

水产动物密度胁迫研究进展

陈欣然^{1,2}, 牛翠娟², 蒲丽君³

(1. 中国水产科学研究院, 北京 100039; 2. 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京师范大学 生命科学学院, 北京 100875; 3. 黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:密度是水生种群生态学研究的重要内容之一, 本文就密度对水生动物行为、内分泌、生长及代谢、血液学、组织学以及免疫功能方面的影响进行了概述, 并就种群密度对水生动物尤其是鱼类的影响机理从神经内分泌学、血液学、免疫学等方面进行了探讨, 旨在为该领域进一步的研究提供系统的理论依据。[中国水产科学, 2007, 14 (7): 138–146]

关键词:水产动物; 种群密度; 胁迫; 研究进展

中图分类号: Q143

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)07–138–09

高密度养殖是提高水产养殖产量、降低养殖成本的重要途径, 但随着密度增加, 种群内个体对资源、空间的竞争加剧, 会导致动物在摄食、生长、能量代谢、行为、生理以及免疫功能等方面的一系列变化, 最终可能会导致动物生存能力降低^[1–2]。作为水产养殖中常见的胁迫因子, 拥挤胁迫对养殖动物的影响受到越来越多地关注^[3–6]。研究密度对动物的影响规律和作用机制, 对种群的管理、调控以及合理的开发利用都具有重要的理论和现实意义。本文从水产动物的行为、内分泌、生长、代谢以及免疫等方面详细论述了密度对水产动物的影响, 并探讨了其发生的机制。

1 密度对动物行为及内分泌的影响

1.1 密度对动物行为的影响

拥挤一般会导致个体间争斗行为加剧, 以及由此而产生的社群等级分化。Greaves等^[7]报道拥挤可导致庸鲽 (*Hippoglossus hippoglossus* L.) 产生争斗行为。而社群等级 (Hierarchy) 的分化程度随密度的增加而增大^[8]。高密度环境中的食物竞争和社群内的相互作用导致了幼年 (*Tilapia zillii*) 生长的异质性, 社群中级别较低的个体受这些因素的影响更大^[9]。

密度胁迫还会影响到鱼类的摄食行为。在野生

环境下食物资源一般受到限制, 随种群密度的增加, 每个个体所能获得的食物资源相应减少, 使种内竞争加剧^[10]。在食物充足的养殖环境中, 虽然食物资源受限制这一因素消除了, 但密度对摄食行为的影响仍以多种形式表现出来。如在食物充足条件下, 拥挤胁迫也会导致庸鲽摄食活动减少^[11], 可能高密度环境中的采食竞争降低了对食物获得率的期望值^[12], 或者密度升高所导致的物理性妨碍增加了摄取食物的难度^[13]。Papoutsoglou等^[14]用人工投饵的方法使鱼达到饱食, 仍然发现虹鳟 (*Salmo gairdneri*) 鱼苗的摄食量随密度的增加而下降, 而密度对湖红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*) 幼鱼的摄食率没有显著影响^[15]。综合以上不同研究结果可以看出, 种群密度对鱼类摄食的影响可能并不是简单的通过降低食物资源而达到的, 其机制有待今后加以深入探讨。

鱼类对密度的行为上的反应基本分为两种, 分别为集群行为 (Schooling) 和领域行为 (Territorial)。在集群种类中, 密度影响往往是较为积极的, 即随密度升高, 个体间的争斗减弱, 合作加强, 同时能量消耗降低, 然而在具有领域行为的种类中, 结果却恰恰相反, 这可能是由于种群内的个体间进攻性行为增多所引起的。此外, 这两种行为在某些物种中会随密度变化而相互转化。在鲑科鱼类中观察到, 种群

收稿日期: 2007–03–26; 修订日期: 2007–05–23.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30271014) 资助.

作者简介: 陈欣然 (1977–), 女, 博士, 从事动物生理生态学研究. E-mail: llmcr2002@163.com

通讯作者: 牛翠娟. Tel: 010–58807966; E-mail: cjniu@bnu.edu.cn

密度的升高会抑制领域行为^[16]。

此外高密度环境还会引起动物的一些异常行为的发生,如同类相食(Cannibalistic)。Kindschi等^[17]曾经报道虹鳟(*S. gairdneri*)的同类相食率随种群密度增加而增加。高密度还可导致庸鲈游泳方式的异常改变,即由通常情况下静栖于池底变为经常性的垂直游往水面^[18]。

1.2 密度对内分泌的影响

1.2.1 下丘脑-垂体-肾间组织(或肾上腺)轴(HPA(HPI)) 在脊椎动物尤其是在鱼类中,肾上腺皮质激素水平被作为胁迫的一般性内分泌指标^[1,19]。不同密度下血浆皮质醇的水平可以作为评价下丘脑-垂体-肾间组织(或肾上腺)轴对拥挤反应的指标。多数鱼类在密度胁迫状况下都表现为血浆皮质醇升高。如金头鲷(*Sparus aurata* L.)在密度胁迫下,血浆皮质醇水平达到低密度个体含量的4倍^[20]。高密度环境下饲养的尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)其血浆中皮质醇水平明显高于低密度环境,并且高密度环境中的个体对环境的急剧变化刺激反应更为敏感^[21]。相似的报道还见于赤鲷(*Pagrus pagrus*)^[22]和褐鲷(*Salmo trutta*)^[23],说明这些鱼类对实验所设定的高密度条件不能很好适应。一般慢性密度胁迫会引起鱼类皮质醇水平的持续升高,持续的时间与物种以及胁迫的程度有关^[24]。金头鲷(*S. aurata*)在密度胁迫后血浆皮质醇浓度显著上升,但随后几天又恢复至对照水平^[4,20]。在湖红点鲑(*Salvelinus alpinus*)中也观察到了类似结果^[25]。而对于一些对密度胁迫不敏感的鱼如脂鲤(*Brycon cephalus* (Gunther, 1869))^[26],虹鳟^[2],银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)^[27],大西洋鲑(*Salmo salar* Linnaeus)^[28],高密度并不会引起血浆皮质醇浓度的显著变化。甚至 Leatherland等^[29]发现低密度下虹鳟的血浆皮质醇浓度要高于高密度下,虽然有可能是人工操作过程中失误造成的。Procarione等^[2]也发现拥挤胁迫24 h后,低密度组幼年虹鳟的皮质醇水平显著高于高密度组。

