

文章编号: 1000-0615(2016)02-0225-11

DOI: 10.11964/jfc.20150409853

转食和联合投喂对胭脂鱼仔稚鱼生长和消化能力的影响

易建华^{1,3}, 郭忠娣¹, 刘本祥², 于丽娟¹,
蒲德永¹, 颜忠², 黄静¹, 王志坚^{1*}

(1.西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400715;

2.重庆市万州区水产研究所, 重庆 404100;

3.安琪酵母股份有限公司, 湖北宜昌 443000)

摘要:为考察转食及联合投喂对胭脂鱼仔稚鱼生长和消化能力的影响, 在水温(24 ± 0.5)℃下, 用丰年虫、水蚯蚓、微颗粒饲料和螺旋藻作为开口饵料, 按照不同配比共设置8个处理组来投喂出膜后10 d(10 dph)的胭脂鱼开口仔鱼, 40 dph后有2组(水蚯蚓组和丰年虫组)继续投喂先前的饵料, 其余处理组全部进行转食投喂微颗粒饲料。统计养殖各阶段的成活率, 并在30, 40, 45, 55和65 dph取材测量全长、体质量及相关酶的活性。结果如下: ①在转食前, 各个处理组间的存活率无明显差异, 均大于90%, 40 dph后进行转食的处理组存活率逐渐下降, 在实验结束时未进行转食的丰年虫组、水蚯蚓组存活率明显高于相应的转食组(丰年虫/饲料组、水蚯蚓/饲料组)和其他转食组($P < 0.05$); ②转食对胭脂鱼仔稚鱼的淀粉酶活性没有太大影响, 对丰年虫/饲料组仔稚鱼胰蛋白酶活性影响也不大, 但能显著影响水蚯蚓/饲料组仔稚鱼的胰蛋白酶活性($P < 0.05$), 对于脂肪酶活性, 丰年虫组和水蚯蚓组在40 dph后存在差异, 但转食后它们之间的变化趋势接近; ③进行联合投喂的2个处理组(丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组、水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组)相对未进行联合投喂的处理组(丰年虫+螺旋藻/饲料组、水蚯蚓+螺旋藻/饲料组), 在转食前后联合投喂组的体质量和全长均要小于相应的处理组; ④2个联合投喂组与相应的处理组在转食后, 淀粉酶活性都呈现上升趋势, 其中2个联合投喂组的淀粉酶活性在转食后均高于相应的处理组($P > 0.05$); 2个联合投喂组在转食前后胰蛋白酶和碱性磷酸酶活性整体波动趋势不大, 但在转食后5 d脂肪酶活性均呈现先下降后上升的趋势。结果表明: 丰年虫、饲料和螺旋藻进行联合投喂胭脂鱼仔鱼, 并在40 dph时转食饲料是可行的投喂方案, 但饲料投喂比例及添加时间还需进一步研究。

关键词:胭脂鱼; 仔稚鱼; 转食; 联合投喂; 生长; 消化能力

中图分类号:Q 493; S 965

文献标志码:A

在大部分鱼类的早期生活史阶段, 生物饵料是必不可少的^[1]。生物饵料的培育虽然简单但存在着生产成本高、产量和质量不稳定以及有携带病原菌等缺点^[2], 且其营养组成常常不足以维持仔鱼后期的生长需求^[3-4]。这严重制约着鱼类早期苗种培育的可持续发展。目前人工微颗粒

饲料的研发早已开展, 研究者期待用微颗粒饲料部分或全部代替生物饵料, 以解决生物活饵短缺的问题。但微颗粒饲料的育苗效果仍不理想, 相比生物活饵, 在成活率、生长性能方面还有很大的差距^[2]。

目前, 在仔稚鱼期间微颗粒饲料难以取代生

收稿日期: 2015-04-26 修回日期: 2015-09-02

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203086)

通信作者: 王志坚, E-mail: wangzj1969@126.com

物饵料的现象多见于海洋鱼类^[5-8], 可能与大部分海洋鱼类胃腺成熟较晚有关。大部分淡水鱼类如鲤鱥鱼类和罗非鱼属的胃腺成熟较早, 在进行外源性营养时就已经形成, 故大部分淡水鱼类更容易转食。但胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)属于无胃型鱼类^[9], 在早期生活史阶段不会有胃腺的形成, 因此胭脂鱼在早期苗种培育过程中可能遭遇多数海洋鱼类相同的瓶颈, 也可能是胭脂鱼早期苗种死亡率高的一个重要因素。本研究以早期胭脂鱼为实验对象, 通过研究转食和联合投喂对胭脂鱼仔稚鱼生长、存活及消化生理的影响, 以期寻找适合胭脂鱼仔稚鱼的开口饵料及合适的转食策略, 从而为提高胭脂鱼苗种期间的成活率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验分组及投喂管理

实验仔鱼来源于重庆市万州水产研究所, 为同一批人工孵化、经过平游期的胭脂鱼仔鱼。饲养在实验室玻璃循环水族箱(57 cm × 32 cm × 38 cm)中进行, 养殖水体温度控制在(24 ± 0.5) °C, 水体持续充氧, 溶氧量大于6.0 mg/L, 光周期设置为14L : 10D, 氨氮小于0.02 mg/L, 水体pH为7.6 ± 0.5。实验投喂不同饵料, 分为8组, 每组3个平行, 每个平行150尾。丰年虫组(Art)和水蚯蚓组(Tub)在实验期间分别投喂丰年虫和水蚯蚓; 丰年虫/饲料组(Art/MD)和水蚯蚓/饲料组(Tub/MD)在前期分别投喂丰年虫和水蚯蚓, 在40 dph后均转食投喂饲料; 丰年虫 + 螺旋藻/饲料组(Art + Spi/MD)在前期投喂丰年虫和螺旋藻(丰年虫与螺旋藻比例为3:1, 以干重计), 在40 dph后转食投喂饲料; 水蚯蚓 + 螺旋藻/饲料组(Tub + Spi/MD)在前期投喂水蚯蚓和螺旋藻(水蚯蚓与螺旋藻比例为3:1, 以干重计), 在40 dph后转食投喂饲料; 丰年虫 + 饲料 + 螺旋藻/饲料组(Art + MD + Spi/MD)在前期投喂丰年虫、饲料和螺旋藻(丰年虫、饲料与螺旋藻比例为1:8:1, 以干重计), 在40 dph后转食投喂饲料; 水蚯蚓 + 饲料 + 螺旋藻/饲料组(Tub + MD + Spi/MD)在前期投喂水蚯蚓、饲料和螺旋藻(水蚯蚓、饲料与螺旋藻比例为1:8:1, 以干重计), 在40 dph后转食投喂饲料。实验分组见图1。

