

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200724001

http://www.yykxjz.cn/

徐郑鑫, 张鹏飞, 陈四清, 边力, 常青, 王志达. 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼生长、生理指标及肝脏 *hsp70* 基因表达丰度的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(2): 55-62

Xu ZX, Zhang PF, Chen SQ, Bian L, Chang Q, Wang ZD. Effects of feeding frequency on the growth, physiology, and expression abundance of *hsp70* mRNA in juvenile *Thamnaconus septentrionalis*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(2): 55-62

# 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼生长、生理指标及 肝脏 *hsp70* 基因表达丰度的影响\*

徐郑鑫<sup>1#</sup> 张鹏飞<sup>2#</sup> 陈四清<sup>2,3</sup> 边力<sup>2</sup> 常青<sup>2①</sup> 王志达<sup>4</sup>

- (1. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院 连云港 222005; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;  
3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071;  
4. 青岛悦海湾海洋产业发展有限公司 青岛 266200)

**摘要** 为探究投喂频率对绿鳍马面鲈(*Thamnaconus septentrionalis*)幼鱼生长、生理指标及肝脏 *hsp70* 基因表达的影响,本研究设5个投喂频率,分别为1、2、3、4和5次/d(分别简称为F1、F2、F3、F4和F5),每个处理组设3个平行,每缸养殖30尾鱼[(6.47±0.56)g]。实验期间,水温为17℃~26℃,盐度为30~31,pH为6.8~7.6,溶解氧≥5 mg/L,养殖周期为30 d。结果表明,不同投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼的生长、体成分、消化酶和抗氧化酶活性均有影响。随着投喂频率的增加,绿鳍马面鲈幼鱼的摄食和生长均呈上升趋势,F5组数值最大,摄食率为3.95%,增重率为347.19%,特定生长率为5.07%/d,增重率为F1组的2倍多。F1组的肥满度为1.79,显著低于其他4组( $P<0.05$ );肝体比逐渐升高,F4和F5组的肝体比显著高于其他3组( $P<0.05$ )。增加投喂频率,鱼体的粗蛋白含量呈先升高后降低的趋势,F2组最高,为59.82%;粗脂肪含量呈逐渐升高的趋势,F5组最高,为31.23%。胰蛋白酶活性随投喂频率增加呈先降低后增加的趋势,F3组活性最低,为37.48 U/μg prot;脂肪酶活性逐渐升高,F5组最高,为2.67 U/g prot;淀粉酶活性不受投喂频率的影响( $P>0.05$ )。过氧化氢酶、超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量最高均在F5组,分别为14.71 U/mg prot、250.32 U/mg prot和2.73 nmol/mg。肝脏中 *hsp70* 基因的相对表达量不受投喂频率的影响( $P>0.05$ )。基于绿鳍马面鲈幼鱼的生长性能和生理效应的综合考虑,其最适投喂频率为3次/d。

**关键词** 投喂频率; 绿鳍马面鲈; 生长性能; 生理指标

**中图分类号** S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)02-0055-08

鱼类的生长受到许多方面的制约,包括饲料类型、投喂频率是一个非常因素,因鱼类自身种类、规格和饲料类型而异(Kubitza *et al*, 1999; Wang *et al*, 2019)。此外,投喂量、投喂频率等。其中,

\* 山东省重点研发计划项目(2019GHY112073)、中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费项目(20603022017014)和江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX19\_0996)共同资助 [This work was supported by Key Research and Development Program of Shandong Province, Department of Science & Technology of Shandong Province (2019GHY112073), Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS (20603022017014), and Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province (SJCX19\_0996)].

#共同第一作者: 徐郑鑫, E-mail: 879453952@qq.com; 张鹏飞, E-mail: 1573852630@qq.com

① 通讯作者: 常青, 研究员, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2020-07-24, 收修改稿日期: 2020-08-12

2007)。适宜的投喂频率,可提高鱼类饵料转化率,提高经济和生态效益,减少个体生长差异和水质污染。绿鳍马面鲈(*Thamnaconus septentrionalis*)在我国的四大海域均有分布(林新濯等,1984),主要生活在水深60~120 m处,为外海暖温性底层鱼类(秦忆芹,1981)。其肌肉富含牛磺酸、多不饱和脂肪酸(EPA、DHA),是营养价值极高的健康食品(徐大风等,2018)。在20世纪80年代前,绿鳍马面鲈在海洋中产量很高,仅次于带鱼(*Trichiurus lepturus*)(许学龙等,1992),但近些年来,由于过度捕捞,其种群密度不断减小,产量严重衰竭,迫切需要进行人工养殖。在绿鳍马面鲈人工育苗方面已获得新的突破,但尚未实现大规模的工厂化养殖。对绿鳍马面鲈幼鱼昼夜摄食节律及胃排空模型的研究发现,其最适投喂时间为每天的09:00~15:00(张鹏飞等,2020),但对其最适投喂频率还需进一步研究。本文通过研究不同投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼的生长性能、全鱼成分、消化酶、抗氧化酶活性及肝脏 *hsp70* 基因表达的影响,以确定其最适投喂频率,可节约养殖成本、提高生产效率、保护环境等。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