对以上两种相互矛盾的现象的一种解释认为,皮质醇浓度没有显著变化表明动物对胁迫环境产生了适应;另一种解释认为,处于不同密度水平下动物血浆皮质醇没有显著性差异,是由于皮质醇的代谢途径改变所致^[30]。密度胁迫作用较弱的情况下,皮质醇主要通过鳃上皮进行代谢清除;而在高密度胁迫作用下,肝脏对皮质醇的摄取量显著增加,致使血

浆中皮质醇在不同密度水平之间没有表现出显著性差异。Schreck等^[27]也曾发现,尽管高密度环境中的银大麻哈鱼血浆中皮质醇水平同低密度组相比无显著性差异,但是在高密度环境鱼体内的皮质醇清除速度更快,推测这也是由于皮质醇的代谢途径发生变化所致。Vijayan等^[23]认为高密度胁迫下皮质醇代谢途径的改变可能是机体对能量需求增加的适应性反应。

基于以上论述,拥挤胁迫所产生的肾上腺皮质激素变化在不同物种间会有很大的差异,另外取样时间的不同也会造成对皮质醇测试结果的不同。如在一些研究中发现,急性胁迫后皮质醇水平在短期内显著增加,但若是在拥挤胁迫数周后取血,观察不到密度增加对血浆皮质醇水平所产生影响^[4,31]。

1.2.2 下丘脑-垂体-甲状腺轴(HPH) 下丘脑-垂体-甲状腺轴的活性也同养殖密度存在显著负相关关系^[32]。高密度环境中饲养的溪红点鲑(*S. fontinalis*),其血浆中T3的水平虽然在各密度水平间无显著差异,但T4的含量明显低于低密度组。同时T4与T3的比例同养殖密度之间存在负相关关系^[33]。将不同密度环境下饲养的溪红点鲑的甲状腺细胞进行体外培养,发现T4脱碘酶活性随密度增高而降低,T4向T3转化受到抑制,这可能是由于高密度环境中动物摄食量降低,从而抑制了甲状腺素的分泌活性。甲状腺素的主要生理功能是促进蛋白质的合成,并调节体内的能源物质的氧化过程。甲状腺素水平的降低,使体内蛋白质合成减慢,能量代谢改变,这可能是动物对高密度胁迫下机体能量消耗增加的适应。

2 密度对生长及代谢的影响

2.1 密度对生长的影响

对鱼类^[34-35]和爬行类^[10,36]的研究发现,动物的生长与密度呈显著负相关关系,即生长率会随密度的增加而降低。但Kjartansson等^[37]观察到,在各个密度梯度环境下,成年大西洋鲑(*S. salar*)的生长率均没有发生显著变化。而北极红点鲑(*Salvelinus alpinus* Linnaeus)的生长率则会随着密度的升高而上升^[38]。这一结果与对幼舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)密度研究的结果相同^[39]。与之相类似的报道很多,如鲤鱼(*Cyprinus carpio*)和蓝色罗非鱼(*Oreochromis aureus*)在集群条件下养殖比单只

饲养具有更高的生长率^[40]。密度对生长造成的影响具有多样性,可能与胁迫强度、物种、生长阶段及营养状况有关。

动物对高密度的耐受性与物种有关。一些具有集群生活习性的生物,对高密度具有较强的耐受能力,甚至在高密度条件下表现出更好的生长效果。这是因为集群生活可以帮助生物更有效地防御敌害,寻找食物,从而降低维持生存所消耗的能量,将更多的能量用于生长。而一些具有领域行为的生物当同种密度过高时,则会使个体间争斗加剧,耗费相当的能量同时摄食也会受到影响。Howell^[41]发现,在200%池底覆盖率这样的高密度下,大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)生长没有受到负的影响,而欧洲鲷(*Solea solea*)则显示了对高密度非常敏感^[41]。动物对高密度的耐受性与生长阶段也有关系,湖红点鲃(*Salvelinus namaycush*)幼体的生长在48~96 kg/m³密度范围内被显著抑制^[42],但成体的生长在24~192 kg/m³密度范围内没有发生此现象^[43],说明湖红点鲃幼体比成体更能耐受高密度。但Kristiansen^[11]发现庸鲽幼体比成体更能耐受高密度环境。

密度对生长造成的影响目前有以下几种解释:

(1)根据Bonga的三级胁迫理论,慢性胁迫一般会导致生长率下降^[44]。在相当数量的文献报道中,生长率的下降往往与皮质醇水平的长期升高相伴随^[29,31,36]。但是,也有文献认为生长降低的原因并不是由于密度本身对动物造成了胁迫,而是由于高密度环境下食物的可获得率降低所导致^[45]。

