

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00051

温度与盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼能量代谢的联合效应

王辉¹, 强俊², 王海贞¹, 徐跑², 李瑞伟³

1. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025;
2. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;
3. 广东茂名茂南三高罗非鱼良种基地, 广东 茂名 525024

摘要: 在实验室条件下采用中心复合设计和响应曲面法, 以影响能量代谢的 2 个重要环境因子(温度和盐度)为自变量, 以耗氧率、排氮率与 CO₂ 排泄率为响应值, 研究并探讨了温度(13~36℃)与盐度(0~20)对吉富罗非鱼幼鱼能量代谢的联合影响。结果表明, 温度与盐度的一次效应、盐度的二次效应及其交互效应对耗氧率、排氮率与 CO₂ 排泄率均有显著影响($P>0.05$); 温度的二次效应对耗氧率和 CO₂ 排泄率没有显著影响($P>0.05$); 所考察因子与耗氧率、排氮率与 CO₂ 排泄率间二次多项回归方程的决定系数分别达到 0.958 1、0.977 8 和 0.979 5 ($P<0.01$), 可用于预测。温度效应较盐度明显, 盐度较低时, 能量消耗对温度变化较为敏感; 在等渗点附近, 耗氧率、排氮率和 CO₂ 排泄率较高; 盐度超过等渗点时, 低温和高盐环境对幼鱼的能量代谢有抑制作用。氧氮比(O:N)随盐度变化而变化, 温度对其没有显著影响($P>0.05$)。当温度与盐度分别为 13~36℃与 0~10 时, 罗非鱼幼鱼主要依靠蛋白质和脂肪氧化供能; 盐度为 20 时, 脂肪成为主要供能物质; 本实验条件下呼吸商的均值为 0.752。本研究有助于更好地解释温度与盐度对罗非鱼新陈代谢的影响, 同时可以为研究环境因子对能量的时空分配模式的改变提供生物能量学依据。

关键词: 尼罗罗非鱼; 幼鱼; 耗氧率; 排氮率; CO₂ 排泄率

中图分类号: S962

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0051-11

鱼类的能量代谢受内在因素(规格、发育阶段和性别等)与外在因素(温度、盐度、pH、溶氧和光照等)共同影响^[1]。温度与盐度是鱼类生理与生化反应的最重要影响因子, 水温不仅可以影响体内离子和渗透压的调节, 而且对其氧气消耗有显著影响; 盐度主要通过对渗透压的调节来影响能量代谢^[2]。因而, 通过研究鱼类的生理反应特征, 可以更好地理解生物体内能量收支与生态系统变化的关系^[3]。温度与盐度对罗非鱼能量代谢的影响已有一些研究, 如李学军等^[4]报道, 盐度为 0 和 10 时, 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的耗氧率最高, 红罗非鱼(*O.niloticus*×*O.mossambicus*)次之, 萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*)最低。Sardella 等^[5]发现, 加州莫桑比克罗非鱼(*O. moss-*

ambicus)的耗氧率在低渗(盐度 15)与高渗(盐度 30)环境中显著提高, 在等渗点附近时, 其耗氧率较低。张中英等^[6]发现, 中午水温较高时, 尼罗罗非鱼耗氧率最高, 夜间的耗氧率明显低于白天。Caulton^[7]发现在温度为 17~28℃时, 莫桑比克罗非鱼的耗氧量随着温度升高而显著上升, 温度为 28~37℃时, 耗氧量的增加不明显。Morgan 等^[8]发现盐度为 25 时, 莫桑比克罗非鱼的耗氧率显著高于盐度为 12 和淡水环境中的。雷思佳^[9]研究发现盐度对台湾红罗非鱼耗氧率有极显著影响, 体质量范围为 1.57~18.24 g 时, 盐度为 7 的实验组耗氧率最高。

以上研究主要集中在单个因子对能量代谢的影响上, 而单因子实验往往是在其他环境因素相

收稿日期: 2011-05-23; 修订日期: 2011-07-07.

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2008BADB9B01-3); 农业部公益性行业科研专项(200903046-02); 广东省教育部产学研结合项目(2008B090500088, 2010B090500032).

作者简介: 王辉(1966-), 博士, 教授, 专业方向为动物遗传育种与繁殖以及健康养殖. E-mail: whh524@sina.com

同的条件下进行的,具有较大局限性。众所周知,各种环境因子对生物的影响是相互联系、相互制约的^[2]。已有研究发现,温度与盐度对织纹螺(*Nassarius festivus*)^[10]、侏儒蛤(*Mulinia lateralis*)^[11]、日本囊对虾(*Penaeus japonicus*)^[12]、细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)^[2]的能量代谢存在显著的交互效应,单因子研究不能提示因子间的交互。关于温度与盐度对罗非鱼能量代谢是否存在交互效应以及二次效应,尚未见相关报道。响应曲面法是一种过程优化的综合技术^[13],采用该设计不但可以建立因子与响应间关系的模型,还可以对因子效应及其交互效应进行更有效的评价。本研究拟采用中心复合实验设计与响应曲面分析方法,考察温度与盐度对尼罗罗非鱼幼鱼耗氧率、排氨率与 CO₂ 排泄率的联合影响,并对各因子的二次效应及其交互作用作进一步的研究和探讨,旨在为罗非鱼生理生态学研究 and 池塘水质调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验鱼采自广东省茂名“三高”国家级罗非鱼良种繁育基地,为自繁的“吉富”第 16 代尼罗罗非鱼幼鱼。选择无病无伤,活力强的个体作为实验用鱼,规格为(4.32±0.42) g。实验前在室内 150 L 水族箱中暂养 6 d,自然光周期,水温(27±0.5)℃,pH 7.6±0.2。暂养期间使用循环水连续充气,每天早、中、晚各投喂饲料 1 次(饲料含粗蛋白质 30.0%、脂肪 8.0%、灰分 15.75%、水分 12.0%)。