根据文献资料和预备实验数据, 胭脂鱼仔鱼

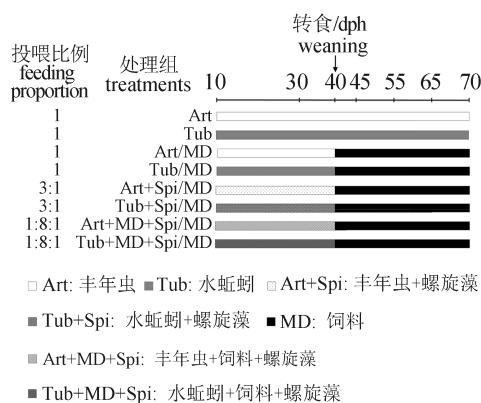


图1 实验分组及投喂比例

Fig. 1 The groups of experiment and proportion of initial feeding

在本实验条件下出膜10 d后基本能开口摄食^[9]。本实验仔鱼在10 dph时开始投喂, 实验周期为60 d。投喂方法采取饱食投喂, 混合饵料组的不同饵料单独投喂, 饵料间的比例以干重计。丰年虫以虫卵重乘以孵化率估算其干重; 水蚯蚓以湿重 × (1-含水量)算其干重, 投喂前先用3%盐水清洗后剪碎单独投喂, 剪碎的长度随日龄逐渐增加; 螺旋藻为鱼苗专用螺旋藻粉; 饲料为“升索”牌微颗粒鱼苗专用饲料, 10~20 dph投喂S1号饲料(颗粒大小为150~250 μm), 21~39 dph投喂S1 + S3号饲料, 40 dph后投喂S3号饲料(颗粒大小为480~750 μm)。每天投喂3次(投喂时间为8:30、14:30、20:30), 每次投喂2 h后用虹吸管清除剩余的残饵及粪便, 并补充曝气后的自来水至原来高度。每天及时清理死亡仔鱼, 并做好记录。

1.2 样品采集与计算

生长指标取样分别于40, 45, 55和65 dph进行, 每箱取5尾仔鱼, 仔鱼经麻醉后用游标卡尺逐尾测量全长(仔鱼吻端至尾鳍末端), 然后将每箱取样仔鱼合为一个样本, 吸干体表水分后用万分之一天平称量得到体质量。在30 dph时每箱各取15尾, 在45, 55和65 dph每箱各取5尾用液氮速冻后, 备测胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和碱性磷酸酶活性。

特定生长率(specific growth rate, SGR)根据Kjörvik等^[10]的方法进行计算, 成活率(survival rate, SR)根据Hamlin等^[11]的方法进行计算, 计算公式分别如下:

$$\text{SGR}(\%/\text{d})=100 * [\ln(W_t/W_0)/t]$$

$$\text{SR}(\%)=100 * M_t/M_0$$

式中, W_t 表示的是终末湿重, W_0 表示的是初始湿重, M_t 表示实验结束时的仔鱼存活数, M_0 表示实验开始时的仔鱼数量, t 表示实验天数。

1.3 样品测定

从-80 °C的超低温冰箱取出酶学材料, 转移至冰箱-20 °C的冷藏室1~2 h, 再转移至0 °C的冰上, 30 dph仔鱼解冻1 h后全鱼匀浆, 45, 55和65 dph仔鱼解剖取内脏团, 解冻1 h后匀浆。取10倍体积 0.2 M NaCl (W/V)加入到含组织的离心管中, 用匀浆器将组织充分匀浆。用冷冻离心机(Sigma 3K15)在4 °C 8 000 r/min 离心10 min, 取上清液, 即为粗酶提取液。收集的粗酶提取液暂存于0 °C冰浴中, 待测。相关消化酶和碱性磷酸酶的酶活力测定参照Engrola等^[12]的方法。

1.4 数据统计

实验所得数据用平均值±标准误(mean ± SE)表示, 显著水平定为 $P<0.05$ 。实验数据用SPSS 13.0 for windows 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 若发现组间存在显著差异则以最小显著差数法(LSD)进行多重比较。实验所需图表均通过Graph Pad Prism 5软件制作。

2 实验结果

2.1 转食和联合投喂对胭脂鱼仔稚鱼成活率的影响

在40 dph时即转食前, 水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组成活率最低($90.4\% \pm 2.08\%$), 各处理组

成活率均无显著差异($P>0.05$)(图2)。在70 dph时, 未转食的2组(丰年虫组和水蚯蚓组)成活率分别为 $85.43\% \pm 5.14\%$ 、 $95.18\% \pm 0.83\%$, 2组无显著性差异($P>0.05$)。转食的丰年虫/饲料组和水蚯蚓/饲料组的成活率在52 dph左右开始逐渐下降, 到70 dph时分别下降至 $16.80\% \pm 8.91\%$ 和 $39.42\% \pm 2.32\%$, 与相应未转食的处理组相比有显著性差异($P<0.05$), 但2组之间并无显著性差异($P>0.05$)。转食前螺旋藻的添加对成活率有一定的影响, 丰年虫+螺旋藻/饲料组的成活率为 $72.27\% \pm 9.69\%$, 明显高于丰年虫/饲料组的成活率 $16.80\% \pm 8.91\%$ ($P<0.05$); 水蚯蚓+螺旋藻/饲料组的成活率($32.89\% \pm 2.49\%$)略低于水蚯蚓/饲料组($39.42\% \pm 2.32\%$), 但无显著差异($P>0.05$)。转食前饲料的引入也会对转食后的成活率有一定影响, 丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组的成活率($15.29\% \pm 3.28\%$)最低, 明显低于丰年虫+螺旋藻/饲料组的成活率($P<0.05$), 而水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组的成活率($39.84\% \pm 8.64\%$)略大于水蚯蚓+螺旋藻/饲料组的成活率($32.89\% \pm 2.49\%$)($P>0.05$)。总体来看, 未转食的胭脂鱼仔稚鱼成活率要明显高于转食的处理组, 其中转食组中以丰年虫+螺旋藻/饲料组的成活率最高。

2.2 转食和联合投喂对胭脂鱼仔稚鱼生长的影响

胭脂鱼仔鱼(10 dph)初始体质量和全长分别为 $(10.32 \pm 0.18)\text{mg}$ 、 $(12.53 \pm 0.64)\text{mm}$ 。在65 dph时未转食的丰年虫组和水蚯蚓组仔鱼的体质量、全长和特定生长率(SGR)都明显大于相应的