(2)将养殖密度引起生长率的下降归因于摄食量的降低和胁迫条件下能量的高消耗率。Thierry等^[45]对虹鳟进行密度胁迫研究后认为其生长降低的原因并不是由于密度造成了胁迫,而是因为高密度环境下食物的可获得率降低而导致的,因此营养条件的不同也会造成相同密度胁迫的不同结果。Wang等^[46]在为期50 d的密度胁迫处理后发现,杂种翻车鱼[*Lepomis cyanellus* (♀) × *L. macrochirus* (♂)]幼体的生长率在高(20 fish/25 L)、低(5 fish/25 L)两个密度下均较单只饲养的鱼显著下降,社群互动所导致的运动量增加是导致低密度组生长率降低的主要原因,而在高密度组,除了运动增加之外,摄食率的降低也是导致生长率下降的一个主要因素。

(3)高密度所造成的能量分配模式的改变导致

生长率的变化。高密度组的幼年溪红点鲃(*S. fontinalis*)表现出更强的攻击性行为和更快的游泳速度,虽然摄食量没有显著差异,但高密度组通过提高运动量而支出相对较多的能量^[15]。

(4)水质恶化。溶氧降低,二氧化碳、氨态氮含量上升是伴随着养殖密度增加而产生的胁迫因子,这些水体理化因子对鱼类可直接造成胁迫作用^[40,47]。高密度养殖环境下水体氨氮含量过高和空间狭小是影响鱼类健康的因素之一。此外水体的大小也是影响胁迫效果的因素之一。Holm等^[18]发现,在较小的空间中,密度较低情况下也会发生拥挤胁迫效应。

2.2 密度对代谢的影响

此外,高密度作为一种胁迫因子,可能会通过改变机体的能量代谢过程,分解消耗体内的能源物质来满足机体额外的能量需求^[48]。Vijayan等^[23]曾报道溪红点鲃(*S. fontinalis*)在面临高密度环境时,会通过动用甘油三酸酯来满足能量需求,与此相关的1,6-二磷酸果糖酶、甘油激酶、3-磷酸葡萄糖脱氢酶的活性升高,同时动物体还表现为低血糖^[23]。血糖水平的降低可能是由于在高密度胁迫环境下,动物的摄食量降低,同时机体的能量需求增加所导致^[23]。Montero等^[49]报道高密度导致了肝重和肝脏系数(HIS)的降低,这种变化在虹鳟^[29]和溪红点鲃(*S. fontinalis*)^[23]中都被观察到,其原因可能与大量动用肝脏储存的脂肪有关。Montero等^[49]还报道了高密度养殖的鱼具有高水平的血浆胆甾醇水平,说明脂肪动用增加。肝脂肪含量的下降与脂肪合成有关的酶如葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性的下降,以及与脂肪氧化相关联的酶如羟烷基-辅酶A-脱氢酶的活性升高相联系^[23]。此外,高密度影响了肝脏的脂肪构成,肝脏总脂肪中,十八烯酸比例下降,这是在高能量需求情况下如幼体发育和饥饿时的一种重要的供能物质^[50-51]。

3 密度对动物血液学的影响

对血细胞、血液生化化学的评价是疾病诊断的可靠指标,并可以此来指示动物的生理状况。因此很多研究者尝试用血液学指标来评价高密度对动物生理功能造成的影响。

3.1 密度对血细胞的影响

高密度条件下,克林雷氏鲈(*Rhamdia quelen* Q. et G.)在历经10 d慢性拥挤胁迫后,血液学指

标发生了显著变化^[6]。淋巴细胞、嗜酸细胞、单核细胞以及特殊的粒细胞显著下降,而淋巴细胞数量下降了80%。在褐鲟(*S. trutta*)^[52-53]和斑点叉尾鮰(*I. punctatus*)^[54]中也出现过类似的情况,即在高密度环境下,其白细胞数量下降,血小板和淋巴细胞数量减少。这种血液学指标的变化可能是胁迫条件下皮质醇浓度升高所引起的,因为静脉注射皮质醇18 h后,也出现淋巴细胞减少和嗜中性粒细胞增多现象。

慢性胁迫所导致的外周血淋巴细胞减少症的原因之一可能是淋巴细胞重新向免疫器官中迁移,例如急性胁迫或皮质醇处理均可导致幼年银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)的血液白细胞数量下降^[55],但却升高了这些细胞在胸腺和头肾中的数量^[56]。Harris等^[57]也观察到类似现象;原因之二可能是皮质醇会导致B细胞的凋亡^[58-59];第三种原因正如Espelid等^[53]所提出的,慢性胁迫后淋巴细胞数量的减少可能是皮质醇抑制其增值的结果,与在白齿海鲷(*Pleuronectes platessa*)^[60],斑点叉尾鮰(*I. punctatus*)^[54],北欧锥齿鲷(*Limanda limanda*)^[61]和鲤^[58]中所观察到的结果类似。

急性胁迫还可导致一个瞬时的、非特异性的嗜中性粒细胞增多。对北欧锥齿鲷的观察也发现了类似的情况。Pulsford等^[61]推测其原因可能是白细胞从脾脏向外周血迁移所导致,或者是嗜中性粒细胞从骨髓库被动员以增加白细胞由血管向组织的血球渗出作用。

