

# 周期性断食对皱纹盘鲍 生长、摄食、排粪和血细胞组成的影响

任黎华<sup>1,2</sup> 张继红<sup>1\*</sup> 王文琪<sup>2</sup> 杜美荣<sup>1</sup>  
张明亮<sup>1</sup> 高亚平<sup>1</sup> 吴桃<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup>青岛农业大学动物科技学院, 266109)

**摘 要** 对壳长为 65 mm 的皱纹盘鲍进行投喂 2 d、饥饿 1~4 d 的周期性断食处理, 连续投喂组作为对照。皱纹盘鲍的摄食、生长、排粪和血细胞组成的研究表明, 当投喂 2 d, 饥饿天数少于 2 d 时, 皱纹盘鲍的生长没有显著差异 ( $P > 0.05$ ), 饥饿天数多于 3 d, 鲍体重开始下降; 摄食率呈随解饿时间增加呈升高趋势, 但实验组间无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 排粪率与粪便中的有机物含量随饥饿时间增长而降低, 其中, 各处理阶段间的差异显著 ( $P < 0.05$ )。血细胞中颗粒细胞的比例在饥饿少于 2 d 的实验组间无差异, 但显著高于投喂 2 d、饥饿 3 d 的实验组与投喂 2 d、饥饿 4 d 的实验组 ( $P < 0.05$ )。

**关键词** 皱纹盘鲍 周期性断食 生长 摄食 排粪 血细胞组成

**中图分类号** S968.315 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)02-0086-06

## Effect of periodic starvation on growth, feeding, defecation and granulocyte of Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino

REN Li-hua<sup>1,2</sup> ZHANG Ji-hong<sup>1\*</sup> WANG Wen-qi<sup>2</sup> DU Mei-rong<sup>1</sup>  
ZHANG Ming-liang<sup>1</sup> GAO Ya-ping<sup>1</sup> WU Tao<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266701)

(<sup>2</sup>College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, 266109)

**ABSTRACT** Aquaculture of abalone was limited in northern China by the lack of fresh food in summer. For a new feeding method, the Pacific abalone *Haliotis discus hannai* Ino at shell length of 65mm were treated with periodic starvation, *i. e.* feeding for 2d, then starving for 1~4d, with continuous feeding treatment as control. Results of growth, feeding, defecation and granulocyte suggested that there was no significant difference in growth when starvation was less than 2d ( $P > 0.05$ ), while body weight dropped in other groups (more than 3d starvation).

国家自然科学基金课题(40876087)、国家支撑计划课题(2011BAD13B06;2008BAD95B11)和冰冻对浅海贝类养殖的影响(YJ2010-02)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: zhangjh@ysfri.ac.cn

收稿日期:2011-03-31;接受日期:2011-05-25

作者简介:任黎华(1987-),男,硕士研究生,主要从事养殖生态研究。E-mail: renlihua5@163.com

Food intake rate increased as starvation lasted, but there was no significant difference between each group ( $P>0.05$ ). Fecal production rate and organic matter in feces decreased with prolonged starvation, and it was significantly different during each treatment stage ( $P<0.05$ ); Ratio of granulocyte showed no difference in treatments of starvation less than 2d, and significantly higher for group of starvation less than 2d than groups of f2s3 and f2s4 ( $P<0.05$ ).

**KEY WORDS** *Haliotis discus hannai* Ino Periodic starvation Growth  
Feeding Defecation Granulocyte ratio

皱纹盘鲍在我国北方的养殖发展,受到海带生长周期的限制。在我国北方海域,海带的养殖周期通常是每年11月至次年的6月。在7~10月期间,作为鲍主要饵料的新鲜海带极为匮乏。泡发的盐渍海带常在高温季节作为皱纹盘鲍的补充饵料,由于水温高,易腐烂,不能长时间积存于鲍养殖笼中。投饵和清理残饵的频率增加,不仅增加了劳动强度和养殖成本,而且频繁的人为扰动,可能会影响养殖物的正常生理活动。高温季节皱纹盘鲍的死亡率较高,可能与饵料、水质等的影响有关。