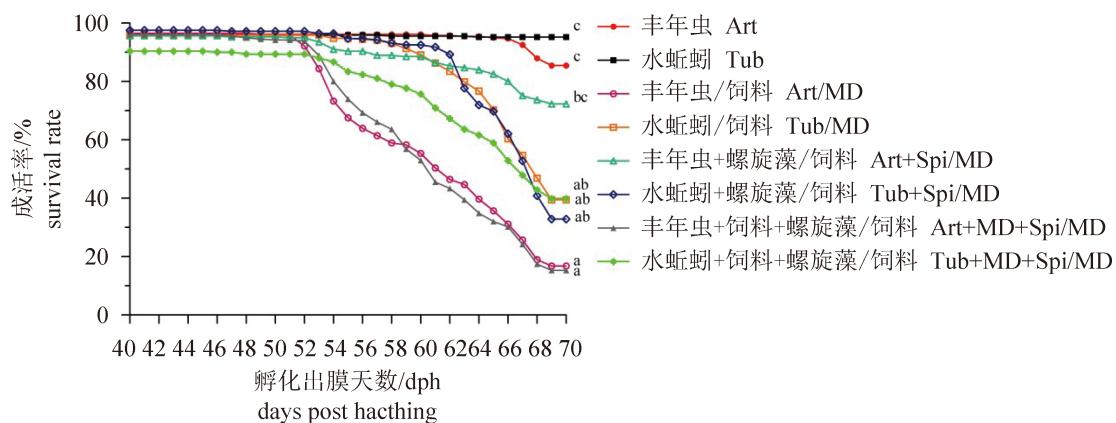


图2 不同开口饵料组转食后胭脂鱼仔稚鱼的成活率

Fig. 2 Survival rate of *M. asiaticus* with different initial feedings after weaning

转食组($P<0.05$)(表1)。其中未转食的2个处理组之间,水蚯蚓组的体质量和全长[(564.51 ± 55.13)mg、(38.95 ± 0.56)mm]均显著大于丰年虫组[(385.17 ± 32.46)mg、(32.97 ± 0.85)mm]($P<0.05$),但SGR没有显著差异($P>0.05$);而相应的转食组在体质量、全长和SGR上均无显著差异($P>0.05$)。转食前螺旋藻的添加对转食后胭脂鱼的生长没有太大影响,丰年虫/饲料组与丰年虫+螺旋藻/饲料组在40和65 dph时体质量和全长都没有显著差异($P>0.05$),水蚯蚓/饲料组与水蚯蚓+螺旋藻/饲料组在40和65 dph时体质量和全长也无显著差异($P>0.05$)。转食前饲料的引入也对转食后的生长影响不大,丰年虫+螺旋藻/饲料组与丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组在40 dph时体质量上无显著差异($P>0.05$),但丰年虫+螺旋藻/饲料组的全长为(22.86 ± 0.38)mm,明显大于丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组[(20.82 ± 0.40)mm]($P<0.05$),在65 dph时体质量仍无差异($P>0.05$),全长的差异性仍存在;水蚯蚓+螺旋

藻/饲料组与水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组相比,在40 dph时2组在体质量、全长上存在差异($P<0.05$),但在65 dph时体质量不存在差异,仅保留全长差异(表1)。整体来看,未转食的2组在体质量和全长上都要大于转食的6个处理组,仅丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组的体质量和全长与未转食的丰年虫组无显著差异($P>0.05$)。从特定生长率来看,转食对SGR有一定的影响,如未转食的水蚯蚓组的SGR为(4.06 ± 0.46)/d,明显高于转食的水蚯蚓组(1.36 ± 0.36)/d($P<0.05$),但转食的丰年虫组和未转食组没有差异($P>0.05$);6个转食的处理组之间SGR无显著差异($P>0.05$),说明不同开口饵料对转食后胭脂鱼的SGR影响不大,其中6个转食处理组中丰年虫+螺旋藻/饲料组的SGR最高,为(3.86 ± 0.45)/d。

2.3 转食后胭脂鱼消化酶和碱性磷酸酶活性变化

未转食的丰年虫组和水蚯蚓组的淀粉酶活性随养殖周期逐渐升高,在40 dph相应转食的丰年

表1 40 dph转食后胭脂鱼仔稚鱼的生长

Tab. 1 The growth parameters of *M. asiaticus* after weaning 40 days post hatching

处理组treatments	丰年虫Art	水蚯蚓Tub	丰年虫/饲料Art/MD	水蚯蚓/饲料Tub/MD	丰年虫 + 螺旋藻/饲料Art + Spi/MD	丰年虫Tub + Spi/MD	丰年虫 + 饲料 + 螺旋藻/饲料Art + Spi/MD + MD	水蚯蚓 + 饲料 + 螺旋藻/饲料Tub + Spi/MD + MD + Spi/MD
40 dph	湿重/mg wet weight	130.27 ± 7.49^a	202.52 ± 8.56^b	130.27 ± 7.49^a	202.52 ± 8.56^b	125.57 ± 8.08^a	190.7 ± 12.44^b	98.33 ± 8.52^a
	全长/mm total length	23.1 ± 0.39^b	25.63 ± 0.29^c	23.1 ± 0.39^b	25.63 ± 0.29^c	22.86 ± 0.38^b	25.07 ± 0.47^c	20.82 ± 0.40^a
45 dph	湿重/mg wet weight	131.5 ± 6.76^a	226 ± 18^b	126.83 ± 11.48^a	220.08 ± 20.68^b	131.42 ± 6.28^a	229.25 ± 8.01^b	140.33 ± 19.95^a
	全长/mm total length	23.78 ± 0.65^a	26.08 ± 0.53^b	22.98 ± 0.54^a	26.5 ± 0.98^b	22.86 ± 0.47^a	26.51 ± 0.38^b	22.7 ± 0.82^a
45 dph	体质量变异系数/%CV _(weight)	8.90	13.80	15.67	16.28	8.28	6.05	24.63
	全长变异系数/%CV _(length)	4.75	3.53	4.09	6.38	3.54	2.45	6.30
55 dph	湿重/mg wet weight	278.92 ± 3.06^{abc}	475.67 ± 41.27^d	172.92 ± 25.29^a	315.58 ± 42.74^{bc}	250.67 ± 25.23^{abc}	371.33 ± 40.6^c	207.75 ± 12.04^{ab}
	全长/mm total length	29.13 ± 0.11^{abc}	33.51 ± 0.73^d	25.67 ± 1.19^a	30.01 ± 1.19^{bc}	27.69 ± 0.7^{abc}	30.98 ± 1.2^c	26.55 ± 0.38^{ab}
55 dph	体质量变异系数/%CV _(weight)	7.28	15.03	25.34	23.46	17.43	18.94	10.04
	全长变异系数/%CV _(length)	0.65	3.79	8.02	6.83	4.41	6.71	2.49
65 dph	湿重/mg wet weight	385.17 ± 32.46^b	564.51 ± 55.13^c	235.92 ± 35.19^a	286.92 ± 26.33^b	332.92 ± 34.02^a	352.33 ± 15.91^{ab}	227.92 ± 53.41^a
	全长/mm total length	32.97 ± 0.85^d	38.95 ± 0.56^c	27.27 ± 0.98^{ab}	29.64 ± 0.57^{bc}	29.81 ± 0.83^{bc}	31.67 ± 0.21^{cd}	26.09 ± 1.31^a
65 dph	体质量变异系数/%CV _(weight)	14.6	16.92	25.84	15.89	17.7	7.82	40.59
	全长变异系数/%CV _(length)	4.44	2.49	6.24	3.35	4.81	1.15	8.69
40~65 dph特定生长率/(%/d)		4.31 ± 0.29^b	4.06 ± 0.46^b	2.3 ± 0.43^{ab}	1.36 ± 0.36^a	3.86 ± 0.45^{ab}	2.49 ± 0.59^{ab}	3.22 ± 1.08^{ab}
40~65 dph SGR								2.53 ± 0.44^{ab}

