

周期性变温对中华倒刺鲃幼鱼生长和热耐受的影响*

胡月,付世建,朱文兰,张永飞,付成

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

摘要:【目的】考察周期性变温对中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)幼鱼生长和热耐受的影响。【方法】将实验鱼随机分为恒温组(驯养水体温度恒定为22℃)和周期组(驯养水体温度在24 h内依次进行18,22,26,18℃的周期性变化)进行40 d的温度驯化,然后对它们的生长性能、热耐受参数、标准代谢率(Standard metabolic rate, SMR)和自发运动水平进行测定和比较。【结果】温度驯化结束后,周期组实验鱼的体质量、日摄食量、摄食率、临界高温和致死高温与恒温组相比有统计学意义上的提升($p < 0.05$);两组实验鱼的体长、临界低温、致死低温、SMR、运动时间比和平均速度均无统计学意义上的差异。【结论】经历周期性变温驯化后中华倒刺鲃幼鱼生长更快可能与摄食量更高有关,而热耐受能力的提升可能与实验鱼频繁经历温度变动因而体内热应激蛋白表达等维持在较高水平有关。

关键词:中华倒刺鲃;周期性变温;生长;热耐受;自发运动;标准代谢率

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2022)03-0042-06

温度作为一种重要的生态因子,对动物的生长、能量代谢、行为等与适合度相关的特征有着重要影响^[1]。作为典型的变温动物,鱼类不仅对环境温度敏感,而且对温度变化的依赖性较高^[2]。研究表明,一定范围内的温度升高使鱼类的呼吸速率加快、代谢和游泳能力增强、生长发育水平提高^[3-5]。动物通过生长实现体型的增大、能量物质的积累和组织器官的发育成熟。因此,鱼类无论是生活在自然环境还是在水产养殖环境,快速生长对它们来说都具有重要的意义。生长能力的大小通常受能量物质摄入和支出影响。能量的摄入可以用摄食量、摄食率等指标衡量;而鱼类的自发运动水平(Spontaneous activity)、标准代谢率(Standard metabolic rate, SMR)则可以在一定程度上反映鱼类日常能量消化水平。因此,上述指标常用于解释鱼类生长能力在不同环境中的差异。

热耐受(Thermal tolerance)可以反映动物在特定热环境中的生存能力^[6-8]。在相关研究中,研究者常常使用临界温度(Critical temperature)、致死温度(Lethal temperature)等参数对鱼类耐受极端温度的能力进行评估^[7]。已有研究表明鱼类的热耐受水平会随驯化温度而改变,例如齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)的临界高温随着驯化温度的升高而提高,临界低温会随着驯化温度的下降而降低^[8];经过高温驯化的印鲢(*Cirrhinus mrigala*)的高温耐受能力更强^[9]。

尽管温度对鱼类生长及热耐受的影响已有较多研究,然而已有研究大多集中于稳定的驯化温度或单次急速变温^[10-11]而忽略了周期性温度变动对鱼类的影响。由于温度周期性变动的现象在自然水体或是养殖水体中都更为普遍,因此研究周期性温度变化对鱼类生长及热耐受的影响更具理论和现实意义。中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)主要分布于长江上游及支流中,营底栖生活,偏好流水生境,是主要以水生高等植物为食的杂食性鲤科(Cyprinidae)鱼类^[12]。该鱼在生活史周期中会频繁经历诸如昼夜温度波动等温度的周期性波动,且有研究表明中华倒刺鲃幼鱼对温度变化具有较高的生理和行为可塑性^[6]。因此,本研究以中华倒刺鲃幼鱼为对象,考查周期性温度变动对该鱼种生长和热耐受的影响,并通过有关参数的测定和分析以解释它的生长变化,从而为包括该鱼种在内的鲤科鱼类的生理生态学研究和水产养殖实践提供参考资料。

* 收稿日期:2021-07-07 修回日期:2021-07-23 网络出版时间:2022-05-17 09:58

资助项目:国家自然科学基金(No. 31670418; No. 31700340);重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJQN201900534; No. KJQN202000538);重庆市研究生科研创新项目(CYS20240)

第一作者简介:胡月,女,研究方向为鱼类生理生态学, E-mail:1779227125@qq.com;通信作者:付成,男,副教授,博士, E-mail:chengfu@cqnu.edu.cn

