

颜色标记对鲫标准代谢率的影响*

李若琳, 唐晴晴, 王 萌, 杨维佳, 曾令清

(重庆师范大学 进化生理与行为学实验室 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要:【目的】考察体外颜色标记对鲤科鱼类标准代谢率(Standard metabolic rate, SMR)的影响。【方法】在(25.0±0.5)℃条件下选取40尾体质量大小相近的鲫(*Carassius auratus*)幼鱼作为实验鱼,设定颜色标记前、颜色标记后和摄食生长实验后共计3次SMR和形态参数测定(第0,1和23d)以及21d(第2~22d)的生长实验。摄食期间,于每日9:00和15:00分别对鱼进行饱足投喂并记录单尾鱼的摄食量。【结果】1)颜色标记前后SMR无明显变化,在生长实验期间,形态参数和SMR均有统计学意义上的增加($p<0.05$)。2)实验期间,实验鱼的体质量、体长、饱满度、原始SMR均保持较高的重复性。3)特定生长率(SGR)与摄食率(FI)和饵料效率(FE)存在统计学意义上的正相关关系($p<0.05$),但FI与FE无统计学意义上的相关关系。4)生长实验期间实验鱼的SGR与SMR变化量无统计学意义上的相关关系。【结论】颜色标记对鲫幼鱼的SMR无明显影响,具有运用于科学研究的可行性;鲫的表型参数具有较高的重复性。

关键词:颜色标记;标准代谢率;摄食率;特定生长率;饵料效率;鲫

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2019)05-0060-06

近些年来,对鱼类种内个体差异的研究多以标准代谢率(Standard metabolic rate, SMR)为研究起点,并受到研究人员的广泛关注^[1]。在研究过程中局部控制的完善有助于考察某一特定环境因素对实验鱼形态、生理、行为等方面的影响。然而,由于同一物种个体的外部形态极为相似,研究人员无法通过肉眼辨别不同个体。颜色标记法可使研究人员在游泳能力、个性行为等方面问题中考察群体水平时,对群体中不同个体进行不同颜色标记,使得带有不同颜色的个体在群体中的空间分布直观且鲜明,极大地提升了实验数据的准确性。该技术方法不影响鱼类集群行为^[2],但对鱼类能量代谢的影响尚未见报道。

在鱼类能量学中,SMR通常以耗氧率来表征,指鱼类机体基本生理功能维持的最低能量代谢强度。SMR的高低影响着鱼类机体各种生理功能和个体适合度。温度、溶氧、食物丰度等环境因素均可影响鱼类的SMR^[3-4]。在控制多种环境因素一致的情况下,对鱼类进行颜色标记,这对于鱼类的SMR是否有影响以及颜色在鱼类体表的维持时间是判定该方法在有关研究中可行性的关键。

鲫(*Carassius auratus*)是一种广泛分布于中国各种水体的常见鲤科(Cyprinidae)鱼类,它不仅是经济养殖鱼类,而且也是科学研究的常见研究对象。为研究颜色标记法对鲤科鱼类SMR的影响,本研究以鲫幼鱼为实验对象,在颜色标记前、颜色标记后和摄食生长实验后分别测定该种鱼的SMR以及摄食期间的生长率,探讨颜色标记后实验鱼生长参数间的相关性,为鱼类能量学相关研究中颜色标记法的科学运用性提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验鱼来源及驯化

于2018年5月在重庆市合川区人工养殖基地购买鲫幼鱼,并置于规格为1.2 m×0.55 m×0.55 m、容积约250 L的实验室循环控温水槽驯化30 d。驯化期间以中国通威公司人工颗粒浮性饲料于每日9:00和21:00分

* 收稿日期:2019-03-01 修回日期:2019-07-18 网络出版时间:2019-09-26 11:24

资助项目:国家自然科学基金(No. 31300341);重庆市自然科学基金(No. cstc2017jcyjA0029);重庆市高等学校青年骨干教师资助计划项目(No. CQJW-02060301-1714);重庆师范大学青年人才拔尖培育计划项目(No. 02030307-00027)

第一作者简介:李若琳,女,研究方向为鱼类比较生理学,E-mail:1015672596@qq.com;通信作者:曾令清,男,副教授,博士,E-mail:lingqingzeng@hotmail.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20190926.1124.024.html>

