

密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长、代谢及非特异性免疫的影响

薛宝贵 楼宝* 徐冬冬 史会来 毛国民 程国宝 詹炜

(浙江省海洋水产研究所 浙江省海水增殖重点实验室, 舟山 316100)

摘要 随机选取体质量为 10.0~10.7g 的黄姑鱼 *Nibea albiflora* 幼鱼 450 尾, 设置 4 个养殖密度, 依次为 15 尾/缸 (1.49 kg/m^3)、30 尾/缸 (3.00 kg/m^3)、45 尾/缸 (4.84 kg/m^3)、60 尾/缸 (5.81 kg/m^3), 研究密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长性能、代谢酶活性及非特异性免疫的影响。结果表明: 1) 养殖密度对黄姑鱼幼鱼的增重率没有显著性影响 ($P > 0.05$)。特定生长率具有与增重率相类似的变化规律。饵料系数与养殖密度呈显著的负相关性: $FCR = 0.02G + 0.11$ ($n = 15, R^2 = 0.983, F < 0.05$)。2) G_{60} 组乳酸脱氢酶活性最高并显著高于 G_{15} 组、 G_{30} 组 ($P < 0.05$)。随着养殖密度的增大, 谷丙转氨酶活性有逐渐增大的趋势 ($P > 0.05$)。谷草转氨酶活性具有与谷丙转氨酶相类似的变化规律。3) 随着养殖密度的增大, 血清溶菌酶活性呈现逐渐降低的趋势, G_{60} 组血清溶菌酶活性最低并显著低于其他 3 组 ($P < 0.05$)。密度胁迫对血清补体 C3、C4 含量的影响均不显著 ($P > 0.05$)。本研究表明, 养殖密度过高会对黄姑鱼幼鱼的代谢及非特异性免疫造成负面影响, 而养殖密度过低又会造成水资源的浪费, 30 尾/缸 (3.00 kg/m^3) 为较适宜的养殖密度。

关键词 黄姑鱼 密度胁迫 生长 代谢 非特异性免疫

中图分类号 S965.335 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2013)02-0045-07

Impact of density stress on growth, metabolism and non-specific immune functions of juvenile *Nibea albiflora*

XUE Bao-gui LOU Bao* XU Dong-dong SHI Hui-lai
MAO Guo-min CHENG Guo-bao ZHAN Wei

(Zhejiang Province Key Laboratory of Mariculture and Enhancement, Marine Fishery Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316100)

ABSTRACT Four hundred and fifty *Nibea albiflora* juveniles (10.0~10.7g) were randomly distributed in four experimental treatments at different culture densities: 15 ind/tank (1.49 kg/m^3), 30 ind/tank (3.00 kg/m^3), 45 ind/tank (4.84 kg/m^3), and 60 ind/tank (5.81 kg/m^3). A 30-day feeding experiment was conducted to investigate the impact of density stress on growth performance, feed coefficient, plasma complement of C3 and C4, and activity of related enzymes of the fish. Weight gain (WG) did not show significant differences among treatments.

浙江省科技计划项目(2009C12081; 2010F20006)资助

* 通讯作者。E-mail: loubao6577@163.com

收稿日期: 2012-04-03; 接受日期: 2012-05-16

作者简介: 薛宝贵(1984-), 男, 硕士, 助理工程师, 主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail: xbgmyfuture@126.com, Tel: 15185191055

The trend of specific growth rate (SGR) was similar to that of WG. Feed conversion rate (FCR) increased with the increasing density. FCR of G₆₀ was the highest and significantly higher than the other treatments ($P < 0.05$). (2) Activity of lactic dehydrogenase (LDH) in G₆₀ was the highest and significantly higher than other treatments ($P < 0.05$). Glutamic pyruvic transaminase (GPT/ALT) activity increased with the increase of density, while there were no significant differences among the treatments ($P > 0.05$). Similar trend was found in activity of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT/AST). (3) The activity of lysozyme in serum decreased with the increase of density. The activity of lysozyme in G₆₀ was the lowest and significantly lower than the other treatments ($P < 0.05$). Both complement of C3 and C4 in G₃₀ were the highest, but they were not significantly affected by density ($P > 0.05$). This study indicated that high stocking density may impact metabolism and non-specific immune functions of juvenile *N. albiflora*, while low stocking density would suffer a great waste of water resource. Thirty individuals per tank (3.00 kg/m³) was considered to be a suitable stocking density.

