转移酶 (GSH-ST) 的活性在实验末期低、中密度组显著高于高密度组, 随着养殖密度的增加, 幼鱼肝脏丙二醛 (MDA) 含量不断增加, 过氧化氢酶 (CAT) 活性降低, MDA 和 CAT 在实验期间未出现明显的差异。高密度组与生长相关的生长激素受体基因 (*GHR*)、胰岛素样生长因子-1 基因 (*IGF-1*)、胰岛素样生长因子-2 基因 (*IGF-2*) 表达水平显著降低。高密度组与应激相关的热休克蛋白 70 基因 (*HSP70*) 表达水平在 45 d 出现差异, 90 d 后高密度组显著高于低密度组; 低密度组热休克蛋白 90 基因 (*HSP90*) 表达水平在 30 d 时显著低于中、高密度组, 实验末期, 3 个密度组间均存在显著差异。研究表明, 本实验中、低密度条件下西伯利亚杂交鲟幼鱼表现出良好的生长性能, 建议将井冈山地区西伯利亚杂交鲟幼鱼养殖密度控制在 1.16~1.74 kg/m³。

关键词: 西伯利亚杂交鲟; 养殖密度; 生长; 抗氧化酶; 基因表达; 井冈山

中图分类号: S 965.1

文献标志码: A

以西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) 为母本, 施氏鲟 (*A. schrenckii*) 为父本培育出的西伯利亚杂交鲟 (以下简称杂交鲟) 具有耐低氧、生长速率快、抗病能力强的特点, 是目前国内养殖最广泛的鲟类^[1]。但随着集约化人工养殖的发展, 在生产上

也面临着生长减缓、品质恶化、病害频发等问题, 迫切需要进行健康养殖技术研究。

养殖密度作为健康养殖的一个重要因子, 是影响鱼类生长的关键因素, 特别是在以提高生产力为目标的高密度工厂化养殖模式中。已有研究

收稿日期: 2021-05-11 修回日期: 2021-11-05

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0901704); 江西省现代农业产业技术体系专项 (JXARS-03)

第一作者: 赵大显 (照片), 从事水产动物健康养殖与生物技术研究, E-mail: zhaodaxian@ncu.edu.cn

通信作者: 简少卿, 从事水产动物增养殖研究, E-mail: jianshaoqing@ncu.edu.cn



表明, 过高的养殖密度会降低某些鱼类的福利, 在高养殖密度下大西洋鲟 (*A. oxyrinchus*) 生长受到抑制^[2]。高密度养殖对西伯利亚鲟幼鱼的生长和肌肉发育也有显著的影响^[3-4]。不适当的养殖密度会导致鱼类频繁互动、水质恶化, 从而影响到鱼类的生长速率、降低免疫力以及存活率^[5-6]。因此, 在鲟类养殖中, 养殖密度被证明是一种慢性应激源^[7], 探讨适宜的养殖密度对鲟类的健康养殖至关重要。

本研究通过设置不同的养殖密度, 比较分析室外流水池塘养殖模式下杂交鲟幼鱼生长指标、体成分、抗氧化酶活性及生长和应激相关基因表达的变化规律, 以期获得生产上适宜的养殖密度, 为杂交鲟健康养殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用杂交鲟全部为人工培育, 选自同一批次、规格一致、健康无损的幼鱼, 其初始体质量为 (7.89 ± 0.45) g, 初始体长为 (10.41 ± 0.71) cm。随机分配到 9 个相同地点养殖池中, 水泥养殖池为长方形, 长宽高分别为 $7 \text{ m} \times 4 \text{ m} \times 1 \text{ m}$ 。本实验设计了 3 个密度, 即低密度 (1.16 kg/m^3)、中密度 (1.74 kg/m^3)、高密度 (2.32 kg/m^3), 每个密度有 3 个平行组。按照实验设计, 低密度每池投放约为 1 650 尾, 中密度每池投放约为 2 475 尾, 高密度每池投放约为 3 300 尾, 养殖实验为期 90 d。

1.2 养殖设施

本研究在井冈山市沐云特种动物养殖公司的养殖基地进行。实验池为 9 个长方形室外水泥池, 单个塘占地面积为 28 m^2 , 水深维持在 40 cm, 由进水口、鱼池、出水口组成, 每个进水口均为同一侧流向, 且 3 个部位之间都有约 30 cm 的高度差。养殖用水源自经过滤后的山泉水, 水体清澈无污染, 符合《中华人民共和国渔业水质标准》(GB 11 607—89)。

1.3 饲养管理

实验期间采用饱食投喂法投喂饲料, 每天每隔 6 h 投喂鲟类配合饲料(粗蛋白含量 $\geq 45\%$, 粗脂肪含量 $\geq 5\%$)。养殖期间, 水流流量为 $100 \text{ cm}^3/\text{s}$, 水温为 $14.5 \sim 18.2 \text{ }^\circ\text{C}$, 溶解氧含量大于 4 mg/L , pH 值为 $7.16 \sim 7.65$, 氨氮为 $0.058 \sim 0.107 \text{ mg/L}$, 亚硝酸盐为 $0.05 \sim 0.10 \text{ mg/L}$ 。

1.4 样本采集

在养殖实验的第 15、30、45、60、75 和 90 天采集样本, 从每个养殖池中随机捞取 20 尾鱼, 立即用 MS-222 (100 mg/L) 麻醉, 准确测量其湿重和体长, 随机选取 10 尾鱼进行解剖, 取肝脏组织于液氮冷冻, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用, 剩余 10 尾鱼置于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 下保存, 用于测定营养成分指标。

1.5 生长参数的测定

实验鱼的初末体质量 (g)、初末体长 (cm) 的测量及增重率 (WG, %)、特定增长率 (SGR, %/d)、肥满度 (CF, g/cm^3)、存活率 (SR, %)、肝体指数 (HIS, %) 等的计算参考倪金金等^[8]的方法。

1.6 体成分分析

水分的测定采用 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温烘干失重法 (GB 5009.3—2016), 根据烘干前后质量的变化计算水分的含量; 灰分的测定采用马弗炉 $550 \text{ }^\circ\text{C}$ 灼烧恒重法 (GB 5009.4—2016); 粗脂肪含量的测定采用索式抽提法 (GB 5009.6—2016); 粗蛋白含量的测定采用凯氏定氮法 (GB 5009.5—2016)。