注: 数据用均值±标准误表示(mean ± SE), 同一行中具有不同上标者表示差异显著($P<0.05$),下同

Notes: Data expressed as mean ± standard error (mean ± SE), values with different superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), the same below

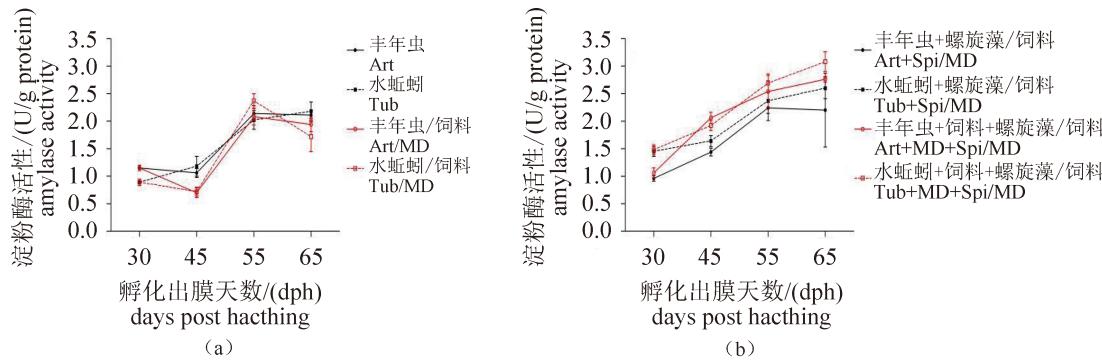


图3 转食后胭脂鱼仔稚鱼淀粉酶活性变化

Fig. 3 Changes of amylase activity of *M. asiaticus* after weaning

虫/饲料组和水蚯蚓/饲料组淀粉酶活性在45 dph均略有下降, 但不显著($P>0.05$)(图3-a), 然后2组的淀粉酶活性在55 dph时显著上升到最高($P<0.05$), 最后与2组未转食的淀粉酶活性保持相对稳定; 在65 dph时4组之间淀粉酶活性无显著差异($P>0.05$)。开口饵料中有饲料的处理组在转食后淀粉酶活性都要高于相应的活饵组, 如丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组在45, 55和65 dph时的淀粉酶活性都大于丰年虫+螺旋藻/饲料组, 水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组在45, 55和65 dph时的淀粉酶活性都大于水蚯蚓+螺旋藻/饲料组, 但均无显著性差异($P>0.05$)(图3-b)。

胰蛋白酶活性在30~65 dph时, 丰年虫组、水蚯蚓组和丰年虫/饲料组的胰蛋白酶活性随着养殖周期呈现先增加后降低的趋势(图4-a)。3组均在45 dph时上升到最大值, 随后逐渐降低, 其中丰年虫/饲料组的下降趋势较未转食的2组更为缓慢; 期间未转食的水蚯蚓组淀粉酶活性始终高于丰年虫组, 但无显著性差异($P>0.05$)。水蚯蚓/饲料组胰蛋白酶活性在45 dph时显著下降

($P<0.05$), 随后显著升高到与丰年虫/饲料组持平($P<0.05$), 最后逐渐下降。在40 dph转食后, 水蚯蚓+螺旋藻/饲料组、丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组和水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组的胰蛋白酶活性整体呈下降趋势(图4-b), 在早期提前接触饲料的处理组下降趋势较缓, 而未提前接触饲料的水蚯蚓+螺旋藻组在转食后55到65 dph期间显著下降($P<0.05$); 而丰年虫+螺旋藻组的胰蛋白酶活性整体呈现先增后降的趋势, 在55 dph时活性上升至最大值, 随后降至 (8.98 ± 1.25) U/g protein, 高于同一时期其他处理组, 与水蚯蚓+螺旋藻组有显著性差异($P<0.05$)。

脂肪酶活性在30~65 dph时, 未转食的2个处理组的脂肪酶变化趋势略有差异, 丰年虫组的脂肪酶活性整体呈下降趋势, 而水蚯蚓组在45 dph上升到最大值[(4.52 ± 0.32) U/g protein], 随后逐渐降低, 2组在45 dph时脂肪酶活性有显著性差异($P<0.05$)(图5-a); 丰年虫/饲料组和水蚯蚓/饲料组的变化趋势大致相似, 各个时间点均无显著性差异($P>0.05$), 转食的2组仅在45 dph时与水