高密度的另一个重要影响就是血液浓缩作用(Haemoconcentration),拥挤会导致金头鲷红血球压积(单位体积全血所含有的红细胞体积),血红蛋白含量、红细胞数量以及血浆总蛋白浓度增加^[49],克林雷氏鲷(*Rhamdia quelen* Q. et G.)在高密度胁迫环境中红细胞数量上升了2倍^[6],红细胞增多症(Polycythemia)作为对氧需求提高的细胞水平的反应,在高密度环境中的囊鳃鲷(*Heteropneustes fossilis* Bloch)中也曾被观察到^[62]。这种现象可能与高能量需求情况下血液的输氧能力增强有关,而红细胞数量的增加可能是由其储存库——脾脏释放入血所导致的^[61]。也有例外情况,如金鱼(*Carassius auratus*)在放养密度提高的情况下,它的血细胞比容却降低了,同时伴随着红细胞形态的改变^[48]。

血细胞的改变、血液生化成分的改变可能对胁迫因子的存在有指示作用。如有毒化学物质、超量

有机物、拥挤、运输和捕捉等。因此对血液学参数的评价对鱼类病理和生理状态的诊断有很重要的意义。目前对这些工具尚缺乏有效的利用,因为正常指标以及它的置信区间对于不同物种和不同的养殖环境而言是不确定的。

3.2 密度对血液生化成分的影响

高密度一般会导致血糖含量升高。Coulson等^[63]认为急性胁迫所导致的血糖快速上升是儿茶酚胺分泌急性增加的结果;另外,皮质醇作为影响碳水化合物代谢的激素^[3],其分泌增加也会激活糖异生作用^[47]而促进葡萄糖的生成。血浆皮质醇对葡萄糖生成的促进作用是直接通过促进糖异生还是间接通过调节儿茶酚胺或胰岛素来作用于糖代谢,目前还存在争议。但也有研究表明,虽然长期密度胁迫导致皮质醇水平的升高,但血糖水平并没有受到显著影响^[22]。可见拥挤胁迫环境中血糖浓度的调节是其他激素与皮质醇共同作用的结果。

虹鳟鱼血液蛋白水平同养殖密度存在显著的负相关关系,血液中肝毒素指数和自由脂肪酸的含量在高密度水平下明显升高,而血浆中血糖和甘油三酯的含量明显降低^[33]。密度胁迫会导致血浆氯化物浓度降低^[26,31]。然而,对拥挤胁迫下虹鳟的系列研究发现,血糖浓度、血液氯化物含量以及血液乳酸浓度与密度并没有直接而必然的联系^[64]。

由此看来,密度胁迫可对鱼类血液学指标造成诸多方面的影响,但从有关研究的结果来看,很难选择一个能够准确反映动物内环境变化和胁迫因子关系的指标。

4 密度对组织学的影响

Rosenthal等^[65]发现虹鳟初级鳃瓣长度及脾脏的大小随密度的升高显著降低,其原因可能与高密度所导致的水质恶化有关,而胸腺指数(胸腺质量/体质量)随密度的升高而升高^[66]。草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)在遭受拥挤胁迫后,脾脏指数(脾脏质量/体质量)显著降低。脾脏是鱼类重要的免疫器官,脏器指数的降低,表明其免疫功能的下降。高密度环境中草鱼肝脏的抗坏血酸含量也显著降低^[5]。

高密度可导致肝质量和HSI(肝脏系数)的降低,这种高密度所引起的HSI的下降在虹鳟^[29]和溪红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)^[23]中都曾经观察到。可能是大量动用肝脏储存脂肪的结果。

5 密度对免疫反应的影响

大多数疾病可能不是由环境胁迫直接造成的,但胁迫作用可能是一个诱因,使其免疫功能受到抑制,对环境变化敏感性升高,对病原的易感性增加,从而导致动物生病或死亡。因此,对高密度种群中动物的免疫状态进行研究是十分必要的。

5.1 密度对非特异性免疫功能的影响

当病原穿过动物的生理屏障后,它所面对的第一道防御机制便是非特异性免疫系统。化学防御机制可直接对病原微生物发起攻击,或对其进行调理,以便特异性免疫系统的细胞防御机制对其进行破坏。因此动物的非特异性免疫系统对疾病的抵抗是非常重要的,并且有必要给予更多关注。

5.1.1 溶菌酶 溶菌酶是一种具有抗菌活性(尤其对革兰氏阳性菌)的蛋白,通过溶解细菌的细胞壁达到杀菌的作用。因此,溶菌酶作为非特异性免疫的一种重要构成成分在抵御病原微生物入侵方面起着重要作用。**Wang**等^[67]的实验结果证实,鲫鱼(*Carassius auratus*)血清溶菌酶活性在拥挤胁迫3 d后略有升高,之后下降,在胁迫期间一直表现为抑制状态,因此而提出急性密度胁迫会导致血清溶菌活性上升,而慢性密度胁迫则会抑制其活性的观点。**Rotllant**等^[68]却发现赤鲷(*P. pagrus*)拥挤胁迫16 d后表现为活性的显著增强。相似结果也出现在**Montero**等^[49]和**Roed**等^[69]的报道中。这种胁迫所导致的溶菌酶活性的无规律变化可能是由于胁迫强度的不同所造成的。如**Yin**等^[70]发现严重的生理性刺激如运输会降低虹鳟(*O. mykiss*)和鲤鱼的(*C. carpio*)的溶菌酶活性,而较小强度的抓捕胁迫仅会导致溶菌酶或升高或降低这种无规律的变化状态^[71]。溶菌酶活性变化的不同不仅依赖于胁迫强度,可能与所研究对象的种类和它们的身体状况也有关系。