关于水产养殖动物补偿生长的研究,此前已有很多报道(吴立新等 2000;张波等 2000;姜志强等 2002)。其中,周期性断食的研究结果表明,周期性断食可以在一定程度上提高养殖动物的摄食量,从而加快其生长速度(林小涛等 2008;安琪等 2009)。筏式养鲍的过程中,在高温季节新鲜饵料缺乏的时期,采用周期性断食的方式,是否可以在保持皱纹盘鲍较高生长率的同时,减少养殖废物的产生、减轻盐渍海带对鲍养殖笼中水质的影响?关于皱纹盘鲍周期性断食的研究尚未见报道。本研究以皱纹盘鲍为研究对象,研究周期性断食对其生长、摄食生理(摄食率、排粪率、饵料转化率)及免疫能力(血细胞组成)的影响,探讨一种新的、适用于皱纹盘鲍筏式养殖的投喂模式。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设施及条件

2010年10~11月于中国水产科学研究院黄海水产研究所海水养殖生态与容纳量实验室完成,持续30d。实验用皱纹盘鲍每3只为1组,饲养于20L整理箱中,24h充气。实验期间室内水温20~23℃,海水盐度30,采用自然光照。

### 1.2 实验材料与投喂方法

实验用皱纹盘鲍取自山东荣成寻山集团,壳长为 $65.0\pm 4.3$  mm。鲍取回后,清理其壳上的附着物,暂养7d使其充分适应实验环境,暂养期间以盐渍海带作为饵料。暂养结束后,进行随机分组,测量各实验组皱纹盘鲍的壳长和湿重作为初始值。实验设4个实验组:投喂2d、饥饿1d(f2s1);投喂2d、饥饿2d(f2s2);投喂2d、饥饿3d(f2s3);投喂2d、饥饿4d(f2s4);连续投喂作为对照组(f2)。每组设3个平行,投喂饵料为过量投喂。

### 1.3 实验操作

实验用盐渍海带5份,准确称量后60℃烘箱48h烘干,计算饵料的含水量。在投喂前称量海带的湿重,鲍摄食2d后收集残饵,收集的残饵烘至恒重后测定其干重,以饵料干重计算实验用鲍的摄食率,减小因盐渍海带吸水造成的误差。

每2d换水1次,换水时全量收集、整理箱中鲍的粪便,60℃烘箱烘至恒重,计算实验中皱纹盘鲍的排粪率。马弗炉450℃灼烧4h,测其粪便中的有机物含量。

实验结束后,准确称量各组皱纹盘鲍的壳长和湿重,计算实验用鲍的生长情况。

血细胞组成的测定参考许秀琴等(2007)流式细胞仪检测方法,处于周期性断食的喂食阶段的皱纹盘鲍,实

验组与对照组各随机取3只,用一次性的1.5 ml注射器,从切开的腹足处吸取血淋巴,与0.2 μm滤膜过滤的抗凝剂1:1混合后至于离心管中待测。抗凝剂参考疣鲍的抗凝剂(Lebel *et al.* 1996),配方为:葡萄糖115 mmol/L,柠檬酸钠27 mmol/L,乙二胺四乙酸二钠11.5 mmol/L,氯化钠382 mmol/L。实验用流式细胞仪为美国BD公司生产的BD FACS Calibur,应用Cell Quest软件进行实验数据的获取与分析。

#### 1.4 计算方法与统计分析

增重率  $WGR(\%) = (W_t - W_0) / W_0 \times 100$  特定生长率  $SGR(\%) = [\ln(W_t) - \ln(W_0)] / T \times 100$

日摄食率  $FIR = (FI_2 - FI_1) / (n \times T)$  饵料转化率  $FCE = (W_t - W_0) / FI \times 100$

式中,  $W_t$ 为皱纹盘鲍终重,  $W_0$ 为皱纹盘鲍初重,  $FI_2$ 为饵料的投喂量(g),  $FI_1$ 为饵料的剩余量(g),  $n$ 表示实验组鲍的数量,  $T$ 为实验持续时间(h),  $FI$ 为总摄食量(g)。

