

文章编号:1000-0615(2014)01-109-10

DOI:10.3724/SP.J.1231.2014.48775

光照周期对褐牙鲆幼鱼生长、能量分配及生化指标的影响

黄国强^{1,2*}, 李洁², 唐夏², 张灵燕²

(1. 广西海洋研究所广西海洋生物技术重点实验室,广西 北海 536000;
2 中国海洋大学水产学院,山东 青岛 266003)

摘要: 在循环水实验系统中,设置1 L:23 D、9 L:15 D、12 L:12 D、15 L:9 D、24 L:0 D(光L:暗D)共5个光照周期处理组,研究其对褐牙鲆幼鱼生长及部分生化指标的影响。实验结束时褐牙鲆幼鱼的体质量为41.10~43.98 g,不同处理组间无显著差异,体质量未表现出与日光照周期长短的相关性。日生长系数只在21~30 d阶段内出现显著差异,整个实验期间的平均日生长系数为1.86~2.02,不同处理组间不存在显著差异,日生长系数随日光照周期的延长略呈下降趋势。不同阶段的摄食率在31~40 d阶段出现显著差异,12 L:12 D处理组摄食率显著高于9 L:15 D处理组。在整个实验期间,1 L:23 D的褐牙鲆幼鱼摄食率为1.64,显著低于12 L:12 D的褐牙鲆幼鱼的摄食率(1.79)。整个实验期间,1 L:23 D的褐牙鲆幼鱼平均饲料转化率为113.49,显著高于12 L:12 D、15 L:9 D、24 L:0 D的褐牙鲆幼鱼,并略高于9 L:15 D的褐牙鲆幼鱼,饲料转化效率随光照时间的延长呈下降趋势。实验期间摄食能量的分配比例仅在排泄能上出现显著差异,15 L:9 D最高,12 L:12 D最低,其他各项能量分配均无显著差异。不同光照周期对耗氧率影响显著,15 L:9 D最高,为0.252 mg/(g·h),24 L:0 D最低,为0.173 mg/(g·h)。耗氧率随着光照时间的延长呈先上升后下降的趋势。血浆生长激素和类胰岛素生长因子I含量在不同处理组间也不存在显著差异,随光照时间延长也未表现出明显变动趋势。血浆褪黑素含量随光照时间的增加呈先下降后上升的趋势,12 L:12 D处理组MT含量最低,但与其他处理组差异不显著。实验结束时肌肉RNA/DNA比值随光照周期延长呈先上升后下降变动趋势,其中15 L:9 D和24 L:0 D处理组的肌肉RNA/DNA比值显著高于1 L:23 D处理。肝脏RNA/DNA比值以12 L:12 D最高,15 L:9 D最低。实验结果表明光照周期对褐牙鲆幼鱼摄食量和饲料转化效率产生显著影响,但摄食量减少的处理组由于耗氧率降低因而饲料转化效率得到提高,因此光照周期对生长没有显著影响。光照周期明显影响血浆褪黑素、肌肉和肝脏RNA/DNA比值,但生化指标的差异与生长无明显相关性。

关键词: 褐牙鲆; 光照周期; 生长; 褪黑素; 生长激素

中图分类号: S 965.3

文献标志码:A

鱼类的生长因日照时间长短的变化而呈现一定的季节变动模式^[1],一般而言,幼体需要一个最低光照强度来保证正常的生长和发育,其后各发育阶段的鱼(海水和鲑科鱼类)也对光照周期操作有响应,一般情况下长光照时间对白天活动的鱼类生长有促进作用。延长光照时间

或持续光照能够提高多种鱼类的生长速度^[2-8],但在一些研究中也发现光照周期的改变对生长没有明显影响^[9-10]。光照周期对不同鱼类生长的影响存在明显不同,表明光照周期对鱼类生长的影响存在明显的种间差异。因此能否在养殖生产中通过光照周期调控来促进养殖对象的

收稿日期:2013-06-18 修回日期:2013-11-04
资助项目:国家自然科学基金项目(30600462)
通信作者:黄国强, E-mail:hgqhugh@gmail.com

生长,需要针对养殖对象进行深入研究后才能确定。

由于环境或营养因子的季节性变动,鱼类的生长激素分泌存在明显的季节变动。鮟鱇(*Silurus asotus*)血清GH(生长激素)水平在6月达到峰值,而垂体GH水平在3月和7月各出现一个峰值^[11]。黑鲷(*Sparus macrocephalus*)血清GH、GHR(生长激素受体)水平和白肌及肝脏中RNA/DNA比值均存在明显的季节变化^[12]。这种季节变动可能是神经内分泌系统对环境中光照、温度和营养条件变动的响应。其中光照周期作为一种直接因子,类似于“给时者(zeitgeber)”通过影响体内节律^[3]和生长激素的循环水平来控制生长^[13]。鱼类的感光器官、生物钟和褪黑素合成酶位于松果体^[14],已有研究表明松果体能够将环境信息(光照和温度)翻译为节律信号^[15],而褪黑素就是环境因子在鱼体内的信使^[16]。因此,光照周期对鱼类生长的影响可能是通过松果体翻译为节律信号后,通过褪黑素的传递,影响内分泌生长调节轴,从而调节鱼类的生长。生长、摄食量和消化与种类的行为特异性和繁殖有关,而一般认为松果体(褪黑素)对此起作用^[17]。

在褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)的设施养殖中已经可以控制多种养殖环境因子(包括光照周期)的变动,但能否通过调控光照周期来促进褐牙鲆的生长仍需要进行深入的研究。本实验拟通过不同光照周期对褐牙鲆幼鱼生长的影响及相关内分泌调控和能量学机制的初步研究,为增养殖中光照周期调控提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼来源及驯化