KEY WORDS *Nibea albiflora* Density stress Growth Metabolism
Non-specific immune functions

在鱼类的养殖生产中,养殖户往往通过提高养殖密度来寻求更高的经济效益。高密度养殖可最大限度地利用水体,提高单位面积鱼产量,但同时存在着因养殖密度过高而造成的胁迫应激反应(张天时等 2008; 逯尚尉等 2011)。许多研究都表明,养殖密度与鱼类的成长及存活显著相关,如吴江泉等(2010)研究发现,高密度养殖会导致条石鲷的增长率下降,饵料系数升高;Barcellos等(2004)指出,养殖密度过高会导致克林雷氏鲶的生长性能由于对空间和食物的竞争而显著下降;另一方面,高密度养殖还会导致鱼类机体的免疫防御功能受到抑制,增加鱼体感染疾病的可能性。当鱼类受到密度胁迫时,会引起其体内溶菌酶和补体 C3、C4 等非特异性免疫因子的变化,如在鲤鱼(Yin *et al.* 1995)和史氏鲟(聂芬等 2007)等鱼类中,研究发现密度胁迫会导致其体内溶菌酶和补体活性的明显下降。因此,在鱼类养殖过程中寻求最适的养殖密度就显得极为重要。

黄姑鱼 *Nibea albiflora* (Richardson) 主要分布于中国沿海、朝鲜半岛及日本南部海域,是我国传统渔业的主要捕捞对象之一,也是一种具有较高开发价值的优质经济鱼类。近年来,由于过度捕捞造成渔业野生资源的逐步衰退,加之不断发展的市场需求,黄姑鱼的人工养殖逐渐兴起。随着集约化养殖的发展,以及水循环系统的应用,鱼类养殖过程中的密度胁迫也较为常见。然而,目前国内外关于黄姑鱼幼鱼对密度胁迫的适应机制研究鲜有公开报道,仅杨威(2004)指出,鲩状黄姑鱼网箱养殖的放养规格和养殖成活率关系密切,且放养密度与生长性能也密切相关。近年来黄姑鱼淀粉卵甲藻病的暴发给养殖户带来了巨大的损失,而高密度养殖也是淀粉卵甲藻病的重要诱因之一(Smith *et al.* 1994)。因此,开展养殖密度对黄姑鱼生长性能、代谢及非特异性免疫的研究能够为其健康养殖提供必要的指导。本研究探讨了不同养殖密度对黄姑鱼幼鱼生长性能、血清代谢酶及非特异性免疫指标的影响,以期为进一步研究黄姑鱼在不同密度胁迫下的适应机制提供参考,并为黄姑鱼工厂化养殖提供相应的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

试验于 2011 年 7~8 月在浙江省海洋水产研究所西闪岛试验场进行。试验用鱼为同一批次受精卵经人工繁殖获得的 2 月龄黄姑鱼幼鱼,随机挑选健康、体重为 10.0~10.7g 的实验鱼。实验用容器为 64.5cm ×

44.5cm×32.3cm的实验缸,实验用水为经砂滤的自然海水,水温 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$,盐度 26 ± 0.5 ,pH 7.5~8.2。

1.2 实验设计

试验共设4个密度组(记为 G_{15} 、 G_{30} 、 G_{45} 、 G_{60}),初始养殖密度分别为15、30、45、60尾/缸,分别相当于1.49、3.00、4.84、5.81 kg/m³,每组设置3个重复。按预设的密度将实验鱼放入实验缸中,暂养7d待实验鱼正常摄食后开始试验。试验共进行30d,期间24h连续充气,溶解氧水平保持在5mg/L以上。采用24h流水养殖模式,随着养殖密度的增大,流水的速度也加大,以保证试验期间的养殖水指标在安全阈值内(其中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 为0.01~0.05mg/L, $\text{NO}_2\text{-N}$ 为0.05~0.10mg/L)。