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20220516.1811.018.html

1 材料与方法

1.1 实验鱼的来源与驯养

研究用中华倒刺鲃幼鱼购买自重庆市永川区淡水鱼养殖场。将所有实验鱼放入自净化循环控温水槽中驯养 14 d。整个驯养过程中光周期为 12 h 光照:12 h 黑暗,水温控制在 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,水深为 26 cm,水中溶氧量大于 $7\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每日 10:30 用四川通威饲料有限公司生产的商业饵料(漂浮性饵料)进行投喂,30 min 后,清理水槽内剩余的饵料和粪便。驯养用水均使用曝气充足的自来水,日换水量约为整个驯养水体体积的 10%。

1.2 实验方案

驯养结束后挑选身体健康、大小适宜、体质量为 $(6.24 \pm 0.1)\text{ g}$ 的实验鱼共 114 尾,记录它们的初始体质量和初始体长。然后随机将实验鱼平均分为两组,开始为期 40 d 的温度驯化,其中:恒温组驯养于 22°C 恒温水体中;周期组驯养水体水温在 6:30—14:30 为 22°C ,14:30—22:30 为 26°C ,22:30—次日 6:30 为 18°C ,水体温度的上升或下降在 1 h 内完成。温度驯化期间,恒温组和周期组的实验鱼均采用群养方式进行饲养。每日 10:30 对恒温组和周期组实验鱼进行饱足投喂(此时两组驯养水体温度均为 22°C)记录实际摄食量。在温度驯化实验结束后,测量实验鱼的体质量和体长,并选择体型相近的实验鱼依次进行自发运动水平、SMR 和热耐受参数的测定。为了方便进行组间比较,有关指标的测定均在 22°C 下进行,并在测定前将实验鱼禁食 24 h,以避免摄食、消化等活动对有关指标造成影响。

1.3 生长性能的测定

在温度驯化实验期间投喂浮性饲料 30 min 后用渔网捞出剩余饲料,计算实验鱼每日实际摄入的饲料质量(单位:g),由此得出 40 d 实验鱼实际摄入的饲料总质量,然后依次除以各组实验鱼数量和处理日数,所得数据即为各组单尾实验鱼的日摄食量(单位: $\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{尾}^{-1}$)。温度驯化实验结束后,准确测量所有实验鱼的体质量和体长。通过以下公式计算实验鱼的摄食率:

$$V_{\text{FR}} = \frac{2F_c}{(W_t + W_0) \times D} \times 100\%。$$

其中: V_{FR} 为摄食率(单位: d^{-1}); F_c 为摄食总质量(单位:g); W_0, W_t 分别为实验鱼的初始质量和终末质量; D 为驯化时间(单位:d)。

1.4 热耐受参数的测定

温度驯化实验结束后,采用临界温度法(Critical thermal methodology)对实验鱼的温度耐受性进行测定^[13]。在每日 6:30—14:30,分别从两个温度组中各选取 10 尾大小接近的中华倒刺鲃幼鱼,转移至温度耐受测定装置(长×宽×高为 $55\text{ cm} \times 32\text{ cm} \times 35\text{ cm}$)中适应 1 h 后,以 $0.3^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升温或降温^[7]。温度耐受测定装置内水体的初始温度为 22°C 。测定过程中持续用充气泵向水体中充气以保证水体溶氧量高于饱和溶氧量的 90%,以数字温度计持续监测水温变化。以实验鱼初始失去平衡的温度作为临界高温或临界低温,以鳃盖停止运动 10 s 以上所对应的温度作为致死高温或致死低温。

1.5 SMR 的测定

使用实验室自制的间歇式代谢仪测定实验鱼的 SMR。将实验鱼提前 24 h 放入容积为 520 mL 的呼吸室中进行适应。适应期间呼吸室维持换水模式。正式测定 SMR 时关闭换水水泵,呼吸室密闭,使用美国哈希公司生产的 HQ30d 型溶氧仪测定封闭呼吸室的溶氧值,每隔 2 min 记录 1 次,持续测量 2 h。当呼吸室内水体溶氧量低至 $5.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,打开换水水泵,待呼吸室内水体溶氧量增加至接近饱和溶氧量后再继续测定,以免对实验鱼造成低氧胁迫。SMR 的测定在 22°C 下进行,各组用于测定的实验鱼均为 12 尾。SMR 的计算公式为:

$$V_{\text{SMR}} = \frac{(D_k - D_{k+1}) \times V}{m \times t}。$$

式中: D_k 和 D_{k+1} 是测定时间为 k 和 $k+1$ 时呼吸室内水体溶氧量(单位: $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); V (单位:L)是呼吸室总体积与实验鱼体积的差值; t 为测定的间隔时间(1/30 h); m 为实验鱼体质量(单位:kg); V_{SMR} 为 SMR(单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)。