实验用褐牙鲆幼鱼购于山东省黄海水产有限公司,在中国海洋大学鱼类行为学实验室循环养殖系统长方形玻璃钢水槽(2.0 m×1.5 m×1.0 m,海水2 000 L)内驯化10 d,驯化条件为:水温(20.0±1.0)℃、DO>6.3 mg/L、盐度30~31、pH值7.9±0.2、光照周期14 L:10 D。驯化期间每天过量投饵2次(早上8:00和傍晚6:00),投饵后清除残饵和粪便。实验用饲料为市售升索牌鲆鲽类配合饲料。

1.2 实验设计

生长实验 实验采用的养殖设施为自行设

计制作的流量控制循环水系统,循环水向各水族箱供水的蓄水池和高位蓄水池均连续充气,每个水族箱也连续充气,以保证溶解氧接近饱和水平(>6.3 mg/L)。玻璃水族箱规格为50 cm×40 cm×40 cm,水体约为80 L。水族箱一侧以一PVC管从底部供水,再从另一侧上方的溢水孔流出。海水水温控制在(20.0±1.0)℃;海水盐度为29~31,pH值为7.9±0.2;光照周期为14 L:10 D。实验设置了5个处理组,光照周期采用遮光布人工控制,将整个水族箱用遮光布严密包裹,在每天设定的光照时间内将遮光布撤开。每天的光照与黑暗时间(h)分别为1 L:23 D(12:00—13:00)、9 L:15 D(7:00—18:00)、12 L:12 D(6:00—18:00)、15 L:9 D(5:00—20:00)、24 L:0 D,其中9 L:15 D、12 L:12 D、15 L:9 D 3个处理组基本模拟我国北方沿海不同季节的日照时间节律,其余2个处理组为人为设置的光照周期。经照度计测定,光照时间和黑暗时间水族箱内的光照强度分别为450~500 lx和0~0.01 lx。每一处理组3个重复,每个水族箱放入褐牙鲆幼鱼12尾,然后每10天称重1次,整个实验持续60 d。

由于实验光照周期设定最短的实验处理为12:00—13:00 光照,因此实验期间所有处理均每天在中午12:00 饱食投喂一次,投喂后在13:00 收集未摄食的残饵。

耗氧率测定 挑选实验设定的光照周期下驯化10 d后的褐牙鲆幼鱼,放入容积为20 L的广口玻璃瓶中,用循环控温系统的圆桶作为水浴,控制水温为(20.0±1.0)℃,连续充气适应2 h后,水满并用保鲜膜封闭瓶口,并通过圆桶加盖方式控制光照周期,测定24 h内不同光照周期褐牙鲆幼鱼的耗氧率。每一光照周期测定10尾鱼的耗氧量,并设置一个不放鱼的空白对照。

1.3 样品的收集、处理与保存

生长和能量收支分析样品 挑选实验用鱼的同时,对每一处理组取3个样品,每个样品6尾,以分析实验用鱼的初始成分。实验结束时每一水族箱内所有鱼取作一个样品,分析实验结束时鱼体成分。实验用饲料也取3个样品用于分析成分。每次投喂后15 min 开始收集部分粪便作为测定消化率的样品。

实验过程中鱼的投饵量准确称重,收集的残饵70℃烘干至恒重后称重。由于残饵从投入水

中到收集约需 1 h,因此饲料投入到养殖系统中浸泡 1 h 测定其损失系数,以将残饵重量校正为投喂饲料重量。

血液和组织样品 实验结束时每个处理组取鱼 18 尾(每个重复取 6 尾),用 100 mg/L 的 MS-222 麻醉后,抽取血液,用于测定血浆中褪黑素(MT)、血浆生长激素(GH)、类胰岛素生长因子 I(IGF-I)含量。抽血后立即解剖鱼体,并取肝脏和肌肉 -30 °C 下保存以备测定 RNA/DNA 比值用。

血液样品采集:在每个 1.5 mL 的离心管中加入 50 μL 肝素钠抗凝剂,在 65 °C 烘干 24 h,然后冷却备用。实验鱼用 100 mg/L 的 MS-222 麻醉后,以 1 mL 的注射器从尾静脉取血,注射器需经 4 °C 预冷并用抗凝剂润洗。经离心后取血浆用于测定 MT、GH 和 IGF-I 含量。

肝脏和肌肉样品处理:取鳃 0.2 g 左右,肝脏和肌肉各 0.5 g 左右,按 1:9 比例加入 0.09% 生理盐水,在冰水浴中用 IKA 匀浆机匀浆 10 min,然后在 0 °C 下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液放入 -30 °C 冰箱保存待用。

溶解氧水样 在封闭广口瓶前和 24 h 后分别取水样加入氯化锰和碱性碘化钾固定水样中的溶解氧。

1.4 样品成分分析与测定

生长和能量分配样品 鱼、饲料、残饵、粪便样品烘干后,用小型粉碎机粉碎以备分析测试。样品氮含量用微量凯氏定氮法测定^[18],粗蛋白质含量用凯氏氮乘以 6.25 换算。粗脂肪含量采用索氏抽提法测定^[18],总能量含量用 PARR1281 氧弹仪测定(PARR 仪器公司,美国)。粪便和饲料的酸不溶灰分(AIA)含量参考 Atkinson 等^[19]的方法测定:即通过部分收集粪便,通过测定饲料和粪便中含有的天然酸不溶灰分含量,将其作为内源性指示剂含量计算消化率。每个样品重复测定 3 次,取其平均值作为测定值。

血液和组织样品 GH 和 IGF-I 含量用 R & D 公司生产的双抗体夹心酶联免疫法试剂盒测定,肌肉和肝脏糖原含量均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定, RNA/DNA 比值用紫外比色法测定。

水样溶解氧含量 水样溶解氧含量用碘量法测定。

1.5 数据计算

$$\text{日生长系数 } DGC = (W_{\text{Ft2}}^{1/3} - W_{\text{Ft1}}^{1/3}) \times 100 / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