1.2 实验设计

正式实验前先进行预实验,通过单因子实验确定罗非鱼幼鱼可以正常摄食与生长的温度和盐度范围。实验采用中心复合实验设计,因子为温度(T , 13~36℃)和盐度(S , 0~20);该实验设计因子点数 4,轴点数 4,中心点数 5,星号臂为 $\alpha=1.414$ 21,计 13 次实验,每个实验组合重复 3 次。罗非鱼幼鱼的能量代谢以耗氧率(oxygen consumption rate, OR, mg·g⁻¹·h⁻¹)、排氨率(ammonia excretion rate, NR, μg·g⁻¹·h⁻¹)与 CO₂ 排泄率(CO₂ excretion

rate, CR, mg·g⁻¹·h⁻¹)为响应变量。具体的温度和盐度组合如表 1 所示。

1.3 实验鱼的驯化

实验鱼先进行温度驯化,驯化在 50 L 的塑料桶中进行,用电子恒温棒(量程为 20~36℃)和冰袋控温,温差为±0.2℃。温度驯化采用渐进方式,每天温度升降幅不超过 2℃。驯化至相应的实验温度后开始进行相应的盐度驯化,驯化期间正常投喂,用海水晶进行盐度调节,盐度测定使用日本 ATAGO S-10E 盐度计。盐度调节也采用渐进方式,每天盐度升幅不超过 2。驯化至相应的盐度后(表 1),在此设置下饲养 7 d。

1.4 响应指标的测定

1.4.1 耗氧率的测定 采用静水密闭式呼吸实验方法,每组 3 个代谢瓶(5 L)作为平行组,每瓶中放 4 尾鱼,另外各取 2 份实验水样于代谢瓶作为空白组,使其与实验鱼的代谢瓶中实验用水同步。将 5 个代谢瓶放在水族箱中控温。代谢瓶用液体石蜡密闭 2 h 后,用虹吸方法吸取代谢瓶中的水样,采用 Winkle 碘量法^[14]对空白组和代谢瓶水样进行溶解氧含量测定:

$$OR = [(DO_0 - DO_t) \times V] / (W \times T)$$

式中:OR 为单位体质量耗氧率(mg·g⁻¹·h⁻¹);DO₀和 DO_t分别为实验结束时空白对照组、实验组水中 T 时间后溶解氧质量浓度(mg·L⁻¹); V 为代谢瓶容积(L); W 为鱼体质量(g); T 为实验时间(h)。

1.4.2 排氨率的测定 排氨率的测定与耗氧率的测定同步进行。采用次溴酸钠氧化法测定非 0 盐度组的氨氮浓度,而 0 盐度组的氨氮则采用奈氏试剂法测定^[14]。根据氨氮浓度的变化,计算排氨率:

$$NR = [(N_t - N_0) \times V] / (W \times T)$$

式中:NR 为单位体质量排氨率(μg·g⁻¹·h⁻¹); N_0 和 N_t 分别为分别实验结束时空白对照组、实验组水中 T 时间后氨氮质量浓度(μg·L⁻¹); V 为代谢瓶容积(L); W 为鱼体质量(g); T 为实验时间(h)。

1.4.3 CO₂ 排泄率的测定 同时进行 CO₂ 含量的测定,采用 NaOH 滴定法^[14]测定,根据代谢瓶中 CO₂ 含量的变化,计算 CO₂ 排泄率:

$$CR = [(C_t - C_0) \times V] / (W \times T)$$

式中: CR 为单位体质量 CO_2 排泄率($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$); C_0 和 C_t 分别为实验结束时空白对照组、实验组水中 T 时间后 CO_2 质量浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); V 为代谢瓶容积(L); W 为鱼体质量(g); T 为实验时间(h)。

根据耗氧率、排氮率和 CO_2 排泄率计算 O : N 比与呼吸商(RQ)^[15]:

$$\frac{\text{O}}{\text{N}} = \frac{\text{OR}}{16} / \frac{\text{NR}}{14}$$

$$\text{RQ} = \frac{\text{CR}}{44} / \frac{\text{OR}}{32}$$

1.5 数据处理

数据测定结果用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示。通过最小二乘法拟合因子与响应之间的二次多项回归方程为:

$$Y = b_0 + b_1T + b_2S + b_3T \times S + b_4T^2 + b_5S^2 + \varepsilon$$

式中: Y 为响应变量(在此响应为耗氧率 OR、排氮率 NR 或 CO_2 排泄率 CR); b_0 为回归截距; b_1 、 b_2 分别为温度和盐度的一次效应; b_3 为温度与盐度间的互作效应; b_4 、 b_5 分别为温度与盐度的二次效应。 ε 为残差, 假定其服从均值为 0 的正态分布。对以上模型进行拟检验并同时给出决定系数(包括未矫正 R^2 和矫正 R^2)以说明模型的适合性。

实验采用 STATISTICA 8.0 软件进行实验设计和统计分析, 建立自变量与依变量之间的二次回归方程, 并绘制相应的响应曲面和等高线图, 以直观展示因子对响应变量的影响方式。显著性水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 耗氧率

温度(T)与盐度(S)对尼罗罗非鱼幼鱼耗氧率(OR)影响的实验结果见表 1。对数据采用最小二乘法进行回归拟合, 方差分析结果列于表 2。由表 2 可见, 模型 $P > 0.01$, 表明所建立的回归模型极显著; 失拟项 $P = 0.3001 > 0.05$, 表明拟合的模型有效。由表 3 可见, T 与 S 的一次效应对耗氧率均有极显著影响($P < 0.01$); S 的二次效应和 T 与 S 的互作效应对耗氧率有显著影响($P < 0.05$); T 的二次效应对耗氧率无显著影响($P > 0.05$); 回归系数显