绿鳍马面鲈幼鱼购自银泽水产有限公司,养殖实验开展于青岛悦海湾海洋产业发展有限公司。养殖实验开始前,在有效容积为39.52 m<sup>3</sup>(长、宽、高分别为7.6、6.5、1.5 m)的水泥池中暂养2周,使鱼适应养殖环境,恢复体质。暂养期间,每天于06:00、12:00和18:00饱食投喂3次,所用饲料为进口新爱鱼仔商品饲料(为沉性颗粒饲料,粗蛋白49.86%,粗脂肪9.68%,灰分12.65%,水分8.32%)。养殖用水经砂滤池沉淀后,再经蛋白分离器过滤后使用。

### 1.2 实验设计和饲养管理

实验设计5个处理组,分别为F1(12:00)、F2(09:00和15:00)、F3(06:00、12:00和18:00)、F4(06:00、09:00、12:00和15:00)、F5(06:00、09:00、12:00、15:00和18:00),每个处理组设3个重复。选择规格整齐、表观健康的450尾鱼[平均体重为(6.47±0.56)g]随机分配到15个桶中(有效容积为400 L),每个桶30尾鱼,使用流水养殖的方式进行养殖。实验鱼采用表观饱食投喂法,每天吸污1次,换水1次,周期为30 d,期间白天采用自然光照,傍晚18:00投喂时开启白炽灯照明,喂完后熄灯。水温为17℃~26℃,盐度为30~31,pH为6.8~7.6,溶解氧≥5 mg/L。

### 1.3 样品制备和分析方法

在养殖实验结束后,将实验鱼饥饿1 d,记录各桶中鱼的重量和数量,计算特定生长率、饲料效率等指标。每桶取3尾鱼用来检测全鱼营养成分。然后再从每个实验桶中随机捞出3尾绿鳍马面鲈幼鱼,用MS-222进行深度麻醉,称重后放在托盘上用尺子测量体长,求肥满度。随后从肛门处剖开腹部,取肝脏和内脏(不包含肝脏),分别称重,求肝体比和脏体比。而后将全肠放入冻存管中,取部分肝脏,分别放入两个冻存管中,-80℃保存,肠道用于测定消化酶活性,肝脏测定抗氧化酶活性和 *hsp70* 基因的表达。

全鱼样品中水分、粗蛋白和粗脂肪含量分别采用烘箱干燥法(105℃)、凯氏定氮仪法和索氏抽提法测定。蛋白定量、消化酶和抗氧化酶活性采用南京建成生物工程研究所生产的相应试剂盒测定。

肝脏中 *hsp70* 基因表达量的测定根据 Vazyme RNA-easy<sup>TM</sup> Isolation Reagent 试剂盒说明书提取绿鳍马面鲈肝脏的总RNA,通过电泳检测RNA的完整性,Thermo Fisher NanoDrop 测定RNA的浓度。使用 TaKaRa Prime Script<sup>TM</sup> 1<sup>st</sup> strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒将RNA反转录成cDNA,并置于-20℃保存。根据NCBI查找绿鳍马面鲈 *hsp70* 基因全长序列,采用Primer Premier 5.0设计特异性引物,扩增片段长度为100~180 bp之间(表1),所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

$\beta$ -actin 和 *hsp70* 基因丰度表达量采用7500实时定量PCR系统(Applied Biosystems,美国)进行qPCR反应。反应程序:95℃,2 min;95℃,10 s;60℃,30 s,共40个循环;熔解曲线:95℃,15 s;60℃,60 s;95℃,15 s。反应结束后,确认熔解曲线是否单一,并做标准曲线,计算引物的扩增效率是否在90%~110%, $r^2$ 在0.95~1之间。qPCR的结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算。

表1 实时定量PCR引物

引物 Primer	序列 Sequence(5'~3')	片段大小 Fragment size(bp)
$\beta$ -actinF	CGGAATCCACGAGACCACCTAC	139
$\beta$ -actinR	TGCATCCTGTCGCGCATGC	
<i>hsp70</i> F	CAACCCTGATGAAGCTGTG	170
<i>hsp70</i> R	TGGTGGTGTTCGGTTTGAT	

### 1.4 计算公式

$$\text{摄食率(FIR, \%)} = 100 \times F_T / [(W_F + W_I) / 2]$$

$$\text{增重率(WG, \%)} = 100 \times (W_F - W_I) / W_I$$

$$\text{特定生长率(SGR, \% / d)} = 100 \times [\ln W_F - \ln W_I] / T_D$$

饲料效率(FCR, %) =  $100 \times W_Z/F_T$

肥满度(CF) =  $100 \times W_F/L^3$

肝体指数(HIS, %) =  $100 \times W_H/W_F$

脏体指数(VSI, %) =  $100 \times W_V/W_F$

$W_F$  为实验鱼结束时的重量,  $W_I$  为实验鱼初始重量,  $T_D$  为实验天数,  $L$  为实验结束时鱼体的体长,  $W_H$  为鱼体的肝脏重量,  $W_V$  为鱼体的内脏重量,  $W_Z$  为鱼体总增重量,  $F_T$  为总投饲量。