其中, W_{Ft2} 和 W_{Ft1} 分别为时间 t_2 和 t_1 鱼的体质量(g)。

摄食率(FR_w ,%) 和饲料转化效率(FCE_w ,%) 的计算方法如下:

$$FR_w = 100 \times I / [(W_{\text{t2}} + W_{\text{t1}})/2] / (t_2 - t_1) \quad (2)$$

$$FCE_w = 100 \times (W_{\text{t2}} - W_{\text{t1}}) / I \quad (3)$$

其中, t_2 和 t_1 分别为某个实验阶段的结束时间(d)和开始时间(d), W_{t2} 和 W_{t1} 分别为某一实验阶段鱼的结束体质量(g)和初始体质量(g), I 为这一实验阶段内鱼的摄食量(g)。

能量收支方程($C_e = G_e + F_e + U_e + R_e$)中各项数据计算方法如下:

$$\text{摄食能(energy intake, } C_e) = I \times GE_F \quad (4)$$

$$\text{生长能(growth energy, } G_e) = FF_e - IF_e \quad (5)$$

$$\text{排粪能(energy of feces, } F_e) = C_e \times (100 - DR_e) / 100 \quad (6)$$

$$\text{排泄能(energy of excretion, } U_e) = U_N \times 24.83 \quad (7)$$

$$\text{代谢能(energy of metabolism, } R_e) = C_e - G_e - F_e - U_e \quad (8)$$

其中, GE_F 、 FF_e 、 IF_e 、 DR_e 、 U_N 分别为饲料能量含量(kJ/g)、实验结束鱼体能量(kJ)、实验开始鱼体能量(kJ)、能量消化率(%)、氨氮排泄量(g), 每排泄 1g 氨氮的能量消耗为 24.83 kJ^[20]。以上公式中的 FF_e 、 IF_e 、 U_N ^[21]、 DR_e 的计算方法分别如下:

$$FF_e = W_{\text{Ft2}} \times GE_{\text{Ft2}} \quad (9)$$

其中, GE_{Ft2} 为实验结束时鱼体能量含量(kJ/g)。

$$IF_e = W_{\text{Ft1}} \times GE_{\text{Ft1}} \quad (10)$$

其中, GE_{Ft1} 为实验开始时鱼体能量含量(kJ/g)。

$$DR_e = 100 \times [1 - (GE_{\text{feces}}/GE_{\text{feed}}) \times (AIA_{\text{feed}}/AIA_{\text{feces}})] \quad (11)$$

其中, GE_{feed} 、 GE_{feces} 、 AIA_{feed} 、 AIA_{feces} 分别为饲料与粪便中能量和酸不溶灰分含量。

$$U_N = I_N - G_N - F_N \quad (12)$$

其中, I_N 、 G_N 、 F_N 分别为摄食氮(g)、生长氮(g)、排粪氮(g), I_N 的计算方法为摄食量乘以饲料氮含量。 G_N 和 F_N 计算方法分别如下:

$$G_N = N_{\text{FP}} \times F_{\text{wt2}} - N_{\text{IF}} \times F_{\text{wt1}} \quad (13)$$

$$F_N = I_N \times (100 - DR_N) / 100 \quad (14)$$

其中, N_{FF} 和 N_{IF} 分别为结束鱼和初始鱼身体的氮含量(%), DR_N 为氮消化率(%), 计算方法同 DR_e 。生长能、排粪能、排泄能和代谢能占摄食能的百分比分别以其能量值除以摄食能后再乘以 100 算得。

耗氧率 [MO_2 , mg/(g · h)]

$$MO_2 = (DO_{t1} - DO_{t2}) \times V/W/T \quad (15)$$

其中, DO_{t1} 、 DO_{t2} 、 V 、 W 、 T 分别为初始溶解氧含量(mg/L)、结束溶解氧含量(mg/L)、耗氧率测定瓶体积(L)、幼鱼体质量(g)和耗氧率测定持续时间(h)。

1.6 数据的统计分析

对实验数据进行了单因子方差分析, 对 < 30% 和 > 70% 的百分比数据进行反正弦转换后进

行了单因子方差分析, 并对不同处理间的数据进行了 Duncan 氏多重比较, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著的标准。数据的统计分析采用 SPSS 11.0 进行。

2 结果

2.1 体质量变化和日生长系数

不同光照周期处理组的褐牙鲆幼鱼的体质量在整个实验期间均未出现显著差异, 也未表现出与日光照周期长短的相关性(表 1)。日生长系数只在 21~30 d 阶段内出现显著差异, 1 L: 23 D 和 24 L: 0 D 处理组小于其余 3 个处理组。整个实验期间的平均日生长系数在不同处理组间不存在显著差异, 随日光照周期的延长略呈下降趋势(表 2)。

表 1 不同光照周期下幼鱼的体质量

Tab. 1 Body weight of juvenile fish cultured in different photoperiods

	光照周期 photoperiod					g
	1 L: 23 D	9 L: 15 D	12 L: 12 D	15 L: 9 D	24 L: 0 D	
0 d	12.86 ± 0.08	12.85 ± 0.05	12.88 ± 0.04	12.88 ± 0.04	12.94 ± 0.07	
10 th d	17.72 ± 0.03	17.98 ± 0.73	17.96 ± 0.07	18.06 ± 0.05	17.89 ± 0.10	
20 th d	22.19 ± 0.26	21.39 ± 0.43	22.13 ± 0.44	22.21 ± 0.14	22.22 ± 0.68	
30 th d	27.34 ± 0.58	27.25 ± 0.77	27.70 ± 0.42	27.77 ± 0.29	26.41 ± 0.62	
40 th d	33.15 ± 1.18	32.25 ± 0.80	34.04 ± 0.69	33.74 ± 0.55	32.20 ± 0.76	
50 th d	37.55 ± 1.48	36.28 ± 1.46	38.55 ± 0.51	37.88 ± 1.34	36.61 ± 1.02	
60 th d	43.98 ± 0.52	42.44 ± 1.26	43.64 ± 0.65	42.48 ± 1.19	41.10 ± 2.16	

注: 同一行中没有相同上标字母的数值相互之间差异显著, 下同

Notes: Values without same letter superscript in the same row were significantly different from each other ($P < 0.05$), the same as below