示, T 的效应较 S 明显。 T 和 S 与 OR 之间的实际二次回归方程:

$$\text{OR} = -0.0407 + 0.0067T + 0.0119S - 0.0004T \times S + 0.0001T^2 - 0.0003S^2$$

该方程的决定系数 $R^2 = 0.9581$, 矫正决定系数 $\text{Adj } R^2 = 0.9282$, 说明该模型能解释 95.81% 响应值的变化, 仅有总变异的 4.19% 不能用此模型解释, 该模型拟合程度良好。

温度和盐度与耗氧率之间的响应曲面图及其等高线图如图 1 所示。通过该组动态图可评价实验因素对幼鱼耗氧率的两两交互作用, 曲面较陡说明影响显著($P > 0.05$), 曲面较圆说明影响不显著($P > 0.05$)。等高线的形状可反映出交互效应的强弱, 椭圆型表示两因素交互作用显著($P < 0.05$), 而圆形则与之相反。本实验中, 盐度为 0~20 时, 耗氧率在温度为 13~36℃ 范围内随温度升高而升高; 当温度为 13~17℃, 耗氧率在盐度为 9~10 时较高; 温度为 36℃, 耗氧率在盐度为 0 有最大值。

2.2 排氮率

温度(T)与盐度(S)对吉富罗非鱼幼鱼排氮率(NR)影响的实验结果见表 1, 对数据采用最小二乘法进行回归拟合, 方差分析结果列于表 4。由表 4 可见, 模型 $P < 0.01$, 表明所建立的回归模型极显著; 失拟项 $P = 0.0796 > 0.05$, 表明拟合的模型有效。由表 5 可见, T 与 S 的一次和二次效应对排氮率均有极显著影响($P < 0.01$); T 与 S 之间存在互作效应($P < 0.05$); 回归系数显示, T 的效应较 S 明显。 T 和 S 与 NR 之间的实际二次回归方程:

$$\text{NR} = 2.8740 - 0.2614T + 1.0002S - 0.0207T \times S + 0.0192T^2 - 0.0363S^2$$

该方程的决定系数 $R^2 = 0.9778$, 矫正决定系数 $\text{Adj } R^2 = 0.9619$, 说明该模型能解释 97.78% 响应值的变化, 仅有总变异的 2.22% 不能用此模型解释, 该模型拟合程度良好。

温度和盐度与排氮率之间的响应曲面图及其等高线图见图 2。盐度较低时, 排氮率随着温度升高而升高; 盐度为 15~20 时, 排氮率随温度升高呈先下降后升高的变化趋势。温度为 13~17℃,

表 1 温度(*T*)与盐度(*S*)组合的实验设计与结果
Tab. 1 Experimental design of temperature(*T*) and salinity(*S*) combinations and results

组别 group	编码值 coded value		实际值 actual value		耗氧率/ (mg·g ⁻¹ ·h ⁻¹) OR	排氨率/ (μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹) NR	排泄率/ (mg·g ⁻¹ ·h ⁻¹) CR	氧氮比 O: N ratio	呼吸商 respiratory quotient
	<i>T</i> /℃	<i>S</i>	<i>T</i> /℃	<i>S</i>					
1	0	0	24.5	10.0	0.182±0.012	8.917±0.422	0.182 ±0.017	17.859±1.022	0.725±0.021
2	0	0	24.5	10.0	0.162±0.009	10.083±0.382	0.176 ±0.013	14.058±1.261	0.790±0.028
3	0	0	24.5	10.0	0.197±0.015	9.127±0.451	0.199 ±0.014	18.887±1.632	0.733±0.022
4	0	0	24.5	10.0	0.168±0.010	9.641±0.527	0.187 ±0.018	15.248±1.483	0.811±0.021
5	1	-1	32.6	2.9	0.297±0.018	15.55±0.873	0.291 ±0.023	16.712±1.381	0.713±0.019
6	1	1	32.6	17.1	0.179±0.016	8.894±0.471	0.184 ±0.017	17.610±1.725	0.748±0.024
7	α	0	36.0	10.0	0.266±0.021	18.061±0.912	0.278 ±0.024	12.887±1.053	0.760±0.022
8	0	α	24.5	20.0	0.122±0.012	4.398±0.234	0.118 ±0.013	24.272±1.762	0.706±0.018
9	0	-α	24.5	0.0	0.169±0.017	8.026±0.387	0.169 ±0.019	18.424±1.681	0.728±0.026
10	-1	1	16.4	17.1	0.092±0.007	4.049±0.429	0.098 ±0.009	19.880±1.659	0.772±0.031
11	-1	-1	16.4	2.9	0.115±0.008	5.685±0.276	0.114 ±0.012	17.699±1.291	0.719±0.017
12	-α	0	13.0	10.0	0.102±0.007	6.295±0.312	0.111 ±0.008	14.178±1.093	0.795±0.027
13	0	0	24.5	10.0	0.185±0.017	9.773±0.628	0.198 ±0.019	16.564±1.472	0.778±0.031

表 2 温度和盐度对耗氧率的回归模型方差分析结果
Tab. 2 Analysis of variance for regression model of temperature and salinity on oxygen consumption rate

变异源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
模型 model	0.0408	5	0.0082	32.0121	0.0001
残差 residual	0.0018	7	0.0003		
失拟 lack of fit	0.0010	3	0.0003	1.7210	0.3001
纯误差 pure error	0.0008	4	0.0002		
总和 total	0.0426	12			

表 3 回归系数的显著性检验、标准误差及 95%置信区间
Tab. 3 Test of significance, standard error (SE) and 95% confidence interval (CI) for regression coefficients

变异来源 source of varia- tion	回归系数 regression coefficient	标准误差 SE	置信下限 lower 95% CI	置信上限 higher 95% CI	<i>P</i>
截距 intercept	0.1638	0.0072	0.1469	0.1808	—
<i>T</i>	0.0512	0.0051	0.0392	0.0633	< 0.0001
<i>S</i>	-0.0212	0.0059	-0.0352	-0.0072	0.0089
<i>T</i> × <i>S</i>	-0.0195	0.0067	-0.0353	-0.0036	0.0229
<i>T</i> ²	0.0049	0.0045	-0.0057	0.0155	0.3148
<i>S</i> ²	-0.0149	0.0061	-0.0293	-0.0006	0.0435

注：表中系数为因子编码水平下的估计。*T* 表示温度；*S* 表示盐度。
Note: coefficients in the table were given in terms of coded factors. *T* donates temerature and *S* donates salinity.