### 1.5 数据处理与统计分析

实验数据采用 Excel 2016 分析, SPSS 20.0 进行单因素方差(One-way ANOVA)分析, 邓肯多重比较,  $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼生长性能和饲料利用的影响

不同投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼摄食率、增重率、特定生长率和饲料效率的影响见表 2。在投喂频率不断增加的情况下, 绿鳍马面鲈幼鱼的摄食率、增重率和特定生长率都呈现出上升的趋势。F4 和 F5 组之间在摄食率、增重率和特定生长率指标上均不存在显著性差异( $P > 0.05$ )。在饲料效率方面, F1 组的饲料效率显著高于其他 4 组( $P < 0.05$ ), 其他 4 组之间差异不显著( $P > 0.05$ )。

表 2 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼生长性能和饲料利用的影响(平均值±标准误)

Tab.2 Effects of feeding frequency on growth performance and feed utilization of *T. septentrionalis* juvenile (Mean±SE)

组别 Group	摄食率 FIR(%)	增重率 WG(%)	特定生长率 SGR(%/d)	饲料效率 FCR(%)
F1	2.41±0.02 <sup>a</sup>	138.94±5.27 <sup>a</sup>	2.85±0.04 <sup>a</sup>	113.06±2.91 <sup>b</sup>
F2	2.99±0.04 <sup>b</sup>	179.30±12.92 <sup>b</sup>	3.46±0.10 <sup>b</sup>	105.26±1.12 <sup>a</sup>
F3	3.58±0.04 <sup>c</sup>	266.50±10.75 <sup>c</sup>	4.52±0.04 <sup>cd</sup>	106.32±1.45 <sup>a</sup>
F4	3.82±0.12 <sup>d</sup>	323.56±16.04 <sup>d</sup>	4.81±0.21 <sup>de</sup>	107.68±0.81 <sup>a</sup>
F5	3.95±0.02 <sup>d</sup>	347.19±10.98 <sup>d</sup>	5.07±0.07 <sup>e</sup>	107.09±1.85 <sup>a</sup>

注: 同一列数值上标英文字母不同, 表示组间有显著差异( $P < 0.05$ ), 下表同

Note: The values in the same column with different superscript indicate significant differences between groups ( $P < 0.05$ ). The same as below

### 2.2 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼形态指标的影响

不同投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼形态的影响见表 3。结果显示, 在肥满度方面, F1 组显著低于其他 4 组( $P < 0.05$ ), 而其他 4 组之间没有显著性差异( $P > 0.05$ )。

在肝体比方面, F4 和 F5 组之间无显著性差异( $P > 0.05$ ), 且显著高于其他 3 组( $P < 0.05$ )。脏体比不受投喂频率的影响( $P > 0.05$ )。

表 3 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼形体指标的影响

Tab.3 Effects of feeding frequency on body indices of *T. septentrionalis* juvenile

组别 Group	肥满度 CF	肝体比 HSI(%)	脏体比 VSI(%)
F1	1.79±0.5 <sup>a</sup>	8.87±0.29 <sup>a</sup>	14.57±0.29
F2	2.14±0.37 <sup>b</sup>	8.94±0.29 <sup>a</sup>	14.81±0.29
F3	2.05±0.69 <sup>b</sup>	9.71±0.29 <sup>a</sup>	14.87±0.29
F4	1.98±0.35 <sup>b</sup>	9.97±0.52 <sup>b</sup>	15.37±0.52
F5	2.06±0.16 <sup>b</sup>	10.65±0.12 <sup>b</sup>	14.97±0.12

### 2.3 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼体成分的影响

投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼体成分的影响见表 4。结果显示, 随着投喂频率的增加, 鱼体粗蛋白在 F1、F2 和 F3 组之间无显著性差异, F4 和 F5 组显著低于其他 3 组( $P < 0.05$ )。粗脂肪含量随着投喂频率的增加而增加, 而水分含量无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表 4 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼体成分的影响

Tab.4 Effects of feeding frequency on composition of whole-body of *T. septentrionalis* juvenile

组别 Group	粗蛋白 Crude protein (% dry weight)	粗脂肪 Crude lipid (% dry weight)	水分 Moisture(%)
F1	58.53±0.16 <sup>bc</sup>	26.38±0.30 <sup>a</sup>	75.90±0.02
F2	59.82±0.66 <sup>c</sup>	26.30±0.41 <sup>a</sup>	75.66±0.85
F3	58.64±0.83 <sup>bc</sup>	28.94±0.68 <sup>bc</sup>	74.92±0.55
F4	56.90±0.40 <sup>ab</sup>	30.01±0.18 <sup>bc</sup>	74.19±0.38
F5	55.89±1.18 <sup>a</sup>	31.23±0.76 <sup>c</sup>	73.54±0.20

### 2.4 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼消化酶的影响

投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼消化酶的影响见表 5。从表 5 可以看出, 当投喂频率不断增加, 肠道胰蛋白酶呈先下降后上升的趋势, 脂肪酶活性呈上升趋势, 而淀粉酶活性无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表 5 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼消化酶活性的影响

Tab.5 Effects of feeding frequency on digestive enzyme activity of *T. septentrionalis* juvenile