1.6 自发运动水平的测定

用于自发运动水平测定的实验装置为直径为 35 cm 的圆形水槽,水深 12 cm。将实验鱼放入该装置中适应

1 h 后,通过罗技(中国)科技有限公司生产的 Logitech Pro 9000 型摄像头以 $15 \text{ 帧} \cdot \text{s}^{-1}$ 的拍摄帧率对实验鱼的自发活动进行拍摄,持续时间为 20 min,拍摄期间保持外界环境安静无干扰。采用荷兰诺达思公司的 Noldus EthoVision XT 9.0 动物运动轨迹跟踪系统分析拍摄视频中实验鱼运动的总路程、运动时间和静止时间,并计算出实验鱼在拍摄期间的运动时间比和平均速度。

1.7 数据统计

所有实验数据由 Excel 2010 软件进行常规计算,有关结果均采用“平均值±标准误”方式表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行数理统计分析。不同参数在两个温度组之间的差异采用独立样本 t 检验进行分析,当 $p < 0.05$ 时, t 检验结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 对生长指标的影响

表 1 显示:两组实验鱼在进行温度驯化前的体质量、体长均无统计学意义上的差异;周期组的日摄食量和摄食率相较于恒温组而言均有统计学意义上的提高($p < 0.05$);温度驯化结束后的周期组实验鱼的体质量与恒温组实验鱼相比有统计学意义上的增加($p < 0.05$),但两者的体长差异无统计学意义。

表 1 周期性变温对中华倒刺鲃幼鱼生长性能的影响

Tab. 1 Effect of periodic temperature change on the growth performance in juvenile Qingbo

组别	0 d		40 d		日摄食量/($\text{g} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{尾}^{-1}$)	摄食率/ d^{-1}
	体质量/g	体长/cm	体质量/g	体长/cm		
恒温组	6.30 ± 0.09^a	6.90 ± 0.03^a	8.37 ± 0.18^a	7.44 ± 0.05^a	4.63 ± 0.27^a	$1.58\% \pm 0.09\%^a$
周期组	6.27 ± 0.11^a	6.87 ± 0.04^a	9.26 ± 0.22^b	7.53 ± 0.06^a	6.55 ± 0.34^b	$2.11\% \pm 0.11\%^b$

注:同一列不同的小写字母表示两个温度驯化组的数据存在统计学意义上的差异($p < 0.05$),下同

2.2 对热耐受参数的影响

经过温度驯化后,恒温组和周期组的临界高温分别是 35.73 和 36.79 $^{\circ}\text{C}$ (图 1a),组间差异具有统计学意义($p < 0.05$);恒温组和周期组的致死高温分别为 37.62 和 38.71 $^{\circ}\text{C}$ (图 1b),组间差异也具有统计学意义($p < 0.05$);恒温组和周期组的临界低温分别是 8.24 和 7.96 $^{\circ}\text{C}$ (图 1c),而致死高温分别为 5.59 $^{\circ}\text{C}$ 和 5.15 $^{\circ}\text{C}$ (图 1d),两个指标的组间差异均无统计学意义。