排氨率在盐度 9~10 时较高；当温度为 33~36℃，盐度在 3~5 时，排氨率较高。

2.3 CO₂ 排泄率

对表 1 的 CO₂ 排泄率(CR)测定结果采用最小二乘法进行回归拟合，方差分析结果列于表 6。模型 *P*<0.01，表明所建立的回归模型极显著；失拟项 *P*=0.332 2>0.05，表明拟合的模型有效。*T* 和 *S*

的一次、*S* 的二次与互作效应均对 CO₂ 排泄率有极显著影响(*P*<0.01)(表 7)；*T* 的二次效应对 CO₂ 排泄率无显著影响(*P*>0.05)；回归系数显示，*T* 的效应较 *S* 明显。*T*、*S* 与 CR 之间的实际二次回归方程：

$$CR=-0.0467+0.0069T+0.0144S-0.0004T\times S+0.0001T^2-0.0004S^2$$

该方程的决定系数 $R^2=0.979\ 5$ ，矫正决定系数

表 4 温度和盐度对排氨率的回归模型方差分析结果

Tab. 4 Analysis of variance for regression model of temperature and salinity on ammonia excretion rate

变异源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	F	P
模型 model	187.7567	5	37.5513	61.6790	< 0.0001
残差 residual	4.2617	7	0.6088		
失拟 lack of fit	3.3488	3	1.1163	4.8906	0.0796
纯误差 pure error	0.9130	4	0.2282		
总和 total	192.0184	12			

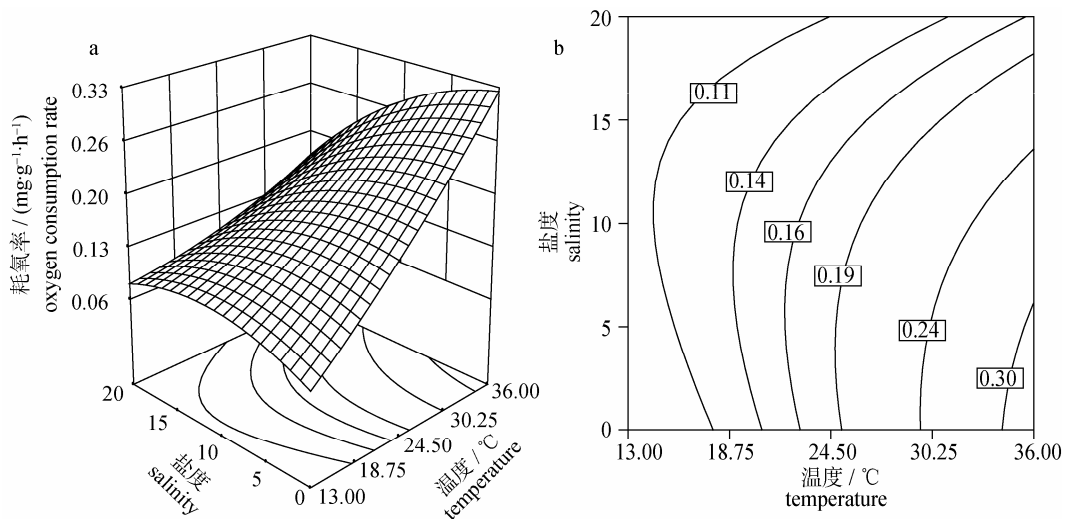


图 1 温度、盐度及其交互作用对吉富罗非鱼幼鱼耗氧率影响的响应面(a)和等高线(b)

Fig. 1 Response surface plot (a) and its contour (b) of the effect of temperature and salinity and their interaction on oxygen consumption rate of *Oreochromis niloticus* juveniles

表 5 回归系数的显著性检验、标准误差及 95%置信区间

Tab. 5 Test of significance, standard error(SE) and 95% confidence interval(CI) for regression coefficients

变异来源 source of variation	回归系数 regression coefficient	标准误差 SE	置信下限 lower 95% CI low	置信上限 higher 95% CI	P
截距 ntercept	8.6142	0.3500	7.7864	9.4419	—
T	2.9236	0.2492	2.3344	3.5127	<0.0001
S	-1.4285	0.2889	-2.1116	-0.7453	0.0017
T×S	-1.0332	0.3276	-1.8077	-0.2586	0.0161
T ²	0.9581	0.2192	0.4399	1.4763	0.0033
S ²	-1.8174	0.2965	-2.5185	-1.1163	0.0005

注: 表中系数为因子编码水平下的估计. T 表示温度; S 表示盐度.
Note: Coefficients in the table were given in terms of coded factors. T donates temerature and S donates salinity.