组别 Group	胰蛋白酶 Trypsin (U/μg prot)	脂肪酶 Lipase (U/g prot)	淀粉酶 Amylase (U/mg prot)
F1	47.03±0.77 <sup>c</sup>	1.89±0.38 <sup>a</sup>	3.51±0.28
F2	42.64±0.41 <sup>b</sup>	2.11±0.35 <sup>ab</sup>	3.95±0.45
F3	37.48±1.48 <sup>a</sup>	2.28±0.38 <sup>ab</sup>	3.84±0.50
F4	41.17±0.96 <sup>c</sup>	2.63±0.16 <sup>b</sup>	4.61±0.41
F5	46.87±0.51 <sup>c</sup>	2.67±0.34 <sup>b</sup>	4.01±0.85

## 2.5 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响

投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响见表6。当投喂频率不断增加,肝脏过氧化氢酶无显著变化( $P>0.05$ );超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量在F5组最高,在F3组最低。

表6 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响  
Tab.6 Effects of feeding frequency on liver antioxidant enzyme activity of *T. septentrionalis* juvenile

组别 Group	过氧化氢酶 (U/mg prot)	超氧化物歧化酶 SOD(U/mg prot)	丙二醛 MDA (nmol/mg)
F1	14.49±1.71	218.87±1.48 <sup>ab</sup>	1.93±0.04 <sup>a</sup>
F2	12.06±1.59	204.65±4.53 <sup>a</sup>	2.01±0.04 <sup>a</sup>
F3	14.36±1.61	202.38±4.94 <sup>a</sup>	1.91±0.09 <sup>a</sup>
F4	13.48±0.48	229.77±7.50 <sup>bc</sup>	2.42±0.14 <sup>b</sup>
F5	14.71±0.16	250.32±9.44 <sup>c</sup>	2.73±0.09 <sup>b</sup>

## 2.6 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏中 *hsp70* 基因表达的影响

由图1可知,绿鳍马面鲈幼鱼肝脏中 *hsp70* 基因相对表达量在各组之间差异不显著。

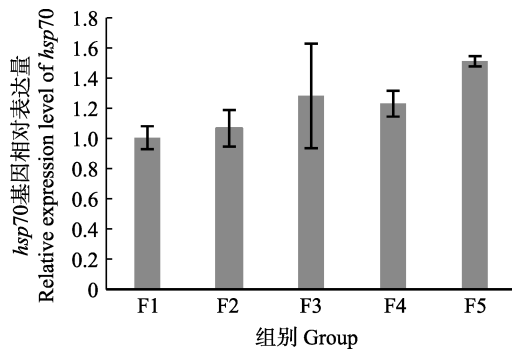


图1 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏中 *hsp70* 基因表达的影响

Fig.1 The effect of feeding frequency on expressions of *hsp70* in liver of *T. septentrionalis* juvenile

## 3 讨论

### 3.1 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼生长性能和饲料利用的影响

在一定程度上,提高投喂频率能提高鱼类的生长性能,缩短养殖周期,但超过一定的范围,再增加投喂频率,不会促进鱼类的生长性能,反而对鱼肉的品质有不利的影响(周志刚等,2003)。适宜的投喂频率与鱼种类和规格均有关系。谢苏明等(2020)研究发

现,大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)在0~60 d时,投喂频率从2次/d增加到4次/d,鱼体增重率无显著性差异,而在60~120 d时,随着投喂频率次数的增加,鱼体增重率呈逐渐减小的趋势。邱婷婷等(2019)研究发现,当投喂频率从0.5次/d增加到3次/d时,杂交鲂(*Megalobrama terminalis* Richardson ♀ × *Erythroculter ilishaeformis* ♂)增重量显著上升,而从3次/d增加到4次/d时,鱼体增重率、摄食率和饲料系数都没有显著性变化。这与本研究结果相似,当投喂频率从1次/d提高到3次/d时,绿鳍马面鲈幼鱼的摄食率、增重率和特定生长率呈现显著性升高,但从4次/d增加到5次/d时,摄食率、增重率、特定生长率和饲料效率均无显著性变化。究其原因可归结为以下两个方面:一是投喂间隔过短会导致肠胃负担过重,排空速度加快,饲料未经完全消化就排出体外,影响营养物质的吸收(Dwyer *et al.*, 2002);二是鱼类过多的摄食行为会消耗部分能量,从而影响生长速度。

研究发现,因鱼的种类和规格的不同,投喂频率与饲料效率之间呈现出不同的关系。有些鱼类如大西洋鳕(*Hippoglossus hippoglossus*)(Schnaittacher *et al.*, 2005)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)(鲍积月等,2019)等,随着投喂频率的增加,摄食率增加,饲料效率不受影响。有些鱼类如异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)(Zhao *et al.*, 2016)、卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)(Wu *et al.*, 2015)等,随着投喂频率的增加,摄食率和饲料效率也会增加。而有些鱼类,如大吻鲈(*Dicentrarchus labrax*)(Tsevis *et al.*, 1992)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)(孙瑞健等,2013),随投喂频率的增加,摄食率增加,饲料效率会降低。这与本研究结果有相似之处,F1组饲料效率显著高于其他4组,而其他4组之间没有显著性差异。