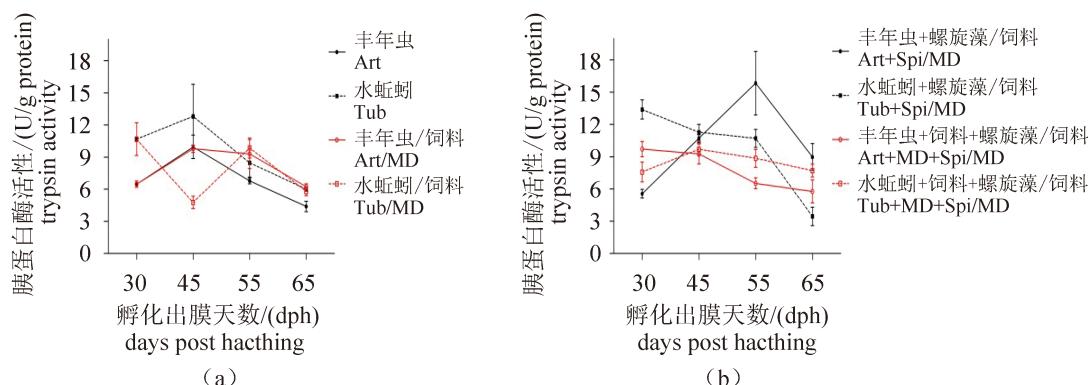


图4 转食后胭脂鱼仔稚鱼胰蛋白酶活性变化

Fig. 4 Changes of trypsin activity of *M. asiaticus* after weaning

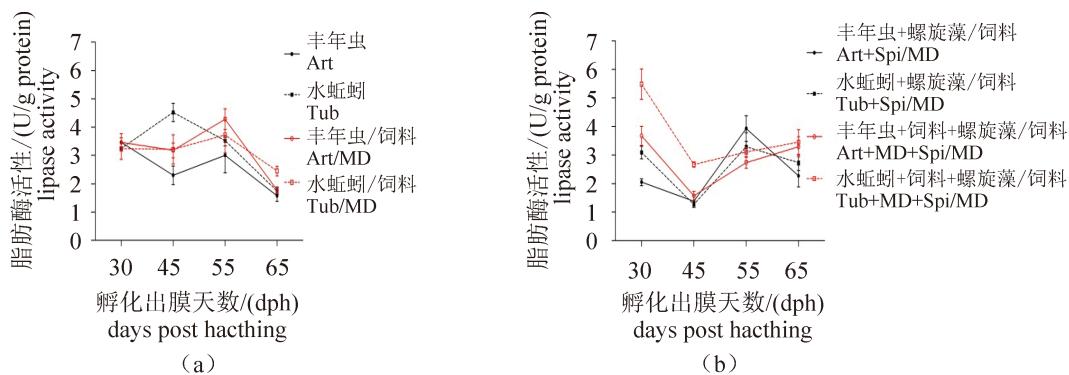


图5 转食后胭脂鱼仔稚鱼脂肪酶活性变化

Fig. 5 Changes of lipase activity of *M. asiaticus* after weaning

蚯蚓组有显著性差异($P<0.05$)。水蚯蚓 + 螺旋藻 / 饲料组、丰年虫 + 饲料 + 螺旋藻 / 饲料组和水蚯蚓 + 饲料 + 螺旋藻 / 饲料组在完全转食饲料后脂肪酶活性均显著下降($P<0.05$)(图5-b)，丰年虫 + 螺旋藻 / 饲料组虽有下降但不显著($P>0.05$)；在转食前接触饲料的2个处理组虽在转食初期有明显下降，但随着养殖周期脂肪酶活性逐渐升高。而未提前接触饲料的丰年虫 + 螺旋藻 / 饲料组和水蚯蚓 + 螺旋藻 / 饲料组的脂肪酶活性呈现先降低后升高再降低的趋势，在65 dph时4组之间无显著差异($P>0.05$)。

丰年虫 / 饲料组、水蚯蚓 / 饲料组、丰年虫组和水蚯蚓组的碱性磷酸酶活性均呈现先升后降的趋势(图6-a)，均在55 dph时上升至最大值，分别为 (322.48 ± 47.45) , (552.73 ± 70.17) , (289.46 ± 42.58) 和 (424.55 ± 39.83) U/g protein，且4个处理组在相同时间点上均无显著差异($P>0.05$)。4组之间在30, 45和65 dph均无显著性差异($P>0.05$)，在55 dph时丰年虫 + 饲料 + 螺旋藻 / 饲料组[(133.6 ±

27.54)U/g protein]和丰年虫 + 螺旋藻 / 饲料组[(512.77 ± 129.55) U/g protein]有显著性差异($P<0.05$)；整体来看，丰年虫 + 螺旋藻 / 饲料组仔鱼的碱性磷酸酶活性要高于其他组(图6-b)。

3 讨论

3.1 转食对胭脂鱼生长、存活的影响

本研究发现在实验结束时未进行转食的丰年虫组、水蚯蚓组的成活率分别为 $85.43\% \pm 5.14\%$ 、 $95.18\% \pm 0.83\%$ ，明显高于相应转食的丰年虫 / 饲料组($16.80\% \pm 8.91\%$)、水蚯蚓 / 饲料组($39.42\% \pm 2.32\%$)($P<0.05$)，也显著高于其他大部分不同开口饵料的转食组($P<0.05$)。实验表明转食可能是造成胭脂鱼早期苗种培育过程中死亡率高的一个主要原因。同时，65 dph未转食的丰年虫组和水蚯蚓组仔鱼在体质量、全长和SGR都明显大于相应的转食组($P<0.05$)，表明转食对胭脂鱼早期的生长也有很大影响。转食对鱼类早

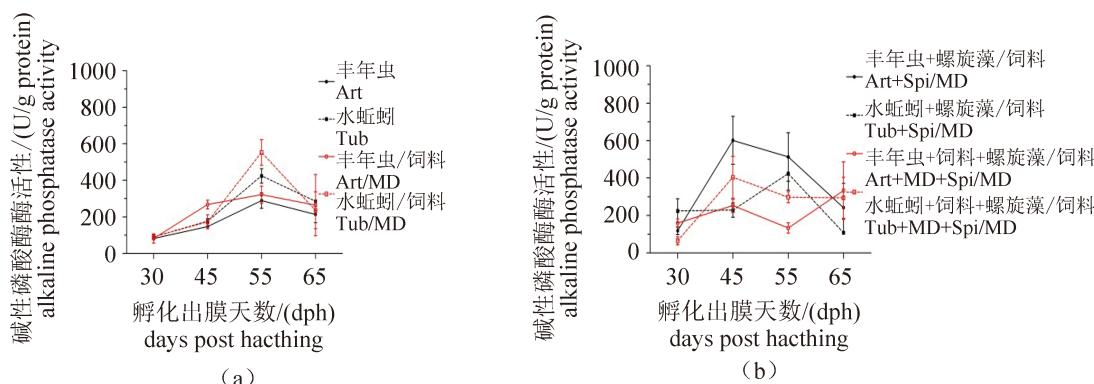


图6 转食后胭脂鱼仔稚鱼碱性磷酸酶活性变化

Fig. 6 Changes of alkaline phosphatase activity of *M. asiaticus* after weaning

期生活史阶段生长、存活的影响在大神仙鱼(*Pterophyllum scalare*)^[5]、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[8]、暗斑梭鲈(*Stizostedion lutoperca*)^[13]、塞内加尔鲷(*Senegalese sole*)^[12]等诸多鱼类已有大量报道, 可见转食是鱼类在规模生产过程中的一个重要瓶颈。