5.1.2 吞噬活性 **Ortuño**等^[20]报道金头鲷(*S. aurata*)暴露于100 kg/m³密度下2 h,其头肾吞噬活性下降,并分别于第3天和第2天后恢复。但呼吸爆发始终未受影响。头肾白细胞吞噬能力的损耗可能是胁迫引起的吞噬细胞由头肾向血液循环的迁移所导致。

5.1.3 溶血活性 补体系统是非特异性免疫功能的重要组成部分,在对真菌、细菌和病毒的清除中具

有非常重要的作用^[4]。溶血活性反映了补体介导的机体对抗外界抗原的能力。拥挤胁迫后,旁路补体途径介导的溶血活性(ACP活性)在一些物种如鲤^[70],金头鲷(*S. aurata*)^[49,72-73]和赤鲷(*P. pagrus*)^[68]中观察到有显著降低的现象。由此可见,高密度一般导致ACP活性的下降。血浆中皮质醇浓度的上升可能是导致补体活性下降的原因^[4,70]。胁迫激素对细胞因子的分泌产生调节作用,而这些细胞因子可增强肝脏对蛋白包括补体成分的合成。据此推测,胁迫激素可能是通过抑制或激活细胞因子而对补体因子的合成起抑制作用的。

Tort等^[4]和**Ortuño**等^[20]还发现拥挤胁迫所导致的ACP活性在由抑制到重新恢复平衡的过程中,会出现超补偿现象,这种现象在哺乳动物中也已经得到确认,可能是内分泌和免疫共同调节的结果^[74]。

5.1.4 血细胞凝集反应 天然血细胞凝集反应在鱼类的非特异防御中发挥着重要作用。赤鲷(*P. pagrus*)拥挤胁迫9 d后血细胞凝集反应滴度降低,但16 d后恢复^[68]。**Tort**等^[4]的实验结果也表明拥挤胁迫会导致金头鲷(*S. aurata*)血球凝集活性下降。而在**Montero**等的实验中,金头鲷(*S. aurata*)凝集活性在高密度条件下没有改变^[49]。

5.2 密度对特异性免疫功能的影响

与非特异性免疫功能相比较,对拥挤胁迫条件下特异性免疫功能变化的研究相对较少。**Collins**等^[75]在对斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)的密度胁迫研究中发现,171 g/L的密度胁迫条件并没有明显改变其对灭活的肠道菌的特异性体液免疫反应。最近在香鱼的养殖中,黄质菌属的*Flavobacterium psychrophilum*所引起的冷水疾病是一个十分严重的问题,高密度会导致血浆IgM浓度下降,推测可能由于高饲养密度胁迫导致了鱼体免疫能力的降低而使香鱼易感性增加^[76]。

5.3 密度影响免疫的机制

在受到环境胁迫后,动物体内皮质类固醇激素浓度升高(肾上腺皮质激素分泌活性升高)是造成动物抗病力下降的主要原因^[30,77]。血浆中皮质醇浓度的升高会导致鱼类免疫功能受到抑制,导致对疾病的易感性升高^[47]。而**Montero**等对幼年金头鲷(*S. aurata*)的密度胁迫研究表明,皮质醇浓度的适度上升对免疫并没有产生影响^[49]。儿茶酚胺作为另一种胁迫激素也会对免疫状态造成影响。在哺乳

动物中已发现,儿茶酚胺会抑制有丝分裂原对淋巴细胞的增殖作用^[78]。但是,在鱼类中免疫功能所受到的影响主要是与皮质类固醇有关^[56]。而且已经有人在鱼的淋巴细胞上找到了皮质类固醇的受体,并且他们发现,在急性、长期胁迫或皮质醇处理下,白细胞和淋巴组织中肾上腺皮质激素的受体均出现变化^[79]。

6 与密度有协同作用的因子及其作用

在自然种群或实际养殖过程中,许多胁迫因子往往是同时发挥作用的,如密度胁迫往往与营养缺乏、个体间的相互作用以及水质的恶化相伴随,这些因子或者同时,或者相继联合作用于生物体,导致叠加或协同效应。近年来,已有很多文献报道了与密度协同作用的一些生态因子的作用。

6.1 营养

Montero 等^[80]的研究表明,在拥挤胁迫条件下,饲料中缺乏 α -生育酚和 $n-3$ 不饱和脂肪酸,可导致金头鲷旁路补体途径溶血活性显著低于饲喂正常饲料的对照组,血浆总蛋白浓度也显著下降。而 Montero 等^[81]的研究表明,饲料中添加维生素 C 和维生素 E 可以缓解拥挤胁迫所导致的幼年金头鲷 (*S. aurata*) 的溶菌酶活性升高。

6.2 麻醉剂

麻醉剂在水产养殖业中经常被用于降低运输过程中的拥挤对鱼类造成的胁迫。而其本身又具有副作用。Ortuño 等^[73]发现当 $60 \mu\text{L/L}$ 剂量 2-苯氧乙醇 (2-phenoxyethanol) 作用于拥挤状态的金头鲷 (*S. aurata*) 后可显著抑制拥挤所造成的皮质醇浓度升高和头肾白细胞吞噬活性下降,但 $200 \mu\text{L/L}$ 剂量 2-苯氧乙醇则会加剧拥挤所造成的胁迫反应。Cuesta 等^[82]也发现用低剂量麻醉剂 2-苯氧乙醇和拥挤胁迫先后处理可以解除拥挤胁迫所导致的对 NCC (天然细胞毒作用, Natural cytotoxic activity) 活性的抑制作用,而高剂量却并无此作用。

7 小结

高密度对集群性生物和非集群生物有不同的作用效果。对于集群性生物而言,保持适当高的密度有利于其生长和摄食以及正常行为状态的保持。但对非集群生活的生物来说,高密度往往导致种内斗争加剧,能耗增加,摄食下降,生长受到抑制。对拥挤胁迫的应激反应在生理上的表现为血液中白细胞

和红细胞数量发生变化,血液化学成分如血糖和皮质醇浓度升高,血脂下降,肝脏和脾脏指数明显降低,免疫功能受到抑制。对密度胁迫的研究多集中于鱼类,其他水生动物对密度胁迫的反应是否与鱼类相同,有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Pickering A D, Pottinger T G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1989, 7: 253–258.
- [2] Procarione L S, Barry T P, Malison J A. Effect of high rearing density and loading rates on the growth and stress response of juvenile rainbow trout [J]. *N Am J Aquac*, 1999, 61: 91–96.
- [3] Vijayan M M, Leatherland J F. Effects of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis* [J]. *Aquaculture*, 1988, 75: 159–170.
- [4] Tort L, Sunyer J O, Gomez E, et al. Crowding stress induces changes in serum haemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream, *Sparus aurata* [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1996, 51: 170–188.
- [5] 李爱华. 拥挤胁迫对草鱼血浆皮质醇、血糖及肝脏中抗坏血酸含量的影响 [J]. *水生生物学报*, 1997, 21 (4): 384–386.
- [6] Barcellos L J, Kreutz L C, de Souza C. Hematological changes in jundi (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects [J]. *Aquaculture*, 2004, 237: 229–236.
- [7] Greaves K, Tuene S. The form and context of aggressive behaviour in farmed Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2001, 193: 139–147.
- [8] Huntingford F A, Metcalfe N B, Thorpe J E, et al. Social dominance and body size in Atlantic salmon parr, *Salmo solar* L [J]. *J Fish Biol*, 1990, 36 (6): 877–881.
- [9] Koebele B P. Growth and the size hierarchy effect: an experimental assessment of three proposed mechanisms: activity differences, disproportional food acquisition, physiological stress *Environmental* [J]. *Biol Fishes*, 1985, 12 (3): 181–188.
- [10] Bjorndal K A, Bolten A B, Chaloupka M Y. Green Turtle Somatic Growth Model: Evidence For Density [J]. *Ecol Appl*, 2000, 10 (1): 269–282.
- [11] Kristiansen T S, Fernö A, Holm J C, et al. Swimming behaviour as an indicator of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared at three stocking densities [J]. *Aquaculture*, 2004, 230: 137–151.
- [12] Spruijt B M, Van den Bos R, Pijlman F T A. A concept of welfare based on reward evaluating mechanisms in the brain: anticipatory behaviour as an indicator for the state of reward systems [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 2001, 65: 255–271.
- [13] Leatherland J F. Stocking density and cohort sampling effects on