### 3.2 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼形体指标和体成分的影响

形体指标是评价鱼体能量状态的重要参数,随着摄食量的增加,鱼类获得更多的能量,一部分过剩的能量将蓄积在内脏中,使鱼体的肝体比和脏体比上升。对大杂交鲟(*Huso dauricus* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂)(褚志鹏等,2020)和花鲈(*Lateolabrax maculatus*)(王伟等,2018)的研究发现,投喂频率与鱼类的肝体比和脏体比呈正比关系。这和本研究结果有些许不同,绿鳍马面鲈幼鱼仅肝体比随投喂频率的增加出现显著性差异,而脏体比与投喂频率无关,这与子二代中华鲟(*Acipenser sinensis*)的结果相同(管敏等,2019)。当投喂频率不断升高时,许氏平鲷(*Sebastes schlegelii*)

幼鱼(冒树泉等, 2014)肝体比和脏体比呈现降低的趋势, 这可能与鱼种和饲料等有关。

鱼体营养成分决定了鱼肉的品质, 而鱼体的营养成分由品种、生长阶段等内源性因子和食物营养、投喂策略等外源性因子共同决定。不同的投喂频率对鱼体营养成分的影响不一。一般认为, 投喂频率的增加会促进鱼类摄食量, 而过剩的营养物质转化为脂肪储存在鱼体内, 从而导致鱼体脂肪含量上升, 水分含量下降。对杂交魮(邱婷婷等, 2019)、花鲈(王伟等, 2018)和牙鲆(Lee *et al*, 2010)研究发现, 随着投喂频率的增加, 粗脂肪含量逐渐增加, 水分含量逐渐减少。本研究则发现, 投喂频率的增加使绿鳍马面鲈幼鱼粗脂肪含量升高, 粗蛋白含量下降, 水分含量则无显著性变化。这与冒树泉等(2014)对许氏平鲉幼鱼的研究结果相一致。可能是由于投喂频率的不断增加, 绿鳍马面鲈可以获得更多的食物, 未被利用的能量转化成脂肪, 在机体中储存下来, 从而导致水分含量不变, 粗脂肪含量上升, 粗蛋白含量下降; 也可能是受到种类、环境、规格等因素影响, 具体原因还需要进一步研究。

### 3.3 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼消化酶和肝脏抗氧化酶活性的影响

鱼类消化酶主要指蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶, 这些酶的活性反映了鱼类对饲料营养物质的消化吸收能力(李希国等, 2005)。本研究发现, 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼消化酶活性有显著影响, 随着投喂频率的增加, 幼鱼肠道中胰蛋白酶活力呈先降低后升高的趋势。这与黄斑篮子(*Siganus oramin*)幼鱼(杨育凯等, 2020)、灰海马(*Hippocampus erectus*)(席寅峰等, 2013)等的结果一致。推测原因可能是由于投喂频率低, 导致摄食量不足, 机体需要产生大量的胰蛋白酶, 充分吸收利用营养物质, 这可能也是 1 次/d 组的饲料效率较高的原因; 当摄食量增加后, 机体只需要产生少量消化酶即可消化所需营养物质; 而当摄食量过多后, 食物对其机体产生一定的负担, 需要提高胰蛋白酶来充分利用营养物质。脂肪酶活性随着投喂频率的增加而增加, 这正好印证了全鱼营养成分中粗脂肪含量不断上升的趋势, 表明绿鳍马面鲈可能对脂肪有较好的利用能力。

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内一种重要的抗氧化酶, 能够催化超氧阴离子自由基( $\cdot\text{O}_2^-$ )歧化生成过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )和氧( $\text{O}_2$ ), 再由过氧化氢酶(CAT)把生成的过氧化氢转化成对机体无害的水和氧气, 共同保护机体免受损伤, 其酶活性的变化可以反映机体的免疫水平(饶玉才等, 2009)。丙二醛(MDA)是一种衡量自

由基与抗氧化系统平衡的指标, 当机体过氧化时, 丙二醛含量不断增加, 加速组织和细胞的损伤。对大西洋鲑(*Salmo salar*)的研究发现, 投喂频率在 1 次/3 d~1 次/1 d 时, 肝脏中丙二醛、超氧化物歧化酶和总抗氧化能力的差异不显著(刘淑兰等, 2019)。这与本研究结果相似, 投喂频率在 1~3 次/d 时, 超氧化物歧化酶和丙二醛的活性差异均不显著, 表明机体处于健康状态; 但投喂频率由 3 次/d 增加到 5 次/d 时, 超氧化物歧化酶和丙二醛均显著上升, 表明此时机体受到了胁迫。