数据以平均值±标准误( $X \pm SE$ )表示,采用SPSS 17.0统计软件在ANOVA单因子方差分析的基础上,用Duncan's多重比较检验组间差异,  $P < 0.05$ 为差异显著,  $P < 0.001$ 为差异极其显著。

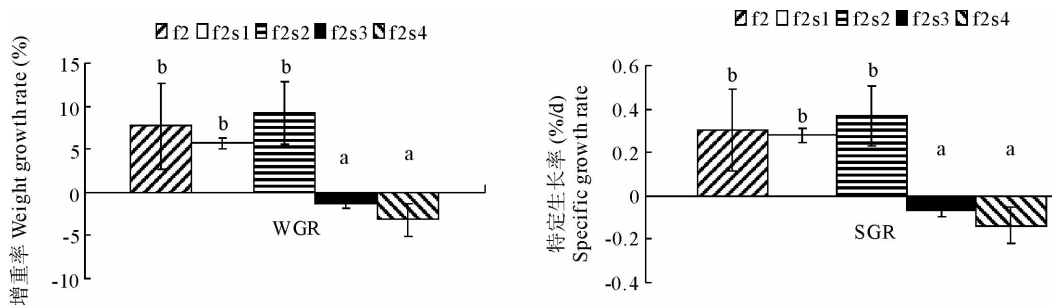
## 2 实验结果

### 2.1 海藻的成分分析

实验用盐渍海带为鲍养殖投喂用饵料,用于投喂时认真清洗海带表面的盐分。测定结果显示,实验用海带的含水量为  $88.73\% \pm 1.21\%$ 。

### 2.2 皱纹盘鲍的生长率

30 d实验期间,皱纹盘鲍无死亡现象。各实验组皱纹盘鲍的生长情况见图1。增重率与特定增长率的结果显示,饥饿天数少于2 d的实验组增重率与特定增长率均显著高于饥饿3 d与4 d的实验组( $P < 0.05$ )。投喂2 d、饥饿2 d的处理组,有最高的增重率与特定增长率。



注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P > 0.05$ )

Note: The same superscript letter indicates no significant difference ( $P > 0.05$ )

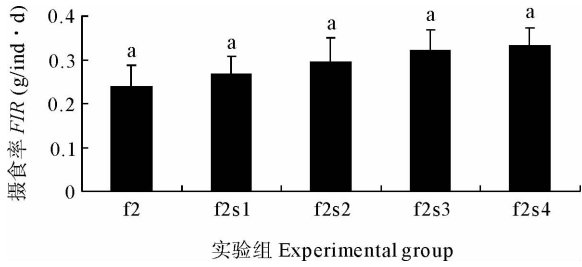
图1 各实验组皱纹盘鲍的增重率与特定增长率

Fig. 1 WGR and SGR of *H. discus hamai* ino in different treatments

### 2.3 皱纹盘鲍的摄食率与饵料转化率

皱纹盘鲍在投喂阶段对盐渍海带的摄食率(以饵料干重计),各组间无统计学上的显著性差异(ANOVA,  $P > 0.05$ ) (图2)。

饵料转化效率结果表明, f2s1组与对照组没有显著差异( $P > 0.05$ ), f2s2组的饵料转化率显著高于其余各组( $P < 0.05$ )。由于鲍体重降低,在 f2s3与 f2s4组中,饵料转化率为负值。

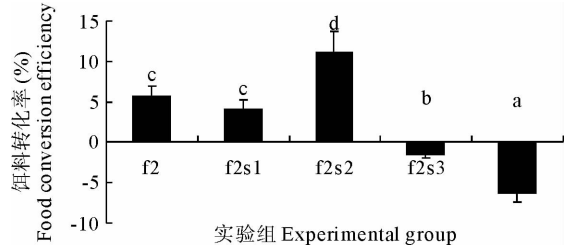


注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P>0.05$ )

Note: The same superscript letter indicates no significant difference ( $P>0.05$ )

图 2 各实验组皱纹盘鲍对盐渍海带的摄食率(以饵料干重计)

Fig. 2 Dry food intake of *H. discus hannai* Ino in different treatments



注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P>0.05$ )

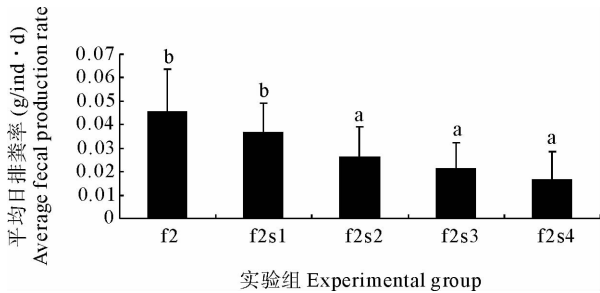
Note: The same superscript letter indicates no significant difference ( $P>0.05$ )

图 3 各实验组皱纹盘鲍对盐渍海带的饵料转化率

Fig. 3 Food conversion efficiency of *H. discus hannai* Ino in different treatments

### 2.4 皱纹盘鲍的排粪率

从平均日排粪率的结果来看,皱纹盘鲍的排粪率随饥饿时间的增长而减小。饥饿时间长于 2 d 的实验组,平均日排粪率显著低于连续投喂组与投喂 2 d、饥饿 1 d 的实验组( $P<0.05$ )。从各实验组皱纹盘鲍粪便中的有机物含量的结果可以看出, f2s3 和 f2s4 两组粪便中有机物的含量显著低于 f2 与 f2s1 两组( $P<0.05$ ); f2s2 组与其余各组没有显著差异( $P>0.05$ )。考虑到平均日排粪率受摄食的影响,将各组中处理的时间分为 3 个阶段:投喂 2 d(f2)、饥饿处理的前 2 d(s1-2)、饥饿处理的后 2 d(s3-4),各组不同处理阶段的排粪率与粪便中的有机物含量见表 1、表 2。

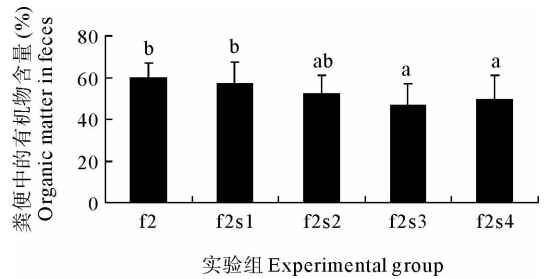


注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P>0.05$ )

Note: The same superscript letter indicates no significant difference ( $P>0.05$ )

图 4 各实验组皱纹盘鲍的平均日排粪率

Fig. 4 Average fecal production rate of *H. discus hannai* Ino in different treatments



注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P>0.05$ )

Note: The same superscript letter indicates no significant difference ( $P>0.05$ )

图 5 各实验组皱纹盘鲍粪便中的有机物含量

Fig. 5 Organic matter in feces of *H. discus hannai* Ino in different treatments

不同处理阶段的皱纹盘鲍的排粪率结果表明,在 2 d 的摄食阶段,其排粪率随饥饿时间增长而减小,但各实验组间差异不显著( $P>0.05$ )。摄食期间的排粪率均显著高于饥饿阶段( $P<0.05$ )。在饥饿处理的阶段, f2s1 组中 1d 饥饿时的排粪率显著高于其他饥饿阶段的排粪率( $P<0.05$ )。

从各组不同处理阶段皱纹盘鲍粪便中的有机物含量来看,摄食阶段粪便中有机物含量的最低值出现在 f2s3 组,且显著低于 f2s1 与 f2s4 两组( $P<0.05$ )。在各组的不同处理阶段中,粪便中有机物含量的变化为 f2 > s1-2 > s3-4,且各阶段差异显著( $P<0.05$ )。