1.3 饵料投喂

试验期间日投喂两次(08:00和16:00),饵料选用韩国am生物有限公司生产的Aller Aqua 505型配合饲料(粗蛋白 $\geq 50\%$,粗脂肪 $\geq 16\%$,粗纤维 $\leq 3\%$,粗灰分 $\leq 10\%$),采取缓慢投喂的方法,直到实验鱼不摄食为止,记录每天各个组别实验鱼的摄食量,每次投喂后30min将实验缸中的粪便吸出,各实验组投喂管理一致。

1.4 样品采集

实验结束时,每个实验缸中随机取出5尾鱼测定体长、体重,尾静脉采血,置于 4°C 冰箱中静置6h,3000r/min离心10min后取血清,并将血清置于冰盒中带回实验室 -80°C 冰箱保存。采样前将鱼置于200mg/L的MS-222中做深度麻醉,避免采样时人为因素对鱼的刺激。

1.5 分析方法

1.5.1 生长性能的测定

分别在实验开始和结束时测定黄姑鱼的体重,计算出平均体重,然后根据公式计算增重率(WG)和特定生长率(SGR)。计算实验期间各组别摄食饵料的总质量,然后根据幼鱼的体重计算饵料系数(FCR)。

1.5.2 血清代谢酶活性的测定

实验中测定血清代谢酶活性所用的试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.5.3 血清溶菌酶及补体C3和C4测定

血清溶菌酶活性采用试管比浊法测定,以溶壁微球菌冻干粉为底物,按照南京建成生物工程研究所生产的试剂盒所提供的使用说明书进行。

补体C3或C4的含量采用免疫浊度法测定,分别按照南京建成生物工程研究所生产的试剂盒要求进行。

1.6 数据处理及统计分析

体重增重率(WG)、特定生长率(SGR)和饵料系数(FCR)的计算参照公式: $\text{WG}(\%)=100(W_t-W_0)/W_0$; $\text{SGR}(\%)=100(\ln W_t-\ln W_0)/t$; $\text{FCR}=W_f/[\ln(W_t-W_0)]$

式中, n 为实验个体数量, W_f 为饲料总摄食量, t 为实验天数, W_t 为实验开始时实验鱼的平均体质量, W_0 为实验结束时实验鱼的平均体质量。

实验数据采用SPSS 13.0统计软件,实验结果用平均值±标准误来表示,用单因子方差分析和Duncan's多重比较进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长性能的影响

各实验组黄姑鱼幼鱼生长性能统计如表1所示。经过30d的实验,各组终末体重无显著性差异($P>0.05$)。 G_{30} 组的增重率最高, G_{45} 组最低,但是密度胁迫对黄姑鱼幼鱼的增重率影响不显著($P<0.05$)。特定

生长率具有与增重率相类似的变化趋势。饵料系数随着养殖密度的增加呈现递增的趋势, G_{60} 组饵料系数最高并显著高于其他 3 个组别 ($P < 0.05$)。以养殖密度为 X 轴, 饵料系数为 Y 轴进行回归分析, 结果显示, 饵料系数与养殖密度呈显著的负相关性: $FCR = 0.02G + 0.11$ ($n = 15, R^2 = 0.983, F < 0.05$)。实验期间各组幼鱼均没有出现死亡情况。

表 1 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼体质量、增重率、特定生长率和饲料系数的影响

Table 1 Effect of density stress on growth performance and feed efficiency of juvenile *Nibea albiglora*

项目 Items	组别 Treatments			
	G_{15}	G_{30}	G_{45}	G_{60}
初始体质量(g) Average initial body weight	10.00 ± 1.95	10.13 ± 1.73	10.74 ± 1.75	10.29 ± 1.98
终末体质量(g) Average final body weight	33.02 ± 4.83	34.74 ± 6.97	34.69 ± 5.97	33.40 ± 6.17
增重率 WG (%)	230.03 ± 45.13 ^a	242.80 ± 35.21 ^a	222.89 ± 56.78 ^a	224.68 ± 72.45 ^a
特定生长率 SGR (%)	3.98 ± 0.28 ^a	4.11 ± 0.38 ^a	3.93 ± 0.36 ^a	3.91 ± 0.42 ^a
饵料系数 FCR	0.40 ± 0.08 ^a	0.68 ± 0.24 ^b	1.12 ± 0.28 ^c	1.26 ± 0.18 ^c
成活率 Survival rate (%)	100	100	100	100