1.7 抗氧化指标的测定

将肝脏样品按照重量 (g): 体积 (mL) = 1 : 1 的比例加入 9 倍体积的生理盐水, 调整匀浆, 然后离心 ($4 \text{ }^\circ\text{C}$, $3\ 000 \text{ r/min}$, 10 min) 收集上清液用于酶活性的测定。超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽硫转移酶 (GSH-ST) 活性, 丙二醛 (MDA) 及蛋白质含量均使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定, 具体测定步骤参照试剂盒说明书。

1.8 基因表达水平的测定

参考施培松^[9]的方法提取肝脏总 RNA, 将其反转录成 cDNA。根据 NCBI 已知 *GHR*、*IGF-1*、*IGF-2*、*HSP70*、*HSP90* 序列 (GenBank 数据库登录号 JX003685.1、FJ428828.1、KC484697.1、KU133366.1、JX477807.1) 使用 Premier 5.0 软件设计引物, 由生工生物工程上海股份有限公司合成 (表 1)。

实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 反应体系 ($25 \mu\text{L}$): cDNA 模板 (10 倍稀释) $2 \mu\text{L}$, 预混料 TB Green Premix E \times Taq II $12.5 \mu\text{L}$, 引物 ($10 \mu\text{mol/L}$) 各 $1 \mu\text{L}$, ddH₂O $8.5 \mu\text{L}$ 。反应程序: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s , 39 个循环: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s , $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s , $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 1 min , 熔解的反应条件为 $65 \sim 95 \text{ }^\circ\text{C}$, 读板 30 s 记录荧光

量。所有 qRT-PCR 进行 3 次重复, 以 β -actin 为内参基因对得到的各样本的 C_t 值做均一化处理^[10-11], 使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法^[12] 进行相关基因定量。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

引物 primer	引物序列(5'-3') primer sequence	产物长度/bp length of products	退火温度/°C annealing temperature
GHR-F	CGAGCACGCTACCAG TCTGTTTA	125	60
GHR-R	AACAGGGTTTCTTTG GTAGGCA		
IGF-1-F	TGACCTGAGGCGATT GGAGA	102	60
IGF-1-R	TTTTGTGCTTTTCGGCA TATCG		
IGF-2-F	CCATCGCCCTGACAG TCTACAT	134	60
IGF-2-R	TGGTGGCCTGCTGAA ATAAAA		
HSP70-F	GTGGTGAGTGAAGCA GGGAAA	157	60
HSP70-R	CAGTGATGACGGCGT TGGA		
HSP90-F	TGACCAATGACTGGG AGGACC	79	60
HSP90-R	AAAAGCAGGGCACGG AACT		
β -actin-F	TTGCCATCCAGGCTG TGCT	216	60
β -actin-R	TCTCGGCTGTGGTGG TGAA		

1.9 数据分析

采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA), 对差异显著的数据 ($P < 0.05$) 作最小显著极差法 (LSD) 和 Duncan 氏多重比较。实验数据以平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示。

2 结果

2.1 养殖密度对杂交鲟幼鱼生长指标的影响

不同养殖密度组杂交鲟幼鱼的生长指标中,

终末体质量、增重率和特定生长率出现显著差异 ($P < 0.05$), 且随着养殖密度的增加而降低; 终末体长无显著差异, 但不同密度组之间存活率随着养殖密度的增加而增加。实验结束后, 低密度组存活率为 95.06%、中密度组为 95.79%、高密度组为 96.72% (表 2)。

不同养殖密度杂交鲟幼鱼的体质量随养殖周期的延长呈上升趋势 (图 1)。养殖 30 d 时, 低密度组与中、高密度组杂交鲟幼鱼的体质量和体长开始出现显著差异 ($P < 0.05$), 随着实验的进行, 各组间鱼体质量和体长差异逐渐增大, 中、高养殖密度组之间直到实验结束时无显著差异。

2.2 养殖密度对杂交鲟幼鱼体成分和形体指数的影响

高密度组鲟的水分显著高于低密度组 ($P < 0.05$), 中、高密度组鲟的灰分显著高于低密度组 ($P < 0.05$), 粗蛋白和粗脂肪在不同密度组之间未出现显著差异, 肥满度和肝体比在实验最后阶段无显著差异 ($P > 0.05$) (表 3)。

2.3 养殖密度对杂交鲟幼鱼抗氧化酶活性的影响

3 个密度组中, 杂交鲟幼鱼肝脏 SOD 和 GST-ST 活性随着时间延长先上升后下降, MDA 含量随着时间延长不断上升 (图 2)。15、30、45 和 60 d 时 SOD、CAT、GSH-ST、MDA 均未出现显著差异 ($P > 0.05$)。75 d 时, 中密度组 SOD 活性显著低于低、高密度组 ($P < 0.05$)。90 d 时, 高密度组 SOD 和 GSH-ST 活性显著低于低、中密度组。CAT 活性和 MDA 含量在养殖期间未出现显著差异。

2.4 养殖密度对杂交鲟幼鱼肝脏生长相关基因的表达分析

15 d 时, 低、中密度组的 GHR 基因相对表达量显著高于高密度组 ($P < 0.05$), 3 个密度组 IGF-1 和 IGF-2 基因相对表达量没有显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 不同养殖密度组杂交鲟幼鱼的生长参数

组别 groups	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	初始体长/cm initial body length	终末体长/cm final body length	增重率/% WG	特定生长率/% SGR	存活率/% SR
低密度 low density	7.44 \pm 1.47	39.54 \pm 2.75 ^a	10.45 \pm 0.71	18.80 \pm 1.05 ^a	345.92 \pm 38.67 ^a	1.85 \pm 0.76 ^a	95.06 \pm 0.84
中密度 medium density	7.44 \pm 1.47	33.80 \pm 0.77 ^b	10.45 \pm 0.71	17.84 \pm 0.95 ^b	274.67 \pm 10.59 ^b	1.68 \pm 0.25 ^b	95.79 \pm 2.02
高密度 high density	7.44 \pm 1.47	33.05 \pm 1.46 ^b	10.45 \pm 0.71	17.81 \pm 1.06 ^b	232.12 \pm 3.55 ^b	1.66 \pm 0.50 ^b	96.72 \pm 0.65

注: 表格中同列肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Notes: in the same column, values with different lowercase letters superscripts mean significant differences ($P < 0.05$), the same below