别饱足投喂 1 次,并于投喂前 5 min 关闭充气泵以减少环境干扰,投喂 30 min 后用虹吸管清除残饵和粪便。将曝气 4 d 后的自来水作为更换用水,日换水约为驯养水体体积的 15%。用充气泵不断泵入空气使水槽中溶氧量接近饱和。驯化水温为 $(25.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$,光周期为 14 h 光照:10 h 黑暗。

1.2 实验设计

驯化结束后挑选体质量相近的 40 尾鲫幼鱼作为实验对象。本研究设定了颜色标记前(第 0 d,测定 I)、颜色标记后(第 1 d,测定 II)及第 23 d(测定 III)共计 3 次 SMR 和形态参数的测定,具体操作如下:用溶氧仪(HQ_{30d},美国哈希公司)初次测定实验鱼的 SMR 后,将荧光标记试剂(Visible implant elastomer,美国西北科技公司)沿直线注入每尾鱼背部两侧的鳞片下方,长度为 0.5~1 cm;在此期间对实验鱼使用质量浓度为 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MS-222 麻醉剂,并用碳酸氢钠作缓冲剂。次日,再次测定实验鱼的 SMR。每次 SMR 测定后对实验鱼的体质量与体长分别进行测量并记录。第 2 d 将单尾实验鱼移入多单元格循环水槽中已编号的单个养殖单元格,摄食生长期间多单元格循环水槽的所有养殖条件和投喂的饵料与驯养期间保持一致。在为期 21 d 的摄食期间,于每日早晚 9:00 和 15:00 对每尾鱼进行饱足投喂并记录摄食量。投喂 10 min 前关掉充气泵和循环水泵,投喂 1 h 后清除残饵和粪便。第 3 次实验鱼的 SMR 测定结束后,观察实验鱼背部颜色标记情况并统计。

实验鱼的生长参数包括特定生长率(Specific growth rate, SGR)、摄食率(Feeding intake, FI)和饵料效率(Feeding efficiency, FE),具体计算公式分别如下:

$$V_{\text{SGR}} = \frac{(\ln W_2 - \ln W_1)}{t} \times 100\%,$$

$$V_{\text{FI}} = \frac{2 \times 1\,000 \times m_d}{(W_2 + W_1) \times t},$$

$$V_{\text{FE}} = \frac{W_2 - W_1}{m_d} \times 100\%,$$

$$K = \frac{m}{l^3} \times 100.$$

其中: V_{SGR} , V_{FI} , V_{FE} 和 K 分别为 SGR(单位: d^{-1}), FI(单位: $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), FE 和肥满度(单位: $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$); W_1 为实验鱼初始体质量(单位:g), W_2 为实验鱼终末体质量(单位:g), t 为实验鱼摄食生长实验时间(单位:d), m_d 为单尾鱼摄入饲料干质量(单位:g), m 为实验鱼的体质量(单位:g), l 为实验鱼的体长(单位:cm)。

1.3 SMR 测定

采用流水式呼吸代谢仪测定鲫幼鱼 SMR。测定之前,将鱼装入呼吸室过夜适应并禁食以使消化道内食物消化吸收完毕,并使代谢强度恢复至摄食前水平。使用溶氧测定仪在第 2 日的 8:00 至 24:00 期间 1 h 测定 1 次耗氧率,将 17 个耗氧率中最小的 3 个耗氧率的平均值作为单尾鱼的 SMR。SMR 的计算公式如下:

$$V_{\text{SMR}} = c_{\text{O}_2} \times v.$$

式中, V_{SMR} 为 SMR(单位: $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$), c_{O_2} 是有鱼呼吸室出水口与空白呼吸室的溶氧量差值(单位: $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), v 为呼吸室的水流量(单位: $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$),由呼吸室出水口装满 50 mL 容量瓶计算获得。

SMR 校正方法:将单尾鱼的体质量和 SMR 转化为以 10 为底的对数,利用已对数化的数据得到回归方程和各个实验鱼 SMR 的残差,再利用下列方程将所有鱼的 SMR 校正至实验鱼的平均体质量(6.86 g , $n=40$)^[5]。

$$\log_{10} V_{\text{SMR}} = \log_{10} b + a \log_{10} m + \epsilon.$$

式中: a , b 为常数, m (单位:g)为单尾鱼的体质量, ϵ 为 SMR 的残差。

形态参数测定时,利用直尺和天平测量实验鱼的体长和体质量,精度分别为 0.01 cm 和 0.01 g,以实验鱼头部上吻端到侧线鳞最后一鳞处末端的空间垂直距离作为体长。