AdjR²=0.964 9, 说明该模型能解释 97.95%响应值的变化, 仅有总变异的 2.05%不能用此模型解释, 该模型拟合程度良好。

温度和盐度与 CO₂ 排泄率之间的响应曲面图及其等高线图见图 3(a 和 b)。本实验条件下, 盐度为 0~20 时, CO₂ 排泄率在温度为 13~36℃范围

内随温度升高而升高; 温度为 13~17℃, CO₂ 排泄率在盐度为 9~10 时较高; 当温度为 28℃~32℃, CO₂ 排泄率在盐度为 3~5 时较高。

2.4 O : N 比与呼吸商

O : N 比与呼吸商的计算结果见表 1。罗非鱼幼鱼在温度为 13~36℃和盐度为 0~20 时, 不同组

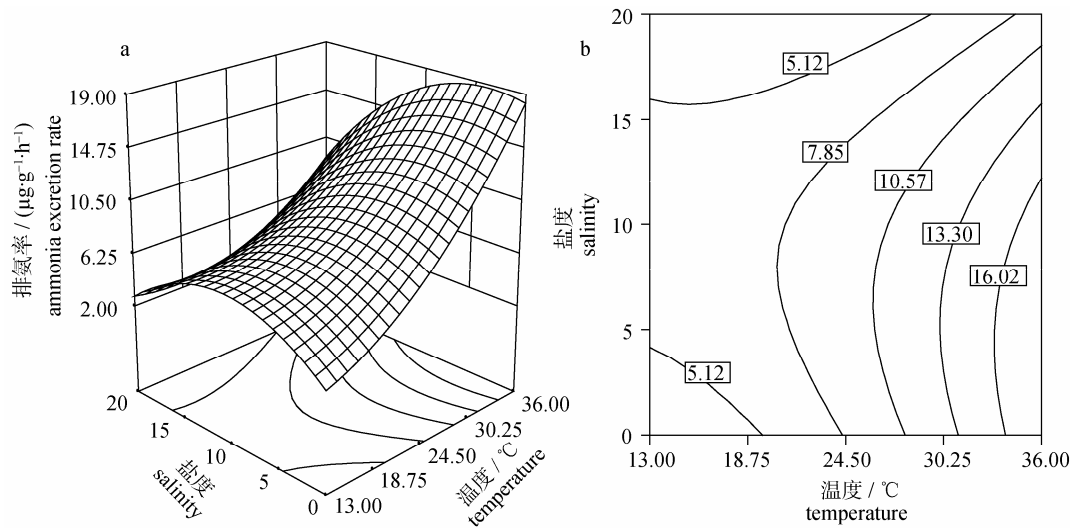


图 2 温度、盐度及其交互作用对尼罗罗非鱼幼鱼排氨率影响的响应面(a)和等高线(b)

Fig. 2 Response surface plot (a) and its contour plot (b) of the effect of temperature and salinity and their interaction on ammonia excretion rate of *Oreochromis niloticus* juveniles

表 6 温度和盐度对 CO₂ 排泄率的回归模型方差分析

Tab. 6 Analysis of variance for regression model of temperature and salinity on CO₂ excretion rate

变异源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
模型 model	0.0415	5	0.0083	67.0041	< 0.0001
残差 residual	0.0009	7	0.0001		
失拟 lack of fit	0.0005	3	0.0002	1.5511	0.3322
纯误差 pure error	0.0004	4	0.0001		
总和 total	0.0424	12			
<i>R</i> ² = 0.9795 Adj <i>R</i> ² =0.9649					

表 7 回归系数显著性检验、标准误及 95%置信区间

Tab. 7 Test of significance, standard error (SE) and 95% confidence interval (CI) for regression coefficients

变异来源 source of variation	回归系数 regression coefficient	标准误 SE	置信下限 95% CI low	置信上限 95% CI high	<i>P</i>
截距 intercept	0.1735	0.0050	0.1617	0.1853	—
<i>T</i>	0.0512	0.0036	0.0428	0.0596	< 0.0001
<i>S</i>	−0.0198	0.0041	−0.0296	−0.0101	0.0019
<i>T</i> × <i>S</i>	−0.0188	0.0047	−0.0298	−0.0077	0.0051
<i>T</i> ²	0.0045	0.0031	−0.0029	0.0119	0.1939
<i>S</i> ²	−0.0215	0.0042	−0.0315	−0.0115	0.0014

注：表中系数为因子编码水平下的估计。*T* 表示温度；*S* 表示盐度。
Note: coefficients in the table were given in terms of coded factors. *T* donates temerature and *S* donates salinity.

合下其 O : N 比值介于 12.887~24.272, 均值为 17.252, 盐度对其变化有显著影响($P<0.05$), 温度影响不显著 ($P>0.05$); 呼吸商介于 0.706~0.811, 均值为 0.752, 温度与盐度对其没有显著影响($P>0.05$)

3 讨论

3.1 温度和盐度对尼罗罗非鱼幼鱼能量代谢的影响

温度和盐度作为鱼类生存环境的重要影响因素, 它们的变动直接影响鱼类的能量代谢^[2, 10-12]。Ponce-Palafox 等^[1]认为, 温度对水生生物体内的能

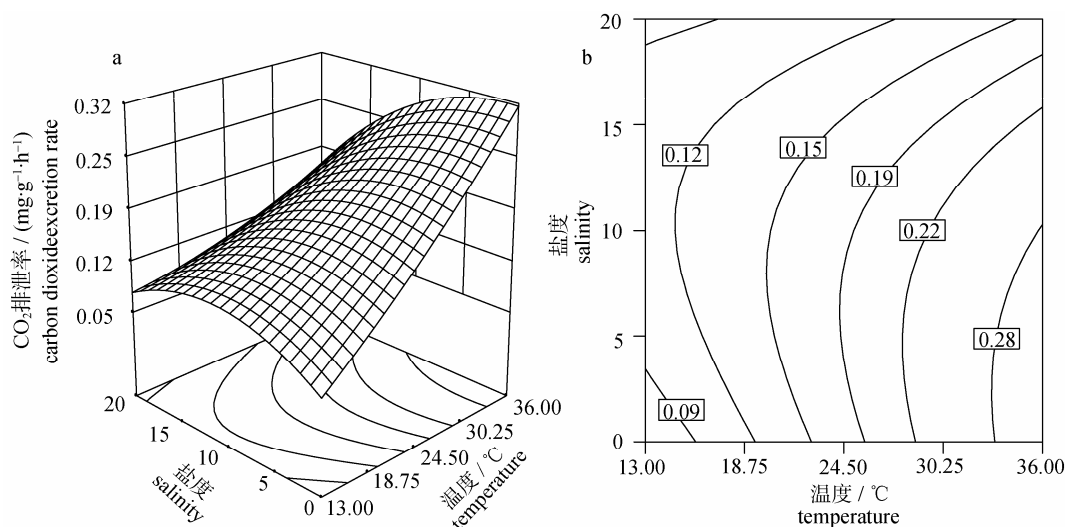


图 3 温度、盐度及其交互作用对吉富罗非鱼幼鱼 CO_2 排泄率影响的响应面(a)和等高线(b)