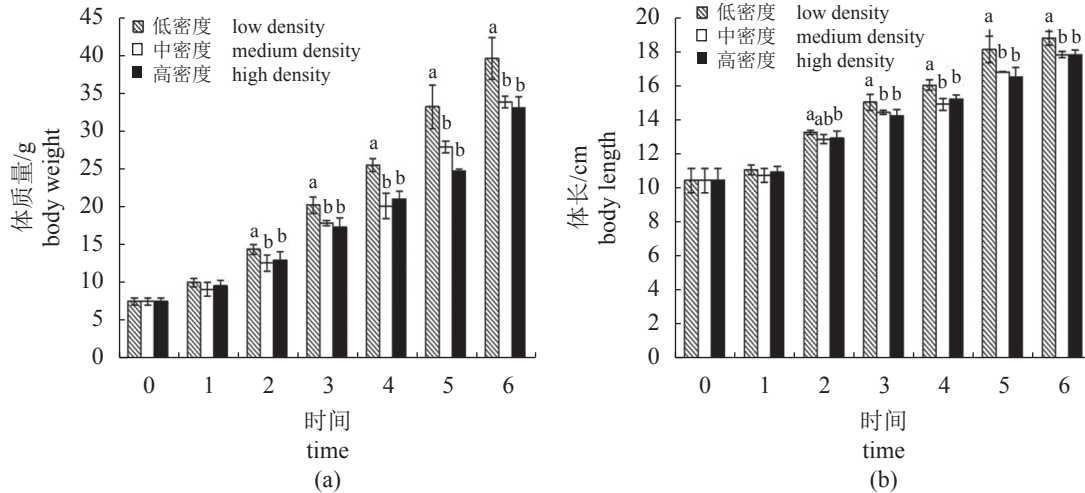


图 1 不同养殖密度组杂交鲟幼鱼的体质量 (a) 和体长 (b) 的变化

不同小写字母表示同一时间不同密度组差异显著 ($P < 0.05$)。0. 0 d, 1. 15 d, 2. 30 d, 3. 45 d, 4. 60 d, 5. 75 d, 6. 90 d, 下同

Fig. 1 Changes in body weight (a) and body length (b) of juvenile *A. baerii* (♀) × *A. schrenckii* (♂) in each culture density group during culture

Different lowercase letters indicate significant difference between different densities at the same time ($P < 0.05$). 0. 0 d, 1. 15 d, 2. 30 d, 3. 45 d, 4. 60 d, 5. 75 d, 6. 90 d, the same below

表 3 养殖密度对杂交鲟幼鱼体成分和形体指数的影响

Tab. 3 Effects of culture density on body composition and body indexes of juvenile *A. baerii* (♀) × *A. schrenckii* (♂)

组别 groups	水分/% moisture	灰分/% ash	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	肥满度/(g/cm ³) CF	肝体指数/% HSI
低密度 low density	69.14±2.74 ^b	1.19±0.20 ^b	22.13±1.10	10.53±4.96	0.587±0.006	4.06±0.56
中密度 medium density	70.01±0.58 ^{ab}	1.66±0.08 ^a	23.79±0.90	10.83±3.28	0.593±0.004	3.84±0.48
高密度 high density	73.39±2.17 ^a	1.76±0.15 ^a	21.31±1.52	8.72±1.33	0.576±0.024	3.85±0.90

30 d 时, 低、中密度组的 *IGF-2* 基因相对表达量显著高于高密度组 ($P < 0.05$)。45 d 时, 低、中密度组的 *GHR* 基因表达量显著高于高密度组 ($P < 0.05$); 低密度组 *IGF-1* 基因表达量显著高于中、高密度组 ($P < 0.05$), 低密度组 *IGF-2* 基因表达量显著高于高密度组 ($P < 0.05$), 而与中密度组无显著差异 ($P > 0.05$)。60 d 时, *GHR* 基因表达量在三组之间均出现显著差异 ($P < 0.05$)。75 d 时, 低密度组 *GHR*、*IGF-1* 和 *IGF-2* 基因表达量显著高于中、高密度组 ($P < 0.05$)。90 d 时, 低密度组的 *GHR*、*IGF-2* 基因表达量显著高于中、高密度组 ($P < 0.05$), *IGF-1* 基因三组之间均差异显著 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.5 养殖密度对杂交鲟幼鱼应激相关基因的表达分析

15 d 时, 低密度组 *HSP70* 基因表达量显著低于中、高密度组 ($P < 0.05$), 不同密度组 *HSP90* 基因未出现显著差异 ($P > 0.05$)。30 d 时, 低密度组 *HSP90*

基因表达量显著低于中、高密度组 ($P < 0.05$)。45 d 时, 低密度组 *HSP70* 基因表达量显著低于中密度组 ($P < 0.05$), 低密度组 *HSP90* 基因表达量显著低于中、高密度组 ($P < 0.05$)。60 d 之后, 低密度组 *HSP70* 和 *HSP90* 基因表达量显著低于高密度组 ($P < 0.05$), 且 60 和 90 d 时三组间 *HSP90* 基因相对表达量差异显著 ($P < 0.05$) (图 4)。

3 讨论

3.1 养殖密度对杂交鲟幼鱼生长性能的影响

在集约化的水产养殖中, 养殖密度被认为是决定鱼类存活和健康的最重要因素之一^[4, 13]。本研究发现, 杂交鲟幼鱼的体质量、增重率和特定增长率都随着养殖密度的增加而显著降低, 这与美洲红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*)、施氏鲟稚鱼、大杂交鲟 [达氏鲤 (*Huso dauricus*) (♀) × 施氏鲟 (♂)] 中的研究结果一致^[14-16]。本研究还发现, 在养殖

