

doi: 10.12131/20180114

红鳍笛鲷仔、稚鱼摄食、消化与食物选择性研究

崔 科^{1,2,3}, 杨其彬², 马振华²

(1. 上海海洋大学水产与生命科学学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心, 海南 三亚 572000; 3. 华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642)

摘要: 为了探明仔、稚鱼阶段红鳍笛鲷 (*Lutjanus erythropterus*) 投喂轮虫的最适密度和颗粒饲料驯化时间, 文章研究了不同轮虫投喂密度下, 红鳍笛鲷仔鱼的生长、存活和食物选择, 并采用生长、存活、RNA/DNA 比率和消化道上皮细胞高度等参数作为评价指标, 研究了颗粒饲料驯化时间 [13 dph (孵化后天数, W13)、16 dph (W16)、19 dph (W19) 和 22 dph (W22)] 对红鳍笛鲷仔、稚鱼的影响。结果表明, 轮虫投喂密度显著影响红鳍笛鲷仔鱼的摄食、饵料选择、生长和存活, 轮虫投喂密度为 10~20 个·mL⁻¹ 时, 仔鱼的生长和成活率均无显著差异但显著高于 1 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 处理组。颗粒饲料驯化实验中, W19 和 W22 处理组个体的生长和成活率显著高于其他两组, W13 处理组个体的 RNA/DNA 比率最低。22 dph 时, W13 和 W16 处理组个体消化道上皮细胞高度明显低于其他两组。根据研究结果, 轮虫和卤虫无节幼体混合喂养期间, 轮虫密度对仔、稚鱼的食物选择性存在显著影响, 建议在红鳍笛鲷初始投喂阶段使用 10~20 个·mL⁻¹ 的轮虫密度投喂仔鱼, 红鳍笛鲷 13 dph 即可驯料, 而最佳驯料期为 16~22 dph。

关键词: 红鳍笛鲷; 食物选择性; 早期驯料; 生长; 存活; 消化道上皮细胞高度; RNA/DNA 比率

中图分类号: S 962.3

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2018)06-0043-09

Ingestion, digestion and food selection of crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*) larvae and juveniles

CUI Ke^{1,2,3}, YANG Qibin², MA Zhenhua²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Tropical Aquaculture Research and Development Center, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Sanya 572000, China; 3. College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To determine the optimal feeding density of rotifer and weaning time for *Lutjanus erythropterus* larvae and juveniles, we studied the impact of different rotifer feeding densities on the growth, survival and food selectivity for juvenile *L. erythropterus*. Then we investigated the effect of weaning time [13 dph (days post hatching, W13), 16 dph (W16), 19 dph (W19) and 22 dph (W22)] on the rearing performance of larval and juvenile *L. erythropterus* by using the evaluation indicators of growth, survival, RNA/DNA ratio and epithelial cell height of the digestive tract. The results show that the feeding density of rotifer affected the ingestion, food selection, growth and survival rate of *L. erythropterus* juveniles significantly. When the feeding density of rotifer was 10~20 ind·mL⁻¹, there was no significant difference in the growth and survival rate of the juveniles, but significantly higher than treatment groups of 1 ind·mL⁻¹ and 30 ind·mL⁻¹. In the weaning experiment, the growth and survival rates of W19 and W22 groups were significantly

收稿日期: 2018-05-18; 修回日期: 2018-06-21

资助项目: 海南省自然科学基金项目 (317289)

作者简介: 崔 科 (1975—), 男, 博士, 讲师, 从事渔业资源与种质资源研究。E-mail: kcui@scau.edu.cn

通信作者: 马振华 (1981—), 男, 博士, 副研究员, 从事鱼类繁殖育种研究。E-mail: zhenhua.ma@hotmail.com

higher than those of the other two groups, and the W13 treatment group had the lowest RNA/DNA ratio. At 22 dph, the height of the epithelial cells of digestive tract was significantly lower in the W13 and W16 groups than in the other two groups. It is indicated that the rotifer density had significant impact on the food selectivity of *L. erythropterus* during mixed feeding period of rotifers and *Artemia nauplii*. The rotifer density of 10–20 ind·mL⁻¹ is recommended for the initial feeding period of *L. erythropterus*, and the weaning of *L. erythropterus* can be started on 13 dph, but the best timing was 16–22 dph.

Key words: *Lutjanus erythropterus*; food selectivity; early weaning; growth; survival; epithelial cell height of digestive tract; RNA/DNA ratio

大多数海洋鱼类的仔鱼消化系统于发育早期均呈不成熟状态, 外部因素如温度、水质等均会对个体发育状况造成影响^[1]。早期阶段, 卵黄消失后仔鱼以浮游生物为食^[2], 个体选择合适的活饵以供应发育所需营养和能量^[3]。此时, 外源性食物的数量、质量和摄食时间会影响仔鱼的生长和存活^[4]。生长初期仔鱼能否成功摄取生物饵料, 已经成为渔业增殖的重要基准^[5-7]。

在实际生产中, 鱼类仔、稚鱼阶段的早期生物饵料多为轮虫 (*Brachionus* spp.) 和卤虫 (*Artemia* spp.)^[8]。生物饵料的长期使用会造成养殖成本升高, 并且由于生物饵料缺乏仔鱼生长发育所需营养, 可能导致个体营养不良^[9-10]。因此, 需要在鱼类早期发育阶段选择最佳驯料时间。为监测颗粒饲料的引入对仔、稚鱼的生长、存活和营养需求的影响, 研究人员常采用 RNA/DNA 比率和消化道上皮细胞高度参数为评价指标^[11]。由于每个细胞的 DNA 数量基本恒定, 而 RNA 数量与蛋白质合成量相关, 因此 RNA/DNA 比率可以用作鱼类及其他物种生长的通用测量指标。鱼类的营养条件与饵料供应及其能否成功摄食有关, 获取足够营养的仔鱼比营养供应差的 RNA/DNA 比率更高^[12]。仔鱼人工饵料的引入时间必须以仔鱼消化系统的发育为基础。不少研究表明, 当仔鱼处于营养不良状态时, 消化器官组织结构可能会退化, 所以消化道上皮细胞高度已被用作鱼类营养供应情况的组织学指标^[13]。

红鳍笛鲷 (*Lutjanus erythropterus*) 隶属于笛鲷科, 广泛养殖于亚太地区。尽管对红鳍笛鲷的养殖已有一些研究报道, 但其仔、稚鱼饲养的几个关键问题尚未解决^[14-18]。红鳍笛鲷仔、稚鱼阶段的主要活饵来源是轮虫和卤虫, 但其仔鱼摄食量和活饵密度之间的关系还不确定, 且颗粒饲料驯料期间的高死亡率也严重限制了红鳍笛鲷育苗的经济效益。本研究首先对红鳍笛鲷仔鱼采用不同密度的轮虫投

喂, 观察其生长、存活和食物选择性; 之后对红鳍笛鲷仔、稚鱼进行颗粒饲料驯料处理, 运用 RNA/DNA 比率和消化道上皮细胞高度, 评价驯料期个体对营养供应的反应, 旨在确定红鳍笛鲷的最适轮虫投喂密度和最佳驯料时间, 以提高该鱼种商业化生产的成活率 and 经济效益。

1 材料与方法

1.1 实验材料

红鳍笛鲷受精卵于 2017 年 4 月在海南省陵水通过自然受精获得, 运至新村镇, 并在 27.5 °C 的 500 L 玻璃孵化器中孵化, 孵化率为 (95.6±1.8)%。孵化后将仔鱼转入 500 L 育苗桶进行育苗实验。所有育苗桶从底部引入过滤海水 (5 μm 孔径) 进行供水, 日换水率为 300%。水桶侧面有出水口 (300 μm), 每天对出水口进行清洁。每个水桶放置一块气石, 保证溶解氧质量浓度 >7.0 mg L⁻¹。光照强度为 2 000~2 400 lx, 控制光暗时间比为 14 h : 10 h, 实验盐度为 33±0.8, 温度为 28~30 °C。

2~12 日龄 (孵化后天数 days after hatching, dph) 仔鱼投喂圆型臂尾轮虫 (*B. rotundiformis*)。饲喂小球藻 (*Nanochloropsis* sp.) 的轮虫经 DHA Protein Selco[®] (INVE Aquaculture, Salt Lake City, UT, USA) 强化后投喂, 保证饵料的营养。强化之前, 轮虫收集后保持密度为 800 个·mL⁻¹, 储存于 400 L 收集池。经 12 h 的营养强化后, 收集轮虫并投喂至育苗桶。育苗桶中加入浓缩小球藻, 为轮虫提供饵料并为仔鱼提供绿色水体环境。采用 150 μm 筛网收集卤虫无节幼体 (Ⅱ期), 并以 1 个·mL⁻¹ 的密度投至育苗桶。驯料前的预实验在 12 dph 前完成。

1.2 实验方法

1.2.1 轮虫投喂密度对仔鱼生长、存活与摄食影响实验 将 3 dph 的仔鱼放入 12 个 500 L 的桶中 (60 尾·L⁻¹)。以 1 个·mL⁻¹、10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 轮虫作为投喂处理, 每组 3 个平行。

每天于 8:00、12:00 和 17:30 各投喂 1 次。3~9 dph 期间, 每 2 d 从育苗桶中随机抽取 10 尾仔鱼用于生长测量。采样时从桶的上、中、下各部分垂直各抽取 3 份。将来自同桶的所有样品聚于 10 L 桶中, 然后从桶中随机抽取样品。

在 3 dph、5 dph、7 dph 和 9 dph 时抽取仔鱼个体, 以测量摄食量。取样当日早晨, 仔鱼摄食 2 h 后从每个桶中随机抽取 10 尾个体, 同时从每个育苗桶中取轮虫样以确定周围食物密度。仔鱼经 0.5% AQUI-S (AQUI-S New Zealand, Lower Hutt, New Zealand) 麻醉后沉于取样瓶底部, 将其储存于 10% 中性甲醛溶液中, 以备计算摄食量。实验结束时对所有存活仔鱼进行计数以计算成活率。生长情况由特定生长速率 (SGR) 表示, 使用 Hopkins^[19]描述的公式: $SGR = (\ln SL_f - \ln SL_i) / D_t \times 100\%$, 其中 SL_i 和 SL_f 分别为个体初、末标准长度 (mm), D_t 为采样时间间隔。提取每尾个体的整个肠道, 在显微镜下以 100×放大率进行观察。记录每尾仔鱼肠道中活饵的数量和种类。将砂囊和口器定义为个体摄取的轮虫数量, 而眼色素和卤虫无节幼体全体用来表示食物摄取量。

7 dph 时对个体进行肠道排空检查。在此实验开始前 10 h, 对 3 组 500 L 养殖桶的 300 尾仔鱼停止投喂。投喂之前取 10 尾仔鱼进行肠道内容物分析, 以确认肠道中没有食物。然后在 7 dph 以 20 个·mL⁻¹ 的密度投喂轮虫, 保证摄食 2 h。每个育苗桶中抽取 10 尾个体进行肠道内容物分析。每组各平行取 100 尾仔鱼移至 500 L 桶中以确定肠道排空时间。肠道排空检验实验育苗桶环境条件与生长实验相同, 不同之处在于停止食物投放。肠道分析实验持续 8 h, 每小时从每个桶中取 10 尾仔鱼用于肠道内容物分析。将仔鱼样品用 0.5% AQUI-S 进行麻醉, 并记录每尾仔鱼肠道中轮虫的数量。

消耗率由以下方程式确定^[20]: $F = (S_t - S_0 \times e^{-Rt}) / (1 - e^{-Rt})$, 其中 F 为每小时的消耗率, S_t 为时间 t 之后肠道中的食物量, S_0 为初始时肠道中的食物量, Rt 为 t 时间时的排泄率; 排泄率采用以下公式^[21]: $R = (\ln A - \ln Y_x) / X$, 或 $Y_x = Ae^{-RX}$, 其中 Y_x 为仔鱼肠道中食物的数量, X 为时间间隔, A 为回归线和纵坐标的截距处的 Y_x 值, RX 是 X 时间间隔的排泄率。

食物利用效率 (FUE) 为仔鱼所消耗食物与总

食物量的百分比, 通过以下公式^[22]计算: $FUE = (F \times t \times N_f) / (N_{total} \times 100\%)$, 其中 N_{total} 为总食物量, F 为每小时仔鱼消耗的食物数量, t 为仔鱼摄食时间 (本实验为 4 h), N_f 为仔鱼的数量。

1.2.2 轮虫投喂密度对仔鱼饵料选择性影响实验

5 dph、7 dph 和 9 dph 时测定仔鱼在首次投喂期间对轮虫和卤虫无节幼体的选择。本实验用仔鱼养殖于独立的 12 个 500 L 桶中。所有育苗条件与上一实验相同。育苗桶中的轮虫密度分别为 1 个·mL⁻¹、10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹, 各设 3 个平行组。从 5 dph 开始将卤虫无节幼体以每天 1 个·mL⁻¹ 分 3 次投喂至育苗桶。投喂 2 h 后进行取样, 每个育苗桶中抽取 10 尾仔鱼以确定食物选择性。分别测定仔鱼肠道和桶中的食物数量。根据 Ivlev^[17]的公式计算食物选择性: 选择性 = $(r-p)/(r+p)$, 其中 r 是每尾仔鱼肠道内食物类型百分比, p 是桶中食物类型百分比。该指数范围从 -1.00 (完全回避) 到 +1.00 (全部消耗)。

1.2.3 颗粒饲料驯化时间对仔、稚鱼影响实验

12 dph 时将仔鱼从 500 L 育苗桶转移至 12 个 300 L 实验容器中进行早期驯料实验。每个容器放置仔鱼密度为 20 尾·L⁻¹, 正式实验开始于 13 dph, 日换水量为 300%, 每个容器中放置一块气石以维持溶解氧接近饱和并促使微藻、轮虫和卤虫分布均匀。

驯料实验持续 10 d, 包括 5 d 共同饲喂和 5 d 活饵移除、人工饵料引入。驯料完成后, 人工饵料为唯一食物来源, 活饵逐渐被淘汰。每个处理重复 3 次。每组处理间隔 3 d (13 dph、16 dph、19 dph 和 22 dph, 图 1)。

10 dph 时个体首次投喂卤虫无节幼体, 密度保持在 0.1 个·mL⁻¹, 然后每日增加 90%。5 d 的混合喂养之后, 卤虫无节幼体以每日减少 20% 的速率逐渐淘汰, 直到混合喂养结束。3 种规格的人工饵料从小到大进行投喂, 其中包括 Otohime A1 (~250 μm, Marubeni Nisshin Feed Co., Ltd., 日本)、华成 3 号 (360~600 μm, 中国) 和华成 5 号 (850~1 100 μm, 中国)。每天 08:30—19:00 间隔 1 h 投喂人工饵料, 及时调整饲料量以达到明显的饱食水平。

每次采样随机抽取 10 尾仔鱼测量生长参数。个体经 AQUI-S 麻醉后, 于 10×立体显微镜下进行测量, 采用特定生长率判定生长情况, 通过池底死

W22	卤虫无节幼体 AN				混合投喂 MF				驯料完成 WC			
W19	卤虫无节幼体				混合投喂				驯料完成			
W16	卤虫无节幼体				混合投喂				驯料完成			
W13	卤虫无节幼体		混合投喂				驯料完成					
	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32
	孵化后天数 dph											

图1 相同驯料方法4种不同驯料时间实验设计

W13. 13~22 dph; W16. 16~25 dph; W19. 19~26 dph; W22. 22~33 dph; 图7、图8 同此

Fig.1 Experimental design of same weaning regime started on four different days post hatching

AN. artemia nauplii; MF. mixed feeding; WC. weaning complete; W13. 13~22 dph; W16. 16~25 dph;

W19. 19~26 dph; W22. 22~33 dph; the same cases in Fig.7 and Fig.8.

鱼数量计算个体每日死亡率。

16 dph、19 dph 和 22 dph 时, 从 3 个并列实验中随机抽取 10 尾仔鱼进行消化系统发育检测。个体经 AQUIS 麻醉后固定于 10% 中性甲醛。将固定的仔鱼嵌入石蜡块中, 并使用徕卡旋转切片机 (LeicaRM2016, German) 以连续矢状切片法 (5 μm 厚) 进行切片。利用苏木精-伊红 (HE) 染色, 采用永久透明制剂 De Pex 将组织切片固定在载玻片上。使用 Olympus 显微镜 (Olympus Co., 日本) 观察, 利用图像分析程序 (Motic Image Plus 2.0ML; 麦克奥迪实业集团有限公司, 深圳) 进行拍照分析, 并于 200 \times 放大率下测量 30 尾个体的消化道上皮细胞高度。

从最初混合喂养的个体和驯料处理各平行组个体中提取 RNA 和 DNA 样品, 操作为: 1) W13 处理组, 对 13 dph、22 dph 个体进行取样分析; 2) W16 处理, 对 16 dph、25 dph 个体进行取样分析; 3) W19 处理组, 对 19 dph、28 dph 个体进行取样分析; 4) W22 处理组, 对 22 dph、31 dph 个体进行取样分析。每次采样均从每个实验容器随机抽取 10~20 尾个体。仔鱼麻醉后经蒸馏水预洗去除盐分, 然后保存于液氮中。于冰盘上对样品进行解冻, 选取肌肉组织, 按照 Zehra 和 Khan^[23]描述的方法测定 RNA/DNA 比率。主要方法为: 1) 将肌肉样品 (100 mg) 在 90 $^{\circ}\text{C}$ 5% 的三氯乙酸 (TCA) 中匀浆 5 min, 然后以 5 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min; 2) 测定 RNA 时, 在 1.0 mL 上清液中加入 2.0 mL 蒸馏水和 3.0 mL 苔黑酚试剂。将反应混合物保持在沸水浴中 20 min, 当出现蓝绿色时在 660 nm 处读取数值; 3) 测定 DNA 时, 在 1.0 mL 上清液中加入 1.0 mL 蒸馏水和 4.0 mL 新鲜制备的二苯胺试

剂, 将反应混合物保持在沸水浴中 10 min, 当显现蓝色时在 600 nm 处读取数值; 4) 用不同浓度的酵母 RNA 和小牛胸腺 DNA 分别绘制 RNA 和 DNA 标准曲线, 数值表示为以干基计 1 $\text{g}\cdot(100\text{mg})^{-1}$ 肌肉组织。

1.3 数据分析

在数据分析前, 本文所有百分比数据均经过反正弦变换, 而图表中所示为未转换值。数据以“平均值 \pm 标准偏差 ($\bar{X}\pm\text{SD}$)”表示, 并通过单因素方差分析 (PASW Statistics 18.0) 进行测试。处理间若有显著差异, 再用 Tukey 检验进行多重范围比较, $P<0.05$ 为差异显著。所有数据均进行正态性、均一性和独立性检验。

2 结果

2.1 轮虫投喂密度对仔鱼生长、存活和摄食的影响

轮虫密度对 9 dph 红鳍笛鲷仔鱼的生长存在显著影响 ($P<0.05$, 图 2-a)。轮虫密度为 1 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 30 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 仔鱼 SGR 低于 10 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 20 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组 ($P<0.05$)。轮虫密度为 1 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 、30 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组间与 10 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 、20 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组间的 SGR 不存在显著差异 ($P>0.05$)。密度为 10 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 、20 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 个体 SGR [(1.21 \pm 0.17)% $\cdot\text{d}^{-1}$ 和 (1.38 \pm 0.29)% $\cdot\text{d}^{-1}$] 约为 1 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 30 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ SGR [(0.61 \pm 0.17)% $\cdot\text{d}^{-1}$ 和 (0.65 \pm 0.19)% $\cdot\text{d}^{-1}$] 的 2 倍。轮虫密度对红鳍笛鲷仔鱼的成活率也存在显著影响 ($P<0.05$, 图 2-b)。10 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 20 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组仔鱼的成活率显著高于 1 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 30 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组 ($P<0.05$)。

红鳍笛鲷仔鱼初期摄食能力较差。3 dph 时各投喂处理组个体摄食量不存在显著差异 ($P>0.05$)。随着日龄的增加, 仔鱼的摄食量增大。5 dph 时投

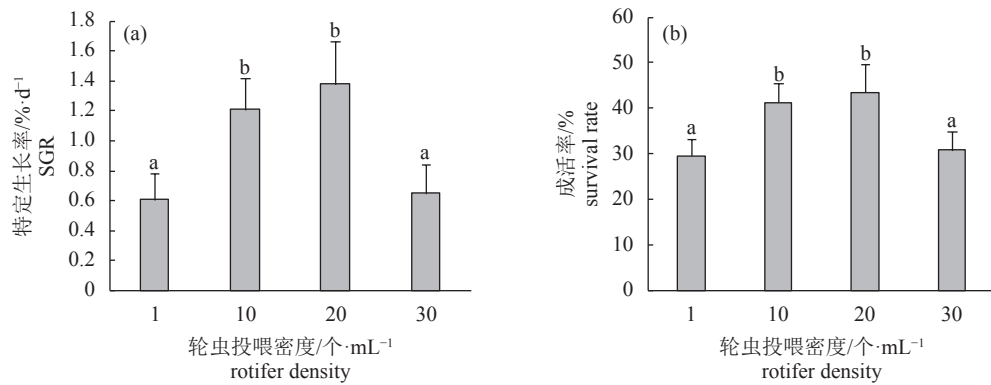


图2 不同密度轮虫投喂下9 dph红鳍笛鲷仔鱼的特异生长率和成活率

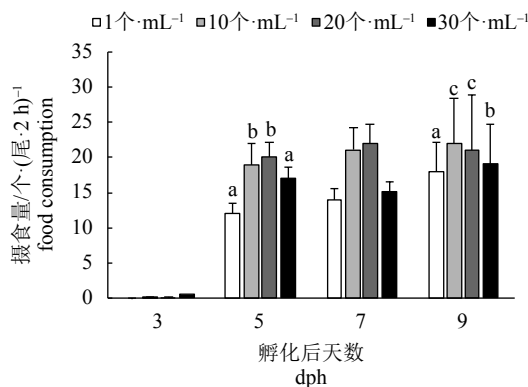
不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 后图同此Fig.2 Specific growth rate and survival rate of 9 dph *L. erythropterus* juveniles at different rotifer densitiesDifferent lowercase superscripts indicate significant difference ($P<0.05$). The same case in the following figures.

图3 不同密度轮虫投喂下3 dph、5 dph、7 dph、9 dph 红鳍笛鲷仔鱼摄食量

Fig.3 Food consumption of 3 dph, 5 dph, 7 dph and 9 dph *L. erythropterus* juveniles at different rotifer densities

喂 10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 的仔鱼轮虫摄食量显著高于投喂 1 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ (图 3)。7 dph 时仔鱼的摄食量差异不显著 ($P>0.05$)。9 dph 摄食量差异与 5 dph 相似, 10 个·mL⁻¹ 和 20 个·mL⁻¹ 的仔鱼显著高于 1 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 投喂组 ($P<0.05$)。喂食 1 个·mL⁻¹ 的仔鱼摄食量最低, 为每 2 h 每尾摄取 (18±0.1) 个。

对每尾仔鱼进行摄食量计算。7 dph 仔鱼的日食量达到 45~59 个轮虫, 但未受到轮虫密度的显著影响 ($P>0.05$, 图 5)。轮虫密度对食物利用效率存在显著影响 ($P<0.05$, 图 4), 随着轮虫密度的增加, 桶中的食物利用率从 (68±2)% 显著下降至 (35±6)% ($P<0.05$, 图 4)。

2.2 不同轮虫投喂密度对仔鱼饵料选择性的影响

轮虫和卤虫无节幼体混合喂养期间, 轮虫密度对食物选择性存在显著影响 ($P<0.05$, 图 5)。7

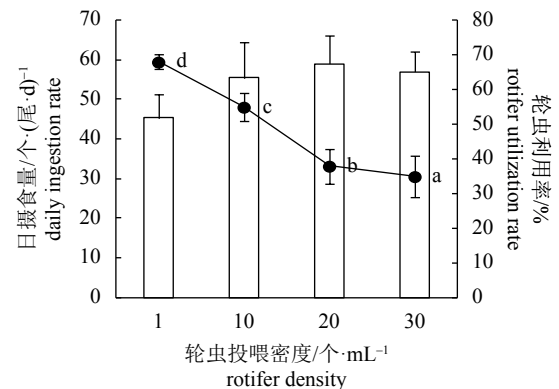


图4 不同密度轮虫投喂下7 dph红鳍笛鲷仔鱼日摄食量和轮虫利用率

Fig.4 Daily ingestion and utilization rate of rotifer for *L. erythropterus* juveniles on 7 dph at different rotifer densities

dph 时轮虫和卤虫无节幼体混合喂养下, 1 个·mL⁻¹ 投喂组仔鱼对卤虫无节幼体不存在选择性, 而 10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 桶中的仔鱼对卤虫无节幼体存在选择性; 9 dph 时, 卤虫无节幼体成为 10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 组仔鱼首选的食物, 而 1 个·mL⁻¹ 投喂组个体仍然选择轮虫。

2.3 颗粒饲料驯化时间对仔、稚鱼的影响

1 dph 红鳍笛鲷仔鱼的平均标准长度 (SL) 为 (3.38±0.17) mm。W13 处理组个体 SL 达到 (5.14±0.44) mm (图 6-a)。实验结束时, W22 和 W19 处理组个体 SL 显著大于 W13 和 W16 处理组 ($P<0.05$, 图 7)。W13 和 W16 处理组个体的 SGR 分别为 7.32%·d⁻¹ 和 7.82%·d⁻¹, 显著低于 W19 和 W22 处理组 ($P<0.05$, 图 6-b)。W22 和 W19 处理组个体成活率分别为 85.2% 和 86.5%, 2 个处理组之间不存在显著

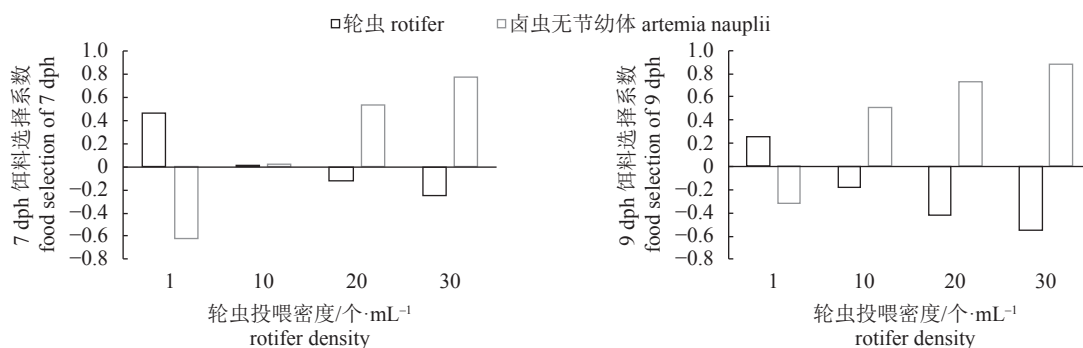


图5 不同密度轮虫投喂下红鳍笛鲷仔鱼7 dph和9 dph的饵料选择系数

Fig.5 Food selection of 7 dph and 9 dph *L. erythropterus* juveniles at different rotifer densities

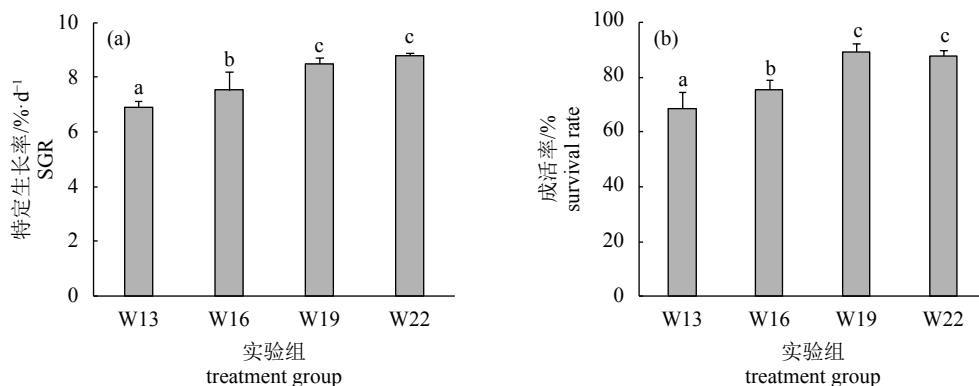


图6 不同驯料时间红鳍笛鲷的特定生长率和成活率

Fig.6 Specific growth rate and survival rate of *L. erythropterus* juveniles at different weaning time

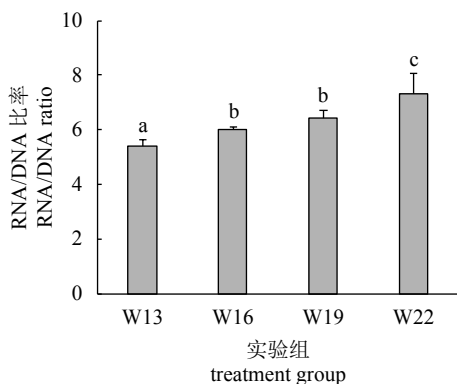


图7 不同驯料时间红鳍笛鲷RNA/DNA比率

Fig.7 RNA/DNA ratio of *L. erythropterus* at different weaning time

差异。W13 和 W16 处理组个体成活率亦不存在显著差异 ($P>0.05$), 但显著低于 W19 和 W22 处理组 ($P<0.05$, 图 6-b)。

驯料时间对个体在发育过程中的 RNA/DNA 比率存在显著影响 ($P<0.05$, 图 7)。驯料结束时 W13 处理组个体 RNA/DNA 比率最低, 显著低于其他各处理组, 而 W22 处理组又显著高于 W16 和

W19 处理组。

驯料时间显著影响仔鱼消化道上皮细胞的高度 ($P<0.05$, 图 8)。10 dph 时个体消化道上皮细胞的高度为 $(10.02\pm0.73) \mu\text{m}$ 。混合喂养后 W13 和 W16 处理组个体的消化道上皮细胞高度显著低于 W19 和 W22 处理组。22 dph 时 W19 和 W22 处理

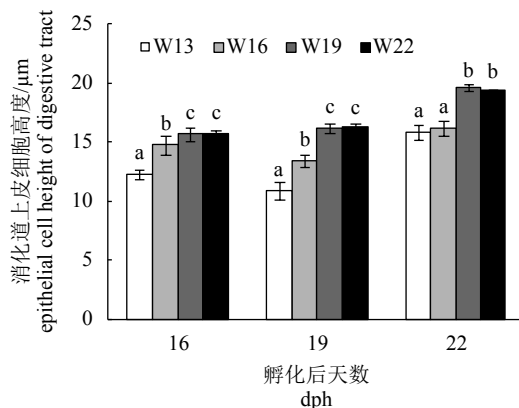


图8 不同驯料时间红鳍笛鲷仔鱼消化道上皮细胞高度的变化

Fig.8 Epithelial cell height of digestive tract of *L. erythropterus* juveniles at different weaning time

组个体消化道上皮细胞高度显著高于 W13 和 W16 处理组, 但 W19、W22 处理组与 W13、W16 处理组之间不存在显著差异。

3 讨论

轮虫密度是海洋鱼类仔、稚鱼摄食成功的重要因素之一。据报道, 实验条件下在饵料投喂临界密度范围内, 摄食的成功率随着饵料密度的增加而增大^[10]。饵料密度和摄取量之间的关系存在种属和个体发育差异性^[24]。本研究结果显示初始摄食阶段仔鱼摄取量与轮虫密度显著关联。对 5~9 dph 的仔鱼进行不同密度轮虫投喂, 10 个·mL⁻¹ 和 20 个·mL⁻¹ 投喂组个体比 1 个·mL⁻¹ 和 30 个 mL⁻¹ 投喂组的摄入量多。有研究表明, 随着投喂处理时间的延长, 个体的摄食率可能会受轮虫密度的限制; 由此可以解释 1 个·mL⁻¹ 投喂组个体摄食率较 10~20 个·mL⁻¹ 组低的原因。本研究中 1 个·mL⁻¹ 投喂组仔鱼无论是生长率还是成活率均低于 10 个·mL⁻¹ 和 20 个·mL⁻¹ 组。以上结果表明 1 个·mL⁻¹ 轮虫密度对红鳍笛鲷的个体生长有消极影响。这一发现得到了现有研究的证实, 即轮虫密度低的仔鱼需要花费更多的能量用来寻找饵料和游泳, 从而导致低生长率和低成活率^[9]。随着轮虫密度的增加, 仔鱼的生长率和成活率也会增大, 直到过高的轮虫密度干扰仔鱼摄食行为, 降低其对饵料的消化利用率^[25]。本研究中 30 个·mL⁻¹ 投喂组个体受到轮虫密度的显著影响。30 个·mL⁻¹ 轮虫培养环境下, 仔鱼的生长、生存和食物摄入受到抑制, 表明该喂养密度已经超过了最大摄食密度。这与对黄金鲈 (*Perca flavescens*) 的研究结果相似^[25]。

作为个体生长时的食物偏好依据, 了解食物的选择性可以优化仔、稚鱼培育的生物饵料供给, 是仔、稚鱼培育过程中最重要的一个环节。研究表明, 鱼类在生理上能够摄食较大个体的食物时, 往往会调节摄食行为以满足其能量需求^[26]。本研究食物选择实验结果显示, 5 dph 时 10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 投喂处理组个体开始适应于摄食卤虫无节幼体, 而 1 个轮虫·mL⁻¹ 处理组的仔鱼仍无法摄食卤虫无节幼体。根据最佳摄食理论, 只有在周围环境某种饵料提供充足的情况下, 个体才会对其进行选择。当鱼类处于低密度饵料环境时, 后期混养阶段仔鱼的食物偏好会受到影响。本研究

中食物的选择会受到捕食密度增加的影响。混合喂养 5 d 之后, 10 个·mL⁻¹、20 个·mL⁻¹ 和 30 个·mL⁻¹ 处理组所有个体都适应了卤虫无节幼体, 而 1 个·mL⁻¹ 投喂处理组个体仍然不会选择卤虫无节幼体。这表明仔鱼所选择饵料的大小随其生长而增加, 但是低食物密度可能会导致个体对大食物的选择延迟。

为优化仔鱼饲养的最佳喂养方案, 有必要对食物的消耗和供应进行评估, 以满足鱼类的营养需求。对于红鳍笛鲷的食物供应评估尚未见报道。本研究对不同密度轮虫投喂下红鳍笛鲷仔鱼的食物消耗进行了量化, 在本研究的密度范围内, 摄食量与轮虫密度不存在依赖关系。这一结果与 Ma 等^[10]的研究结果一致, 即食物密度对仔鱼的日摄食量不存在显著影响。

为了优化生产效率, 有必要了解鱼类养殖的食物利用效率、量化仔鱼的食物供应需求。然而, 有关饵料利用与供应情况的研究鲜有报道。近来, 有研究表明黄尾鲷 (*Seriola lalandi*) 仔鱼的食物利用率随着活饵密度的增加而减少^[10]。本研究中轮虫密度从 1 个·mL⁻¹ 增加到 30 个·mL⁻¹ 时, 食物利用率从 68% 下降到 35%。综合红鳍笛鲷仔、稚鱼的生长、存活和食物利用率, 2~9 dph 个体, 投喂轮虫的密度以 10~20 个·mL⁻¹ 为最佳选择。

生物饵料与人工颗粒饲料的混合喂养已被证实能提高鱼类仔、稚鱼饵料转换期的成活率。例如在单一投喂方式下, 饲喂人工配合饲料或卤虫的黄线狭鳕 (*Theragra chalcogramma*) 成活率约为 60%, 而当个体进行 20% 卤虫和 80% 配方饵料共同饲养时, 成活率达到 95%^[27]。本研究成功达到了红鳍笛鲷仔、稚鱼的混合喂养和饵料转换, 实验结束时 W19 和 W22 处理组成活率高于 85%。

大量有关海水鱼类仔鱼的研究表明, 驯料时间对鱼类的生长存在显著影响, 由于食物消化不良, 不适当的驯料时间可能导致鱼类饥饿、个体生长缓慢^[28]。本研究结果显示驯料时间显著影响红鳍笛鲷仔、稚鱼的生长, W19 和 W22 处理组个体特定生长率显著高于 W13 和 W16 处理组。红鳍笛鲷是一种生长快速的物种^[15], 约在 15 dph 其功能系统即已形成。W19 和 W22 处理组个体较高的特定生长率可能与消化系统的功能发育相关。

由于饥饿可以改变鱼类消化道细胞的形态, 因

此仔鱼消化道上皮细胞的高度可作为评估个体营养状况是否良好的组织学指标^[29]。仔、稚鱼对饥饿的组织学反应因鱼种和食物减供处理而异。本研究组织学观察清晰地显示了驯料对肠上皮的影响,尤其是W13处理组,从16 dph开始,个体消化道上皮细胞的高度比对照组个体(W22)要低。上皮细胞高度降低可能与早期驯料导致的“相对饥饿”有关,但Hamza等^[28]研究认为消化道上皮细胞高度降低也可能是人工配合饲料对肠上皮侵蚀的结果。

将RNA/DNA比率作为了解仔鱼生长和发育模式指标已被大量研究证实^[11-12]。研究表明,仔鱼RNA/DNA比率与食物的可利用性密切相关,可以用来评估仔鱼的营养状况。对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的研究结果表明,首次摄食过程中,不适宜的饵料提供会导致RNA含量降低^[30]。近来,RNA/DNA比率的变化已被用来评估食物充足性和仔鱼饵料转换是否成功^[30-31]。本研究中RNA/DNA比率的变化受驯料时间的影响,驯料完成后W13处理组个体RNA/DNA比率显著低于其他处理组,推测驯料时间对个体营养状况可能存在负面影响。然而,W16、W19和W22处理组个体RNA/DNA比率呈正增长变化,推测驯料期个体对人工配合饲料产生了适应性。综上所述,在仔鱼首次投喂期间对轮虫密度的调控可改善鱼的生长和存活。轮虫密度为10~20个·mL⁻¹时仔鱼的生长和存活不存在显著差异。1个·mL⁻¹和30个·mL⁻¹密度下,个体的生长速度较10个·mL⁻¹和20个·mL⁻¹投喂组慢,且10~20个·mL⁻¹密度下,个体成活率更高。1个·mL⁻¹轮虫密度环境不仅限制了个体早期摄食,还延缓了从轮虫到卤虫饵料转换的时间。综合活饵利用效率、摄食和食物选择对个体生长、成活率的影响,建议红鳍笛鲷的轮虫投喂密度为10~20个·mL⁻¹。红鳍笛鲷仔、稚鱼可尽早在16 dph时将活饵转换为人工配合饲料,而不会影响鱼的营养状况。16 dph前人工配合饲料的引入可能会限制个体生长、存活和营养状况。本研究结果表明,红鳍笛鲷可在13 dph时进行饵料转换,但16 dph为最佳转换时间。

参考文献:

- [1] HU J, LIU Y, MA Z, et al. Feeding and development of warm water marine fish larvae in early life[M]//YUFERA M. Emerging issues in fish larvae research. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 2018: 275-296.
- [2] 郭浩宇, 张秀梅, 张宗航, 等. 许氏平鲉仔、稚鱼的摄食特性及幼鱼胃排空率[J]. 水产学报, 2017, 41(2): 285-296.
- [3] 于欢欢, 李炎璐, 陈超, 等. 棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交F₁仔、稚、幼鱼的摄食与生长特性分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(5): 968-977.
- [4] 刘利平, 刘登攀, 蒲金成, 等. 日本鳗鲡仔鱼的开口饵料和行为特征[J]. 水产学报, 2017, 41(5): 703-710.
- [5] 王晓龙, 温海深, 张美昭, 等. 花鲈初孵仔鱼饥饿不可逆点的确定及摄食节律研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2017, 47(5): 57-64.
- [6] 高小强, 洪磊, 刘志峰, 等. 美洲西鲱仔鱼不可逆点及仔、稚鱼摄食特性研究[J]. 水产学报, 2015, 39(3): 392-400.
- [7] 杨育凯, 虞为, 林黑着, 等. 豹纹鳃棘鲈仔鱼饥饿实验和不可逆点研究[J]. 南方水产科学, 2017, 13(6): 90-96.
- [8] 隋延鸣, 庄亚润, 周凯, 等. 轮虫、卤虫无节幼体及蝇蛆三种开口饵料对黄颡鱼仔鱼生长、存活及免疫酶活性的影响[J]. 水产学杂志, 2018, 31(2): 20-24.
- [9] MA Z, GUO H, ZHANG D, et al. Food ingestion, consumption and selectivity of pompano, *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758) under different rotifer densities[J]. Aquacult Res, 2015, 46(11): 2593-2603.
- [10] MA Z, QIN J G, HUTCHINSON W, et al. Food consumption and selectivity by larval yellowtail kingfish *Seriola lalandi* cultured at different live feed densities[J]. Aquacult Nutr, 2013, 19(4): 523-534.
- [11] TANAKA Y, SATOH K, YAMADA H, et al. Assessment of the nutritional status of field-caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery-reared fish[J]. J Exp Mar Bio Ecol, 2008, 354(1): 56-64.
- [12] PILAR OLIVAR M, DIAZ M V, CHÍCHARO M A. Tissue effect on RNA:DNA ratios of marine fish larvae[J]. Scientia Marina, 2009, 73(S1): 171-182.
- [13] CHEN B N, QIN J G, CARRAGHER J F, et al. Deleterious effects of food restrictions in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* during early development[J]. Aquaculture, 2007, 271(1/2/3/4): 326-335.
- [14] 刘皓, 张玉红, 罗杰, 等. 红鳍笛鲷(*Lutjanus erythropterus*) 卵巢发育的组织学研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(1): 269-275.
- [15] 程大川, 马振华, 江世贵. 红鳍笛鲷仔、稚鱼异速生长[J]. 水生生物学报, 2017, 41(1): 206-213.
- [16] 李加儿, 区又君, 刘匆. 红笛鲷和卵形鲳鲹的扫描电镜观察与功能探讨[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(6): 45-50.
- [17] CUI K, CHENG D C, MA Z H, et al. Ontogenetic development of digestive enzymes in larval and juvenile crimson snapper *Lutjanus erythropterus* (Bloch 1790)[J]. Aquacult Res, 2017, 48(8): 4533-4544.
- [18] CUI K, FU Z, CHENG D, et al. Development of immune functionality in larval and juvenile crimson snapper *Lutjanus erythropterus* (Bloch 1790)[J]. Aquacult Rep, 2018, 10: 1-7.

- [19] HOPKINS K D. Reporting fish growth: a review of the basics[J]. J World Aquacult Soc, 1992, 23(3): 173-179.
- [20] ELLIOTT J M, PERSSON L. The estimation of daily rates of food consumption for fish[J]. J Anim Ecol, 1978, 47(3): 977-991.
- [21] IVLEV V S. Experimental ecology of the feeding of fishes[J]. Copeia, 1962, 1: 234-236.
- [22] KLUMPP D W, von WESTERNHAGEN H. Nitrogen balance in marine fish larvae: influence of developmental stage and prey density[J]. Mar Biol, 1986, 93(2): 189-200.
- [23] ZEHRA S, KHAN M A. Dietary histidine requirement of fingerling *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein gain, histidine gain, RNA/DNA ratio, haematological indices and carcass composition[J]. Aquacult Res, 2016, 47(4): 1028-1039.
- [24] MA Z, QIN J G, NIE Z. Morphological changes of marine fish larvae and their nutrition need[M]//NIROOMAND P K. Larvae: morphology, biology and life cycle. New York: Nova Science Publisher, Inc., 2012: 1-20.
- [25] WELLINGTON C G, MAYER C M, BOSSENBOECK J M, et al. Effects of turbidity and prey density on the foraging success of age 0 year yellow perch *Perca flavescens*[J]. J Fish Biol, 2010, 76(7): 1729-1741.
- [26] RUZICKAJ J, GALLAGER S M. The importance of the cost of swimming to the foraging behavior and ecology of larval cod (*Gadus morhua*) on Georges Bank[J]. Deep-Sea Res II, 2006, 53(23/24): 2708-2734.
- [27] THEILACKER G H, PORTER S M. Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assessed with histological and shrinkage indices[J]. Fish Bull, 1995, 93: 333-344.
- [28] HAMZA N, MHETLI M, KESTEMONT P. Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae[J]. Fish Physiol Biochem, 2007, 33(2): 121-133.
- [29] DIAZ M V, PAJARO M, OLIVAR M P. Nutritional condition of Argentine anchovy *Engraulis anchoita* larvae in connection with nursery ground properties[J]. Fish Res, 2011, 109(2/3): 330-341.
- [30] MA Z, ZHENG P, GUO H, et al. Effect of weaning time on the performance of *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758) larvae[J]. Aquacult Nutr, 2015, 21(5): 670-678.
- [31] MA Z H, QIN J G, HUTCHINSON W, et al. Responses of digestive enzymes and body lipids to weaning times in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833) larvae[J]. Aquacult Res, 2014, 45(6): 973-982.