1.4 数据分析

用 Excel 2010 软件对实验数据作常规计算,所得数据均以“平均值±标准误”表示。用 SPSS 19.0 软件进行统计分析:采用单因素方差分析考察实验鱼形态参数和 SMR 的测定时间差异;采用组内相关系数(Intraclass correlation coefficient, ICC)分析实验鱼表型参数的重复性;采用 Pearson 相关分析考察 SGR, FE 和 FI 两两之间的相关性。当 $p < 0.05$ 时,分析结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 形态参数和 SMR

表 1 显示:颜色标记前后(测定 I, II),实验鱼的体质量、体长、肥满度均无明显差异;与颜色标记前的实验鱼相比,颜色标记后实验鱼原始 SMR 和校正后的 SMR 稍有降低,但有关差异不具有统计学意义。在摄食生长实验后(测定 III),实验鱼的体质量、体长和肥满度与该实验进行前相比分别增加了 22.4%,6.3%和 2.6%;与测定 I, II 中的实验鱼相比,测定 III 中实验鱼各项参数的变异系数均有所降低,但测定 III 中实验鱼的原始 SMR 与前两次测定的实验鱼相比均具有统计学意义上的差异($p < 0.05$)。3 次测定中,实验鱼体质量和 SMR 的变异系数均大于其他形态参数的变异系数,且经体质量校正后的 SMR 均与原始 SMR 存在差异。

表 1 鲫幼鱼的形态参数和 SMR

Tab. 1 The morphology and SMR of the juvenile *C. auratus*

测定名称	数据特征	体质量/g	体长/cm	肥满度/(g · cm ⁻³)	原始 SMR/(mg · h ⁻¹)	校正 SMR/(mg · h ⁻¹)
测定 I	平均值±标准误	6.40±0.18 ^a	6.45±0.06 ^a	2.36±0.01 ^a	0.79±0.04 ^{aA}	0.86±0.03 ^{aB}
	变异系数/%	18.0	5.8	4.4	35.6	23.5
	最大值	9.23	7.30	2.60	1.75	1.36
	最小值	4.88	5.85	2.01	0.30	0.41
	极值差异倍数	1.9	1.2	1.3	5.7	3.3
测定 II	平均值±标准误	6.37±0.18 ^a	6.45±0.06 ^a	2.35±0.02 ^a	0.68±0.05 ^{aA}	0.76±0.05 ^{aB}
	变异系数/%	18.0	5.8	4.5	42.6	38.2
	最大值	9.18	7.30	2.58	1.53	1.54
	最小值	4.86	5.85	2.00	0.17	0.59
	极值差异倍数	1.9	1.2	1.3	9.0	2.6
测定 III	平均值±标准误	7.80±0.21 ^b	6.85±0.06 ^b	2.41±0.01 ^b	1.08±0.04 ^{bA}	0.90±0.03 ^{aB}
	变异系数/%	17.3	5.7	3.7	26.1	19.3
	最大值	11.21	7.80	2.59	1.70	1.55
	最小值	5.47	6.10	2.20	0.61	0.60
	极值差异倍数	2.0	1.3	1.2	2.8	2.6

注:不同小写字母表示不同测定的某一参数差异具有统计学意义($p < 0.05$),不同大写字母表示同一测定下原始 SMR 和校正 SMR 的差异具有统计学意义。

对 3 次测定中的实验鱼而言,它们的体质量、体长、肥满度的 ICC 均大于 0.75,一致性为极佳;同时,它们的原始 SMR 的 ICC 值为 0.644,一致性为良好;然而,它们的校正 SMR 的 ICC 小于 0.4,一致性为差(表 2)。因此,实验鱼的体质量、体长、饱满度和原始 SMR 在整个研究中均保持较高的重复性($p < 0.001$),但它们的校正 SMR 则在整个研究中无重复性。