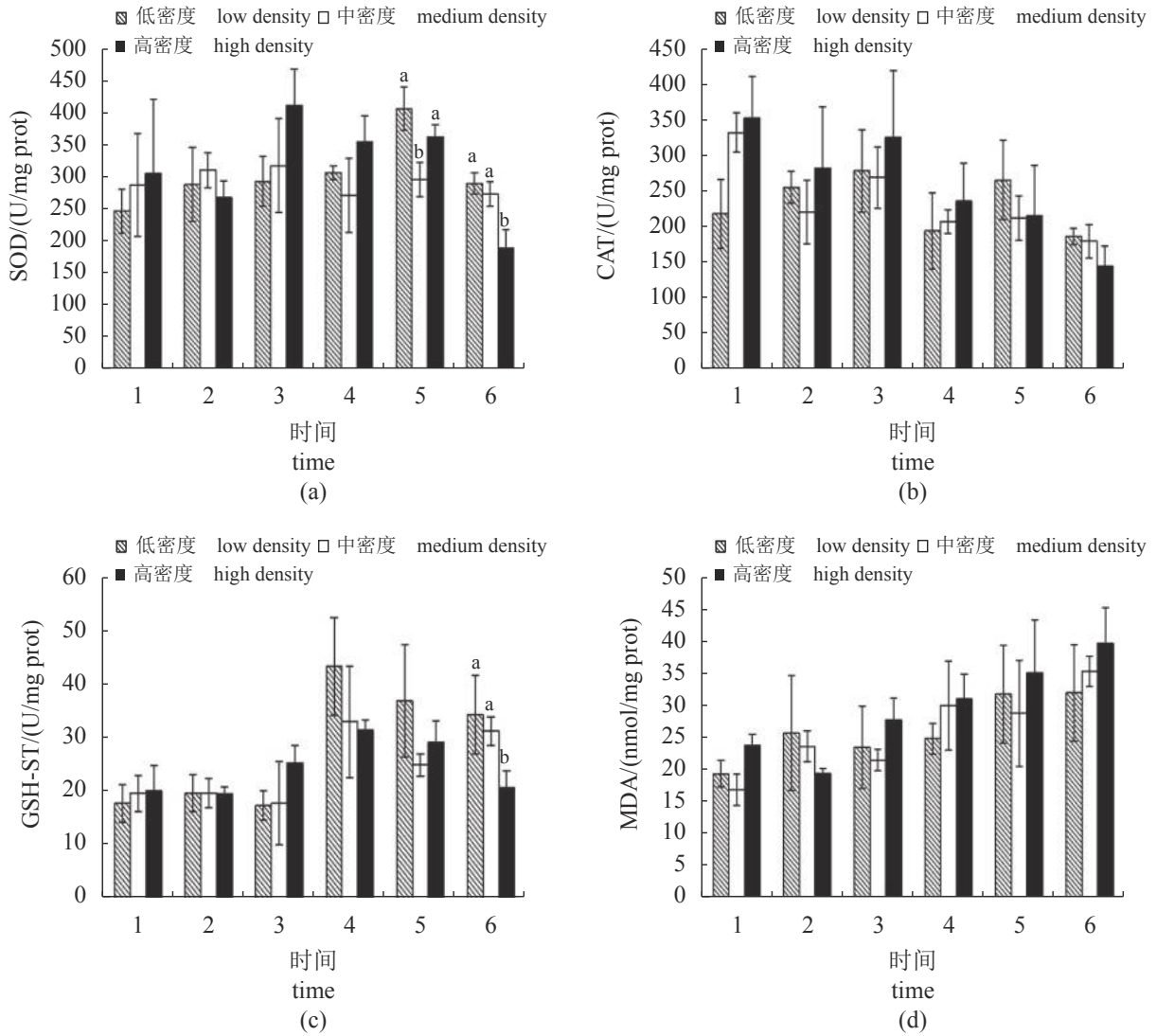


图 2 养殖密度对杂交鲟幼鱼 SOD (a)、CAT (b)、GSH-ST (c) 和 MDA (d) 的影响

1. 15 d, 2. 30 d, 3. 45 d, 4. 60 d, 5. 75 d, 6. 90 d, 下同

Fig. 2 Effects of culture density on SOD (a), CAT (b), GSH-ST (c) and MDA (d) of juvenile *A. baerii* (♀) x *A. schrenckii* (♂)

1. 15 d, 2. 30 d, 3. 45 d, 4. 60 d, 5. 75 d, 6. 90 d, the same below

30 d 内，不同密度组杂交鲟幼鱼的体质量并没有出现显著差异，但在 30 d 后，低密度组幼鱼体质量显著高于中、高密度组，且持续到实验结束。因此推断，养殖初期 (0~30 d) 的密度对幼鱼的生长不会产生显著影响，但随着时间的延长，高密度养殖对杂交鲟幼鱼的生长有着负面影响。有研究表明，养殖密度对存活率存在负面影响，在对大杂交鲟、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、巴塔野鲮 (*Labeo bata*) 等养殖密度实验中发现，高密度养殖下的死亡率高于其他养殖密度^[14, 17-18]，但是对非洲鲷 (*Rhamdia quelen*) 和金鱼 (*Carassius auratus*) 的养殖密度实验中发现，养殖密度与存活率之间没有相关性^[19-20]。本实验中存活率随着养

殖密度的增加而增加，但未出现显著差异，这与张奇^[21] 在大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 的养殖密度实验中结果一致，因此推断，养殖密度对杂交鲟幼鱼的存活率没有显著影响。

3.2 养殖密度对杂交鲟幼鱼体组分的影响

鱼类体组分比例是评价其营养价值的重要指标。养殖密度对鱼类体组分的影响机制较为复杂，已有研究表明，高密度养殖对鱼类的生化组成产生影响^[22]。本研究也发现，养殖密度对杂交鲟幼鱼体内水分和灰分含量存在显著影响，且随着养殖密度的增加而增加，这与步艳等^[23] 在养殖密度