注: 同一行中不同字母表示组间具有差异显著性 ($P < 0.05$)

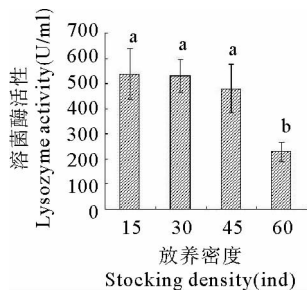
Note: Different superscripts with in the same row indicate significant difference among the treatments ($P < 0.05$)

2.2 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清溶菌酶活性的影响

如图 1, 不同密度养殖 30d 后, 随着养殖密度的增大, 血清溶菌酶活性呈现逐渐降低的趋势, G_{60} 组黄姑鱼血清溶菌酶活性显著低于其他 3 组 ($P < 0.05$)。

2.3 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清补体 C3、C4 含量的影响

如图 2, 不同密度养殖 30d 后, G_{30} 组血清补体 C3、C4 含量均最高, 但密度胁迫对血清补体 C3、C4 含量的影响均不显著 ($P > 0.05$)。

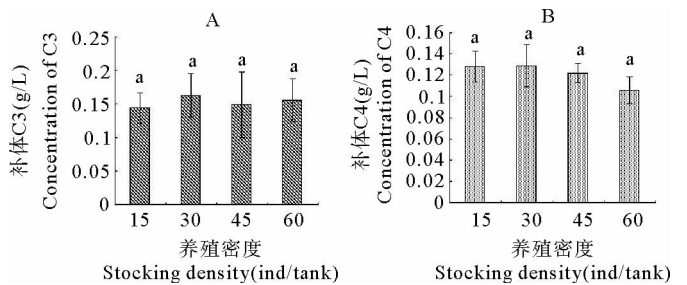


注: 不同字母表示不同组别间差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$)

图 1 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清溶菌酶活性的影响

Fig. 1 Effect of density stress on the lysozyme activity of juvenile *N. albiglora*



注: 不同字母表示不同组别间差异具有显著性 ($P < 0.05$)

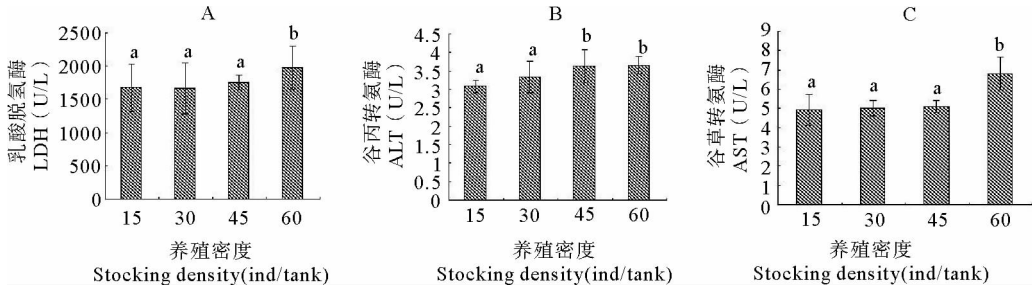
Note: Different letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$)

图 2 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清补体 C3 和 C4 含量的影响

Fig. 2 Effect of density stress on concentration of C3 and C4 of juvenile *N. albiglora*

2.4 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清代谢酶活性的影响

如图3所示,不同密度养殖30d后,随着养殖密度的增大,谷丙转氨酶活性有逐渐增大的趋势。其中, G_{60} 组谷丙转氨酶活性最高, G_{15} 组最小, G_{45} 组与 G_{60} 组显著高于 G_{15} 组与 G_{30} 组($P < 0.05$)。谷草转氨酶活性具有与谷丙转氨酶相类似的变化趋势, G_{60} 组血清谷草转氨酶活性最高并显著高于其他3组($P < 0.05$),血清乳酸脱氢酶活性 G_{30} 组最低, G_{15} 组与 G_{30} 组之间较为接近,差异不显著($P > 0.05$)。 G_{60} 组乳酸脱氢酶活性最高并显著高于其他3个密度组($P < 0.05$)。