2.3 对 SMR 的影响

由图 2 可知,经过 40 d 温度驯化后周期组的 SMR 略高于恒温组的 SMR,但两者差异无统计学意义。

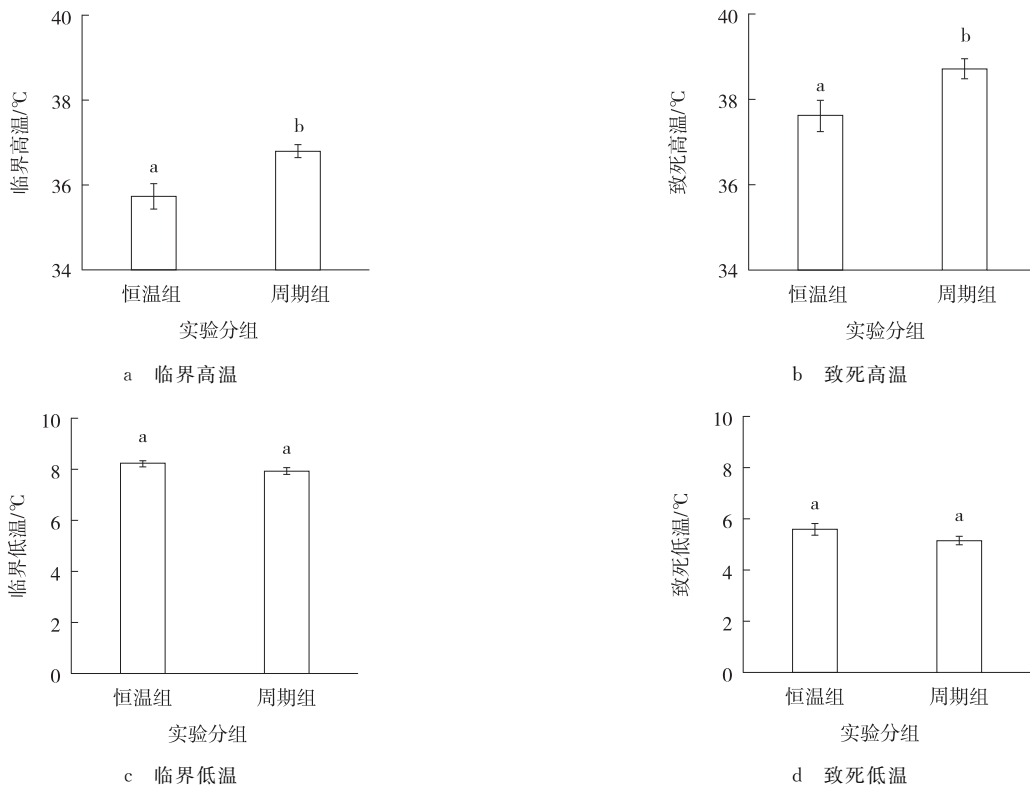
2.4 对自发运动水平的影响

温度驯化结束后,恒温组和周期组实验鱼自发运动的运动时间比分别为 51.33% 和 44.94% (图 3a),组间差异无统计学意义;两者的平均速度也没有统计学意义上的差异(图 3b)。

3 讨论

自然界中水体温度会因自然环境变化(如昼夜更替、气候变化等)及人为因素(如水利工程建设等)的影响而发生改,由此进一步影响到生活在水体中的鱼类^[14]。当水温恒定时,鱼类仅需根据当前温度最大化摄食与生长,并积累更多营养物质来获得长期的生长优势;当水温出现周期性波动时,鱼类则需要为适应温度变动付出额外的能量消耗^[15]。在本研究中,尽管两个处理组的驯养水体总积温相同,但周期组中华倒刺鲃幼鱼的最终体质量与恒温组的同类相比明显要更高一些。然而对鳊(*Parabramis pekinensis*)的研究却发现,周期组与恒温组实验鱼的最终体质量并无统计学意义上的差异^[7]。两个结果不一致的原因可能在于本研究中的温度变幅更小,因而温度变化时实验鱼所消耗的额外能量更低,本研究中周期组与恒温组的 SMR 并无统计学意义上的差异也能对此加以佐证。此外不同鱼种对温度敏感性的种间差异也可能是上述情况出现的又一原因。与过去研究类似的是,本研究中周期组相较于恒温组而言实验鱼的摄食量更大,这可能是因为在温度转变时,鱼类需要额外消耗能量对自身生理、生化机能进行调整,因此总耗能可能更高。但有趣的是,这种额外的能耗可能仅存在于温度转变阶段——一旦温度趋于稳定,则代谢就不再增加。这一情况提示实验鱼对这种可预测的温度变动已经形成了

较好的适应。有研究发现,经历温度波动处理的齐口裂腹鱼具有更高的肠胰蛋白酶活性^[8],这可能导致鱼的食欲更好,进而提升了鱼的摄食水平。在本研究中,SMR 与自发运动水平的组间并无统计学意义上的差异,提示两个处理组生长性能的差异可能并非与它们的能量消耗水平差异有关,更多与两者摄食水平差异有关。



注:不同的小写字母表示两个温度组的数据存在统计学意义上的差异($p < 0.05$),下同

图 1 周期性变温对中华倒刺鲃幼鱼热耐受性参数的影响

Fig. 1 Effect of periodic temperature change on thermal tolerance parameters in juvenile Qingbo