### 3.4 投喂频率对绿鳍马面鲈幼鱼肝脏中 *hsp70* 基因表达的影响

*hsp70* 是热休克蛋白(Heat Shock Proteins, HSPs)家族中最为重要的一员。细胞在热休克、缺氧、低温、营养缺乏等应激条件下, 也能生成 HSPs, 因此, 也称为应激蛋白。*hsp70* 基因在硬骨鱼类的肝脏中具有高表达量, 如草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)(林亚秋等, 2009)、淞江鲈(*Trachidermus fasciatus*)(刘庆全, 2013)、达氏鳇(*Huso dauricus*)(Peng *et al*, 2016)和杂交黄颡鱼(黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* ♀×瓦氏黄颡鱼 *Pelteobagrus vachelli* ♂)(朱凌威等, 2020)。这可能是因为在动物的消化、代谢、免疫和体内环境调节等方面都起到了十分重要的作用。朱凌威等(2020)研究发现, 水温从 20℃ 升高至 28℃ 时, 杂交黄颡鱼的肝脏、鳃、脑和肌肉中 *hsp70* 基因表达量显著上升。刘伟(2018)研究发现, 吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)在养殖 10 d 时, 不同的投喂频率对肝脏中 *hsp70* 基因表达均有显著影响, 而在 20、30、40 d 时, 则无显著影响。本研究中, 随着投喂频率的增加, 鱼体肝脏中 *hsp70* 基因表达量无显著差异( $P>0.05$ ), 但 F3、F4 和 F5 组高于 F1 和 F2 组。可能原因有两个: 一是取样时水温过低, 导致 *hsp70* 基因表达量整体下降, 进而导致各组之间差异不显著; 二是随着养殖天数的增加, 鱼体抗应激能力也相应增加。具体原因还需要进一步探究。

## 4 结论

综上所述, 养殖周期为 30 d, 投喂频率对初始体重为(6.47±0.56)g 的绿鳍马面鲈幼鱼在生长、形体、体成分、消化酶和抗氧化酶活性方面均有影响。考虑生长和形体, 投喂频率为 4~5 次/d 最好; 而考虑体成分和抗氧化酶活性, 3 次/d 最好。综合考虑绿鳍马面鲈幼鱼的生长、健康、生态效益和经济效益, 建议其幼鱼投喂频率为 3 次/d。

## 参 考 文 献

- Bao ZY, Wu LX, Chen J, *et al.* Effects of different feeding frequencies on growth and energy budget of *Paralichthys olivaceus*. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2019(3): 198–200 [鲍积月, 吴立新, 陈晶, 等. 不同投喂频率对牙鲈生长及能量收支的影响. *现代农业科技*, 2019(3): 198–200]
- Chu ZP, Jin JL, Chen XH, *et al.* Effects of different feeding rates and frequencies on the growth performance, body composition, and biochemical parameters of juvenile hybrid sturgeon. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(2): 177–185 [褚志鹏, 金佳利, 陈细华, 等. 不同投喂率和投喂频率对大杂交鲟幼鱼生长、体成分和生化指标的影响. *中国水产科学*, 2020, 27(2): 177–185]
- Dwyer KS, Brown JA, Parrish C, *et al.* Feeding frequency affects food consumption, feeding pattern and growth of juvenile yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*). *Aquaculture*, 2002, 213(1–4): 279–292
- Guan M, Zhang DZ, Rao J. *et al.* Effects of satiation feeding frequency on growth and gastrointestinal evacuation characteristic of juvenile F<sub>2</sub> Chinese sturgeon. *Freshwater Fisheries*, 2019, 49(4): 90–97 [管敏, 张德志, 饶军, 等. 饱食投喂频率对子二代中华鲟稚鱼生长及胃肠排空的影响. *淡水渔业*, 2019, 49(4): 90–97]
- Kubitza F, Lovshin LL. Formulated diets, feeding strategies, and cannibalism control during intensive culture of juvenile carnivorous fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 1999, 7(1): 1–22
- Lee SM, Pham MA. Effects of feeding frequency and feed type on the growth, feed utilization and body composition of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Research*, 2010, 41(9): 166–171
- Li XG, Li JR, Ou YJ, Comparative studies on the digestive enzymes activity in different parts of the alimentary canal in Yellowfin black porgy *Sparus latus* Houttuyn. *Marine Fisheries Research*, 2005, 26(5): 36–40 [李希国, 李加儿, 区又君. 黄鳍鲷主要消化酶活性在消化道不同部位的比较研究. *海洋水产研究*, 2005, 26(5): 36–40]
- Lin XZ, Gan JB, Zheng YJ, *et al.* Study on the migration and distribution of *Navodon septentrionalis*. *Marine Fisheries*, 1984(3): 99–108 [林新濯, 甘金宝, 郑元甲, 等. 绿鳍马面鲈洄游分布的研究. *海洋渔业*, 1984(3): 99–108]
- Lin YQ, Zheng YC, Ji H, Cloning of HSP70 partial cDNA sequence and its tissue differential expression in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Freshwater Fisheries*, 2009, 39(4): 67–71 [林亚秋, 郑玉才, 吉红. 草鱼 HSP70 基因 cDNA 部分序列克隆及其组织表达差异. *淡水渔业*, 2009, 39(4): 67–71]
- Liu QQ. A preliminary study of roughskin sculpin (*Trachideraus fasciatus* Heckel) HSP70 sequence cloning and expression. Master's Thesis of Fudan University, 2013 [刘庆全. 淞江鲈 (*Trachidermus fasciatus* Heckel) HSP70 全序列的克隆及其表达的初步研究. 复旦大学硕士研究生学位论文, 2013]
- Liu SL, Sun GX, Li J, *et al.* Effects of feeding frequency on growth and some physiological indices in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Fisheries Science*, 2019, 38(3): 341–346 [刘淑兰, 孙国祥, 李杰, 等. 投喂频率对大西洋鲑生长和生理指标的影响. *水产科学*, 2019, 38(3): 341–346]
- Liu W. Effects of dietary protein level and feeding strategy on growth and health of genetically improved farmed tilapia, *Oreochromis niloticus*. Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2018 [刘伟. 饲料蛋白质水平与投喂策略对吉富罗非鱼生长和健康的影响研究. 华中农业大学博士研究生学位论文, 2018]
- Mao SQ, Zou MY, Wang CS, *et al.* Optimal feeding frequency for *Sebastes schlegeli* juveniles. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(8): 2379–2385 [冒树泉, 邹明好, 王春生, 等. 许氏平鲈幼鱼适宜投喂频率的研究. *动物营养学报*, 2014, 26(8): 2379–2385]
- Peng G, Zhao W, Shi Z, *et al.* Cloning HSP70 and HSP90 genes of kaluga (*Huso dauricus*) and the effects of temperature and salinity stress on their gene expression. *Cell Stress & Chaperones*, 2016, 21(2): 349–359
- Qin YQ. Study on the feeding habits of *Thamnaconus septentrionalis* in the East China Sea. *Journal of Fisheries of China*, 1981(3): 245–251 [秦忆芹. 东海外海绿鳍马面鲈摄食习性的研究. *水产学报*, 1981(3): 245–251]
- Qiu TT, Wang XJ, Ma HJ, *et al.* Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, digestive enzyme activity and body composition of hybrid bream. *Hubei Agricultural Sciences*, 2019, 58(8): 105–109 [邱婷婷, 王秀娟, 马恒甲, 等. 投喂频率对杂交鲢生长、饲料利用、消化酶活性及鱼体生化组成的影响. *湖北农业科学*, 2019, 58(8): 105–109]
- Rao YC, Hu BQ, Wen CG. The changes of five immune enzymes from *Anodonta woodiana* infected with *Aeromonas Hydrophila*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(3): 406–412 [饶玉才, 胡宝庆, 文春根. 嗜水气单胞菌感染对背角无齿蚌 5 种免疫相关酶活性的影响. *水生生物学报*, 2009, 33(3): 406–412]
- Schnaittacher G, King W, Berlinsky DL. The effects of feeding frequency on growth of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture Research*, 2005, 36(4): 370–377
- Sun RJ, Zhang WB, Xu W, *et al.* Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croakers, *Pseudosciaena crocer* R. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(2): 281–289 [孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响. *水生生物学报*, 2013, 37(2): 281–289]
- Tsevis N, Klaufodatos S, Conides A. Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns. *Aquaculture*, 1992, 101(3–4): 293–304