注:不同字母表示不同组别间差异显著($P < 0.05$)

Note: Different letters indicate significant difference among treatments($P < 0.05$)

图3 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清代谢酶的影响

Fig. 3 Effect of density stress on LDH, ALT and AST activity of juvenile *N. albiglora*

3 讨论

3.1 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长性能的影响

关于密度胁迫对养殖对象生长的影响前人已做过大量的研究,但是不同的学者关于养殖密度对养殖对象生长的影响有不同的看法。有些学者通过对大眼梭鲈(Fox *et al.* 1990)、俄罗斯鲟(Celikkale *et al.* 2005)等鱼类的研究,认为养殖密度对养殖对象影响较小或几乎没有影响;而有些学者则通过对大西洋鲱(Björnsson 1994)、史氏鲟(李大鹏等 2004)和溪红点鲑(Vijayan *et al.* 1988)等的研究发现,低密度时鱼类生长与密度呈正相关,但当群体达到高密度时,生长与密度则呈负相关。本研究中,养殖密度对黄姑鱼幼鱼的增重率和特定生长率影响差异不显著($P < 0.05$),支持上述第一类学者的观点。有研究指出养殖密度影响生长性能的机制包括水质条件、社会行为及代谢率等(Papoutsoglou *et al.* 2006; 张波等 2002; 李勇等 2011),至于高密度养殖是通过水质恶化还是其他胁迫应激机制来抑制生长还存在争议(Li *et al.* 2011)。Barton(2002)指出,高密度养殖造成的养殖水环境的恶化将会对鱼体的生长造成直接的影响,不考虑水质,鱼类的养殖密度将被作为一种慢性胁迫因子。本研究中采用流水的养殖模式,排除了养殖水体水质条件对黄姑鱼幼鱼生长的影响,在试验30d内其他胁迫应激机制并没有对生长产生显著性影响,这可能支持密度胁迫是通过水质的变化来影响生长的观点。由于本研究持续仅为30d,后续应当延长实验时间,以便更精确地研究密度胁迫这种慢性胁迫因子对生长的影响,并且研究在非流水养殖模式下密度胁迫对生长的影响。

本研究表明,随着黄姑鱼养殖密度的增大,饵料系数逐渐变大,同逯尚尉等(2011)及Li等(2011)的研究结果相一致。这可能是由于在高密度胁迫下,黄姑鱼幼鱼对饲料的利用率比较低,进而造成饵料系数较高(马爱军等 2005; 逯尚尉等 2011);另一方面,也可能是高密度组养殖个体在有限的养殖空间内,对食物、生存水体空间和溶解氧产生竞争,消耗掉用于生长的部分能量,因而影响了鱼类的生长,表现为饵料系数较大(张天时等 2008)。在观察不同密度组实验鱼的行为时也证明了这一点,在投喂时可以观察到低密度组实验鱼游动缓慢,而高密度组实验鱼游动迅速且伴有惊慌及明显抢食现象。因此,可以得出,在忽略其他因素的前提下,要达到同样的生长性能,高密度组实验鱼需要消耗更多的饵料。

3.2 密度胁迫对黄姑鱼血清代谢酶的影响

在集约化养殖过程中,养殖密度是一个潜在的慢性胁迫因素,可导致养殖鱼类生理生化指标及行为学的变化(Ellis *et al.* 2002)。在胁迫环境下,鱼类会通过糖异生作用来消耗蛋白质和脂肪等来满足能量的需求。氨基酸是鱼类进行糖异生作用的优先替代物,同时相关酶活性也显著提高(Demeal *et al.* 1978)。Vijayan 等(1990)在研究密度胁迫对溪点红鲑代谢的影响时发现,鲑鱼在密度胁迫下糖异生作用明显加强。本研究中,高密度组实验鱼的谷草转氨酶(AST)显著大于低、中密度组,可能是由于高密度组的实验鱼受到胁迫作用后,糖异生作用加强,消耗自身的丙氨酸和天冬氨酸等来产生葡萄糖来满足机体的需要,这与 Tejpal 等(2009)的研究结果相一致。另外,由于谷丙转氨酶(ALT)在 4 个密度组胁迫 30d 后并没有显著差异,可能是由于黄姑鱼的糖异生反应优先消耗天冬氨酸来补充能量,丙氨酸次之,所以引起密度胁迫对 AST 活性有显著差异,而 ALT 并没有出现显著差异,具体原因有待进一步研究。乳酸也是糖异生反应的优先替代物(Chatterjee *et al.* 2006),乳酸参与糖异生作用时,机体内乳酸脱氢酶的活性会显著提高。逯尚尉等(2011)研究点带石斑鱼幼鱼组织酶活性时发现,密度胁迫会造成肝脏乳酸脱氢酶活性明显升高。本研究中,高密度组的乳酸脱氢酶活性显著大于低密度组,这和逯尚尉等(2011)的研究结果基本一致。