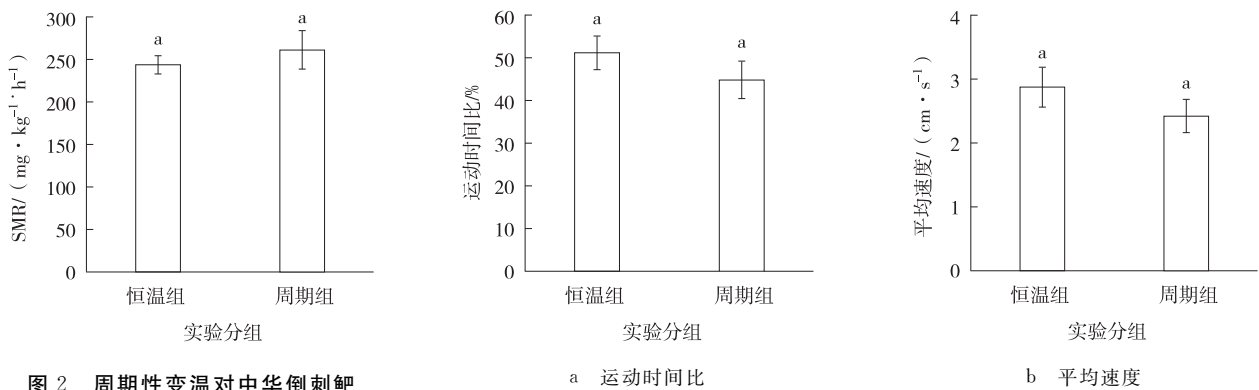


图 2 周期性变温对中华倒刺鲃幼鱼 SMR 的影响

Fig. 2 Effect of periodic temperature change on SMR in juvenile Qingbo

图 3 周期性变温对中华倒刺鲃幼鱼自发运动的影响

Fig. 3 Effect of periodic temperature change on the spontaneous moving in juvenile Qingbo

在本研究中,周期性温度变动明显提高了中华倒刺鲃幼鱼的高温耐受能力,此结果与 Peng 等人^[7]的研究结果一致。相较于恒温组,周期组实验鱼的低温耐受能力也有所提高,但是有关差异并不明显,推测这可能与样本量相对较小有关。在热耐受研究中,研究者常常将温度耐受幅即临界高温和临界低温的差值作为衡量动物热适应的重要指标^[16]。在本研究中,恒温组和周期组实验鱼的温度耐受幅分别为 27.49 和 28.83 °C,由此可见周期性变温驯化提高了中华倒刺鲃的温度耐受幅。此结果与鳊^[7]和齐口裂腹鱼^[8]的有关研究结果相似。研究发现,将鲤(*Cyprinus carpio*)暴露在不同的高温环境(20,24 和 28 °C)后,它的心、肾和大脑中热应激蛋白基因的相对

表达量增加了 2.8~3.7 倍^[17]。可以推测这是因为周期组实验鱼频繁遭遇温度变动后提高了热应激蛋白等与鱼类耐受极端温度有关物质的表达量,所以鱼体耐受高温和低温的能力均有所提高。

参考文献:

- [1] PÖTNER H O, FARRELL A P. Physiology and climate change[J]. *Science*, 2008, 322(5902): 690-692.
- [2] PANG X, FU S J, ZHANG Y G. Acclimation temperature alters the relationship between growth and swimming performance among juvenile common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2016, 199: 111-119.
- [3] PANG X, CAO Z D, FU S J. The effects of temperature on metabolic interaction between digestion and locomotion in juveniles of three cyprinid fish (*Carassius auratus*, *Cyprinus carpio* and *Spinibarbus sinensis*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2011, 159(3): 253-260.
- [4] ROBERTSON R F, MEAGOR J, TAYLOR E W. Specific dynamic action in the shore crab, *Carcinus maenas* (L.), in relation to acclimation temperature and to the onset of the emersion response[J]. *Physiological & Biochemical Zoology*, 2002, 75(4): 350-359.
- [5] SECOR S M, WOOTEN J A, COX C L. Effects of meal size, meal type, and body temperature on the specific dynamic action of anurans[J]. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systems, and Environmental Physiology*, 2007, 177(2): 165-182.
- [6] 覃英莲, 柏杨, 付康康, 等. 中华倒刺鲃不同生理性能对降温的响应速率[J]. *生态学报*. 2017, 37(15): 5179-5188.
QING Y L, BAI Y, FU K K, et al. The metabolize response of different physiological performance to decreased temperature in *Spinibarbus sinensis*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(15): 5179-5188.
- [7] PENG J, CAO Z D, FU S J. The effects of constant and diel-fluctuating temperature acclimation on the thermal tolerance, swimming capacity, specific dynamic action and growth performance of juvenile Chinese bream[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2014, 176: 32-40.
- [8] 郭鹤. 温度驯化对齐口裂腹鱼热耐受和生长代谢的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
GUO H. Effects of temperature acclimation on the heat tolerance and growth metabolism in *Schizothorax prenanti* [D]. Chongqing: Southwest University, 2019.
- [9] DAS T, PAL A K, CHAKRABORTY S K, et al. Thermal tolerance and oxygen consumption of Indian major carps acclimated to four temperatures[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2004, 29(3): 157-163.
- [10] XIA J G, MA Y J, FU C et al. Effects of temperature acclimation on the critical thermal limits and swimming performance of *Brachymystax lenok* tsinlingensis; a threatened fish in Qinling mountain region of China[J]. *Ecological Research*, 2017, 32(1): 61-70.
- [11] YANG Y, CAO Z D, FU S J. Variations in temperature acclimation effects on glycogen storage, hypoxia tolerance and swimming performance with seasonal acclimatization in juvenile Chinese crucian carp[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2015, 185: 16-23.
- [12] 邴旭文. 中华倒刺鲃生物学特性的研究[J]. *经济动物学报*, 2004, 8(4): 221-223.
BING X W. Study on biological characters of *Barbodes (Spinibarbus) sinensis* [J]. *Journal of Economic Animal*, 2004, 8(4): 221-223.
- [13] MANUSH S M, PAL A K, CHATTERJEE N, et al. Thermal tolerance and oxygen consumption of *Macrobrachium rosenbergii* acclimated to three temperatures[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2004, 29(1): 15-19.
- [14] LEE C G, FARRELL A P, LOTTO A G, et al. The effect of temperature on swimming performance and oxygen consumption in adult sockeye (*Oncorhynchus nerka*) and coho (*O. kisutch*) salmon stocks[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206(18): 3239-3251.
- [15] SANDBLOM E, GRÄNS A, AXELSSON M, et al. Temperature acclimation rate of aerobic scope and feeding metabolism in fishes: implications in a thermally extreme future[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2014, 281(1794): 4482-4500.
- [16] CHATTERJEE N, PAL A K, MANUSH S M, et al. Thermal tolerance and oxygen consumption of *Labeo rohita* and *Cyprinus carpio* early fingerlings acclimated to three different temperatures[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2004, 29: 265-270.
- [17] WANG Y B, XU J B, SHENG L X, et al. Field and laboratory investigations of the thermal influence on tissue-specific Hsp70 levels in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 148(4): 821-827.

Animal Sciences

The Effect of Diel-Fluctuating Temperature Acclimation on the Growth Performance and Thermal Tolerance in Juvenile Qingbo

HU Yue, FU Shijian, ZHU Wenlan, ZHANG Yongfei, FU Cheng

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

Abstract: [Purposes] To investigate the effect of diel-fluctuating temperature acclimation on the growth performance and thermal tolerance in juvenile Qingbo, *Spinibarbus sinensis*. [Methods] The experimental fish were randomly divided into a constant temperature group (constant temperature of 22 °C) and a periodic group (periodic changes of 18, 22, 26 and 18 °C within 24 h) for 40 d. Then, their growth performance, thermal tolerance parameters, standard metabolic rate (SMR) and spontaneous movement levels were measured and compared. The growth performance, thermal tolerance parameters, SMR and spontaneous movement levels were measured and compared. [Findings] After the end of acclimation, body mass, daily feeding rate, feeding rate, critical high temperature and lethal high temperature of experimental fish in the cycle group showed statistically significant ($p < 0.05$) improvement compared with the constant temperature group; there were no statistically significant differences in body length, critical low temperature, lethal low temperature, SMR, locomotion time ratio and mean speed between the two experimental fish groups. [Conclusions] The faster growth of juvenile Qingbo after periodic temperature change domestication may be related to the higher feeding rate, while the improved thermal tolerance may be related to the frequent temperature changes experienced by the experimental fish and thus the maintenance of high levels of heat stress protein expression in the body.

Keywords: *Spinibarbus sinensis*; diel-fluctuating temperature; growth; thermal tolerance; spontaneous activity; standard metabolic rate

(责任编辑 方 兴)