Fig. 3 Response surface plot (a) and its contour plot (b) of the effect of temperature and salinity and their interaction on CO_2 excretion rate of *Oreochromis niloticus* juveniles

量流动有非常重要的调节作用,而盐度通过对生存环境与水生动物之间渗透压的调控来影响其能量需求。本实验条件下,温度和盐度对尼罗罗非鱼幼鱼的耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率均有极显著影响,二次多项回归模型的决定系数分别达到 0.958 1、0.977 8 和 0.979 5,方程的拟合度较好,可以对耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率进行很好的分析与预测。

温度对鱼类代谢反应速度起控制作用^[16]。尼罗罗非鱼属于亚热带鱼类,适宜的温度较高,一般为 28~32℃^[17]。本实验中,当盐度在 0~15 时,罗非鱼幼鱼的耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率随着温度的升高(13~36℃)而显著升高,符合能量代谢随温度变化的一般规律,这与莫桑比克罗非鱼^[7]、鲃(*Miichthys miiuy*)^[17]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[18]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[19]、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)^[20]等的研究结论相似。但是本实验发现,当温度为 34~36℃时,罗非鱼幼鱼活动旺盛,摄食量较大,但其增重率却下降了,说明在温度较高时,能量消耗主要用于生命活动,而用于生长的较少,不利于体内能量的储存。雷思佳等^[21]在研究温度对台湾红罗非鱼能量收支的影响时发现,与 34℃时相比,28℃条件下,红罗非鱼的特定生长率、饲料转化率和摄食率较

高,而 34℃时其代谢能占摄食能的比例明显高于 28℃。罗非鱼幼鱼在适温范围内,随着水温升高,幼鱼维持生命代谢的各种重要组织器官活性增强,各种酶活性提高,鱼类活动强度增大,基础代谢旺盛,因此表现出耗氧率升高^[22]、产生的氨和尿素增加以及排出 CO_2 增多的现象。超过一定的温度范围后,一些组织代谢可能因为温度超过鱼体的适应范围而停止活动,耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率也会随之下降。温度高于 36℃,罗非鱼幼鱼的代谢是否呈现此变化规律,需要进一步深入研究。

本实验中,在温度较低(13~17℃)、盐度为 0~10 时,耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率随着盐度的升高而缓慢增加;盐度超过 10 时,盐度对罗非鱼幼鱼的新陈代谢起抑制作用。实验中发现,幼鱼生活的水体盐度为 10~20 时,摄食与活动明显减弱,耗氧率、排氨率和 CO_2 排泄率都显著下降。关于渗透压调节耗能代谢率之间的关系存在不同观点。一些学者认为,两者之间的变化规律相吻合^[12, 23];也有学者认为鱼类因盐度而引起的呼吸代谢变化与调节渗透压耗能不一致^[24],这与本实验的研究结果一致。可能因为渗透压调节耗能只占代谢耗能的较小部分,能量消耗主要用于维持生长存活。温度为 13~17℃,盐度为 10 左右,对于幼鱼生长活动较为适宜,能量消耗主要用于生

长需求,用于渗透压调节的能量较少;当盐度超过 10 后,幼鱼不适应较高的盐度环境,生长会减缓,能量消耗主要用于渗透压的调节,但是其只占代谢耗能的较小部分,因此能量代谢水平呈下降趋势。雷思佳^[9]对台湾红罗非鱼的研究也得到类似结论。

环境因子变化时,生物体依靠自身特有的平衡调控机制来进行适应性反应,这种反应可能包括不同水平的生化、生理与行为上的变化^[2]。本实验在进行单因子研究的同时,考察了温度与盐度的交互影响,首次发现,温度与盐度对罗非鱼的耗氧率、排氨率和 CO₂ 排泄率均有明显的互作效应。温度与盐度对鱼类生长有明显的互作效应,这在虹鳟(*Scophthalmus maximus*)^[25]、比目鱼(*Paralichthys dentatus*)^[26]、斑点狼鱼(*Anarhichas minor*)^[27]和尼罗罗非鱼^[17]的研究中得到证实,在锯缘青蟹(*Scylla serrata*)中也有类似的结果^[28]。而鱼类的生长与机体的新陈代谢紧密相连。Magnussen 等^[27]研究发现,温度对盐度的影响有调节作用,温度改变时,幼鱼对盐度的需求也随之变化,即鱼类的等渗点随温度的变化而变化。本实验中,温度较低时(13~17℃),耗氧率、排氨率和 CO₂ 排泄率在盐度为 9~10 时较高;随着温度升高,在适宜温度范围内(28~32℃),耗氧率、排氨率和 CO₂ 排泄率在盐度为 3~5 时较高;当温度为 36℃时,上述指标在盐度 0~1 时较高。原因可能是低温环境中,罗非鱼对盐度的耐受性较差,适宜的盐度范围相对较窄;随着温度的升高,鳃丝中 Na⁺-K⁺-ATPase 活力也将发生变化,从而导致离子透过体液的强度增加。鱼类渗透压调节能力提高,等渗点随之改变,鱼类的能量代谢也发生相应的变化^[29]。温度较高时,温度效应较盐度明显,Moreira 等^[30]、Martínez-Palacios 等^[31]、Spanopoulos-Hernández 等^[2]的研究中也发现了类似结论。另外,实验中发现,盐度的二次效应对耗氧率、排氨率和 CO₂ 排泄率有显著影响,而温度的二次效应只对排氨率有显著影响。