- endocrine interactions in rainbow trout [J]. *Aquac Int*, 1993, 1 (2): 137–156.
- [14] Papoutsoglou S E, Papaparaskeva-Papoutsoglou E G, Dendrinos P K. Studies on the effect of density on body composition, growth rate and survival of rainbow trout fry, reared in semiclosed system [J]. *Thalassographica*, 1979, 1: 43–56.
- [15] Marchand F, Boisclair D. Influence of fish density on the energy allocation pattern of juvenile brook trout (*Salvelinus fontinalis*) [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1998, 55 (4): 796–805.
- [16] Keenleyside M H A. *Diversity and Adaptation in Fish Behaviour* [M]. New York: Springer Verlag, 1979.
- [17] Kindschi G A, Smith C E, Koby R F Jr. Performance of two strains of rainbow trout reared at four densities with supplemental oxygen [J]. *Progr Fish-Cult*, 1991, 53: 203–209.
- [18] Holm J C, Tuene S A, Fosseidengen J E. Halibut behaviour as a means of assessing suitability of ongrowth systems // [C]. ICES CM 1998 /L: 4 (mimeo).
- [19] Mommsen T P, Vijayan M M, Moon T W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation [J]. *Rev Fish Biol Fish*, 1999, 9: 211–268.
- [20] Ortu o J, Esteban M A, Meseguer J. Effects of short-term crowding stress on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response [J]. *Fish Shellf Immunol*, 2001, 11 (2): 187–197.
- [21] Barcellos L J, Nicolaiewsky S, Souza S M G, et al. The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquac Res*, 1999, 30: 887–892.
- [22] Rotllant J, Tort L. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress [J]. *J Fish Biol*, 1997, 51 (1): 21–28.
- [23] Vijayan M M, Leatherland J F. High stocking density affects cortisol secretion and tissue distribution in brook charr (*Salvelinus fontinalis*) [J]. *J Endocrinol*, 1990, 124: 311–318.
- [24] Barton B A, Schreck C B, Sigismondi L A. Multiple acute disturbances evoke cumulative physiological stress responses in juvenile chinook salmon [J]. *Transact Am Fish Soc*, 1986, 115: 245–251.
- [25] 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: 191–204.
- [26] da Rocha R M, Carvalho E G, Urbinati E C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) [J]. *Aquac Res*, 2004, 35 (3): 245–249.
- [27] Schreck C, Reynaldo P, Cynthia K P, et al. Effect of rearing density on indices of smoltification and performance of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* [J]. *Aquaculture*, 1985, 45: 345–358.
- [28] Kiaartansson H, Fivelstad S, Thomassen J M, et al. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult atlantic salmon reared in circular tanks [J]. *Aquaculture*, 1988, 73: 261–274.
- [29] Leatherland J F, Cho C Y. Effect of rearing density on thyroid and interrenal gland activity and plasma and hepatic metabolite levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. *J Fish Biol*, 1985, 27 (5): 583–592.
- [30] 李亚南, 陈全震, 邵健忠, 等. 鱼类免疫学研究进展 [J]. *动物学研究*, 1995, 16 (1): 83–94.
- [31] Kebus M J, Collins M T, Brownfield M S, et al. Effects of rearing density on the response and growth of rainbow trout [J]. *J Aqu Anim Health*, 1992, 4: 1–6.
- [32] Couch J A, Fournie J W. *Pathobiology of Marine and Estuarine Organism* [M]. Boca Raton USA: CRC Press Inc, 1993: 333–347.
- [33] Leatherland J F. Studies of the correlation between stress response, osmoregulation and thyroid physiology in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1985, 80: 523–531.
- [34] Van Weerd J H, Komen J. The effect of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1998, 120A: 107–112.
- [35] Foss A, Siikavuopio S I, Sæther B S, et al. Effect of chronic ammonia exposure on growth in juvenile Atlantic cod [J]. *Aquaculture*, 2004, 237: 179–189.
- [36] Elsey R M, Joanen T, McNease L, et al. Growth rate and plasma corticosterone levels in juvenile alligators maintained at different stocking densities [J]. *J Exp Zool*, 1990, 255 (1): 30–36.
- [37] Kjartansson J, Lundeberg T, Samuelson U E, et al. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) increase cutaneous blood flow in a musculo-cutaneous flap in the rat [J]. *Acta Physiol Scand*, 1988, 134 (1): 89–94.
- [38] Ørgensen E H, Jobling M. Feeding in darkness eliminates density-dependent growth suppression in Arctic charr [J]. *Aquac Intern*, 1993, 1 (1): 90–93.
- [39] Papoutsoglou S E, Tziha G, Vrettos X, et al. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system [J]. *Aquac Engin*, 1998, 18: 135–144.
- [40] Papoutsoglou S E. Impact of aquaculture on the aquatic environment in relation to applied production systems [M] // De Pauw, N, Joyce J. *Aquaculture and the Environment: reviews of the International Conference Aquaculture Europe '91*, Dublin, Ireland, June 10–12, 1991. EAS Special Publication, 1991, 16: 71–78.
- [41] Howell B R. The effect of stocking density on growth and size variation in cultured turbot, *Scophthalmus maximus*, and sole, *Solea solea* [M]. ICES C. M. 1998 /L: 10 (mimeo).
- [42] Ross R M, Watten B J. Importance of rearing-unit design and stocking density to the behavior, growth and metabolism of lake trout (*Salvelinus namaycush*) [J]. *Aquac Eng*, 1998, 19 (1): 41–56.