- Wang W, Zhang KQ, Wen HS, *et al.* Effects of feeding frequency on gastric evacuation, growth performance and body composition of juvenile *Lateolabrax maculatus*. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(6): 55–62 [王伟, 张凯强, 温海深, 等. 投喂频率对花鲈幼鱼胃排空、生长性能和体组分的影响. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2018, 48(6): 55–62]
- Wang Y, Kong LJ, Li K, *et al.* Effects of feeding frequency and ration level on growth, feed utilization and nitrogen waste output of cuneate drum (*Nibea miichthioides*) reared in net pens. *Aquaculture*, 2007, 271(1): 350–356
- Wu Y, Han H, Qin J, *et al.* Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, body composition and waste output of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) reared in net pens. *Aquaculture Research*, 2015, 46(6): 1436–1443
- Xi YF, Zhang D, Shi ZH. Effects of feeding frequency on the growth, food efficiency and digestive enzyme activity of *Hippocampus erectus* after sex differentiation. *Marine Fisheries*, 2013, 35(1): 77–85 [席寅峰, 张东, 施兆鸿. 投喂频率对雌雄分化后灰海马生长发育、饵料转换效率及消化酶活力的影响. *海洋渔业*, 2013, 35(1): 77–85]
- Xie SM, Wang YY, Nie ZJ, *et al.* Effects of feeding frequency on the growth, physiology and expression abundance of IGF-I and GH mRNA in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) reared in in-pond raceway culture systems. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(4): 363–374 [谢苏明, 王裕玉, 聂志娟, 等. 投喂频率对池塘工程化循环水养殖大口黑鲈生长、生理及肝脏 GH、IGF-I 基因表达丰度的影响. *中国水产科学*, 2020, 27(4): 363–374]
- Xu DF, Liu K, Wang PF, *et al.* Analysis of nutritional composition in the muscle of *Thamnaconus septentrionalis*. *Marine Sciences*, 2018, 42(5): 122–129 [徐大风, 刘琨, 王鹏飞, 等. 绿鳍马面鲈肌肉营养成分分析和营养评价. *海洋科学*, 2018, 42(5): 122–129]
- Xu XL, Zheng YJ, Liu S. Resource assessment of *Thamnaconus septentrionalis* in the East and Yellow Seas. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1992, 23(6): 651–656 [许学龙, 郑元甲, 刘松. 东、黄海绿鳍马面鲈的资源评估. *海洋与湖沼*, 1992, 23(6): 651–656]
- Yang YK, Huang XL, Lin HZ, *et al.* Optimal feeding frequency for juvenile *Siganus oramin*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(4): 1809–1816 [杨育凯, 黄小林, 林黑着, 等. 黄斑篮子鱼幼鱼适宜投喂频率的研究. *动物营养学报*, 2020, 32(4): 1809–1816]
- Zhang PF, Chang Q, Chen SQ, *et al.* Diet feeding rhythm and analysis of gastric evacuation associated mathematical models in juvenile *Thamnaconus septentrionalis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(1): 104–111 [张鹏飞, 常青, 陈四清, 等. 绿鳍马面鲈幼鱼昼夜摄食节律及胃排空模型研究. *渔业科学进展*, 2020, 41(1): 104–111]
- Zhao S, Han D, Zhu X, *et al.* Effects of feeding frequency and dietary protein levels on juvenile allogynogenetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) var. CAS III: Growth, feed utilization and serum free essential amino acids dynamics. *Aquaculture Research*, 2016, 47(1): 290–303
- Zhou ZG, Jie SQ, Cui YB. Research on fish feeding system. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2003(5): 15–17 [周志刚, 解绥启, 崔奕波. 鱼类投喂系统的研究. *中国畜牧兽医*, 2003(5): 15–17]
- Zhu LW, Zhang CY, Liu Z, *et al.* Cloning, expression of *hsp70* core cDNA and the effects of heat stress on its tissue expression in *Pelteobagrus fulvidraco* ♀ × *P. vachelli* ♂. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(1): 47–55 [朱凌威, 张朝阳, 刘钊, 等. 杂交黄颡鱼 *hsp70* 基因核心序列的克隆、表达及其在高温应激下的组织表达. *渔业科学进展*, 2021, 42(1): 47–55]