3.2 罗非鱼的能源物质

能量代谢过程主要是碳水化合物、脂肪和蛋白质 3 种营养物质在体内经过一系列生物氧化过程,最后转化为最终产物 CO₂、水和含氮物质,同

时放出能量。氧氮比(O : N)作为一种代谢系数可以用来估计动物机体能源物质的来源。O : N 值反映了蛋白质、脂肪和碳水化合物提供给生物体能量的比率,例如 O : N 值大表明动物消耗的能量较少部分由蛋白质提供,多数由脂肪和糖类提供。Mayzall^[32]提出,如果完全由蛋白质氧化提供能量,O : N 值为 7~10;Ikeda^[33]认为,如果是蛋白质和脂肪氧化供能,O : N 值约为 24。Conover 等^[34]指出,如果主要由脂肪或碳水化合物供能,O : N 值将变为无穷大。Chen 等^[12]对日本囊对虾(*Penaeus japonicus*)、Katsanevakis 等^[35]对真蛸(*Octopus vulgaris*)、Lemos 等^[36]对保罗美对虾(*Farfantepenaeus paulensis*)、Carvalho 等^[37]对美洲管对虾(*Xiphopenaeus kroyeri*)的研究均证实 O : N 值基本符合上述变化规律。Widdows 等^[38]认为,O : N 值的变化与机体所承受的压力有密切的关系,可以作为生物对环境适应程度的一项指标。罗非鱼属于淡水鱼,它的体液是高渗的,血液离子组成的调节通过鳃完成。在温度为 13~36℃和盐度为 0~10 时,罗非鱼幼鱼主要依靠蛋白质和脂肪氧化供能。盐度低时,罗非鱼可以借助鳃上特有的吸盐细胞从周围的水中吸收盐离子,通过这种途径来保持体液与外界环境之间渗透压相对平衡。然而随着盐度的升高(11~20),幼鱼为了在较高盐度的环境中生存,需要减低肾脏尿量的排出(提高尿液的渗透压)及鳃中氯化钠的进入,因此能量代谢减缓^[15],可能主要依靠脂肪作为主要能源物质。

呼吸商随鱼类供能物质的不同,变幅在 0.7~1。蛋白质为 0.8,脂肪 0.7,糖类 1.0^[39]。本实验的呼吸商均值为 0.752,说明罗非鱼幼鱼体内的供能物主要是蛋白质和脂肪,并在盐度较高时以脂肪作为主要供能物质,这与 O : N 比的结果一致。

综上所述,当温度较低时(13~24℃),幼鱼在微咸水环境中(9~10)的能量代谢水平较高;当温度较高时(33~36℃)时,幼鱼在淡水环境中的代谢较高。在适宜温度范围内,罗非鱼幼鱼有较高的渗透压调节能力,经过适当的驯化,可以在微咸水中饲养,这对缓解当前养殖用淡水紧缺的局面具有重要意义。

参考文献:

- [1] Ponce-Palafox J, Martínez-Palacios C A, Ross L G. The

- effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931[J]. Aquaculture, 1997, 157: 107–115.
- [2] Spanopoulos-Hernández M, Martínez-Palacios C A, Vane-gas-Pérez R C, et al. The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874) [J]. Aquaculture, 2005, 244: 127–138.
- [3] Claireaux G, Lagardère J P. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass [J]. J Sea Res, 1999, 42: 157–168.
- [4] 李学军, 李爱景, 彭新亮. 不同盐度下萨罗罗非鱼、尼罗非鱼和以色列红罗非鱼耗氧率、临界溶氧和窒息点的研究[J]. 河南师范大学学报:自然科学版, 2007, 35(2): 137–141.
- [5] Sardella B A, Brauner C J. The effect of elevated salinity on ‘California’ Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. urolepis hornorum*) metabolism [J]. Comp Biochem Physiol, 2008, 148C: 430–436.
- [6] 张中英, 胡玫, 吴福煌. 尼罗罗非鱼耗氧率的初步研究[J]. 水产学报, 1982, 6 (4): 369–378.
- [7] Caulton M S. The effect of temperature and mass on routine metabolism in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* (Peters). [J] J Fish Biol, 1978, 13: 195–201.
- [8] Morgan J D, Sakamoto T, Grau E G. Physiological and respiratory responses of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation [J]. Comp Biochem Physiol, 1997, 117(3): 391–398.
- [9] 雷思佳. 盐度与体重对台湾红罗非鱼耗氧率的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(6): 739–742.
- [10] Cheung S G, Lam S W. Effect of salinity, temperature and acclimation on oxygen consumption of *Nassarius festivus* (Powys, 1835) (Gastropoda: Nassariidae) [J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 111(4): 625–631.
- [11] Williams J B. Respiratory changes in the euryhaline clam, *Mulinia lateralis* (Say), over a range of temperature and salinity combinations [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1984, 81: 269–280.
- [12] Chen J C, Lai S H. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1993, 165: 161–170.
- [13] Ambati P, Ayyanna C. Optimizing medium constituents and fermentation conditions for citric acid production from *palmyra jaggery* using response surface method [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2001, 17: 331–335.
- [14] 陈佳荣, 臧维玲, 金送笛, 等. 水化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 123–166.
- [15] 施琼芳. 鱼类生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1991: 150–213.
- [16] Likongwe J S, Stecko T D, Stauffer J R. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus)[J]. Aquaculture, 1996, 146: 37–46.
- [17] 闫茂仓, 单乐州, 邵鑫斌, 等. 温度及体重对鲢鱼幼鱼耗氧率和排氨率的影响[J]. 热带海洋学报, 2007 (26): 44–49.
- [18] Chen J C, Kou T T. Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Aquaculture, 1996, 145: 295–303.
- [19] 张兆琪, 张美昭, 李吉清, 等. 牙鲆鱼耗氧率、氮排泄率与体重及温度的关系[J]. 青岛海洋大学学报, 1997(27): 484–489.
- [20] 闫茂仓, 单乐州, 谢起浪, 等. 温度、盐度及体质量对条石鲷幼鱼耗氧率和排氨率的影响[J]. 海洋科学进展, 2008 (26): 486–496.
- [21] 雷思佳, 李德尚. 温度对台湾红罗非鱼能量收支的影响[J]. 应用生态学报, 2000(11): 618–620.
- [22] 宋苏祥, 刘洪柏, 孙大江, 等. 史氏鲟稚鱼的耗氧率和窒息点[J]. 中国水产科学, 1997 (4): 100–103.
- [23] Morgan J, Iwama T. Salinity effects on oxygen consumption, gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase and ion regulation in juvenile *cobosalmon* [J]. J Fish Biol, 1998, 53(5): 1110–1119.
- [24] 闫茂仓, 单乐州, 邵鑫斌, 等. 盐度和 pH 值对鲢鱼幼鱼耗氧率和氨氮排泄率的影响[J]. 台湾海峡, 2007 (26): 85–91.
- [25] Imsland A K, Foss A, Gunnarsson S. The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 2001, 198: 353–367.
- [26] Malloy K D, Targett T E. Feeding, growth and survival of juvenile summer flounder *Paralichthys dentatus*: experimental analysis of the effects of temperature and salinity [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1991, 72: 213–223.
- [27] Magnussen A B, Imsland A K, Foss A. Interactive effects of different temperatures and salinities on growth, feed conversion efficiency, and blood physiology in juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* Olafsen [J]. J World Aquac Soc, 2008, 39: 804–811.
- [28] Nurdiani R, Zeng C S. Effects of temperature and salinity on