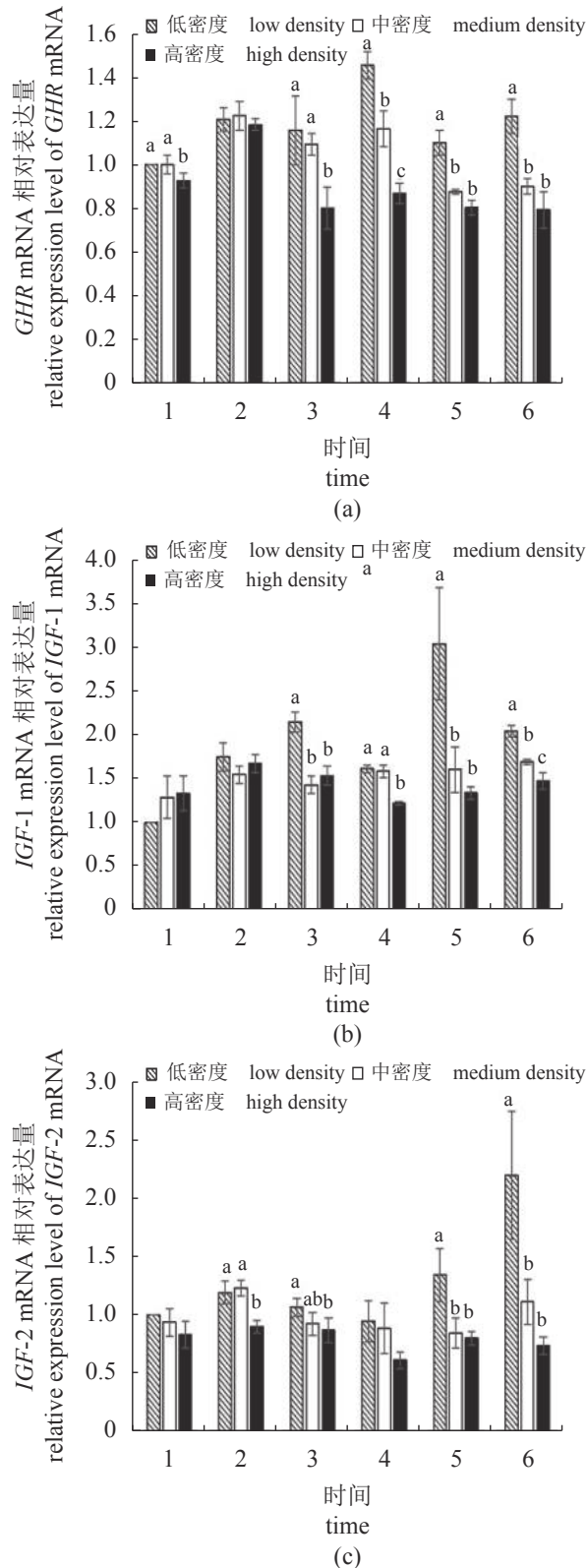


图3 养殖密度对杂交鲟幼鱼肝脏 GHR (a)、IGF-1 (b) 和 IGF-2 (c) 表达的影响

Fig. 3 Effects of culture density on expression of GHR (a), IGF-1 (b) and IGF-2 (c) in liver of juvenile *A. baerii* (♀) × *A. schrenckii* (♂)

对大杂交鲟幼鱼养殖实验的结果一致。放养密度对非洲鲟体内蛋白质含量的影响无显著差异, 而体内灰分随着养殖密度增加而增加^[19]。本研究也发现类似规律, 高密度养殖组的杂交鲟幼鱼粗脂肪和粗蛋白均低于低、中密度组, 分析原因可能由于高密度组幼鱼受到的慢性胁迫最严重, 机体需要更多的能量抵御高强度的胁迫, 血液中的糖分不足以满足需求, 因此蛋白质和脂质被大量消耗, 通过糖异生作用增加血液中的糖分, 有机质的大量消耗导致水分和灰分相应增加。

肥满度 (CF) 可以反映鱼体能量储存状态和体型肥瘦程度^[24]。本实验中不同养殖密度组杂交鲟幼鱼肥满度无显著差异, 这与大杂交鲟、哲罗鱼 (*Hucho taimen*) 稚鱼和细鳞鱼 (*Brachymystax lenok*) 稚鱼中的研究结果类似^[25-27]。但在大西洋鲑 (*Salmo salar*) 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 研究中的结果不同, 肥满度随着密度升高而显著降低^[28-29], 这可能与鱼的种类、年龄、生理状态等因素有关。

3.3 养殖密度对杂交鲟幼鱼抗氧化酶活性的影响

氧化应激在集约化水产养殖中是一个无法避免的问题, 当鱼体受到刺激时抗氧化系统失去平衡, 导致鱼体代谢出现紊乱, 最终造成鱼类的抗逆能力减弱、生长放缓和品质下降^[30]。由高养殖密度引起的应激可以促进活性氧 (ROS) 在细胞体内形成^[31], 过量的 ROS 会对鱼体内细胞、组织甚至其他活性物质造成损害^[32]。生物具有保护系统, 如酶的抗氧化防御 (SOD、CAT、GPx、GSH-ST), 它们主要负责避免或修复组织损伤^[33]。本实验后期, 高密度组肝脏中 SOD 和 GSH-ST 的活性显著低于其他两个密度组, 这种抑制在一定程度上体现对养殖密度持续胁迫的反应, 反映此时杂交鲟幼鱼体内抗氧化系统清除活性氧的能力不足, 最终导致氧化损伤。宋志飞^[34]在对俄罗斯鲟 (*A. gueldenstaedti*) 幼鱼的养殖密度实验中也发现, 高密度组 SOD 活性显著低于低、中密度组。Long 等^[35]在对中华鲟 (*A. sinensis*) 的养殖实验中也发现类似结果。CAT 活性在实验期间均未出现显著差异, 这与在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 和吉富罗非鱼 (GIFT *O. niloticus*) 的养殖密度实验中的结果一致^[36-37]。但在大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 的养殖密度实验中, 发现不同养殖密度之间鱼类 CAT 活性存在显著差异^[38]。MDA 是脂质过氧化后的分

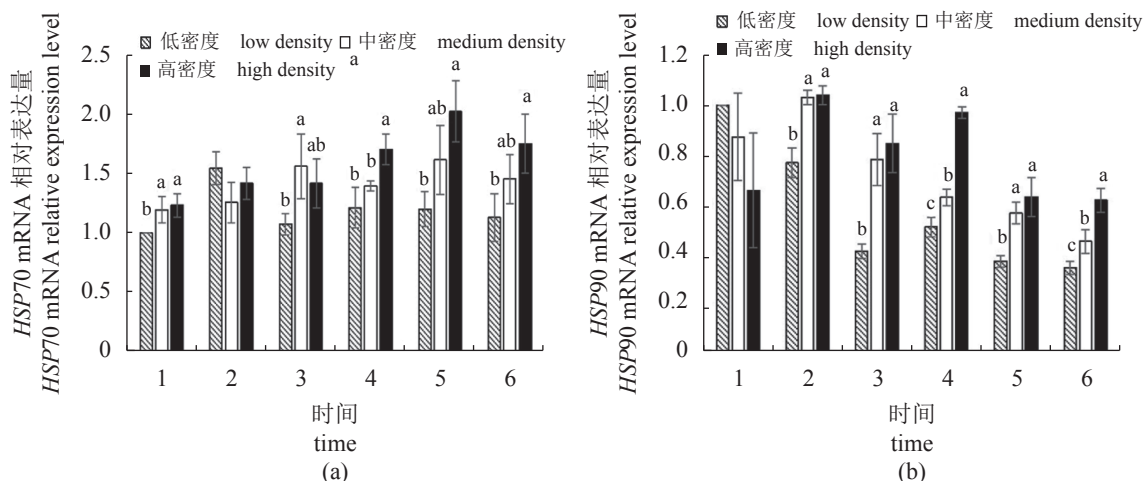


图4 养殖密度对杂交鲟幼鱼肝脏 HSP70 (a) 和 HSP90 (b) 表达的影响

Fig. 4 Effects of culture density on HSP70 (a) and HSP90 (b) expression in liver of juvenile *A. baerii* (♀) × *A. schrenckii* (♂)