表 2 不同光照周期的日生长系数(DGC)

Tab. 2 Daily growth coefficient(DGC) of juvenile fish cultured in different photoperiods

	光照周期 photoperiod					%/d
	1 L: 23 D	9 L: 15 D	12 L: 12 D	15 L: 9 D	24 L: 0 D	
1~10 d	2.63 ± 0.03	2.77 ± 0.38	2.73 ± 0.03	2.83 ± 0.03	2.67 ± 0.09	
11~20 d	2.03 ± 0.07	1.57 ± 0.34	1.90 ± 0.15	1.83 ± 0.07	1.93 ± 0.32	
21~30 d	2.03 ± 0.13 ^{ab}	2.30 ± 0.12 ^b	2.20 ± 0.10 ^b	2.20 ± 0.06 ^b	1.67 ± 0.23 ^a	
31~40 d	1.99 ± 0.17	1.74 ± 0.08	2.15 ± 0.10	2.03 ± 0.08	2.03 ± 0.18	
41~50 d	1.37 ± 0.19	1.27 ± 0.23	1.37 ± 0.07	1.27 ± 0.24	1.40 ± 0.10	
51~60 d	2.07 ± 0.33	2.00 ± 0.87	1.56 ± 0.01	1.41 ± 0.13	1.41 ± 0.33	
1~60 d	2.02 ± 0.03	1.94 ± 0.06	1.99 ± 0.02	1.94 ± 0.06	1.86 ± 0.10	

2.2 摄食率

摄食率在 31~40 d 阶段出现显著差异, 12 L: 12 D 处理组摄食率显著高于 9 L: 15 D 处理

组(表 3)。整个实验期间, 日光照时间为 1 h 的褐牙鲆幼鱼摄食率显著低于光照 12 h 的褐牙鲆幼鱼, 并略低于光照时间为 9、15 和 24 h 的处理组。

表3 不同光照周期的摄食率(FR_w)Tab. 3 Feeding rate (FR_w) of juvenile fish cultured in different photoperiods

%

	光照周期 photoperiod				
	1 L:23 D	9 L:15 D	12 L:12 D	15 L:9 D	24 L:0 D
1~10 d	2.41 ± 0.07	2.52 ± 0.09	2.69 ± 0.23	2.39 ± 0.15	2.61 ± 0.08
11~20 d	1.97 ± 0.05	2.11 ± 0.04	2.15 ± 0.04	2.11 ± 0.06	2.18 ± 0.13
21~30 d	1.98 ± 0.05	2.06 ± 0.06	2.09 ± 0.02	2.07 ± 0.04	1.98 ± 0.03
31~40 d	1.79 ± 0.04 ^{ab}	1.68 ± 0.06 ^a	1.88 ± 0.03 ^b	1.85 ± 0.08 ^{ab}	1.74 ± 0.03 ^{ab}
41~50 d	1.62 ± 0.10	1.49 ± 0.03	1.51 ± 0.05	1.41 ± 0.04	1.42 ± 0.08
51~60 d	1.20 ± 0.06	1.44 ± 0.23	1.49 ± 0.02	1.40 ± 0.01	1.36 ± 0.25
1~60 d	1.64 ± 0.03 ^a	1.69 ± 0.05 ^{ab}	1.79 ± 0.01 ^b	1.74 ± 0.02 ^{ab}	1.72 ± 0.06 ^{ab}

2.3 饲料转化效率

在11~20 d阶段,1 L:23 D处理组的饲料转化效率显著高于9 L:15 D处理组,21~30 d阶段9 L:15 D处理组的饲料转化效率显著高于24 L:0 D处理组,其他时间段内饲料转化效率没

有显著差异(表4)。整个实验期间光照时间为1 h的褐牙鲆幼鱼的平均饲料转化效率显著高于光照时间为12、15和24 h的褐牙鲆幼鱼,并略高于光照时间为9 h的褐牙鲆幼鱼,饲料转化效率随光照时间的延长呈下降趋势。

表4 不同光照周期的饲料转化效率(FCE_w)Tab. 4 Feed conversion efficiency (FCE_w) of juvenile fish cultured in different photoperiods

%

	光照周期 photoperiod				
	1 L:23 D	9 L:15 D	12 L:12 D	15 L:9 D	24 L:0 D
1~10 d	131.79 ± 1.71	132.92 ± 19.45	124.08 ± 10.71	141.06 ± 8.62	123.17 ± 4.12
11~20 d	113.91 ± 2.32 ^b	82.53 ± 15.76 ^a	96.74 ± 6.66 ^{ab}	97.77 ± 0.49 ^{ab}	97.33 ± 8.24 ^{ab}
21~30 d	104.96 ± 3.35 ^{ab}	116.82 ± 3.92 ^b	106.99 ± 3.36 ^{ab}	107.21 ± 0.75 ^{ab}	87.61 ± 13.34 ^a
31~40 d	106.60 ± 6.11	100.12 ± 2.54	109.25 ± 3.02	105.17 ± 5.54	113.46 ± 10.50
41~50 d	105.39 ± 10.95	95.84 ± 1.93	82.49 ± 4.70	80.80 ± 14.39	90.23 ± 4.25
51~60 d	144.36 ± 17.33	119.94 ± 7.01	104.67 ± 2.13	102.74 ± 9.98	102.65 ± 7.04
1~60 d	113.49 ± 1.36 ^b	107.56 ± 5.78 ^{ab}	103.21 ± 1.59 ^a	104.25 ± 1.18 ^a	102.45 ± 1.13 ^a