在本研究中, 进行转食的有6个处理组, 其中丰年虫+螺旋藻/饲料组的成活率最高, 可达 $72.27\% \pm 9.69\%$, 与未转食的2个处理组并无显著差异($P>0.05$), 但在生长性能方面显著差于未转食的2个处理组($P<0.05$)。因此, 在单纯考虑成活率和必须转食的情况下, 丰年虫+螺旋藻是作为胭脂鱼仔稚鱼开口饵料的不错选择。同时也暗示着当前用于胭脂鱼转食的微颗粒饲料的成分对于此阶段的生长不是最优的, 因此需要开展更多的关于胭脂鱼仔稚鱼营养需求的研究。

3.2 转食对胭脂鱼早期消化能力及营养状态的影响

研究表明, 鱼类早期生活史阶段的消化系统具有一定的可塑性^[14-17], 能根据新的饵料调整其消化能力, 以满足其生长的营养需求^[18]。Süzer等^[8]发现海鲈仔鱼在不同时间点转食后, 相对于未转食饲料的活饵组来说, 仔鱼的淀粉酶活性都会有显著增加, 这一现象也证实了Cahu等^[7]的研究, 推测可能与微颗粒饲料具有较高的淀粉含量有关。不同的是在本研究中转食的2个处理组中并未发现因40 dph饵料骤然转成微颗粒饲料而引起淀粉酶活性上升的现象, 表明在40 dph转食对胭脂鱼仔稚鱼的淀粉酶活性没有太大影响。

胰蛋白酶和胃蛋白酶是蛋白质细胞外消化的2种主要酶类, 在鱼类早期生活史阶段主要由碱性蛋白酶类如胰蛋白酶负责蛋白质的消化^[19]。随着仔鱼胃腺的发育和酸性消化模式的开启, 胃蛋白酶分泌逐渐增加, 仔鱼对不同类型的蛋白质消化能力会逐渐增加^[20]。因此, 转食应该在检测到酸性蛋白酶活性之后开始, 即胃腺形成之后^[21-23]。本研究中的胭脂鱼为无胃鱼类, 不会有胃腺的形成^[9], 这可能是胭脂鱼早期生活史阶段难转食的一个主要原因。在鱼类个体发育阶段, 胰蛋白酶和脂肪酶活性常常用来监测仔稚鱼的营养状态^[24]。例如, 在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)早期发育阶段的胰蛋白酶活性对饥饿十

分敏感^[24]。本研究中, 水蚯蚓/饲料组在转食后45 dph时相对于水蚯蚓组有明显下降, 随后显著升高, 这一现象与Guerreiro等^[20]的报道相似, 沙重牙鲷(*Diplodus sargus*)仔鱼在20 dph转食后一周胰蛋白酶活性降至最低, 然后逐渐升高。表明在40 dph转食后水蚯蚓组仔稚鱼的胰腺对饲料中不同分子形式的成分存在着适应性困难^[20]。丰年虫/饲料组在转食后胰蛋白酶活性逐渐上升, 在45 dph达到最高值后随之下降, 与未转食的丰年虫组变化趋势相似, 转食似乎对丰年虫组的胰蛋白酶活性影响不大, 但就2个组存活率和生长来看, 丰年虫/饲料组比水蚯蚓/饲料组要低, 都显著低于相应的未转食组。实验表明丰年虫/饲料组仔鱼在转食后胰蛋白酶活性虽未下降但仍不足以适应饲料中不同分子形式的成分。牙鲆仔鱼在前3~4周的脂肪酶活性对饥饿是十分敏感的^[24], 但是黄尾鲷(*Seriola lalandi*)在早期生活史阶段脂肪酶活性对饥饿都不太敏感^[25]。本研究中未转食的水蚯蚓组和丰年虫组在30~65 dph期间变化趋势有差异, 在45 dph时存在显著差异($P<0.05$), 但对于转食后的2组变化趋势基本接近, 表明转食对脂肪酶的活性有一定的影响。

转食后, 在舌齿鲈^[26]和白梭吻鲈(*Sander lucioperca*)^[27]中均发现较高的碱性磷酸酶活性, 研究者认为转食后碱性磷酸酶活性的骤然升高, 暗示着消化过程的异常, 表明仔鱼由于较低的食物消化率而导致消化酶的分泌增加^[27]。在本研究中不同的是, 碱性磷酸酶的活性在转食组和未转食组之间保持相对稳定, 同一时间点均无显著差异($P>0.05$)。这一现象在沙重牙鲷^[28]和细点牙鲷(*Dentex dentex*)^[29]仔鱼在30 dph转食后也有发现。

3.3 联合投喂对胭脂鱼转食能力的影响

目前关于鱼类早期转食策略(Weaning strategies)的研究, 国外有大量研究正在开展。但由于不同鱼类的早期生活史阶段消化功能的发育速度、营养需求的差异性, 因此针对不同的鱼类转食策略也应有所差异^[7, 30]。但总的来说, 鱼类早期的转食过程中要保证残食行为、饥饿的最小化, 维持积极的摄食行为和良好的生长速率^[31]。

联合投喂(Co-feeding)是指在鱼类早期完全摄食饲料之前将生物饵料与饲料同时投喂的方

式, 是大规模苗种培育过程中从投喂生物活饵向微颗粒饲料过渡最常用的一种方法^[23, 32]。据报道这种投喂策略下的仔鱼比单独投喂生物饵料或微颗粒饲料的生长率和存活率更高^[33]。因为这种投喂方式能改善仔鱼的营养状态, 能让仔鱼在完全停止投喂生物饵料后更快、更容易接受饲料, 因而还能提高转食的成功率^[34-37]。Fernández-Díaz等^[14]在联合投喂生物饵料和饲料时发现, 先前投喂生物饵料的金头鲷(*Sparus aurata*)仔鱼更偏向于摄食活饵, 饲料只是仔鱼的第二选择。在10~40 dph期间, 本研究中也有相同的发现, 丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组和水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组的胭脂鱼仔稚鱼对生物饵料的摄食频率会更高。本研究中, 有2组(丰年虫+饲料+螺旋藻/饲料组和水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组)采取联合投喂的方式, 与未采取联合投喂的2组(丰年虫+螺旋藻/饲料组和水蚯蚓+螺旋藻/饲料组)相比, 在65 dph时联合投喂组的体质量和全长都要小于相应的处理组, 其中水蚯蚓+饲料+螺旋藻/饲料组与水蚯蚓+螺旋藻/饲料组有显著性差异($P<0.05$)。本研究中联合投喂效果不理想的原因可能是因为胭脂鱼仔鱼过早摄入饲料, 难以消化吸收, 从而影响生长。