解产物,被认为是细胞氧化损伤和肝胰脏损伤程度的重要标志之一,养殖密度过高诱发产生的自由基会直接攻击膜中的多不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化反应^[39]。本研究中,不同养殖密度组幼鲟 MDA 含量未出现显著差异,这一研究结果与大菱鲂和非洲鲂的结果一致^[38]。结果显示,高养殖密度不会诱导杂交鲟发生脂质过氧化反应。但是在对大口黑鲈、褐牙鲂 (*Paralichthys olivaceus*)、中华鲟和俄罗斯鲟的研究中发现,MDA 含量随着密度的增加而增加^[40-41],这可能是由于不同鱼类具有不同的抗氧化能力和调节机制。

3.4 养殖密度对杂交鲟幼鱼肝脏生长相关基因表达的影响

生长激素/胰岛素样生长因子 (GH/IGF) 轴参与调节很多促进鱼类生长的过程,该轴主要成员为 GH、GHR、IGF-1 和 IGF-2。在鱼类中,生长激素与体细胞的生长发育过程密切相关。生长激素的生物学作用是由跨膜生长激素受体 (GHR) 介导的^[42]。本研究发现,在 15 d 时,高密度组 GHR 基因表达水平显著低于低、中密度组,这可能是实验早期 GH 首先受到高密度胁迫的影响,GHR 介导 GH 的跨膜运输也相应地发生了变化。实验后期,中、高密度组鱼体肝脏 GHR 基因表达水平显著降低,反映了慢性应激使 GHR 基因表达量下降。在鱼类中,IGFs 作为介质帮助生长激素促进生长,调节各种生物过程,如细胞增殖和分化、蛋白质合成等^[43]。本研究发现,在实验 45 d 时,中、高密度组 IGF-1 基因表达水平显著下降,中、

高密度组的 IGF-2 基因表达量在 90 d 时显著低于低密度组,这与 Ren 等^[44]对施氏鲟的研究结果一致。推断肝脏 GHR 基因表达水平的降低可能会导致 IGF-1 和 IGF-2 基因产生的减少,从而影响生长。但也有研究呈现相反的结果,厚唇鲮 (*Chelon labrosus*) 肝脏 IGF-1 基因表达在高密度组显著增加^[45]。因此,关于 GH/IGF 轴对杂交鲟生长的调控机制有待进一步研究。

3.5 养殖密度对杂交鲟幼鱼应激相关基因表达的影响

HSP70 和 HSP90 是鱼类中研究最广泛的热休克蛋白,它们参与各种应激反应。HSP70 具有免疫保护和抗氧化应激等作用,是拥挤应激的生物标志物^[46]。本研究中,中、高密度组的 HSP70 和 HSP90 基因表达水平显著高于低密度组,这与虹鳟和大菱鲂的实验结果类似^[38,47]。说明高养殖密度对幼鱼产生了拥挤应激,诱导 HSP70 和 HSP90 基因表达。HSP70 和 HSP90 基因表达水平上升是鱼类的一种自适应机制,是鱼类面对不良应激的积极防御反应。

4 结论

综上所述,根据本实验结果,结合井冈山地区西伯利亚杂交鲟幼鱼的生产实际,建议初始体质量为 (7.89±0.45) g 的杂交鲟幼鱼最适养殖密度控制在低、中密度之间,即 1.16~1.74 kg/m³。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 齐茜, 刘浩浩, 李忠华, 等. 施氏鲟、西伯利亚鲟及其杂交后代的繁殖性能、生长性能及抗病性能比较[J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(2): 376-383.
- Qi Q, Liu H H, Li Z H, *et al.* Comparison of reproductive performance, growth performance and disease resistance performance among *Acipenser schrenckii*, *Acipenser baeri* and their hybrid offsprings[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2017, 39(2): 376-383 (in Chinese).
- [2] Jodun W A, Millard M J, Mohler J. The effect of rearing density on growth, survival, and feed conversion of juvenile Atlantic sturgeon[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2002, 64(1): 10-15.
- [3] Aidos L, Vasconi M, Abbate F, *et al.* Effects of stocking density on reared Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larval growth, muscle development and fatty acids composition in a recirculating aquaculture system[J]. *Aquaculture Research*, 2019, 50(2): 588-598.
- [4] Wunderink Y S, Engels S, Halm S, *et al.* Chronic and acute stress responses in Senegalese sole (*Solea senegalensis*): the involvement of cortisol, CRH and CRH-BP[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 171(2): 203-210.
- [5] Ellis T, North B, Scott A P, *et al.* The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout[J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, 61(3): 493-531.
- [6] Fairchild E A, Howell W H. Optimal stocking density for juvenile winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2001, 32(3): 300-308.
- [7] Wuertz S, Lutz I, Gessner J, *et al.* The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*)[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2006, 22(S1): 269-273.
- [8] 倪金金, 王裕玉, 徐钢春, 等. 养殖密度对池塘循环水养殖大口黑鲈生长、生理指标和GH、IGF-I基因表达的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2020, 35(6): 805-813.
- Ni J J, Wang Y Y, Xu G C, *et al.* Effects of stocking density on growth, physiological indices and expression of GH and IGF-I genes of largemouth bass *Micropterus salmoides* in in-pond raceway culture systems[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2020, 35(6): 805-813 (in Chinese).
- [9] 施培松. 匙吻鲟和鳙的生长、肌肉品质比较及FAS基因克隆与表达[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- Shi P S. Cloning and expression of fatty acid synthase gene and comparison on growth, muscle quality of *Polyodon spathula* and *Aristichthys nobilis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [10] 施志仪, 程千千, 宋佳坤. 西伯利亚鲟 β -actin基因cDNA全长克隆、序列分析及其作为内参基因的应用研究[J]. *中国水产科学*, 2010, 17(6): 1173-1182.
- Shi Z Y, Cheng Q Q, Song J K. Cloning and sequence analysis of Siberian sturgeon full-length β -actin gene cDNA and application of genes as a internal reference[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(6): 1173-1182 (in Chinese).
- [11] 武梦斌, 叶欢, 岳华梅, 等. 达氏鲟实时荧光定量PCR内参基因的筛选[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(7): 759-770.
- Wu M B, Ye H, Yue H M, *et al.* Identification of reference genes for qRT-PCR in Dabry's sturgeon, *Acipenser dabryanus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(7): 759-770 (in Chinese).
- [12] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] Ni M, Wen H S, Li J F, *et al.* The physiological performance and immune responses of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) to stocking density and hypoxia stress[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 36(2): 325-335.
- [14] 步艳, 李吉方, 温海深, 等. 放养密度对流水池塘养殖大杂交鲟生长及摄食的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2013(4): 43-48.
- Bu Y, Li J F, Wen H S, *et al.* Effect of stocking density on growth and feeding of hybrid sturgeon[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2013(4): 43-48 (in Chinese).
- [15] Wafa A H, Pierre D, Daniel B. Modelling growth and food intake rhythms of brook trout *Salvelinus fontinalis* under the effects of density and ration[J]. *Ecological Modelling*, 2004, 175(4): 385-394.
- [16] 庄平, 李大鹏, 王明学, 等. 养殖密度对史氏鲟稚鱼生长的影响[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(6): 735-738.
- Zhuang P, Li D P, Wang M X, *et al.* Effect of stocking density on growth of juvenile *Acipenser schrenckii*[J].

- Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, 13(6): 735-738 (in Chinese).
- [17] Garcia F, Romera D M, Gozi K S, *et al.* Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir[J]. *Aquaculture*, 2013, 410-411: 51-56.
- [18] Karnatak G, Das B K, Puthiyottil M, *et al.* Impact of stocking density on growth, feed utilization and survival of cage reared minor carp, *Labeo bata* (Hamilton, 1822) in Maithon reservoir, India[J]. *Aquaculture*, 2020, 532: 736078.
- [19] Oké V, Goosen N J. The effect of stocking density on profitability of African catfish (*Clarias gariepinus*) culture in extensive pond systems[J]. *Aquaculture*, 2019, 507: 385-392.
- [20] Niazi E H N, Imanpoor M, Taghizadeh V, *et al.* Effects of density stress on growth indices and survival rate of goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Global Veterinaria*, 2013, 10(3): 365-371.
- [21] 张奇. 圈养模式下养殖密度对大口黑鲈生长、生理指标以及肌肉品质影响的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- Zhang Q. Study on the effects of stocking density on growth, physiological indexes and muscle quality of *Micropterus salmoides*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [22] Breck J E. Body composition in fishes: body size matters[J]. *Aquaculture*, 2014, 433: 40-49.
- [23] 步艳, 李吉方, 温海深, 等. 养殖密度对大杂交鲟幼鱼体组份和血液生化指标的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2014(3): 69-74.
- Bu Y, Li J F, Wen H S, *et al.* Effect of stocking density on body composition and blood biochemistry of hybrid sturgeon[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2014(3): 69-74 (in Chinese).
- [24] Dennis T E, Bulger A J. Condition factor and whole-body sodium concentrations in a freshwater fish: evidence for acidification stress and possible ionoregulatory over-compensation[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1995, 85(2): 377-382.
- [25] 张墨, 李吉方, 温海深, 等. 放养密度对大杂交鲟生长性能的影响及生理应答机制[J]. *海洋科学*, 2016, 40(8): 35-41.
- Zhang M, Li J F, Wen H S, *et al.* Effect of stocking density on growth performance and mechanism of physiological response in hybrid sturgeon[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(8): 35-41 (in Chinese).
- [26] 白庆利, 于洪贤, 张玉勇, 等. 养殖密度对哲罗鱼稚鱼生长和存活的影响[J]. *东北林业大学学报*, 2009, 37(2): 63-64, 70.
- Bai Q L, Yu H X, Zhang Y Y, *et al.* Effect of stocking density on growth and survival of juvenile *Hucho taimen* during domestication[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2009, 37(2): 63-64, 70 (in Chinese).
- [27] 张玉勇, 徐革锋, 金舒博, 等. 养殖密度对饵料驯化期细鳞鱼稚鱼生长的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(3): 321-326.
- Zhang Y Y, Xu G F, Jin S B, *et al.* Influences of stocking density of domestication on growth of juvenile *Brachymystax lenok*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, 17(3): 321-326 (in Chinese).
- [28] Mylonas C C, Fostier A, Zanuy S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 165(3): 516-534.
- [29] Wagner E J, Intelmann S S, Routledge M D. The effects of fry rearing density on hatchery performance, fin condition, and agonistic behavior of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fry[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1996, 27(3): 264-274.
- [30] Senso L, Suárez M D, Ruiz-Cara T, *et al.* On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101(1): 298-307.
- [31] Braun N, de Lima R L, Baldissotto B, *et al.* Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling[J]. *Aquaculture*, 2010, 301(1-4): 22-30.
- [32] 方允中, 杨胜, 伍国耀. 自由基、抗氧化剂、营养素与健康的关系[J]. *营养学报*, 2003, 25(4): 337-343.
- Fang Y Z, Yang S, Wu G Y. Free radicals, antioxidants, and nutrients in relation to health[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2003, 25(4): 337-343 (in Chinese).
- [33] Tauler P, Aguiló A, Gimeno I, *et al.* Influence of vitamin C diet supplementation on endogenous antioxidant defences during exhaustive exercise[J]. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 2003, 446(6): 658-664.
- [34] 宋志飞. 养殖密度对流水养殖系统中俄罗斯鲟幼鱼生