2.4 能量分配和耗氧率

实验期间摄食能的分配比例仅在排泄能上出现显著差异,15 L:9 D最高,12 L:12 D最低,其他各项

能量分配均无显著差异(表5)。而不同光照周期对耗氧率影响显著,15 L:9 D最高,24 L:0 D最低,随着光照时间的延长呈先上升后下降的趋势(表6)。

表5 光照周期对褐牙鲆幼鱼能量分配的影响

Tab. 5 Energy allocation of juvenile fish cultured in different photoperiods

	光照周期 photoperiod				
	1 L:23 D	9 L:15 D	12 L:12 D	15 L:9 D	24 L:0 D
摄食能/kJ ingested energy	543.9 ± 13.7	545.9 ± 6.6	590.5 ± 3.3	562.3 ± 17.3	544.7 ± 40.1
生长能/kJ growth energy	30.70 ± 1.09	30.92 ± 1.74	30.52 ± 0.59	29.55 ± 1.21	29.25 ± 0.29
排粪能/kJ energy of feces	17.44 ± 0.37	16.18 ± 0.09	17.81 ± 30	16.91 ± 0.97	16.57 ± 0.52
排泄能/kJ energy of excretion	4.78 ± 0.06 ^{ab}	5.00 ± 0.24 ^{ab}	4.64 ± 0.09 ^a	5.29 ± 0.02 ^b	5.05 ± 0.04 ^{ab}
代谢能/kJ energy of metabolism	47.08 ± 0.99	47.90 ± 1.41	47.04 ± 0.93	48.25 ± 1.40	49.14 ± 0.61

表6 光照周期对褐牙鲆幼鱼耗氧率的影响

Tab. 6 Effects of photoperiods on the oxygen consumption rate of juvenile fish

	光照周期 photoperiod				
	1 L:23 D	9 L:15 D	12 L:12 D	15 L:9 D	24 L:0 D
耗氧率/[mg/(g·h)] oxygen consumption rate	0.201 ± 0.009 ^{ab}	0.203 ± 0.005 ^{ab}	0.247 ± 0.019 ^{bc}	0.252 ± 0.010 ^c	0.173 ± 0.015 ^a

2.5 血浆 GH、IGF-I 和 MT 水平

血浆 GH 和 IGF-I 含量在不同处理组间也不存在显著差异, 随光照时间延长也未表现出明显

变动趋势。血浆 MT 含量随光照时间的增加呈先下降后上升的趋势, 12 L: 12 D 处理组 MT 含量最低, 但与其他处理组差异不显著(表 7)。

表 7 光照周期对褐牙鲆幼鱼血浆生长激素(GH)、类胰岛素生长因子 I(IGF-I)和褪黑素(MT)含量的影响
Tab. 7 Effects of photoperiods on the plasma growth hormone(GH), insulin-like growth factor I(IGF-I), and melatonin(MT) concentration

	光照周期 photoperiod					ng/L
	1 L: 23 D	9 L: 15 D	12 L: 12 D	15 L: 9 D	24 L: 0 D	
GH	100.9 ± 9.7	126.31 ± 20.7	102.2 ± 5.0	116.1 ± 4.6	107.3 ± 9.7	
IGF-I	12.21 ± 0.72	15.28 ± 2.78	12.71 ± 1.87	16.68 ± 3.02	13.92 ± 2.36	
MT	56.85 ± 9.79	52.69 ± 10.96	36.04 ± 3.54	46.26 ± 8.80	50.43 ± 2.34	

2.6 肝脏和肌肉 RNA/DNA 比值

实验结束时肌肉 RNA/DNA 比值随光照周期延长呈先上升最后下降变动趋势, 其中 15 L: 9 D

和 24 L: 0 D 处理组的肌肉 RNA/DNA 比值显著高于 1 L: 23 D 处理组(表 8)。肝脏 RNA/DNA 比值以 12 L: 12 D 最高, 15 L: 9 D 最低。

表 8 光照周期对褐牙鲆幼鱼肌肉和肝脏 RNA/DNA 比值的影响
Tab. 8 Effects of photoperiods on RNA/DNA ratio in liver and muscle

	光照周期 photoperiod				
	1 L: 23 D	9 L: 15 D	12 L: 12 D	15 L: 9 D	24 L: 0 D
肌肉 in muscle	1.30 ± 0.05 ^a	1.47 ± 0.12 ^{ab}	1.59 ± 0.07 ^{abc}	1.80 ± 0.08 ^c	1.66 ± 0.09 ^{bc}
肝脏 in liver	5.58 ± 0.42 ^{ab}	5.03 ± 0.51 ^{ab}	6.09 ± 0.92 ^b	3.75 ± 0.19 ^a	4.38 ± 0.40 ^{ab}

3 讨论

3.1 光照周期对褐牙鲆幼鱼生长的影响

本实验中, 褐牙鲆幼鱼整个实验期间的生长未受光照周期的明显影响, 比目鱼类的研究中也发现, 塞内加尔鳎(*Solea solea*)的生长不受光照周期的影响^[9], 自然光照和连续光照对大西洋庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)生长没有显著影响^[10]。但光照周期对生活习性近似的比目鱼类生长影响的研究结果并不一致, 在一些研究中, 延长光照周期能够促进塞内加尔鳎和拟庸鲽(*Pleuronectes platessa*)的生长^[2], 也能加速绿背菱鲆(*Rombosolea tapirina*)^[4]和大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[3,5]的生长, 对大西洋庸鲽的生长也有明显的促进作用^[6-8]。光照周期对不同鱼类生长的影响明显不同, 表明光照周期对鱼类生长的影响存在种间差异。

光照周期对不同鱼类生长的影响不同可能主要是由于种间生活和行为习性的差异所致, 而同种鱼类生长对光照周期变化响应的差异则可能由于实验对象的规格、实验条件的差异等所引起。鱼类对光照周期的要求随着对环境的适应性、种

类和年龄而有巨大差别^[22]。Boeuf 等^[1]认为食物可得性和长光照时间之间的协同效应对促进生长非常重要。因此, 在其他条件一致的情况下, 仅仅依靠延长光照时间而不延长食物供应时间, 可能是导致光照周期对鱼类生长影响不显著的原因之一。实验对象褐牙鲆是依靠视觉摄食的鱼类, 在本实验的设计中仅设置了不同光照时间处理组, 而饲料供应的节律和时间均限制在每天中午的 12:00—13:00, 由此可能导致长光照时间的处理组在其他光照时间内不能再摄食, 进而导致延长光照时间促进生长的效应不能发挥。

3.2 光照周期对褐牙鲆幼鱼摄食和饲料转化效率的影响

本实验发现褐牙鲆幼鱼 12 L: 12 D 处理组摄食率最高, 延长或缩短光照时间都会导致摄食率下降, 这与楼宝等^[21]发现褐牙鲆稚幼鱼在光照 12 h 摄食强度最大的结果是一致的。而主要依靠视觉摄食的鱼类如眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[22]和蓝太阳鱼(*Lepomis cyanellus*)^[23]在光照时间延长时摄食量都会增加, 这一结果的不同除前面提到的可能由于饲料供应时间是否相应延长外, 其他原因尚需进一步查明。

本实验发现褐牙鲆幼鱼的饲料转化效率在光照周期最短的 1 L:23 D 处理中组最高,随着光照时间的延长,饲料转化效率有下降的趋势,而对眼斑拟石首鱼^[22]和蓝太阳鱼^[23]而言,适当延长光照时间(超过 12 h)能够显著提高鱼类对饲料的利用效率,大西洋庸鲽在持续光照处理组中饲料转化效率也比自然光照周期组高^[6]。褐牙鲆幼鱼与这些鱼类在饲料利用效率对光照周期的反应明显不同,主要原因可能在于生活习性的不同,褐牙鲆是一种匍匐于底层的鱼类,可能在黑暗条件下其活动更少,减少了能量支出而提高了饲料利用效率。而其他几种鱼类均属于中上层鱼类,在有光照的条件下才是其最适宜生活环境,能够促进其提高饲料利用效率。

3.3 光照周期对褐牙鲆幼鱼能量分配和耗氧率的影响

尽管本实验中不同光照时间处理对褐牙鲆幼鱼指出的主要部分生长能、代谢能和排粪能没有产生显著影响,但对其耗氧率产生了明显影响,在光照周期为 1 h 的处理组和持续光照的处理组耗氧率较低,而在光照时间较长的处理组耗氧率明显较高。在大菱鲆幼鱼的研究中,发现其在持续光照处理组中耗氧率明显高于自然光照周期和每天光照 16 h 的处理组,并且耗氧率的差异主要是由于大菱鲆幼鱼在无光照的时间段内活动较少,耗氧率低引起的^[3]。大西洋庸鲽的耗氧率则在无光照时间段内较高,在持续光照期间活动较少,耗氧率较低^[6]。本实验中褐牙鲆的耗氧率与这 2 种鱼类都有明显区别,在短光照处理组中与大菱鲆类似具有较低的耗氧率,而在持续光照处理组中又与大西洋庸鲽类似具有很低的耗氧率。由此可见,即使在生活习性相近和栖息水层均为底层的鲆鲽类中,不同种类的耗氧率对光照周期变动的反应也不相同,种间差异很大。

3.4 光照周期对褐牙鲆幼鱼激素分泌的影响

与增加光照周期对大西洋鲑(*Salmo salar*)成体 GH 水平产生很小影响的结果^[24]类似,本实验中不同光照时间处理的褐牙鲆幼鱼血浆 GH 和 IGF-I 含量在整个实验期间均未出现显著差异,与鱼类生长的整体表现一致。而在大西洋鲑 1 龄幼鱼的研究中,每天光照 24 h 的血浆 GH 水平为 1.6 ng/mL,每天光照时间为 12 h 的幼鱼血浆 GH 水平在前 2 星期内只有 0.7 ng/mL,但当转入

每天 24 h 光照后,血浆 GH 水平在 3 周内升高到 11 ng/mL,并在下降至原先水平前维持 3 个月^[25],光照周期的延长则显著提高了血浆 GH 水平。光照周期的延长明显提高了虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)血液中 IGF-I 的水平,并被认为是光照周期通过上行调节刺激虹鳟生长的主要机制^[26]。由此可见,光照周期对不同鱼类 GH 的分泌可能产生不同作用,在同一种鱼类的不同生长发育阶段也有不同影响,光照周期对其他生长发育阶段的褐牙鲆 GH 和 IGF-I 是否有显著影响还需进一步研究。

一般认为光能够明显抑制鱼类松果体合成与分泌 MT^[11]。本实验中 MT 的分泌量在光照时间 1 h 的处理组略高于其他处理组,而接近自然光照时间的 12L:12D 处理组略低于长光照和短光照处理组,并未表现出随光照时间延长而下降的趋势,表明不同鱼类 MT 的分泌对光照周期的反应可能种间差异很大,仍需进一步探讨。同时,对于 MT 对鱼类生长的影响结果往往相互矛盾,如注射褪黑素使养在短光照时间而不是长光照时间的金鱼生长加快^[27],注射褪黑素增加大西洋鲑的生长^[28],但减缓虹鳟的生长^[26]。就摄食而言,急性的褪黑素注射通常会减少摄食量^[29],但鱼类的生长依赖不同的节律性摄食^[30],本实验中光照时间为 1 h 的处理组摄食率最低,血浆中 MT 含量最高,可能是由于 MT 含量高对摄食起到了抑制作用。体外实验表明,用含有正常浓度褪黑素的培养液可以提高鳟鱼脑下垂体腺或细胞释放 GH 的水平,但也观察到不同条件下 GH 的释放受到抑制,这提示褪黑素对 GH 释放的作用具有双峰性,而且在促进 GH 分泌的条件下,褪黑素也导致 PRL 释放的抑制^[31]。GH 和 PRL 是 2 种关系密切经常以相反方式起作用的激素^[32],褪黑素对生长的影响可能是由于它对 GH 和 PRL 还有其他垂体激素的影响的综合结果。因此,光照周期对褐牙鲆生长和内分泌的影响较为复杂,需要进一步研究才能查明其间的相互关系。

3.5 光照周期对肌肉及肝脏 RNA/DNA 比值的影响

实验结束时褐牙鲆幼鱼肌肉和肝脏的 RNA/DNA 比值均出现显著差异,但与生长指标的变化趋势无密切关系。RNA/DNA 比值已经被证明是一个可靠有效的营养状况指标^[33],正常喂食的牙

鲆幼体在不同发育阶段其 RNA/DNA 比值都显著高于饥饿幼体^[34]。但 Imsland 等^[35]认为 RNA/DNA 比值不能直接用作衡量大菱鲆生长率的指标,并且用于估计不同盐度中同种鱼类的生长时要特别慎重,因为生长在低盐度中的大菱鲆幼鱼比生长在高盐度中的大菱鲆幼鱼整体上 RNA/DNA 比值更高。而本实验的结果表明,可能养殖在不同光照周期中的褐牙鲆幼鱼也具有不同的 RNA/DNA 比值,而这种比值的差异与生长速度无直接关系。

参考文献:

- [1] Boeuf G, Falcón J. Photoperiod and growth in fish [J]. Vie Et Milieu-Life and Environment, 2001, 51 (4) :247 - 266.
- [2] Fonds M. A seasonal fluctuation in growth rate of young plaice (*Pleuronectes platessa*) and sole (*Solea solea*) in the laboratory at constant temperatures and a natural daylight cycle [M] // Naylor E, Hartnoll R G. Cyclic phenomenon in marine plants and animals. Proceedings of the 13th European Marine Biology Symposium, 1979 :151 - 156.
- [3] Imsland A K, Folkvord A, Stefansson S O. Growth, oxygen consumption and activity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under different temperatures and photoperiods [J]. Netherland Journal of Sea Research, 1995, 34 (1 - 3) :149 - 159.
- [4] Hart P R, Hutchinson W G, Purser G J. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862) [J]. Aquaculture, 1996, 144 (4) :303 - 311.
- [5] Imsland A K, Folkvord A, Jónsdóttir Ó D B, et al. Effect of exposure to extended photoperiods during the first winter on long-term growth and age at first maturity in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 1997, 159 (1 - 2) :125 - 141.
- [6] Jonassen T M, Imsland A K, Kadokawa S, et al. Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L [J]. Aquaculture Research, 2000, 31 (2) :219 - 227.
- [7] Simensen L M, Jonassen T M, Imsland A K, et al. Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L [J]. Aquaculture, 2000, 190 (1 - 2) :119 - 128.
- [8] Norberg B, Weltzien F-A, Karlsen Ø, et al. Effects of photoperiod on sexual maturation and somatic growth in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2001, 129 (2 - 3) :357 - 365.
- [9] Fuchs J. Effect of photoperiod on growth and survival during rearing of larvae and juveniles of sole (*Solea solea*) [J]. Aquaculture, 1978, 15 (1) :63 - 74.
- [10] Hallaråker H, Folkvord A, Stefansson S O. Growth of juvenile halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) related to temperature, day length and feeding regime [J]. Netherland Journal of Sea Research, 1995, 34 (1 - 3) :139 - 147.
- [11] Wen H S, Lin H R, Xiao D, et al. Seasonal changes and neuroendocrine regulation of growth hormone secretion in feral [J]. Acta Zoologica Sinica, 2002, 48 (2) :213 - 220. [温海深, 林浩然, 肖东, 等. 野生鮰鱼生长激素分泌的季节变化及其神经内分泌调控. 动物学报: 英文版, 2002, 48(2) :213 - 220.]
- [12] Deng L, Zhang W M, Lan H R, et al. Seasonal variations of serum growth hormone levels and growth hormone receptors in *Sparus macrocephalus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25 (3) :203 - 208. [邓利, 张为民, 林浩然, 等. 黑鲷生长激素及其受体的季节变化. 水产学报, 2001, 25 (3) :203 - 208.]
- [13] Björnsson B T. The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1997, 17 (1 - 6) :9 - 24.
- [14] Falcón J, Galarneau K M, Weller J L, et al. Regulation of arylalkylamine-N-acetyltransferase-2 (AANAT2, EC 2.3.1.87) in the fish pineal organ: Evidence for a role of proteasomal proteolysis [J]. Endocrinology, 2001, 142 (5) :1804 - 1814.
- [15] Falcón J, Thiabault C, Bégin V, et al. Regulation of the rhythmic melatonin secretion by fish pineal photoreceptor cells [M] // Ali M A. Rhythms in fish. Plenum Press, New York, 1992 :167 - 198.
- [16] Falcón J, Begay V, Besse C, et al. Pineal photoreceptor cells in culture: fine structure and light control of cyclic nucleotide levels [J]. Journal of Neuroendocrinology, 1992, 4 (5) :641 - 651.
- [17] Ekström P, Meissl H. The pineal organ of fishes [J]. Review in Fish Biology and Fishery, 1997, 7 (2) :199 - 284.
- [18] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 16th ed. Washington, DC: AOAC International, 1995.