- the survival and development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål), larvae [J]. Aquac Res, 2007, 38: 1529–1538.
- [29] Fiess J C, Kunkel-Patterson A, Mathias L. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. Comp Biochem Physiol, 2007, 146: 252–264.
- [30] Moreira G S. Temperature and salinity effects on the respiratory metabolism of the first zoeal stage of *Macrobrachium holthuisi* Genofre & Lobão (Decapoda Palaemonidae) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1980, 47: 141–148.
- [31] Martínez-Palacios C A, Ross L G, Jiménez-Valenzuela L. The effects of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) [J]. J Aquac Tropics, 1996, 11: 59–65.
- [32] Mayzall P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton: IV-The influence of starvation on the metabolism and biochemical composition of some species [J]. Mar Biol, 1976, 37(1): 47–58.
- [33] Ikeda T. Nutrition ecology of marine zooplankton[M]. Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University, 1974: 1–97.
- [34] Conover R J, Corner E D S. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles [J]. J Mar Biol Assoc UK, 1968, 48(1): 49–75.
- [35] Katsanevakis S, Stephanopoulou S, Miliou H. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda) in relation to body mass and temperature [J]. Mar Biol, 2005, 146(4): 725–732.
- [36] Lemos D, Phan V N, Alvarez G. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* Pérez-Farfante (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) early postlarvae in different salinities [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2001, 261: 55–74.
- [37] Carvalho P S M, Phan V N. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Xiphopenaeus kroyeri* Heller (Penaeidae) in relation to mass temperature and experimental procedures shrimp oxygen uptake and ammonia excretion [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1997, 209: 143–156.
- [38] Widdows J. Physiological indices of stress in *Mytilus edulis* [J]. J Mar Biol Assoc UK, 1978, 58(9): 125–142.
- [39] 王渊源. 鱼虾营养概论[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1993: 132–149.

Combined effect of temperature and salinity on energy metabolism of GIFT Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles

WANG Hui¹, QIANG Jun², WANG Haizhen¹, XU Pao², LI Ruiwei³

1. Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China;

2. Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

3. Maonan Sango Tilapia Breeding Base, Maoming 525024, China

Abstract: We evaluated the combined effects of temperature and salinity on the energy metabolism of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*, GIFT strain). We used a two-factor central composite experimental design (CCD) and response surface methodology (RSM) to test the effects of temperature (13–36°C) and salinity (0–20) on the oxygen consumption rate (OR), ammonia excretion rate (NR), and CO₂ excretion rate (CR) under laboratory conditions. The linear effects of temperature and salinity, the quadratic effect of salinity, and the interaction between salinity and temperature had significant effect on OR, NR and CR ($P < 0.05$). The quadratic effect of temperature was not associated with changes in OR and CR ($P > 0.05$). The model equations for OR, NR, and CR had R^2 values of 0.958 1, 0.977 8, and 0.979 5, respectively ($P < 0.01$), and could be used for prediction. The OR, NR, and CR were influenced more by temperature than by salinity. At lower salinities, energy metabolism was sensitive to changes in temperature, and OR, NR, and CR were higher around the iso-osmotic point. However, when salinity exceeded the iso-osmotic point, lower temperatures and higher salinity inhibited metabolism. The O : N ratio did not vary with temperature, but vary with salinity ($P > 0.05$). Within the temperature range of 13–36°C and salinity range of 0–10, tilapia juveniles utilized protein-lipid- dominated metabolism. Conversely, the juveniles depended on lipid-dominated catabolism at salinity of 20. The mean respiratory quotient value was 0.752. Our results provide insight into the joint influence of temperature and salinity on the metabolism of tilapia juveniles and provides a bioenergetic basis for the study of how environmental factors govern the spatial and temporal pattern of energy distribution in this species.

Key words: *Oreochromis niloticus*; juvenile; oxygen consumption rate; ammonia excretion rate; CO₂ excretion rate

Corresponding author: WANG Hui. E-mail: whh524@sina.com