- 长、血液生理生化以及非特异性免疫的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- Song Z F. The influence of stocking density on the growth performance, physiological and biochemical indices and nonspecific immunity of juvenile Russian sturgeon in flowing water cultivation[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015 (in Chinese).
- [35] Long L N, Zhang H G, Ni Q, *et al.* Effects of stocking density on growth, stress, and immune responses of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in a recirculating aquaculture system[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2019, 219: 25-34.
- [36] 宋文华. 养殖密度和温度对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 生长和生理生化指标的影响 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Song W H. The effects of stocking density and water temperature on growth and physiological parameters of grass carp[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012 (in Chinese).
- [37] 王裕玉, 徐跑, 聂志娟, 等. 池塘工程化循环水养殖模式下养殖密度对吉富罗非鱼生长及生理指标的影响[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2019, 16(5): 78-84.
- Wang Y Y, Xu P, Nie Z J, *et al.* Effects of stocking densities on growth, serum biochemical parameters and antioxidant status of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in in-pond raceway recirculating culture system[J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2019, 16(5): 78-84 (in Chinese).
- [38] Liu B L, Jia R, Han C, *et al.* Effects of stocking density on antioxidant status, metabolism and immune response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2016, 190: 1-8.
- [39] Sahin K, Yazlak H, Orhan C, *et al.* The effect of lycopene on antioxidant status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under high stocking density[J]. *Aquaculture*, 2014, 418-419: 132-138.
- [40] 倪金金, 王裕玉, 徐钢春, 等. 养殖密度对池塘工程化循环水养殖大口黑鲈抗氧化力、组织结构及应激基因表达的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(6): 660-670.
- Ni J J, Wang Y Y, Xu G C, *et al.* Effects of stocking density on the antioxidant status, tissue structure, and *HSP70* and *Cu/Zn-SOD* expression in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in an in-pond raceway culture system[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(6): 660-670 (in Chinese).
- [41] 李洁, 唐夏, 张灵燕, 等. 溶解氧水平对褐牙鲈幼鱼能量代谢和氧化应激的影响研究[J]. 广西科学院学报, 2015, 31(1): 22-27.
- Li J, Tang X, Zhang L Y, *et al.* Study on the energy metabolism and oxidative stress of juvenile brown flounder, *Paralichthys olivaceus* in dissolved oxygen content descending water[J]. *Journal of Guangxi Academy of Sciences*, 2015, 31(1): 22-27 (in Chinese).
- [42] Reindl K M, Sheridan M A. Peripheral regulation of the growth hormone-insulin-like growth factor system in fish and other vertebrates[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2012, 163(3-4): 231-245.
- [43] Allard J B, Duan C M. Comparative endocrinology of aging and longevity regulation[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2011, 2: 75.
- [44] Ren Y Y, Wen H S, Li Y, *et al.* Stocking density affects the growth performance and metabolism of Amur sturgeon by regulating expression of genes in the GH/IGF axis[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2018, 36(3): 956-972.
- [45] de las Heras V, Martos-Sitcha J A, Yúfera M, *et al.* Influence of stocking density on growth, metabolism and stress of thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 29-37.
- [46] Viant M R, Werner I, Rosenblum E S, *et al.* Correlation between heat-shock protein induction and reduced metabolic condition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) chronically exposed to elevated temperature[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, 29(2): 159-171.
- [47] Zahedi S, Akbarzadeh A, Mehrzad J, *et al.* Effect of stocking density on growth performance, plasma biochemistry and muscle gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 271-278.

Effects of stocking density on growth, antioxidant enzyme activity and related gene expression of juvenile Siberian hybrid sturgeon [*Acipenser baerii* (♀)×*A. schrenckii* (♂)]

ZHAO Daxian¹, CHENG Chao¹, XIAO Min², ZHU Minjie¹, LI Linjie¹,
MEI Feng¹, ZHA Yunfei³, JIAN Shaoqing^{1*}

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Aquatic Animal Resources and Utilization,
School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China;

2. Ji'an City Jinggangshan Mountains Agriculture Science and Technology Park, Ji'an 343000, China;

3. Jinggangshan Muyun Special Animal Breeding Co., Ltd., Ji'an 343000, China)

Abstract: In order to study the effects of aquaculture density on the growth performance of juvenile Siberian hybrid sturgeons [*Acipenser baerii* (♀)×*A. schrenckii* (♂)] in Jinggangshan region, this study took juvenile Siberian hybrid sturgeons with an initial body weight of (7.89±0.45) g as the research object. Three density groups [low density group (1.16 kg/m³), medium density group (1.74 kg/m³) and high density group (2.32 kg/m³)] were set for 90 days of production test. Through the comparative analysis of different density groups of Siberian hybrid sturgeon growth indexes and body composition content, antioxidant enzyme activity and related gene expression levels, it was found that low density group of larval final body weight, weight gain rate and specific growth rate of low density group was significantly higher than those of medium density and high density group ($P<0.05$), the density experiment fish survival rate had no significant difference; water content and ash content increased with the increase of culture density, and there were significant differences, but crude fat and crude protein did not show significant differences. The activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione sulfur transferase (GSH-ST) in liver in low and medium density groups were significantly higher than those in high density group at the end of experiment ($P<0.05$). With the increase of breeding density, the content of MDA in liver of juvenile fish increased continuously, and the activity of catalase (CAT) decreased. There was no significant difference between MDA and CAT during the trial. The results also showed that the expression levels of growth-related growth hormone receptor gene (*GHR*), insulin-like growth factor-1 gene (*IGF-1*) and insulin-like growth factor-2 gene (*IGF-2*) were significantly decreased in the high-density group ($P<0.05$). The expression level of stress-related heat shock protein 70 gene (*HSP70*) in high density group was different after 45 days ($P<0.05$), and after 90 days, high density group was significantly higher than low density group ($P<0.05$). The expression level of heat shock protein 90 gene (*HSP90*) in low density group was significantly lower than those in medium and high density groups on day 30 ($P<0.05$). At the end of the experiment, there were significant differences among the three density groups ($P<0.05$). The results showed that the juvenile Siberian hybrid sturgeon showed good growth performance under medium and low density conditions. Therefore, it is suggested to control the breeding density of juvenile Siberian hybrid sturgeon in Jinggangshan Mountains region between 1.16 and 1.74 kg/m³.

Key words: *Acipenser baerii* (♀)×*A. schrenckii* (♂); rearing density; growth; antioxidant enzymes; gene expression; Jinggangshan Mountains

Corresponding author: JIAN Shaoqing. E-mail: jianshaoqing@ncu.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program (2018YFD0901704); Jiangxi Province Modern Agricultural Industrial Technology System Special Project (JXARS-03)