### 2.5 皱纹盘鲍的血细胞比例

实验用抗凝剂 1 : 1 混匀的血淋巴,在 BD 流式细胞仪上进行细胞比例的测定。

表1 不同处理阶段的皱纹盘鲍排粪率

Table 1 FPR of *H. discus hannai* Ino at different treatment stages

	排粪率 FPR(g/ind·d)		
	F2	s1-2	s3-4
f2	0.045±0.018 <sup>c</sup>	*	*
f2s1	0.045±0.008 <sup>c</sup>	0.026±0.008 <sup>b</sup>	*
f2s2	0.040±0.006 <sup>c</sup>	0.016±0.004 <sup>ab</sup>	*
f2s3	0.036±0.007 <sup>c</sup>	0.014±0.001 <sup>a</sup>	0.013±0.001 <sup>a</sup>
f2s4	0.034±0.004 <sup>c</sup>	0.013±0.001 <sup>a</sup>	0.007±0.001 <sup>a</sup>

注:表中相同的英文字母表示差异不显著( $P>0.05$ ); \* 代表无此处理阶段

Note: Columns with the same superscript letter indicate no significant difference ( $P>0.05$ ); \* means this stage does not exist

表2 不同处理阶段的皱纹盘鲍粪便中的有机物含量

Table 2 Organic matter in feces of *H. discus hannai* Ino at different treatment stages

	粪便中的有机物含量 Organic matter in feces(%)		
	F2	s1-2	s3-4
f2	59.67±7.25 <sup>cd</sup>	*	*
f2s1	63.59±4.03 <sup>d</sup>	47.67±8.78 <sup>bc</sup>	*
f2s2	57.90±7.51 <sup>cd</sup>	46.82±6.74 <sup>b</sup>	*
f2s3	54.18±9.72 <sup>c</sup>	45.68±4.74 <sup>b</sup>	33.42±1.37 <sup>a</sup>
f2s4	63.78±4.67 <sup>d</sup>	44.33±1.78 <sup>b</sup>	38.34±3.61 <sup>ab</sup>

注:表中相同的英文字母表示差异不显著( $P>0.05$ ); \* 代表无此处理阶段

Note: Columns with the same superscript letter indicate no significant difference ( $P>0.05$ ); \* means this stage does not exist

按细胞的大小,可将细胞分成两类,其中颗粒细胞粒径较大(R1),透明细胞粒径较小。0.2  $\mu\text{m}$  过滤的抗凝剂作为空白,经流式细胞仪分析显示,仪器噪音与杂质含量极少,可以直接对细胞比例进行分析。

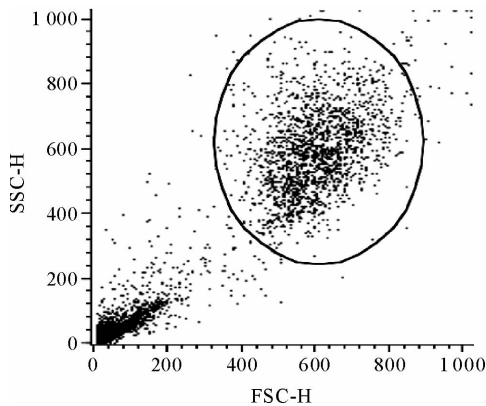
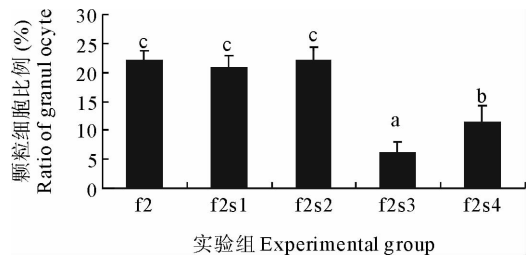


图6 皱纹盘鲍血细胞 FSC 和 SSC 双参数点

Fig. 6 The dot plots of FSC and SSC of haemocytes in *H. discus hannai* Ino



注:同一规格组的柱上相同英文字母的表示差异不显著( $P>0.05$ )

Note: The same superscript letter indicate no significant difference ( $P>0.05$ )

图7 各实验组皱纹盘鲍血淋巴中颗粒细胞比例

Fig. 7 Ratio of granulocyte in hemolymph of *H. discus hannai* Ino in different treatments

实验结果显示,皱纹盘鲍血淋巴中颗粒细胞的比例在 f2s3 组中出现最低值,显著低于其余组( $P<0.05$ ),周期性断食处理中,饥饿时间少于 2d 的处理组与对照组没有显著差异( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

大量的研究证实,许多水产动物断食后可产生补偿生长效应(吴立新等 2000;张波等 2000;姜志强等 2002)。作为自身生活阶段的一部分,软体动物能够耐受长时间的饥饿(Viana *et al.* 2007)。鉴于鲍在自然生长条件下,也会受到饵料缺乏条件的限制。本研究参照了有关实验方法(林小涛等 2008),开展了皱纹盘鲍周期性断食,即“喂食、饥饿、再喂食……”实验,发现周期性断食处理条件下,饥饿天数少于 2 d,皱纹盘鲍的增重率与特定生长率没有显著变化,并在投喂 2 d、饥饿 2 d 时达到最高值。饥饿处理高于 2 d,皱纹盘鲍的体重出现下降,说明周期性断食处理中,养殖动物对饥饿时间有一定的补偿限度,超过这个限度,个体的生长率就会出现下降的趋势。投喂期间的皱纹盘鲍摄食率结果表明,在短期的饥饿后恢复喂食,可以增加养殖动物的食欲,与此前的研究结果相一致(鲍宝龙等 1998;邓利等 1999;宋兵等 2004;)。实验中盐渍海带的 FCE 在连续投喂的对照组中平均值为 5.59%,均高于 Qi 等(2010)与 Fleming(1995)的实验结果,可能与盐渍海带中含水量降低有关。对照组 FCE 与 f2s1 组没有显著差异,但在 f2s2 组中达到 11.2%,显著高于其余各

组,可以认为饥饿 2 d、投喂 2 d 的周期性断食处理有效地提高了皱纹盘鲍对盐渍海带的利用效率,能够减小盐渍海带对养殖水体水质的影响,也更利于饵料的节省与养殖成本的降低。

周期性断食处理下的皱纹盘鲍排粪率受到处理方式的显著影响,平均日排粪率随饥饿时间的增长而减少,该结果与林小涛等(2008)对凡纳滨对虾周期性断食的研究结果不同。各处理阶段的皱纹盘鲍排粪率结果表明,投喂 2 d 的日排粪率随饥饿时间的增加而减少,与投喂期间的日摄食率呈相反的趋势,这可能与研究对象不同有关。随着周期性断食实验时间的延长,即使是相同的处理组,在不同的时间段上,粪便中有机物的含量也存在差异。表明皱纹盘鲍的消化能力在一定时间内随饥饿时间的增长而增强。从对养殖环境的影响来看,排粪量的减少及粪便中有机物含量的降低也可以有效减轻养殖环境的负荷。

血细胞是鲍免疫反应中的重要组成部分(张 峰等 1999)。流式细胞仪分析得到皱纹盘鲍血细胞的种类与张剑诚等(2004)、Sahaphong 等(2001)的研究结果相一致。在对牡蛎(Ford *et al.* 1993; Yannick 2006)及菲律宾蛤仔(Oubella *et al.* 1994; Allam *et al.* 2000)各亚群血细胞比例的变化研究中证实,颗粒细胞比例与其抗感染能力呈正比,易感个体的颗粒细胞比例显著低于抗感染个体。本研究发现,周期性断食饥饿时间超过 2 d,会使皱纹盘鲍颗粒细胞的比例显著降低。

研究证实,皱纹盘鲍有饥饿补偿能力,但是,耐饥饿的能力是有限的。超出耐受能力范围的饥饿,不仅不能增加其摄食率、吸收率,反而导致生长率显著降低,而且,会使鲍的颗粒细胞的比例下降,可能增加其在高温季节的死亡率。因此,合理适时的断食是极为重要的。本研究的结果显示,投喂 2 d、饥饿 2 d 的断食周期对皱纹盘鲍的生长没有显著的影响,我们将在养殖现场进一步实验,为高温季节养殖模式的建立提供依据。