2.2 表型参数之间的相关性

研究表明,实验鱼的 SGR 与 FI 及 FE 均呈统计学意义上的正相关关系($p < 0.05$)(图 1a, b),但实验鱼的 FI 与 FE 的相关性无统计学意义(图 1c)。此外图 2 显示,实验鱼 SMR 的可塑性与自身生长性能(即 SGR)无统计学意义上的相关关系。

2.3 颜色标记的掉落情况

对摄食生长实验后实验鱼颜色标记掉落情况进行统计可知:颜色剩余少量和标记颜色完全脱落的实验鱼总数占实验鱼总数的 97.5%,因此颜色标记掉落的情况较为严重(表 3)。

表 2 鲫幼鱼表型参数的重复性

Tab. 2 Repeatability of phenotypic parameters of juvenile *C. auratus*

表型参数	ICC	p
体质量	0.926	< 0.001
体长	0.949	< 0.001
肥满度	0.790	< 0.001
原始 SMR	0.644	< 0.001
校正 SMR	0.318	0.076

3 讨论

3.1 颜色标记对鲫幼鱼 SMR 的影响

SMR 是鱼类能量代谢模型中最敏感的变量之一,对众多环境因素均有反应^[6]。例如,不同溶氧水平条件下鲫幼鱼的 SMR 与摄食代谢峰值即最大摄食能力呈正相关关系^[7];鲫幼鱼的 SMR 稳定性随呼吸室流量的增加而降低^[8]。本研究在控制多种环境因素一致的情况下,对进行颜色标记前后的实验鱼 SMR 作了测定。通过公式计算比较发现,颜色标记对鲫幼鱼的原始 SMR 和体质量校正后的 SMR 均无影响,表明该方法对鲫幼鱼短期内的 SMR 无影响,因而可用于鱼类生理学实验研究。此外,由于 SMR 在一定程度上与鱼类机体生理功能密切相关,然而鉴于颜色标记对实验鱼的 SMR 无影响,故可以进一步推断,颜色标记对实验鱼其他生理功能(如摄食消化能力)的影响也可忽略不计。

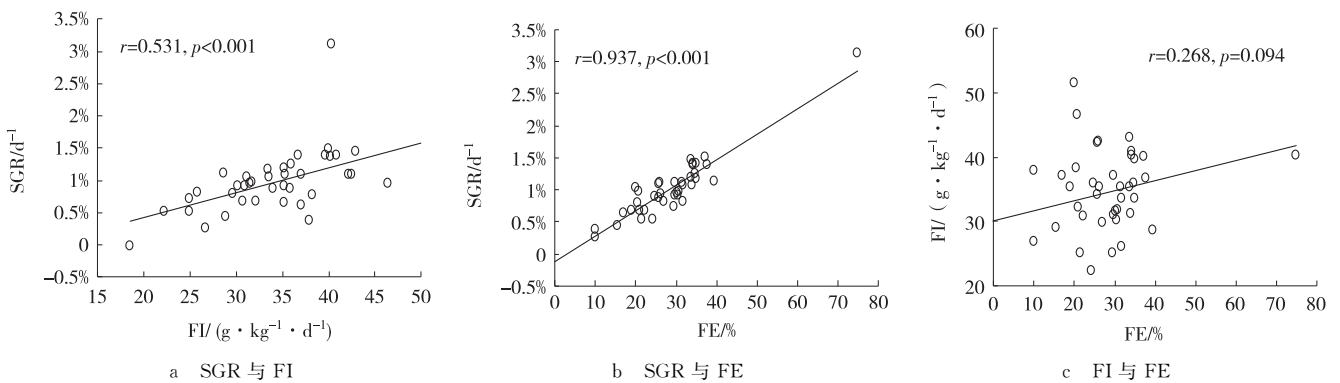


图 1 鲫幼鱼生长参数之间的相关性

Fig. 1 Correlations of growth performance parameters of juvenile *C. auratus*

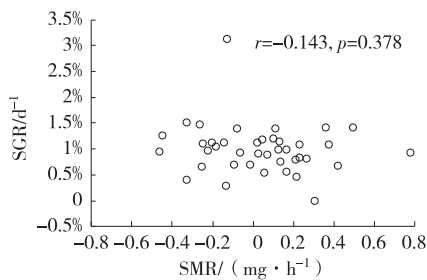


图 2 鲫幼鱼 SMR 可塑性与 SGR 的关系

Fig. 2 Correlation between SMR change and SGR of juvenile *C. auratus*

表 3 实验结束后鲫幼鱼颜色标记的掉落情况

Tab. 3 Dropping of color labeling of juvenile *C. auratus* after experiment

标记情况	尾数	占总数比例/%
颜色醒目	1	2.5
颜色少量	24	60.0
无颜色标记	15	37.5

3.2 鲫幼鱼代谢可塑性与生长性能的关系

在鱼类 SMR 与生长性能关系的研究中,不同研究的实验结果存在明显差异。在实验室中,饱足摄食个体的 SMR 与生长率通常呈正相关关系^[9],如银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)^[10]、马苏大麻哈鱼(*Oncorhynchus masou*)^[11]、鳊(*Parabramis pekinensis*)^[12]和大西洋鲑(*Salmo salar*)^[13-14]。然而,鳟(*Salmo trutta*)在野外环境中的 SMR 与生长率无相关关系或呈负相关关系^[8]。此外,在考察鱼类的 SMR 可塑性与生长率的关联时,有研究发现,在正常摄食情况下中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensi*) SMR 的变化量与 SGR 呈正相关关系^[15]。而在本研究中,鲫幼鱼 SMR 的变化量和 SGR 无统计学意义上的相关关系,这有别于上述研究。因此,SMR 及它的变化量与生长率的关系因鱼种类的不同而有所差异。此外,有关锦鲫和鲫的研究结果显示,二者摄食期间的 SGR 分别集中于 0.5%~2.5% d⁻¹和 1%~2% d⁻¹^[16-17],而本研究中鲫幼鱼的 SGR 也在上述研究的 SGR 范围内。

综上所述,本研究发现颜色标记前后鲫幼鱼的 SMR 无明显差异,且重复性较高,因此该方法在短期内对鲫幼鱼的 SMR 无影响。颜色标记在鱼类生态学研究具有较高的可行性,有利于研究人员在不影响鱼类生理功能的前提下有效地观察个体在集群中的空间分布和运动轨迹。然而,所标记颜色在实验后期脱落情况较严

重,说明颜色标记不太适合运用于时期较长的研究,这可能是该方法的一个弊端。因此,有关鱼类体外标记的颜色持久性问题值得关注。

参考文献:

- [1] BIRO P A, STAMPS J A. Do consistent individual differences in metabolic rate promote consistent individual differences in behavior? [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2010, 25(11): 653-659.
- [2] FINSTAD A G, FORSETH T, UGEDAL O, et al. Metabolic rate, behaviour and winter performance in juvenile Atlantic salmon [J]. *Functional Ecology*, 2007, 21(5): 905-912.
- [3] 李想, 林小涛, 宋波澜, 等. 流量对红鳍银鲫幼鱼游泳状态的影响 [J]. *动物学杂志*, 2010, 45(2): 126-133.
LI X, LIN X T, SONG B L, LI D. Effects of water velocities on swimming performances of juvenile tinfoil barb *Barbodes schwanenfeldi* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, 45(2): 126-133.
- [4] FRY F E J. The Effect of environmental factors on the physiology of fish [J]. *Fish Physiology*, 1971, 6(1): 1-22.
- [5] 凌鸿, 冯琪, 陈月琴, 等. 成对鲫鱼游泳行为与标准代谢率的关系 [J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 35(5): 41-47.
LING H, FENG Q, CHEN Y Q, et al. Correlations between standard metabolic rate and swimming behavior in paired juvenile *Carassius auratus* [J]. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)*, 2018, 35(5): 41-47.
- [6] KADYE W T, NGONIDZASHE A G M, CHRISTOPHER H D M, 等. 马拉维 Nyika 高原三种溪流鱼类的生境类型 [J]. *动物学报*, 2008, 54(1): 67-76.
KADYE W T, NGONIDZASHE A G M, CHRISTOPHER H D M, et al. Habitat associations of three stream fishes on a montane plateau (Nyika plateau, Malawi) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2008, 54(1): 67-76.
- [7] CHEN B J, CAO Z D, FU S J. Hypoxia impairs the digestive advantage of individual southern catfish (*Silurus meridionalis*) with high resting metabolic rates and postprandial metabolic responses [J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2014, 47(3): 197-204.
- [8] 王蕾, 付世建, 曾令清. 流量和时间对中华倒刺鲃幼鱼标准代谢率测定的影响 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2017, 39(9): 59-65.
WANG L, FU S J, ZENG L Q. The effects of flow rate and time on the measurement of standard metabolic rate in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*) [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2017, 39(9): 59-65.
- [9] ÁLVAREZ D, NICIEZA A G. Is metabolic rate a reliable predictor of growth and survival of brown trout (*Salmo trutta*) in the wild? [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2005, 62(3): 643-649.
- [10] VANLEEUEWEN T E, ROSENFELD J S, RICHARDS J G. Effects of food ration on SMR: influence of food consumption on individual variation in metabolic rate in juvenile salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. *Journal of Animal Ecology*, 2012, 81(2): 395-402.
- [11] YAMAMOTO T, UEDA H, HIGASHI S. Correlation among dominance status, metabolic rate and otolith size in masu salmon [J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, 52(2): 281-290.
- [12] 曾令清, 付成, 奚露, 等. 鳊幼鱼能量代谢和个性行为的个体变异及表型关联 [J]. *生态学报*, 2017, 37(14): 4807-4816.
ZENG L Q, FU C, XI L, et al. Phenotypic correlations and individual variation of energy metabolism and personality in juvenile Chinese bream (*Parabramis pekinensis*) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(14): 4807-4816.
- [13] MCCARTHY I D. Temporal repeatability of relative standard metabolic rate in juvenile Atlantic salmon and its relation to life history variation [J]. *Journal of Fish Biology*, 2000, 57(1): 224-238.
- [14] CUTTS C J, METCALFE N B, TAYLOR A C. Aggression and growth depression in juvenile Atlantic salmon: the consequences of individual variation in standard metabolic rate [J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, 52(5): 1026-1037.
- [15] ZENG L Q, WANG L, WANG G N, et al. The relationship between growth performance and metabolic rate flexibility varies with food availability in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 2017, 212: 56-63.
- [16] 刘欢, 李秀明, 付世建, 等. 锦鲤幼鱼标准代谢率与生长性能的关联 [J]. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 836-842.
LIU H, LI X M, FU S J, et al. The correlations between standard metabolic rate and growth performance in juvenile gold fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 836-842.
- [17] ZENG L Q, ZHANG A J, KILLEN S S, et al. Standard metabolic rate predicts growth trajectory of juvenile Chinese crucian carp (*Carassius auratus*) under changing food availability [J]. *Biology Open* 2017, 6(9): 1305-1309.

Animal Sciences

The Effect of Colour Tagging on the Standard Metabolic Rate in Juvenile *Carassius auratus*

LI Ruolin, TANG Qingqing, WANG Meng, YANG Weijia, ZENG Lingqing

(Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Laboratory of Evolutionary Physiology and Behaviour,
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To investigate the effect of color tagging on the standard metabolic rate (SMR) in juvenile *Carassius auratus*. [Methods] Under the condition of $(25.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$, 40 juvenile *C. auratus* with similar health condition and size were selected as experimental fish to examine the responses of SMR and morphology (i. e. , body mass and body length) of juvenile fish before color tagging (0 d), after color tagging (1 d) and the growth period (23 d). During the feeding course (2~22 d), each fish was fed twice daily (9:00 and 15:00) and food consumed by fish was recorded each day. [Findings] No significant difference in SMR was found between before and after color tagging. However, the body mass, body length, condition factor (CF) and SMR of the juvenile *C. auratus* all increased during the feeding period ($p < 0.05$). Excepted for the standardized SMR, the body mass, body length, CF and original SMR of the juvenile *C. auratus* were repeatable throughout the experimental process. The specific growth rate (SGR) of individuals positively correlated with both feeding intake and feeding efficiency whereas no relationship was found between feeding intake and feeding efficiency. The SGR of experimental fish did not correlate with change in SMR. [Conclusions] The present study found that color tagging had no influence on the SMR of the juvenile *C. auratus*, suggesting that method of the color tagging can be applied to fish scientific biological research due to its feasibility and convenience. The phenotypic parameters of juvenile *C. auratus* have high repeatability.

Keywords: color tagging; standard metabolic rate; feeding intake; specific growth rate; feeding efficiency; *Carassius auratus*

(责任编辑 方 兴)