3.3 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼非特异性免疫的影响

鱼类的血清中包含有多种非特异性免疫因子,其中溶菌酶和补体在抵御外来病原菌方面发挥着重要作用。血清溶菌酶活性提高,其免疫能力也相应提高。本研究中,随着黄姑鱼养殖密度的增加,血清溶菌酶活性逐渐下降,并且 G_{60} 组实验鱼溶菌酶活性显著低于其他各组,表明密度胁迫对黄姑鱼幼鱼的溶菌酶活性产生了一定的抑制作用,该研究结果支持了王文博等(2004)认为的密度胁迫会导致血清溶菌酶活性降低的观点。而 Rotlant 等(1997)研究得出胁迫 16d 后高密度组赤鲮的血清溶菌酶活性显著高于低密度组,Montero 等(1999)报道经过 63d 的密度胁迫,金头鲷血清溶菌酶活性上升,Fevolden 等(1993)指出溶菌酶活性可以作为鱼类应激的信号,而其水平升高所持续的时间取决于胁迫的方法和强度。这些不同的研究结果表明,机体血清溶菌酶活性可能受到诸多因素影响。

补体是机体重要的生理性防卫系统,也是炎症等病理损害反应的重要介质,激活后具有溶菌、杀菌、调理、免疫吸附等生物学功能,其中 C3 和 C4 在补体系统中占重要地位(陈安平等 2010)。血清中补体 C3 和 C4 的水平可以反映机体免疫病理损害的情况(王文博等 2004)。聂 芬等(2007)在研究密度胁迫对史氏鲟稚鱼的影响时指出,补体 C3 和 C4 呈现随密度的逐渐增大而减少的趋势。本研究发现,经密度胁迫 30d 后,各密度组实验鱼补体 C3 和 C4 的活性之间均没有显著性差异,这与徐 敏等(2011)研究指出养殖密度对革胡子鲶补体 C3 和 C4 的影响差异不显著的观点相一致,而与聂 芬等(2007)人的观点不一致。这可能是由于黄姑鱼与其他鱼类存在种属差异,黄姑鱼通过特异的生理调节逐渐适应了高密度胁迫的环境。关于养殖密度对黄姑鱼血清补体 C3 和 C4 的影响机制还需进一步探讨。

4 结论

由于现实条件的限制,在黄姑鱼的养殖过程中并不一定能保证最适生长密度,但从经济角度考虑,过高的养殖密度要消耗更多的饵料成本来维持相同的生长性能,而养殖密度过低又会造成养殖水体的资源浪费。在目前普遍的养殖条件下,保证黄姑鱼的净产量高于饲料的消耗量,就可获得养殖中较高的经济效益,建议在生产中黄姑鱼幼鱼的养殖密度为 30 尾/缸(3.00 kg/m³)。