- [43] Soderberg R W, Krise W F. Effects of Rearing Density on Growth and Survival of Lake Trout[J]. *Progr Fish-Cult.* 1986, 48: 30 – 32.
- [44] Bonga W S E. The stress response in fish[J]. *Physiol Rev*, 1997, 77: 591 – 625.
- [45] Thierry B, Laurent L, Beno t A. Feeding behaviour, energy expenditure and growth of rainbow trout in relation to stocking density and food accessibility [J]. *Aquac Res*, 2002, 33 (15): 1 233 – 1 242.
- [46] Wang N, Hayward R, Noltie D B. Effects of Social Interaction on Growth of Juvenile Hybrid Sunfish Held at Two Densities[J]. *N Am J Aquac*, 2000, 62: 161 – 167.
- [47] Barton B A, Iwama G K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids[J]. *Annu Rev Fish Dis*, 1991, 10: 3 – 26.
- [48] 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), 261 – 274.
- [49] Montero D, Izquierdo M S, Tort L, et al. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles[J]. *Fish Physiol Biochem*, 1999, 20: 53 – 60.
- [50] Izquierdo M S. Essential fatty acid requirements of marine fish larvae[J]. *Aquacult Nutr*, 1996, 2: 183 – 191.
- [51] Greene D H, Selivonchick D P. Lipid metabolism in fish[J]. *Prog Lipid Res*, 1987, 26 (1): 53 – 85.
- [52] Pickering A D, Stewart A. Acclimation of the interrenal tissue of the brown trout, *Salmo trutta* L., to chronic crowding stress [J]. *J Fish Biol*, 1984, 24 (6): 731 – 740.
- [53] Espelid S, Løkken G B, Steiro K, et al. Effects of cortisol and stress on the immune system in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 1996, 6 (2): 95 – 110.
- [54] Ellsaesser C F, Clem L W. Cortisol-induced hematologic and immunologic changes in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1987, 87 (2) A: 405 – 408.
- [55] Pickering A D, Pottinger T G. Crowding causes prolonged leucopenia in salmonid fish, despite interrenal acclimation[J]. *J Fish Biol*, 1987, 30: 701 – 712.
- [56] Maule A G, Schreck C B. Changes in Numbers of Leukocytes in Immune Organs of Juvenile Coho Salmon after Acute Stress or Cortisol Treatment[J]. *J Aquac An Health*, 1990, 2 (4): 298 – 304.
- [57] Harris J, Bird D J. Modulation of the fish immune system by hormones[J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2000, 77 (3 – 4): 163 – 176.
- [58] Weyts F A A, Verburg-van Kemenade B M L, Flik G, et al. Conservation of apoptosis as an immune regulatory mechanism: effects of cortisol and cortisone on carp lymphocytes[J]. *Brain Behav Immun*, 1997, 11 (2): 95 – 105.
- [59] Verburg-van Kemenade B M L, Nowak B, et al. Differential effects of cortisol on apoptosis and proliferation of carp B-lymphocytes from head kidney, spleen and blood [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 1999, 9 (5): 405 – 415.
- [60] Grimm A S. Suppression by cortisol of the mitogen-induced proliferation of peripheral blood leucocytes from plaice, *Pleuronectes platessa* L. [M] // M. J. Manning and M. F. Tatner. *Fish Immunology*. London: Academic Press, 1985: 263 – 271.
- [61] Pulsford A L, Lemaire-Gony S, Tomlinson M, et al. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1994, 109 (2) C: 129 – 139.
- [62] Srivastava S, Sahai I. Effects of loading density on carbohydrate metabolism and hematology in the Indian freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* [J]. *Aquaculture*, 1987, 66: 275 – 286.
- [63] Coulson R A, Hernandez T. Alligator metabolism. studies on chemical reactions in vivo [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1983, 74 (1) B: 1 – 182.
- [64] Ellis T, North B, Scott A P, et al. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout [J]. *J Fish Biol*, 2002, 61: 493 – 531.
- [65] Rosenthal H, Hansen P D, Peters G, et al. Water quality in relation to simulated stocking density and its effect on rainbow trout [M]. *ICES-CM-1984 / F*: 19, 13.
- [66] Wagner E J, Intelmann S S, Routledge M D. The effects of rearing density on hatchery performance: fin condition, and agonistic behaviour of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fry [J]. *J World Aquac Soc*, 1996, 27: 264 – 274.
- [67] Wang W, Wang J, Li A, Cai T. Changes of cortisol and lysozyme levels in *Carassius auratus* blood after crowding stress and the fish sensitivity to pathogen [J]. *J Fish Sci China*, 2004, 11 (5): 408 – 412.
- [68] Rotllant J, Pavlids M, Kentouri M. Non-specific immune system responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress [J]. *Aquaculture*, 1997, 156: 279 – 290.
- [69] Roed K H, Larsen H J S, Linder R D, et al. Genetic variation in lysozyme activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 1993, 109: 237 – 244.
- [70] Yin Z, Lam T J, Sin Y M. The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy carp *Cyprinus carpio* L [J]. *Fish Shellf Immunol*, 1995, 5: 519 – 529.
- [71] Möck A, Peters G. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution [J]. *J Fish Biol*, 1990, 37: 873 – 885.
- [72] Sunyer J O, Tort L. Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway [J]. 1995, 45 (3 – 4): 333 – 345.
- [73] Ortuño J, Esteban MA, Meseguer J. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2002, 12: 49 – 59.
- [74] Balm, PHM. Immune-endocrine interactions [M] // GK Iwama, AD Pickering, JP Sumpter, and CB. Schreck, *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge Cambridge University Press. UK, 1997: 195 – 222.
- [75] Collins MT, Dawe DL, Gratzek JB. Immune response of channel

- catfish under different environmental conditions [J]. J Am Vet Med Assoc. 1976, 169 (9): 991–994.
- [76] Iguchi K, Ogawa K, Nagae M. The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*) Fuminari Ito [J]. Aquaculture. 2003, 220: 515–523.
- [77] Pickering A D, Pottinger T G. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta* L., to disease without reducing the white blood cell count [J]. J Fish Biol. 1985, 27 (5): 611–619.
- [78] Khansari D N, Murgo A J, Faith R E. Effects of stress on the immune system [J]. 1990, 11 (5): 170–175.
- [79] Maule A G, Schreck C B. Stress and cortisol treatment changed affinity and number of glucocorticoid receptors in leucocytes and gill on coho salmon [J]. Gen Comp Endocrinol. 1991, 84: 83–93.
- [80] Montero D, Tort L, Izquierdo M S, et al. Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies [J]. Fish Physiol Biochem. 1998, 18: 399–407.
- [81] Montero D, Marrero M, Izquierdo M S, et al. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream *Sparus aurata* juveniles subjected to crowding stress [J]. Aquaculture. 1999, 171 1999 269–278.
- [82] Cuesta A, Esteban M Á, Meseguer J. Effects of different stressor agents on gilthead seabream natural cytotoxic activity [J]. Fish Shellf Immunol. 2003, 15: 433–441.

Effects of stocking density stress on aquatic animals: a review

CHEN Xin-ran^{1,2}, NIU Cui-juan², PU Li-jun³

(1. Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100039, China; 2. Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 3. Life Sciences and Biotechnology Institute, Heilongjiang August First Reclamation University, Daqing 163319, China)

Abstract: Stocking density (StD) is one of the most important research fields in aquatic population ecology. The present paper summarized the influences of StD on the characteristics of behavior, endocrine, growth, metabolism, hematology and immune function in aquatic animals, and probed into the mechanism of how StD has the effects from the aspects of neuroendocrinology, hematology, and immunology, etc, which aimed to contributing to new investigation production. The propose of this review is to provide systimatic and theroeric base for further more investigation and research in this field. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (7): 138–146]

Key words: Aquatic animals; stocking density; stress; research progress

Correspondence author: NIU Cui-juan. E-mail: cjniu@bnu.edu.cn