- Chemists). Official methods of analysis [M]. 14th ed. Virginia: Association of Official Analytical Chemists, 1984:1141.
- [19] Atkinson J L, Hilton J W, Slinger S J. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator of feed digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1984, 41 (9) :1384 – 1386.
- [20] Elliott J M. Energy lost in the waste products of brown trout (*Salmo trutta*) [J]. Journal of Animal Ecology, 1976, 45(2) :561 – 580.
- [21] Lou B, Shi H L, Mao G M, et al. Effects on feeding and growth of juvenile ZhouShan *Paralichthys olivaceus* under different illuminances times and intensities [J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2008, 27 (2) :140 – 143. [楼宝, 史会来, 毛国民, 等. 不同光照时间、强度对舟山褐牙鲆稚幼鱼摄食、生长的影响. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2008, 27 (2) :140 – 143.]
- [22] Leiner K A, MacKenzie D S. The effects of photoperiod on growth rate and circulating thyroid hormone levels in the red drum, *Sciaenops ocellatus*: evidence for a free-running circadian rhythm of T4 secretion [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2001, 130(1) :141 – 149.
- [23] Gross W L, Roelofs E W, Fromm P O. Influence of photoperiod on growth of green sunfish, *Lepomis cyanellus* [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1965, 22(6) :1379 – 1386.
- [24] Björnsson B T, Taranger G L, Hansen T, et al. The interrelation between photoperiod, growth hormone, and sexual maturation of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 1994, 93(1) :70 – 81.
- [25] Björnsson B T, Hemre G-I, Bjørnevik M, et al. Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during induced smoltification of underyearling Atlantic salmon [J]. General and Comparative Endocrinology, 2000, 119(1) :17 – 25.
- [26] Taylor J F, Migaud H, Porter M J R, et al. Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. General Comparative Endocrinology, 2005, 142(1 – 2) :169 – 185.
- [27] De Vlaming, V L. Effect of pinealectomy and melatonin treatment on growth in the goldfish, *Carassius auratus* [J]. General and Comparative Endocrinology, 1980, 40(2) :245 – 250.
- [28] Porter M J R, Randall C F, Bromage N R, et al. The role of melatonin and the pineal gland on development and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr [J]. Aquaculture, 1998, 168 (1 – 4) :139 – 155.
- [29] Pinillos M L, De Pedro N, Alonso-Gómez A L, et al. Food intake inhibition by melatonin in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. Physiology & Behaviour, 2001, 72 (5) :629 – 634.
- [30] Spieler R E. Circadian timing of meal feeding and growth in fishes [J]. Reviews in Fisheries Science, 2001, 9 (3) :115 – 131.
- [31] Falcón J, Gothilf Y, Coon S L, et al. Genetic, temporal and developmental differences between melatonin rhythm generating systems in the teleost fish pineal organ and retina [J]. Journal of Neuroendocrinology, 2003, 15(4) :378 – 382.
- [32] Nguyen N, Stellwag E J, Zhu Y. Prolactin-dependent modulation of organogenesis in the vertebrate:Recent discoveries in zebrafish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology, 2008, 148(4) :370 – 380.
- [33] Buckley L J. Changes in ribonucleic and deoxyribonucleic acid, and protein content during ontogenesis in winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*, and effect of starvation [J]. Fishery Bulletin United States, 1980, 77(3) :703 – 708.
- [34] Gwak W S, Tanaka M. Developmental change in RNA: DNA ratios of fed and starved laboratory-reared Japanese flounder larvae and juveniles, and its application to assessment of nutritional condition for wild fish [J]. Journal of Fish Biology, 2001, 59 (4) :902 – 915.
- [35] Imsland A K, Foss A, Bonga S W, et al. Comparison of growth and RNA:DNA ratios in three populations of juvenile turbot reared at two salinities [J]. Journal of Fish Biology, 2002, 60 (2) :288 – 300.

Effects of photoperiod on the growth, energy allocation, and biochemical parameters in juvenile brown flounder (*Paralichthys olivaceus*)

HUANG Guoqiang^{1,2*}, LI Jie², TANG Xia², ZHANG Lingyan²

(1. Guangxi Key Laboratory of Marine Biotechnology, Guangxi Institute of Oceanology, Beihai 536000, China;

2. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Photoperiod regimes (hours of light : hours of dark) were designed as 1L: 23D, 9L: 15D, 12L: 12D, 15L: 9D, and 24L: 0D to investigate the effects of photoperiods on the growth and biochemical parameters of juvenile brown flounder (*Paralichthys olivaceus*). At the end of the experiment, the average weight of the fish varied from 41.10 g to 43.98 g and no significant difference appeared in the average body weight through the experimental period. The average body weight did not show significant correlation to the photoperiods. The average DGC of the whole experimental period varied from 1.86 to 2.02 and no significant difference existed. Significant difference of daily growth coefficient (DGC) appeared only in period 21 – 30 d. A slightly descending trend of DGC along with the extending of light period was observed. The feeding rate of 12L: 12D was significantly higher than 9L: 15D in period 31 – 40 d. or the whole experimental period, and feeding rate of 1L: 23D (1.64) was significantly lower than that of 12L: 12D (1.79). The feed conversion efficiency showed a descending trends along with the extending of light period. Feed conversion efficiency of 1L: 23D (113.49) was significantly higher than those of 12L: 12D, 15L: 9D, and 24L: 0D and it was also slightly higher than that of 9L: 15D. Difference of the proportion allocation of ingested energy through whole experimental periods appeared only in excretion energy. The highest and lowest excretion energy appeared in 15L: 9D and 12L: 12D respectively. Photoperiods showed significant effects on the 24 h oxygen consumption rate of fish and the highest and lowest oxygen consumption rates appeared in 15L: 9D and 24L: 0D respectively. The oxygen consumption rate ascended along with the light period extending from 1 h to 15 h and then descended along with the light period extending from 15 h to 24 h. The content of growth hormone and insulin-like growth factor I in plasma showed no significant difference among different treatments and showed no obviously fluctuating trend along with the extending of light period. The content of melatonin in plasma ascended along with the light period extending from 1 h to 12 h and then descended along with the light period extending from 12 h to 24 h. The content of melatonin of 12L: 12D was the lowest. But it was not significantly different from other treatments. The RNA/DNA ratio in muscle ascended along with the light period extending and the RNA/DNA ratios in 15L: 9D and 24L: 0D were significantly higher than that in 1L: 23D. The highest and lowest RNA/DNA ratios in liver appeared in 12L: 12D and 15L: 9D respectively. The results of the experiment indicated that photoperiod has significant effects on the feeding rate and feed conversion efficiency of the whole experimental period. But the feed conversion efficiency of the feeding declined treatment was increased because the oxygen consumption rate was decreased. Thus the photoperiods did not have significant effects on the growth of fish. Photoperiods have significant effects on the content of melatonin in plasma, and RNA/DNA ratio in muscle and liver, but the differences of these parameters show no significant correlation to the growth of fish.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; photoperiod; growth; melatonin; growth hormone

Corresponding author: HUANG Guoqiang. E-mail: hgqhugh@gmail.com