参 考 文 献

- 王文博,汪建国,李爱华,蔡桃珍. 2004. 拥挤胁迫后鲫鱼血液皮质醇和溶菌酶水平的变化及对病原的敏感性. 中国水产科学, 11(5): 408-412
- 吴江泉,黄大宏,陈威,叶存魁,殷兴鑫,孙建璋. 2010. 饲养密度对条石鲷生长的影响. 现代渔业信息, 25(3): 25-27
- 张天时,孔杰,刘萍,张庆文,王清印. 2008. 饵料和养殖密度对中国对虾幼虾生长及存活率的影响. 海洋水产研究, 29(3): 41-47
- 张波,唐启升. 2002. 密度对黑鲟生长及能量分配模式的影响. 海洋水产研究, 23(2): 33-37
- 李大鹏,庄平,严安生,王明学,章龙珍. 2004. 光照、水流和养殖密度对史氏鲟幼鱼摄食、行为和生长的影响. 水产学报, 28(1): 54-61
- 李勇,孙国祥,柳阳,高婷婷,于凯松,刘佳亮. 2011. 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. 渔业科学进展, 32(6): 17-24
- 杨威. 2004. 黄姑鱼海水网箱养殖技术. 中国海洋报
- 陈安平,任光阳. 2010. 血清补体 C3、C4 在颅脑损伤中的临床意义. 中国临床神经外科杂志, 15(1): 21-23
- 徐敏,王晓梅,季延斌,王存,戴伟,潘宝平. 2011. 养殖密度对革胡子鲶生长性能及补体 C3、C4 的影响. 安徽农业科学, 39(20): 12 272-12 274
- 聂芬,石小涛,李大鹏,庄平. 2007. 拥挤胁迫对史氏鲟稚鱼血浆溶菌酶活性和补体水平的影响. 水生生物学报, 31(4): 581-584
- 逯尚尉,刘兆普,余燕. 2011. 密度胁迫对点带实验鱼幼鱼生长、代谢的影响. 中国水产科学, 18(2): 322-328
- Barcellos LJG, Kreutz LC, Quevedo RM and 7 others. 2004. Nursery rearing of jundia *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard) in cages; cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture* 232: 383-394
- Barton BA. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Inter Comp Biol* 42(3): 517-525
- Björnsson B. 1994. Effect of stocking density on growth rate of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared in large circular tanks for three years. *Aquaculture* 123: 259-270
- Celikale MS, Memis D, Ercan E. 2005. Growth performance of juvenile Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzenbrug, 1983) at two stocking densities in net cages. *J Appl Ichthyol* 21: 14-18
- Chatterjee N, Pal AK, Das T. 2006. Secondary stress response in Indian major carps *Labeo rohita* (Ham), *Catla catla* (Ham) and *Cirrhinus mrigala* (Ham) fry to increasing packing densities. *Aqua Res* 37: 472-476
- Demeal NA. 1978. Some characteristics of carbohydrate metabolism in fish. *Oceanis DOC Oceanogr* 4: 35-36
- Ellis T, North B, Scott AP and 3 others. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 61: 493-531
- Fox MG, Flowers DD. 1990. Effect of fish density on growth, survival and food consumption by juvenile walleyes in rearing ponds. *Transactions of the American Fisheries Society* 119: 112-121
- Fevolden SE, Roed KH. 1993. Cortisol and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high or low tolerance to stress. *Journal of Fish Biology* 43: 919-930
- Li D, Liu Z, Xie C. 2012. Effect of stocking density on growth and serum concentrations of thyroid hormones and cortisol in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*. *Fish Physiol. Biochem* 38(2): 511-520
- Montero D, Marrero M, Izquierdo MS and 3 others. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilt-head seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding. *Aquaculture* 171: 269-278
- Papoutsoglou SE, Karakatsoulil N, Pizzonia G and 3 others. 2006. Effects of rearing density on growth, brain neurotransmitters and liver fatty acid composition of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L. *Aquac Res* 37: 87-95
- Rotllant J, Pavlidis M, Kentouri M and 2 others. 1997. Non-specific immune responses in the red porgy *Porgy pagrus* after crowding stress. *Aquaculture* 156: 297-290
- Smith SA, Levy MG, Noga EJ. 1994. Communications: detection of anti-Amyloodinium ocellatum antibody from cultured hybrid striped bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) during an epizootic of amyloodiniosis. *Journal of Aquatic Animal Health* 6(1): 79-81
- Tejpal CS, Pal AK, Sahu NP. 2009. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. *Aquaculture* 293: 272-277
- Vijayan MM, Leatherland JF. 1988. Effect of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture* 75: 159-170
- Yin Z, Lam TJ, Sin YM. 1995. The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy cary (*Cyprinus carpio* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 5: 519-529