(编辑 冯小花)

## Effects of Feeding Frequency on the Growth, Physiology, and Expression Abundance of *hsp70* mRNA in Juvenile *Thamnaconus septentrionalis*

XU Zhengxin<sup>1#</sup>, ZHANG Pengfei<sup>2#</sup>, CHEN Siqing<sup>2,3</sup>, BIAN Li<sup>2</sup>, CHANG Qing<sup>2①</sup>, WANG Zhida<sup>4</sup>

(1. College of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

3. Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071; 4. Qingdao Yuehaiwan Marine Industry Development Co., Ltd., Qingdao 266200)

**Abstract** The effects of five different feeding frequencies on the growth performance, physiological index, and hepatic heat shock protein 70 (*hsp70*) gene expression levels of juvenile *Thamnaconus septentrionalis* [body weight of (6.47±0.56) g] were studied. The experiment design included 5 feeding frequencies, namely 1, 2, 3, 4, and 5 times/d (referred to as F1, F2, F3, F4, and F5 respectively), and each treatment group was designed with 3 parallels, and each tank was cultured 30 fish. The experimental period was 30 days and water temperature range was 17°C~26°C, the salinity was 30~31, the pH was 6.8~7.6, and the dissolved oxygen was  $\geq 5$  mg/L. Results showed that under different feeding frequency conditions, the growth, body composition, digestive enzymes, and antioxidant enzyme activities of the juvenile *T. septentrionalis* were affected. With the increase in feeding frequency, the feeding and growth of *T. septentrionalis* showed an upward trend. The F5 group had the largest value, with a feeding rate of 3.95%, a weight gain rate of 347.19%, a specific growth rate of 5.07%/d. The weight gain rate of the F5 group exceeded twice the value of the F1 group. The condition factor of the F1 group was 1.79, which was significantly lower than that of the other four groups ( $P<0.05$ ). The hepatosomatic index gradually increased, and the F4 and F5 groups exhibiting significantly higher values than the other three groups ( $P<0.05$ ). With an increase in the feeding frequency, the crude protein content of the experimental fish showed a trend of first increasing and then decreasing: F2 showed the highest crude protein content of 59.82%, and the crude lipid content showed a gradually increasing trend: F5 was the highest with a crude lipid content of 31.23%. Trypsin activity showed a trend of first decreasing and then increasing with the increase in feeding frequency. The F3 group had the lowest activity of 37.48 U/ $\mu$ g prot; lipase activity gradually increased, and the F5 group showed the highest activity of 2.67 U/g prot; amylase activity was not affected by the feeding frequency ( $P>0.05$ ). Catalase activity, superoxide dismutase activity, and the content of malondialdehyde were the highest in the F5 group, at 14.71 U/mg prot, 250.32 U/mg prot, and 2.73 nmol/mg, respectively. The relative expression levels of the *hsp70* gene in the liver was not affected by the feeding frequency ( $P>0.05$ ). Based the findings of this study and the comprehensive consideration of the growth performance and physiological indices of *Thamnaconus septentrionalis*, the optimal feeding frequency for this species was determined to be 3 times/d.

**Key words** Feeding frequency; *Thamnaconus septentrionalis*; Growth performance; Physiological index

① Corresponding author: CHANG Qing, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn