

养殖密度对循环水系统中大菱鲆生长和蛋白质代谢的影响

韩 岑^{1,2}, 雷霖^{1,2}, 刘宝良², 贾 睿², 姜志强¹, 赵奎峰³, 王国文³

(1. 大连海洋大学 农业部北方海水增养殖重点实验室, 辽宁 大连 116023; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 山东青岛 266071; 3. 山东东方海洋科技股份有限公司, 山东 烟台 264000)

摘要: 在工厂化循环水养殖系统中, 将初始体质量为 $186 \text{ g} \pm 2.0 \text{ g}$ 的大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)放养于低($9.4 \text{ kg/m}^2 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$)、中($13.6 \text{ kg/m}^2 \pm 0.8 \text{ kg/m}^2$)、高($19.1 \text{ kg/m}^2 \pm 1.3 \text{ kg/m}^2$) 3 个养殖密度, 以研究不同养殖密度对大菱鲆生长、消化酶和蛋白质代谢的影响。养殖 120 d 后, 低、中、高试验组养殖密度分别增长至 $26.1 \text{ kg/m}^2 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$ 、 $38.2 \text{ kg/m}^2 \pm 2.5 \text{ kg/m}^2$ 、 $52.3 \text{ kg/m}^2 \pm 3.6 \text{ kg/m}^2$ 。结果表明: 低密度组和中密度组中大菱鲆增质量率、特定生长率、肥满度和蛋白质效率均显著($P < 0.05$)高于高密度组; 而饲料系数显著低于高密度组($P < 0.05$)。低密度组和中密度组大菱鲆总蛋白酶和淀粉酶活力显著低于高密度组($P < 0.05$); 但脂肪酶活力在 3 个密度组之间无显著性差异。与低密度组相比, 高密度组显著提高了谷氨酸脱氢酶活力, 同时降低了谷草转氨酶和亮氨酸氨肽酶活力($P < 0.05$), 而对谷丙转氨酶活力无任何影响。综上所述, 在工厂化循环水系统中, 增加养殖密度能提高养殖的产量, 但过高的养殖密度会对大菱鲆生长、消化酶活力以及蛋白质代谢产生不利的影响。

关键词: 循环水系统; 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*); 养殖密度; 生长; 蛋白质代谢

中图分类号: S965.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)03-0032-09

DOI: 10.11759/hyxx 20160112003

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*), 俗称“多宝鱼”, 属于硬骨鱼纲(Osteichthyes), 脊索动物门(Chordata), 鲽形目(Pleuronectiformes), 原产于大西洋北部海域, 是一种底栖的冷水性经济鱼种。大菱鲆具有生长迅速, 经济价值高, 易于饲养等特点^[1-4], 现在已成为中国北方重要的养殖品种^[5-6]。

近年来, 工厂化养殖已发展成为中国水产养殖行业重要的生产模式之一, 然而随着中国近海养殖水资源不断恶化, 水产养殖空间拓展局限性日益显著的形势下, 工厂化循环水养殖系统(Recirculating aquaculture system, RAS)由于具有可控性高、资源节约、产品质量有保证、环境友好、地域限制小等优点, 被认为是未来水产养殖业的重要发展方向之一^[7]。目前已有关于循环水系统中大菱鲆的相关研究, Bussel 等^[8]研究发现, 循环水系统中硝酸盐浓度很大程度上影响大菱鲆的健康、生长和食物利用率; 田喆等^[9]在循环水系统中的研究中发现, 不同的循环次数可以影响大菱鲆的生长及系统中水质的变化, 他的研究结果表明, 当提高系统中的水循环次数时, 可以明显降低系统中亚硝酸盐和氨氮的累积, 缓解了环境对大菱鲆的胁迫作用, 促进

大菱鲆的生长发育; 孙国祥等^[10]研究流速在循环水系统中的影响得出结论, 提高系统的水流速, 大菱鲆的特定生长率、摄食量和增质量率都呈现出先上升后趋于平缓的趋势, 而饲料系数的趋势则相反; 李勇等^[11]研究了循环水系统中温度对大菱鲆生长的影响, 数据显示大菱鲆的摄食量随温度的升高而增大, 而鱼体的生长、存活率及特定生长率则表现出先升高后降低的趋势, 主要原因是温度对鱼体的消化酶产生了影响。

收稿日期: 2016-01-12; 修回日期: 2016-05-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31402315、31240012); 农业部北方海水增养殖重点实验室开放课题项目(2014-MSENC-KF-02); 现代农业国家鲆鲽类产业体系资助项目(CARS-50-G10); 江苏省重点研发计划资助项目(BE2015328)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No.31402315, No.31240012; The Open Subject Programs of Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture, No. 2014-MSENC-KF-02; The Support Program of Modern Agriculture National Flatfish Industrial System, No. CARS-50-G10; Research and Development Program of Jiangsu Province of China, No. BE2015328]

作者简介: 韩岑(1989-), 男, 湖北荆州人, 硕士研究生, 主要从事海水养殖研究, 电话: 18663985527, E-mail: hncn1989@163.com; 刘宝良, 通信作者, 副研究员, E-mail: liubl@ysfi.ac.cn

高密度养殖是循环水养殖系统的主要特点,由于RAS对水质、水温、溶氧等环境因子具有较强的可控性,且不同的养殖鱼类对养殖密度的适应性并不相同^[12-15],因此如何选择合理的养殖密度已成为循环水养殖中的主要科学问题。张曦文等^[16]发现,青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)在循环水系统中,增质量率和特定生长率随着养殖密度的增大而降低,而饲料系数则恰好相反;任华等^[17]研究循环水系统中的杂交鲟得出结论,仔鱼的终末体质量、日增质量和特定生长率都随着养殖密度的升高而升高,但如果进一步增大密度,则出现生长下降,存活率也逐渐降低;同样在循环水系统中,胡佳平等^[18]研究大西洋鲑(*Salmo salar*)发现,生长率和增质量率都随密度的升高而升高,饵料系数则随养殖密度的升高而降低;王峰等^[15]研究循环水系统中的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)表明,存活率、特定生长率和肥满度都随着养殖密度的升高基本呈下降趋势。王楠楠^[19]在研究循环水系统中点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)发现,随着养殖密度的增大,存活率呈下降趋势,低密度组中的增质量率和特定生长率都显著高于高密度组。不合理的养殖密度,会对鱼类产生慢性拥挤胁迫,从而影响鱼类的生长、免疫等福利指标,目前该领域已受到国内外研究者的广泛关注^[20-22]。

生物体生长的实质是合成代谢类产物从而实现个体增长、体质量增加。动物通过增加组织结构的体积和积累蛋白质来实现生长,因此蛋白质的变化通常用来衡量动物的生长情况^[23]。蛋白质作为鱼类生长过程中最关键的营养物质,其分解代谢的效率可以直接反映鱼类的生长状态。本实验在封闭式循环水养殖系统中进行,研究不同养殖密度对大菱鲆生长、消化酶和蛋白质代谢的影响,以期在循环水养殖系统中选择大菱鲆适宜养殖密度提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及饲料

养殖实验在山东莱州东方海洋科技有限公司的RAS中进行,实验系统主要由养殖池、履带式微滤机、固液分离器、生物滤池、蓄水池、泡沫分离器、紫外线设备和水池曝气装置构成。实验用鱼来自于该公司,规格整齐、健康、体质量为 185.0 ± 2.0 g。

实验饲料采用宁波天邦股份有限公司生产的大菱鲆专用饲料,其主要成分:粗蛋白 52%、粗脂肪

12%、粗灰分 16.0%、粗纤维 3.0%、水分 12%、钙 5%、总磷 $\geq 2.3\%$ 、赖氨酸 $\leq 3.8\%$ 。

1.2 实验设计及日常管理

大菱鲆经过 15 d 的暂养后开始进行实验。循环水系统由养殖池、生物过滤系统和物理过滤系统组成,每个养殖池底面积 30 m²,水深 0.5 m。实验设置 3 个密度: (1)低密度组 1 500 尾鱼,初始密度为 9.4 kg/m²; (2)中密度组 2 200 尾鱼,初始密度为 13.6 kg/m²; (3)高密度组 3 100 尾,初始密度为 19.1 kg/m²。每个密度组设 3 个重复,养殖周期为 120 d。实验期间每天投喂 2 次(7:00; 19:00),每次以体质量的 1.0%~1.2% 的量来投喂。水质通过调整水处理系统的运行参数,将水质控制:水温 16.5~18.5℃,pH 7.2~7.8,溶解氧 9~10 mg/L,盐度 28×10^{-6} ~ 30×10^{-6} ,总氨氮 0.07~0.17 mg/L,亚硝酸盐 0.06~0.15 mg/L, COD 3.78~4.66 mg/L。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标的计算

实验开始和结束时,停食 1 d,称质量,按以下公式计算生长指标。

增质量率(%)=(末质量-初质量)/初质量 $\times 100$

特定生长率(%/d)=(ln 末质量-ln 初质量)/实验天数 $\times 100$

饲料系数=摄食量/(末质量-初质量)

肥满度(%)=末质量/鱼体长³ $\times 100$

蛋白质效率(%)=(末质量-初质量)/(投喂量 $\times$ 饲料蛋白质含量) $\times 100$

存活率(%)=终末尾数/初始尾数 $\times 100$

1.3.2 酶活指标的测定

分别于 0、40、80 和 120 d 进行采样,每个养殖池里随机抽取 20 条鱼,取肝、胃、肠道组织。胃组织中总蛋白酶(TMP)活力的测定参考 Hummel^[24]的方法;肠组织中淀粉酶(AMS)和脂肪酶(LPS)活力的测定参考 Furné 等^[25]的方法;肝组织中的谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、谷氨酸脱氢酶(GDH)和亮氨酸氨肽酶(LAP)酶活性的测定均采用 ELISA 试剂盒(南京建成生物工程研究所生产)测定,测定方法依据试剂盒说明书。

1.4 数据处理

实验数据用“平均值 $\pm$ 标准差”表示,数据分析采用 SPSS18.0 软件单因素方差分析(One-Way ANOVA)处理,以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果

2.1 不同养殖密度对大菱鲆生长的影响

各试验组大菱鲆生长性能指标如表 1 所示。经过 120 d 的实验, 3 个密度组鱼的体质量增长出现明显差异($P<0.05$), 低密度组的平均体质量最高, 为 540.44 g, 养殖密度达 26.1 kg/m²; 中密度组的平均体质量次之, 为 534.34 g, 养殖密度达 38.2 kg/m²; 高密度组的平均体质量最低, 为 514.57 g, 养殖密度

达 52.3 kg/m²。试验 120 d 后, 低密度组和中密度组的增质量率(WGR)、特定生长率(SGR)和肥满度(CF)均显著($P<0.05$)高于高密度组; 不同密度组间的饲料系数出现显著性差异($P<0.05$), 高密度组的饲料系数最高, 而低密度组的饲料系数最低; 摄食量(FI)随着密度的增大表现出递增的趋势, 不同养殖密度对蛋白质效率(PER)影响显著($P<0.05$), 随着养殖密度的增大, 蛋白质效率呈下降的趋势; 不同密度组间的存活率均大于 99%, 没有显著性差异($P>0.05$)。

表 1 不同养殖密度对大菱鲆生长、摄食的影响

Tab.1 Effects of density on growth and feed intake in turbot (*Scophthalmus maximus*)

指标	组别		
	低密度	中密度	高密度
初体质量(g)	186.04 ± 0.97 ^a	185.19 ± 0.82 ^a	185.05 ± 1.54 ^a
末体质量(g)	540.44 ± 1.26 ^a	534.43 ± 2.52 ^b	514.57 ± 2.60 ^c
增质量率(%)	1.91 ± 0.01 ^a	1.89 ± 0.01 ^a	1.78 ± 0.03 ^b
特定生长率(%/d)	0.89 ± 0.01 ^a	0.88 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.01 ^b
饲料系数	0.99 ± 0.01 ^a	1.08 ± 0.01 ^b	1.10 ± 0.01 ^c
总摄食量(kg)	523.97 ^a	826.39 ^b	1119.78 ^c
肥满度(%)	3.88 ± 0.05 ^a	3.87 ± 0.04 ^a	3.74 ± 0.10 ^b
蛋白质效率(%)	195.11 ± 0.27 ^a	178.80 ± 0.94 ^b	175.43 ± 1.84 ^c
存活率(%)	99.6 ± 0.23 ^a	99.5 ± 0.57 ^a	99.7 ± 0.43 ^a

注: 同一行数据右上角的相同字母表示差异不显著($P>0.05$); 不同字母表示差异显著($P<0.05$)

2.2 不同养殖密度对大菱鲆主要消化酶的影响

从图 1 中可知, 在不同的养殖密度下, 经过 120 d 的实验, 大菱鲆的总蛋白酶(TMP)和淀粉酶(AMS)活力随着养殖密度的增加整体呈下降趋势, 120 d 后, TMP 和 AMS 活力表现为低密度组和中密度组均显著($P<0.05$)低于高密度组, 而中密度与低密度之间并无显著性差异; 脂肪酶(LPS)整体呈上升趋势, 但 3 个密度组之间无显著性差异。

2.3 不同养殖密度对大菱鲆主要蛋白质代谢相关酶活力的影响

由图 2 可知, 不同养殖密度下, 随着养殖密度的增加, 大菱鲆的谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和亮氨酸氨肽酶(LAP)整体呈上升趋势。120 d 后, 高密度组 AST 活力显著高于低密度和中密度组, 相反, LAP 的活力则显著低于低密度和中密度组, 而 ALT 在 3 个密度组中无显著性差异。谷氨酸脱氢酶(GDH)活力随着养殖密度的增大整体呈先上升后下降的趋

势, 在实验 120 d 后, 高密度组的活性显著($P<0.05$)低于其他组。

3 讨论

3.1 不同养殖密度对大菱鲆生长性能的影响

养殖密度被认为是鱼类生长过程中重要的影响因素^[13, 26], 随着养殖密度增大, 对鱼类产生了一种变形的胁迫作用, 使鱼体长期处于生理应激状态, 生理功能发生紊乱, 从而抑制了个体的生长。本实验结果表明, 高密度组的 WGR 和 SGR 均显著降低, 且 FCR 随着密度的增大显著升高, 说明高密度下慢性拥挤胁迫对大菱鲆生长产生了负面影响。同样是在循环水系统中, Li 等^[21]在对初始体质量为(13.84 g ± 2.74 g)的大菱鲆研究发现, 经过 10 周的养殖实验, 低密度组(0.66 kg/m²)的 WGR 和 SGR 显著高于高密度组(4.00 kg/m²), 这与本次实验结果一致, 但 FCR 在各个密度组间无显著性差异。在其他鱼中, 俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedtii*)^[14]、史氏鲟(*Amur sturgeon*)^[26]、瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)^[27]和虹

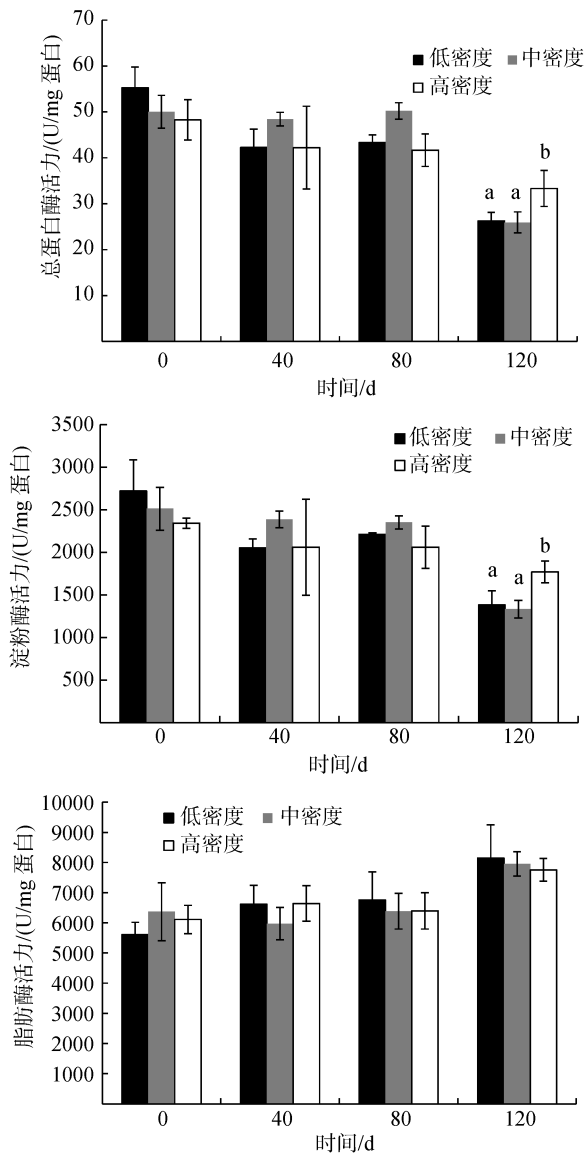


图1 不同养殖密度对大菱鲆 TMP、AMS 和 LPS 活力的影响

Fig.1 Effects of density on the activities of TMP, AMS, and LPS of turbot (*Scophthalmus maximus*)

同一时期不同字母表示差异性显著 ($P < 0.05$), 图 2 同

Different letter superscripts mean significant differences ($P < 0.05$), the same as Fig.2

鳊 (*Oncorhynchus mykiss*)^[28] 的 SGR 和 WGR 都随着养殖密度的增大也呈现显著降低的趋势。此外已有研究表明, 在高密度的养殖条件下, 鱼体会出现损伤或者死亡^[29]; Irwin 等^[30]也研究表明大菱鲆幼鱼 ($8.62 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$) 在较高的养殖密度下, 生长速度减慢, 存活率较低。而本实验结果显示不同养殖密度对大菱鲆成活率并没有影响, 马爱军等^[31]研究不同密度 (0.28、0.87、1.12、1.16、2.75 kg/m^2) 下大菱鲆也得到与本实验相一致的结果。

蛋白质效率作为研究生物体能量需要和蛋白质转化率的重要参数^[32], 可以反映生物对饲料的摄入和利用效率, 从而进一步反映生物体的摄食情况。本次实验中, 3 个密度组在 120 d 后出现显著性差异, 随着养殖密度的增大, 蛋白质效率显著下降。在黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[33]和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[34]的研究中也发现类似的结果。杨严鸥等^[35]在奥尼罗非鱼的研究中也表明, 蛋白质效率在高密度养殖环境中显著下降, 这可能由于高密度对鱼类形成了拥挤胁迫, 致使摄入的蛋白质被分解用于能量消耗的比例增多。

3.2 不同养殖密度对大菱鲆消化酶的影响

消化酶作为动物体内酶类的一大类, 其活力的高低可以反应水生动物消化能力的强弱^[36]。同时, 消化酶是鱼类消化过程中的重要功能性物质, 在鱼类生长发育过程中, 对食物变化的适应能力和对营养物质的摄取具有显著影响^[37]。彭士明等^[38]在对银鲈 (*Pampus argenteus*) 幼鱼的研究中发现, 高密度组的 TMP 和 AMS 活力显著高于低密度组; 牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[39]的蛋白酶活力在高密度中也显著提高; 在鲢鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 中, Liang 等^[40]证实, 高密度组的 AMS 活力显著高于低密度组。本次实验经过 120 d 后, 高密度组的 TMP 和 AMS 显著高于低密度组和中密度组, 而 LPS 在 3 个密度组之间没有显著性差异。有研究表明, 在高密度的环境下, 鱼类受到拥挤胁迫, 为了获取食物和协调种间关系需要消耗更多的能量, 导致耗能活动增加^[41]、代谢水平提高^[42], 这可能是本研究中高密度组 TMP 和 AMS 活力显著提高的原因, 而 LPS 在 3 个密度组之间差异不显著, 具体原因有待进一步研究。

3.3 不同养殖密度对大菱鲆蛋白质代谢相关酶活力的影响

鱼体类的蛋白质代谢主要通过转氨基和脱氨基作用, 因此转氨酶在此过程中发挥重要作用, 其活力水平在一定程度上反映了氨基酸代谢强度^[43], 肝脏是蛋白质代谢的重要场所, 其中最主要的两种转氨酶是谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT), 二者的活性可以反映蛋白质代谢状况^[44]。本研究中, 低密度组和中密度组中大菱鲆的谷草转氨酶 (AST) 活力显著低于高密度组, 谷丙转氨酶 (ALT) 活力在 3 个密度组之间没有显著性差异, 这与薛宝贵等^[45]和

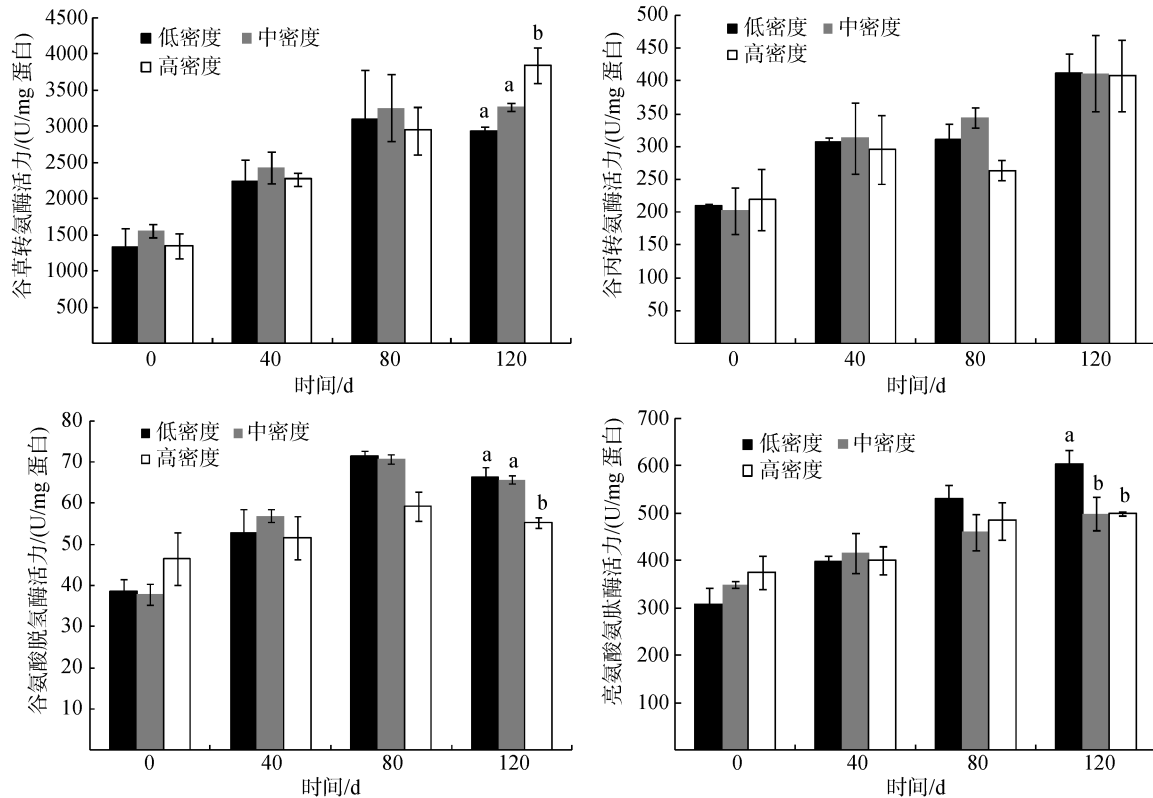


图2 不同养殖密度对大菱鲆 AST、ALT、GDH 和 LAP 活力的影响

Fig.2 Effects of density on the activities of AST, ALT, GDH and LAP of turbot (*Scophthalmus maximus*)

Tejpal 等^[46]的研究结果一致。Vijayan 等^[47]在研究中指出密度胁迫下的鲑鱼糖异生作用明显增强,而氨基酸作为鱼类糖异生作用的优先替代物,其相关酶的活性也会显著提高。薛宝贵等^[45]指出,在高密度下鱼受到拥挤胁迫,糖异生作用增强,从而促进机体消耗天冬氨酸和丙氨酸,但在糖异生作用中天冬氨酸的消耗优先于丙氨酸,所以 ALT 活性在 3 个密度组中无显著性差异而高密度组的 AST 活性显著增加,这可能是造成本次实验结果的主要原因。

谷氨酸脱氢酶(GDH)是机体合成必需氨基酸和蛋白质代谢分解的关键酶,在生物的氨基酸代谢中起着极为重要的作用,也是氨基酸代谢和糖代谢重要的衔接点之一,其活性直接影响到蛋白质的合成分解,因此 GDH 活性大小可一定程度上反映鱼体蛋白质分解代谢情况^[44]。试验 120 d 后,高密度组的 GDH 活力显著低于中密度组和低密度组,可能原因是在高密度中,鱼体为了满足能量的需要,蛋白质分解产生的氨基酸多用于糖异生作用,导致谷氨酸合成降低, GDH 的活性也随之降低,这与 Vargas 等^[48]的研究结果一致。氨肽酶的主要作用是在蛋白质分解中,将其他酶类的降解产物进一步分解成自由氨

基酸和小肽^[49],而亮氨酸氨肽酶(LAP)作为氨肽酶家族中最典型的代表^[50],其活力的大小能一定程度上反映蛋白质代谢的情况。

4 结论

在工厂化循环水养殖系统中,大菱鲆适合高密度养殖,但本次实验中高密度组的增质量率、特定生长率、肥满度和蛋白质效率均显著降低,说明养殖密度过高可对鱼体产生胁迫作用,对鱼体生长,消化和代谢功能产生不利的影响,进而可能影响养殖鱼类福利,从而对养殖生产安全带来潜在威胁。在本次实验的条件下,体质量为 510 g 左右的大菱鲆养殖密度不可超过 52.3 kg/m²。

参考文献:

- [1] 雷霖霖. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 引进与驯养试验[J]. 中国动物科学研究, 2001, 2: 408-413.
Lei Jilin. The Introduction and domestication of turbot of China[J]. Animal Science Research in China, 2001, 2: 408-413.
- [2] 雷霖霖. 英国养殖大菱鲆简况[J]. 水产科技情报, 2005, 2: 26-27.

- Lei Jilin. The brief of turbot cultured in British[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2005, 2: 26-27.
- [3] 马爱军, 雷霖霖, 王新安, 等. 大菱鲆亲鱼, 配子和仔稚鱼的质量评价[J]. 海洋科学, 2011, 35(1): 98-104.
Ma Aijun, Lei Jilin, Wang Xinan, et al. Quality assessment of broodstock, sperm, egg, oosperm and larva of turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. Marine Sciences, 2011, 35(1): 98-104.
- [4] 米娜莎, 王栋. 中国大菱鲆产业现状及发展趋势分析[J]. 海洋科学, 2011, 35(6): 96-99.
Mi Nasha, Wang Dong. Status of turbot industry and its development trend in China[J]. Marine Sciences, 2011, 35(6): 96-99.
- [5] 雷霖霖. 海水养殖新品种介绍: 大菱鲆[J]. 中国水产, 2000, 4: 38-39.
Lei Jilin. The introduction of new variety of mariculture: *Scophthalmus maximus* L.[J]. China Fisheries, 2000, 4: 38-39.
- [6] 马爱军, 雷霖霖, 陈四清, 等. 大菱鲆产卵季节对卵子的生物学及生化特征的影响[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(1): 75-82.
Ma Aijun, Lei Jilin, Chen Siqing, et al. Effects of spawning season on biologic and biochemistry characteristic of eggs of turbot *Scophthalmus maximus* L.[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2002, 33(1): 75-82.
- [7] Ebeling J M, Timmons M B. Recirculating aquaculture systems[J]. Aquaculture Production Systems, 2012, 245-277.
- [8] Bussel C G J V, Schroeder J P, Wuertz S, et al. The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*) [J]. Aquaculture, 2012, 326(1): 163-167.
- [9] 田喆, 张延青, 刘鹰, 等. 不同水循环率对大菱鲆生长和水质的影响研究[J]. 渔业现代化, 2010, 37(6): 1-5.
Tian Zhe, Zhang Yanqing, Liu Ying, et al. Impact of different water refreshment rates on growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and water quality[J]. Fishery Modernization, 2010, 37(6): 1-5.
- [10] 孙国祥, 李勇, 田喆, 等. 流速对封闭循环水养殖大菱鲆生长、摄食及水质氮素的影响[J]. 海洋科学, 2011, 35(5): 53-60.
Sun Guoxiang, Li Yong, Tian Zhe, et al. Effects of flow rate on the growth, feed intake and water nitrogen in a closed recirculation aquaculture system of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. Marine Sciences, 2011, 35(5): 53-60.
- [11] 李勇, 孙国祥, 柳阳, 等. 温度对高密度循环海水养殖大菱鲆摄食、生长及消化酶的影响[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(6): 17-24.
LI Yong, Sun Guoxiang, Liu Yang, et al. Effect of temperature on feed intake, growth and digestive enzyme activity of turbot *Scophthalmus maximus* L. in high stocking density of closed recirculation aquaculture system[J]. Progress In Fishery Sciences, 2011, 32(6): 17-24.
- [12] 朱建新, 赵霞, 曲克明. 封闭循环水系统中养殖密度对大菱鲆生长和免疫的影响[J]. 渔业现代化, 2011, 38(4): 1-5.
Zhu Jianxin, Zhao Xia, Qu Keming. Effect of stocking density on growth and immunity of *Scophthalmus maximus* reared in recirculating system[J]. Fishery Modernization, 2011, 38(4): 1-5.
- [13] Larsen B K, Skov P V, McKenzie D J, et al. The effects of stocking density and low level sustained exercise on the energetic efficiency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at 19 C[J]. Aquaculture, 2012, 324: 226-233.
- [14] 曹阳, 李二超, 陈立乔, 等. 养殖密度对俄罗斯鲑幼鱼的生长、生理和免疫指标的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(5): 968-974.
Cao Yang, Li Erchao, Chen Liqiao, et al. Effect of stocking density on growth, physiological and immune responses in juvenile Russian sturgeon[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(5): 968-974.
- [15] 王峰, 雷霖霖. 工厂化循环水养殖模式放养密度对半滑舌鳎成鱼生长和肌肉营养成分的影响[J]. 中国工程科学, 2015, 17(1): 19-26.
Wang Feng, Lei Jilin. Effect of stocking density on growth and quality in muscles of *Cynoglossus semilaevis* Günther adult fish in industrial recirculating aquaculture[J]. Engineering Sciences, 2015, 17(1): 19-26.
- [16] 张曦文, 吴垠, 贺茹靖, 等. 循环水养殖模式下养殖密度对青石斑鱼生长及生理指标的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(6): 518-522.
Zhang Xiwen, Wu Yin, He Rujing, et al. The effects of stocking density on growth and physiological indices of grouper *Epinephelus awoara* in recirculating aquaculture[J]. Journal of Dalian Ccean University, 2012, 27(6): 518-522.
- [17] 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.
Ren Hua, Lan Zeqiao, Wang Yiming, 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.
- [18] 胡佳平, 李奇, 李晓捷. 封闭式循环系统三文鱼合理养殖密度试验[J]. 河北渔业, 2013, 5: 19-21.
Hu Jiaping, Li Qi, Li Xiaojie. Trial on optimal stocking

- density of *Salmon* in Circulating system[J]. Hebei Fisheries, 2013, 5: 19-21.
- [19] 王楠楠. 循环水养殖中放养密度对点带石斑鱼幼鱼生长、存活和水质的影响[J]. 水产学杂志, 2015, 3: 44-47.
Wang Nannan. Effect of stocking density on growth and survival of malabar grouper *Epinephelus malabaricus* and water quality in an indoor recirculating aquaculture system[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2015, 3: 44-47.
- [20] 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.
- [21] Li X, Liu Y, Blancheton J P. Effect of stocking density on performances of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) in recirculating aquaculture systems[J]. Oceanologia et Limnologia, 2013, 31(3): 514-522.
- [22] 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 Baoliang, Lei Jilin, Jia Rui, et al. A review: the influence of stocking density on fish welfare[J]. Engineering Sciences, 2014, 16(9): 100-105.
- [23] 高婷婷, 李勇, 张家国, 等. 蛋白质营养对工业化养殖大菱鲆生长、消化和免疫的效应[J]. 海洋科学, 2012, 36(10): 73-80.
Gao Tingting, Li Yong, Zhang Jianguo, et al. The effect of protein on growth, digestion and immunity of Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in industrial culture[J]. Marine Sciences, 2012, 36(10): 73-80.
- [24] Hummel B C. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin[J]. Canadian Journal of Biochemistry & Physiology, 1959, 37(12): 1393.
- [25] Furné M, Hidalgo M C, López A, et al. Digestive enzyme activity in adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study[J]. Aquaculture, 2005, 250(s 1-2): 391-398.
- [26] Li D, Liu Z, Xie C. Effect of stocking density on growth and serum concentrations of thyroid hormones and cortisol in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(2): 511-520.
- [27] 黄宁宇, 夏连军, 么宗利, 等. 养殖密度和温度对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长影响实验研究[J]. 浙江海洋大学学报: 自然科学版, 2006, 24(3): 208-212.
Huang Ningyu, Xia Lianjun, Yao Zongli, et al. The influences of stocking density and water temperature on growth of juvenile *Pseudobagrus vachelli* Richardson raising In greenhouse[J]. Journal of Zhejiang Ocean University(Natural Science), 2006, 24(3): 208-212.
- [28] 江仁党. 放养密度对虹鳟稚鱼生长的影响[J]. 水产学杂志, 2009, 22(4): 31-33.
- Jiang Rendang. Effect of stocking density on growth of rainbow trout juvenile[J]. Chinese Journal Fisheries, 2009, 22(4): 31-33.
- [29] Ashley P J. Fish welfare: current issues in aquaculture[J]. Applied Animal Behaviour Science, 2007, 104(3): 199-235.
- [30] Irwin S, O'halloran J, FitzGerald R D. Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque)[J]. Aquaculture, 1999, 178(1): 77-88.
- [31] 马爱军, 陈超, 雷霖霖, 等. 饲养密度对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.)生长、饲料转化率及色素的影响[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(3): 207-212.
Ma Aijun, Chen Chao, Lei Jilin, et al. Effect of stocking density on growth, feed conversion and pigmentation improvement of tutbot(*Scophthalmus maximus* L.)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2005, 36(3): 207-212.
- [32] 李勇, 蔡辉益, 刘国华, 等. 0~3 及 4~6 周龄肉仔鸡日粮能量及蛋白质沉积效率参数研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3624-3632.
Li Yong, Cai Huiyi, Liu Guohua, et al. Study on parameters of efficiencies of energy and protein peposition in broilers between 0-3 and 4-6 weeks[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(17): 3624-3632.
- [33] 杨严鸥, 姚峰, 舒娜娜, 等. 养殖密度对黄颡鱼生长、饲料利用和能量收支的影响[J]. 饲料工业, 2008, 28(24): 31-33.
Yang Yanou, Yao Feng, Shu Nana, et al. Effect of stocking density on growth, feed conversion and energy budget of *Pelteobagrus fulvidraco* Richardson[J]. Feed Industry, 2008, 28(24): 31-33.
- [34] Trzebiatowski R, Filipiak J, Jakubowski R. Effect of stock density on growth and survival of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.)[J]. Aquaculture, 1981, 22: 289-295.
- [35] 杨严鸥, 姚峰, 罗平. 密度对奥尼罗非鱼生长和饲料利用效率的影响[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(3): 193-195.
Yang Yanou, Yao Feng, Luo Ping. Effect of density on the growth and food utilization efficiency of hybrid tilapia[J]. Journal of Hubei Agricultural College, 2004, 24(3): 193-195.
- [36] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 1998.
Lin Haoran. Fish Physiology[M]. Guangzhou: Guangdong Higher Education Press, 1998.
- [37] Gisbert E, Giménez G, Fernández I, et al. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny[J]. Aquaculture, 2009, 287(3): 381-387.

- [38] 彭士明, 林少珍, 施兆鸿, 等. 饲养密度对银鲳幼鱼增重率及消化酶活性的影响[J]. 海洋渔业, 2013, 1: 72-76.
Peng Shiming, Lin Shaozhen, Shi Zhaohong, et al. Effects of rearing density on growth rate and digestive enzyme activity of juvenile *Pampus argenteus*[J]. Marine Fisheries, 2013, 1: 72-76.
- [39] Bolasina S, Tagawa M, Yamashita Y, et al. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Aquaculture, 2006, 259(1): 432-443.
- [40] Liang T, Ding J, Feng J, et al. Influence of breeding density on amylase activity and lipase activity of *Hypophthalmichthys molitrix*[J]. Open Journal of Fisheries Research, 2014, 1: 43-48.
- [41] Jorgensen 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.
- [42] Valenti W C, Mello J T C, Castagnolli N. The effect of stocking density on *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) growth curves in earthen ponds (*Crustacea palaemonidae*)[J]. Revista Brasileira de Zoologia, 1993, 10(3): 427-438.
- [43] Berge G E, Sveier H, Lied E. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); the requirement and metabolic effect of lysine[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 120(3): 477-485.
- [44] Smutna M, Vorlova L, Svobodova Z. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (review)[J]. Acta Veterinaria Brno, 2002, 71(2): 169-181.
- [45] 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 Baogui, Lou Bao, Xu Dongdong, 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.
- [46] Tejpal C S, Pal A K, Sahu N P, et al. Dietary supplementation of l-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings[J]. Aquaculture, 2009, 293(3): 272-277.
- [47] Vijayan M M, Leatherland J F. Effect of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*[J]. Aquaculture, 1988, 75(1): 159-170.
- [48] Vargas-Chacoff L, Martínez D, Oyarzún R, et al. Combined effects of high stocking density and *Piscirickettsia salmonis* treatment on the immune system, metabolism and osmoregulatory responses of the Sub-Antarctic Notothenioid fish *Eleginops maclovinus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 40(2): 424-434.
- [49] Taylor A. Aminopeptidases: structure and function[J]. The FASEB Journal, 1993, 7(2): 290-298.
- [50] Matsui M, Fowler J H, Walling L L. Leucine aminopeptidases: diversity in structure and function[J]. Biological Chemistry, 2006, 387(12): 1535-1544.

Effect of stocking density on growth and protein metabolism of *Scophthalmus maximus* in a recirculating aquaculture system

HAN Cen^{1, 2}, LEI Ji-lin^{1, 2}, LIU Bao-liang², JIA Rui², JIANG Zhi-qiang¹, ZHAO Kui-feng³, WANG Guo-wen³

(1. Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Shandong Oriental Ocean Technology Co. Ltd., Yantai 264000, China)

Received: Jan. 12, 2016

Key words: Recirculating aquaculture system; *Scophthalmus maximus* L.; stocking density; growth; protein metabolism

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity, and protein metabolism of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) with an initial body weight of (186 ± 2.0) g in a recirculating aquaculture system (RAS). In this experiment, turbot were reared at three different initial densities (low $9.4 \text{ kg/m}^2 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$, medium $13.6 \text{ kg/m}^2 \pm 0.8 \text{ kg/m}^2$, and high $19.1 \text{ kg/m}^2 \pm 1.3 \text{ kg/m}^2$) for 120 days. Final densities were $26.1 \text{ kg/m}^2 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$, $38.2 \text{ kg/m}^2 \pm 2.5 \text{ kg/m}^2$, and $52.3 \text{ kg/m}^2 \pm 3.6 \text{ kg/m}^2$, respectively. The result shows that fish held at the highest density showed a lower ($P < 0.05$) weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), condition factor (CF), and protein efficiency ratio (PER) at the conclusion of the study than fish held at lower densities, but the highest density group had a higher ($P < 0.05$) feed coefficient rate (FCR) than fish held at lower densities. The total protease (TMP) and amylase (AMS) activities of the highest density group were significantly higher ($P < 0.05$) than those of the lower density groups, and the three groups did not differ significantly in lipase (LPS) activities. As stocking densities increased, the glutamate dehydrogenase (GDH) activities were significantly increased and the aspartate transaminase (AST) and leucine aminopeptidase (LAP) activities were significantly decreased, but the alanine transaminase (ALT) activities were not significantly affected by density. We conclude that increasing stocking density can improve production in a RAS, but high stocking density may impact growth, digestive enzyme activity, and protein metabolism.

(本文编辑: 谭雪静)