## 参 考 文 献

- 邓 利,张 波,谢小军. 1999. 南方鲎继饥饿后的恢复生长. 水生生物学报,23(2):167~173
- 安 琪,曾晓起. 2009. 饥饿和再投喂对马粪海胆补偿生长的影响. 中国海洋大学学报,39(s1):32~36
- 许秀芹,王宜艳,孙虎山. 2007. 病毒感染对栉孔扇贝血细胞类型和功能的影响. 上海水产大学学报,16(3):242~247
- 吴立新,董双林. 2000. 水产动物继饥饿或营养不足后的补偿生长研究进展. 应用生态学报,11(6):943~946
- 张 波,孙 耀,唐启升. 2000. 饥饿对真鲷生长及生化组成的影响. 水产学报,24(3):206~210
- 宋 兵,陈立侨,高露姣,陈亚瞿,徐彦明. 2004. 饥饿对杂交鲟仔鱼摄食、生长和体成分的影响. 水生生物学报,28(3):333~336
- 张 峰,李光友,张培军. 1999. 皱纹盘鲍血细胞活性氧产生的研究. 中国水产科学,6(3):36~40
- 张剑诚,张 峰,王吉桥. 2004. 皱纹盘鲍血细胞分类及活性氧产生机理的研究. 大连水产学院学报,19(3):182~188
- 林小涛,潘剑雄,许忠能,李佳卓,李 活. 2008. 周期性断食对凡纳滨对虾摄食生长和排粪的影响. 水生生物学报,32(3):403~407
- 姜志强,贾泽梅,韩延波. 2002. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制. 水产学报,26(1):67~72
- 鲍宝龙,苏锦祥,殷名称. 1998. 延迟投喂对真鲷、牙鲆仔鱼早期阶段摄食、存活率及生长的影响. 水产学报,22(1):33~38
- Allam, B., Paillard, C., and Auffret, M. 2000. Alterations in hemolymph and extrapallial fluid parameters in the manila clam, *Ruditape philippinarum*, challenged with pathogen *Vibrio tapetis*. Journal of Invertebrate Pathology, 76(1):63~69
- Ford, S. E., Kanaley, S. A., Littlewood, D. T. 1993. Cellular responses of oysters infected with *Haplosporidium nelsoni*: changes in circulating and tissue-infiltrating hemocytes. Journal of Invertebrate Pathology, 61(1):49~57
- Fleming, A. E. 1995. Growth, intake, feed conversion efficiency and chemosensory preference of the Australian abalone, *Haliotis rubra*. Aquaculture, 132(3-4):297~311
- Lebel, J. M., Giard, W., Favrel, P., and Boucaud-Camou, E. 1996. Effects of different vertebrate growth factors on primary cultures of hemocytes from the gastropod mollusc, *Haliotis tuberculata*. Biol. Cell, 86(1):67~72
- Viana, M. T., D/Abramo, L. R., Gonzalez, M. A. *et al.* 2007. Energy and nutrient utilization of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*) during starvation. Aquaculture, 264(1-4):323~329
- Oubella, R., Paillard, C., Maes, P., and Auffret, M. 1994. Changes in hemolymph parameters in the manila clam *Ruditape philippinarum* (Mollusca Bivalvia) following bacterial challenge. Journal of Invertebrate Pathology, 64(1):33~38
- Qi, Z. H., Liu, H. M., Li, B. *et al.* 2010. Suitability of two seaweeds, *Gracilaria lemaneiformis* and *Sargassum pallidum*, as feed for the abalone *Haliotis discus hanmai* Ino. Aquaculture, 300(1-4):189~193
- Sahaphong, S., Linthong, V., Wanichanon, C. *et al.* 2001. Morphofunctional study of the hemocytes of *Haliotis asinina*. Journal of Shellfish Research, 20(2):711~716