研究表明, 直接转食饲料常会对仔稚鱼的生理状况造成一定的危害^[38]。当仔稚鱼面临营养匮乏、甚至是饥饿时, 一般来说胰腺酶类的活性会下降(胰蛋白酶)或维持(脂肪酶)在某一特定水平, 肠道中特定酶类(碱性磷酸酶)的活性上升会受阻^[7, 24]。从转食后淀粉酶活性来看, 2个联合投喂组和未进行联合投喂的2组在完全转食饲料后, 淀粉酶活性均呈现上升趋势, 其中2个联合投喂组的淀粉酶活性在转食后都要略高于相应的处理组($P>0.05$)(图3-b), 可能是转食前联合投喂组中就含有少量饲料(较高的淀粉含量), 诱导仔鱼产生高的淀粉酶活性的缘故, 由于联合投喂组中饲料比例低, 联合投喂组与相应2组之间没有显著差异。

从转食后胰蛋白酶活性来看, 2个联合投喂组在转食前后胰蛋白酶活性整体波动趋势不大, 表明2组仔鱼对饲料中的蛋白质类型和含量在生理上已经适应; 水蚯蚓组+螺旋藻组在转食之后胰蛋白酶活性整体呈下滑趋势, 而丰年虫+螺旋藻组的胰蛋白酶活性转食后有一个明显的上升趋势($P<0.05$), 表明丰年虫+螺旋藻组的仔

稚鱼对饲料中的复杂蛋白质的消化能力更强。

从转食后脂肪酶活性来看, 2个联合投喂组在转食后5 d脂肪酶活性都显著下降($P<0.05$), 随后缓慢上升, 这可能与饲料的成分或饲料的摄食率有关, 相似的现象在舌齿鲈^[26]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[39]仔鱼转食过程中也有报道。研究表明, 仔鱼在面临营养匮乏或转食时会优先动用体内积累的脂肪以满足生存所需的代谢能量, 当摄食环境转好时, 会再次利用饲料中的脂肪用于生长代谢^[40], 故转食后短时间内脂肪酶活性会明显下降, 随着对饲料的逐渐适应后会慢慢升高。而未联合投喂的2组仔鱼脂肪酶活性在转食后波动很大, 可能是由于前期未摄食饲料的缘故。

在鱼类苗种培育期间, 尽早投喂人工饲料认为是可取的^[36], 鱼类早期越早接触饲料越容易转食^[41]。但也有研究表明过早地摄入饲料会影响仔鱼对食物的消化^[7], 对仔鱼生长会有一个消极的影响^[38, 42]。本研究中联合投喂从10 dph(首次投喂)开始, 虽然联合投喂组中的仔鱼转食后消化生理表现出一定的稳定性, 但联合投喂组在生长和存活率方面并不太理想, 表明联合投喂的策略诸如联合投喂过程中生物饵料和饲料比例的问题、联合投喂时间长短的问题以及联合投喂开始时间问题等都有待研究。综合成活率、生长及消化生理指标来看, 在胭脂鱼开口时使用丰年虫、饲料和螺旋藻进行联合投喂, 并在40 dph时转食饲料是个可行的投喂方案。

参考文献:

- [1] Holt J G. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1993, 24(2): 225–230.
- [2] Kanazawa A, Koshio S, Teshima S I. Growth and survival of larval Red Sea Bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed microbound diets [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1989, 20(2): 31–37.
- [3] Planas M, Cunha I. Larviculture of marine fish: Problems and perspectives [J]. Aquaculture, 1999, 177(1–4): 171–190.
- [4] Conceição L E C, Grasdalen H, Rønnestad I. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: New tools

- and recent findings [J]. Aquaculture, 2003, 227(1–4): 221–232.
- [5] Herath S S, Atapaththu K S S. Sudden weaning of angel fish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein)(Pisces; Cichlidae) larvae from brine shrimp (*Artemia* sp) nauplii to formulated larval feed [J]. Springer Plus, 2013, 2: 102.
- [6] Person L. Early weaning of marine fish larvae onto microdiets: Constraints and perspectives [C]//Advances in Tropical Aquaculture. French Polynesia: Workshop at Tahiti, 1989: 625–642.
- [7] Cahu C, Infante J Z. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae [J]. Aquaculture, 2001, 200(1–2): 161–180.
- [8] Süzer C, Firat K, Saka S, et al. Effects of early weaning on growth and digestive enzyme activity in larvae of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidged, 2007, 59(2): 81–90.
- [9] 刘彩霞. 胭脂鱼消化系统的发育及肉碱棕榈酰转移酶I动力学特征的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- Liu C X. The ontogeny of digestive system and kinetics of carnitine palmitoyltransferase I of Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013(in Chinese).
- [10] Kjørsvik E, Pittman K, Pavlov D. Chapter 6. From fertilisation to the end of metamorphosis-Functional development [M]//Moksness E, Kjørsvik E, Olsen Y. Culture of Cold-Water Marine Fish. Victoria: Blackwell Publishing Ltd, 2007: 204–278.
- [11] Hamlin H J, Kling L J. The culture and early weaning of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) using a microparticulated diet [J]. Aquaculture, 2001, 201(1–2): 61–72.
- [12] Engrola S, Conceição L E C, Dias L, et al. Improving weaning strategies for *Senegalese sole*: Effects of body weight and digestive capacity [J]. Aquaculture Research, 2007, 38(7): 696–707.
- [13] Ljunggren L, Staffan F, Falk S, et al. Weaning of juvenile Pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L., and Perch, *Perca fluviatilis* L., to formulated feed [J]. Aquaculture Research, 2003, 34(4): 281–287.
- [14] Fernández-Díaz C, Pascual E, Yúfera M. Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food [J]. Marine Biology, 1994, 118(2): 323–328.
- [15] Henning S J. Biochemistry of intestinal development [J]. Environmental Health Perspectives, 1979, 33: 9–16.
- [16] Buddington R K, Krogdahl A, Bakke-Mckellep A M. The intestines of carnivorous fish: Structure and functions and the relations with diet [J]. Acta Physiologica Scandinavica. 1997, 638(suppl.1): 67–80.
- [17] Shi Y B, Hasebe T, Fu L Z, et al. The development of the adult intestinal stem cells: Insights from studies on thyroid hormone-dependent amphibian metamorphosis [J]. Cell & Bioscience, 2011, 1(1): 30.
- [18] Infante J L Z, Cahu C. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1994, 12(5): 399–408.
- [19] Rønnestad I, Yúfera M, Ueberschär B, et al. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: Current knowledge, and gaps and bottlenecks in research [J]. Reviews in Aquaculture, 2013, 5(Suppl.1): 59–98.
- [20] Guerreiro I, De Vareilles M, Pousão-Ferreira P, et al. Effect of age-at-weaning on digestive capacity of white seabream (*Diplodus sargus*) [J]. Aquaculture, 2010, 300(1–4): 194–205.
- [21] Kolkovski S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets [J]. Aquaculture, 2001, 200(1–2): 181–201.
- [22] Vega-Orellana O M, Fracalossi D M, Sugai J K. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases [J]. Aquaculture, 2006, 252(2–4): 484–493.
- [23] 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]. Aquaculture Research, 2014, 45(6): 973–982.
- [24] Bolasina S, Pérez A, Yamashita Y. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 2006, 252(2–4): 503–515.
- [25] 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(1–4): 326–335.
- [26] Cahu C L, Infante J L Z. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: Effect on digestive enzymes [J]. Comparative

- Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1994, 109(2): 213–222.
- [27] 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 Physiology and Biochemistry, 2007, 33(2): 121–133.
- [28] Cara J B, Moyano F J, Cárdenas S, et al. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream [J]. Journal of Fish Biology, 2003, 63(1): 48–58.
- [29] Gisbert E, Giménez G, Fernández I, et al. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny [J]. Aquaculture, 2009, 287(3–4): 381–387.
- [30] Holt G J. Ontogeny of the digestive tract [M]//Lazo J P, Darias M J, Gisbert E. Larval Fish Nutrition. Weinheim: Wiley-Blackwell, 2011: 3–46.
- [31] Fletcher Jr R, Roy W, Davie A, et al. Evaluation of new microparticulate diets for early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*): Implications on larval performances and tank hygiene [J]. Aquaculture, 2007, 263(1–4): 35–51.
- [32] Pradhan P K, Jena J, Mitra G, et al. Effects of different weaning strategies on survival, growth and digestive system development in butter catfish *Ompok bimaculatus* (Bloch) larvae [J]. Aquaculture, 2014, 424–425: 120–130.
- [33] Kolkovski S. Advances in marine fish larvae diets [C/OL]//Cruz-Suarez L E, Marie D R, Salazar M T, et al. Avances en Nutrición Acuícola IX. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Nuevo León, México: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2008: 20–45. [2015-04-25]. http://www.researchgate.net/publication/228511731_Advances_in_Marine_Fish_Larvae_Diets
- [34] Ruyet J P L, Alexandre J C, Thébaud L, et al. Marine fish larvae feeding: Formulated diets or live prey [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1993, 24(2): 211–224.
- [35] Rosenlund G, Stoss J, Talbot C. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets [J]. Aquaculture, 1997, 155(1–4): 183–191.
- [36] Cañavate J P, Fernández-Díaz C. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds [J]. Aquaculture, 1999, 174(3–4): 255–263.
- [37] Munilla-Moran R, Stark J R, Barbour A. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. Aquaculture, 1990, 88(3–4): 337–350.
- [38] Andrade C A P, Nascimento F, Conceição L E C, et al. Red Porgy, *Pagrus pagrus*, larvae performance and nutritional condition in response to different weaning regimes [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2012, 43(3): 321–334.
- [39] Hoehne-Reitan K, Kjørsvik E, Reitan K I. Lipolytic activities in developing turbot larvae as influenced by diet [J]. Aquaculture International, 2003, 11(5): 477–489.
- [40] Ryan S G, Smith B K, Collins R O, et al. Evaluation of weaning strategies for intensively reared Australian freshwater fish, Murray cod, *Maccullochella peelii peelii* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2007, 38(4): 527–535.
- [41] Watanabe T, Kiron V. Prospects in larval fish dietetics [J]. Aquaculture, 1994, 124(1–4): 223–251.
- [42] Ringø E, Johansen L, Raa J. Feeding of cod, *Gadus morhua*(L.), larvae on an artificial diet. Preliminary results [J]. Fisheries Research, 1991, 11(2): 191–193.

Effects of early weaning and co-feeding on growth and digestive capacity in larvae of *Myxocyprinus asiaticus*

YI Jianhua^{1,3}, GUO Zhongdi¹, LIU Benxiang², YU Lijuan¹,
PU Deyong¹, YAN Zhong², HUANG Jing¹, WANG Zhijian^{1*}

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education,

College of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Fisheries Research Institute In Wanzhou District, Chongqing 404100, China;

3. Angel Yeast Co., Ltd, Yichang 443000, China)

Abstract: According to different mixture ratios of four initial feedings [*Artemia*(Art), *Tubifex* (Tub), Microparticulate diet (MD) and *Spirulina* (Spi)], we divided the 10-day-post-hatching (10 dph) larvae into 8 groups at water temperature (24 ± 0.5) °C to investigate the effects of early weaning and co-feeding on the growth and digestive capacity of *Myxocyprinus asiaticus* larvae. There were two groups(Art, Tub) which kept on feeding previous diet and the rest all turned to the microparticulate diet after 40 dph. We recorded the survival rate of each group and measured length, weight and some enzyme activity at different intervals (30, 40, 45, 55 and 65 dph). Results showed that: ① the survival rate of each group performed equally and was greater than 90% before weaning at 40 dph, but the weaned groups gradually decreased after that period. The survival rates of groups (Art, Tub) fed the same diets were significantly higher than those of the corresponding weaning groups (Art/MD, Tub/MD) and the other weaning groups ($P < 0.05$) at the end of experiment. ② Weaning had little effects on the amylase activity of *M. asiaticus* larvae and the trypsin activity of Art group, but significantly influenced the trypsin activity of Tub group ($P < 0.05$). After 40 dph, there were differences in lipase activity of the Art and Tub groups, but those weaning groups (Art/MD, Tub/MD) had similar trend; ③ The weight and length of these two co-feeding groups (Art + MD + Spi/MD Tub + MD + Spi/MD) were all less than those groups (Art + Spi, Tub + Spi) correspondingly before weaning; ④ The amylase activity of the co-feeding groups and the corresponding groups were all on the rise after weaning, and the co-feeding groups were a little higher than the corresponding groups ($P > 0.05$). The trends of those two co-feeding groups' trypsin and alkaline phosphatase activity fluctuation were not significant before weaning, but the lipase activity of the co-feeding groups had a special change of descending first, and then ascending on the 5th day after weaning. To sum up, it was a feasible strategy to co-feed *M. asiaticus* larvae with 3 diets (Art, Spi and MD) and wean on 40 dph, but the ratio and addition time of MD need further study.

Key words: *Myxocyprinus asiaticus*; larvae; early weaning; co-feeding; growth; digestive capacity

Corresponding author: WANG Zhijian. E-mail: wangzj1969@126.com

Funding projects: National Special Research Fund for Non-Profit Sector (Agriculture) (201203086)