

研究简报

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00639

可视荧光硅橡胶标志用于西伯利亚鲟幼鱼标志的初步评价

张 涛¹ 庄 平^{1,2} 章龙珍¹ 刘鉴毅¹ 赵 峰¹ 高露姣¹ 冯广朋¹ 黄晓荣¹
闫文罡¹ 田美平²

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部海洋与河口渔业资源及生态重点开放实验室, 上海 200090; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

PRELIMINARY EVALUATION OF IMPLANT VISIBLE IMPLANT FLUORESCENT ELASTOMER TAGS IN SIBERIAN STURGEON *ACIPENSER BAERII*

ZHANG Tao¹, ZHUANG Ping^{1,2}, ZHANG Long-Zhen¹, LIU Jian-Yi¹, ZHAO Feng¹, GAO Lu-Jiao¹, FENG Guang-Peng¹, HUANG Xiao-Rong¹, YAN Wen-Gang¹ and TIAN Mei-Ping²

(1. Key & Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Resources and Ecology, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

关键词: 西伯利亚鲟; 荧光硅橡胶标志; 生长; 存活; 标志保持率

Key words: *Acipenser baerii*; Visible implant fluorescent elastomer tag; Growth; Survival; Tag retention

中图分类号: Q-31 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)03-0639-03

在渔业和水产养殖的研究中, 常采用标记(Marking)或标志(Tagging)方法来区分不同的个体或种群^[1]。标志技术在鱼类个体生长、存活和种群补充和生产力研究中广泛应用, 标志回捕(Mark recapture)已成为评估渔业资源状况和洄游习性研究中的重要研究手段^[2-4]。此外, 标志技术在选择育种上也得到了应用, 用以快速有效地区分不同选育群体^[5]。如何提高标志检测率和保持率, 以及怎样减少标志操作对研究对象生长和存活影响, 是研究和选择标志方法时应考虑的主要问题。

根据标记的方式, 标志技术可大致分为体内(Internal)和体外(External)标志这两大类, 其中体内标志, 如被动式整合雷达标志(Passive integrated transponder, PIT)、线码标志(Coded wire tag, CWT)等, 对标志个体影响小, 但标志的检测常需要专门的设备^[6-8]; 而体外标志如挂牌标志(Hanging scutcheon tag)、剪鳍标志、烙印标志(Cold or

heat branding)等, 一般对标记个体的生理和行为等有显著影响, 且标志的保持率常较低^[7]。

本研究利用医用硅橡胶和紫外线激发荧光粉, 研制了一种可视化荧光硅橡胶标志(Visible implant fluorescent elastomer tags, VIFE tags), 并以西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)幼鱼为标志对象, 研究了VIFE标对幼鱼生长和存活的短期影响, 并评估了标志的保持率, 为珍稀的鲟类放流增殖研究提供了一种新的标志方法。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

实验所用的西伯利亚鲟幼鱼是在实验室内利用2007年12月从德国进口的受精卵, 经人工孵化后培育所得。

1.2 可视荧光硅橡胶标志的制作

称取0.9 g硅橡胶基体(Silastic® MDX4-4210 Medical

收稿日期: 2009-01-12; 修订日期: 2009-12-24

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)项目(2007M01); 国家公益性行业(农业)科研专项(200903048-07); 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2008AA10Z227); 农业科技成果转化资金项目(2008GB23260408); 浙江省重大科技专项(2007C12026); 上海市教育委员会E-研究院建设项目(E03009)资助

作者简介: 张涛(1976—), 男, 湖北荆州人; 副研究员; 研究方向为鱼类繁育生物学与鱼类生态学。E-mail: zhangtaoyfi@163.com

通讯作者: 章龙珍, E-mail: longzhen2885@hotmail.com

grade elastomer base, Dow Corning Corporation, USA), 加入 0.1 g 固化剂(Silastic® MDX4-4210 Curing agent, Dow Corning Corporation, USA)和 1 g 紫外线激发绿色荧光粉(RL-702 UV excitation fluorescent powder, 上海高纳粉体技术有限公司), 在培养皿中混合均匀。将硅橡胶-荧光粉混合物装入 1 mL 的医用注射器中, 放入 4℃ 冰箱中过夜备用。

1.3 标志及检测方法

用装荧光标志物的 1 mL 注射器配备 5 号针头, 将针头斜插入西伯利亚鲟幼鱼吻部腹面须基部的皮下, 注入长度 5 mm 左右的标志物。将标志后的幼鱼放置在 365 nm 的紫外灯下, VIFE 标志会发出绿色的荧光, 关闭紫外灯后余辉立即消失。

1.4 实验设计

用日龄 120d 的西伯利亚鲟幼鱼为标志对象, 标志组和对照组各设 2 个平行, 每个平行 50 尾幼鱼。实验鱼在直径 1 m 的玻璃钢水槽内养殖, 养殖用水为净水机处理后的自来水, 实验期间水温控制在(18±1)℃, 溶氧保持在 6 mg/L 以上。实验期间投喂山东升索鲟鱼幼鱼配合饲料, 每日 8:00、12:00、16:00、20:00 各投喂一次, 日投饵量为鱼体重的 5%。实验为期 60d, 实验开始时测定各个体的全长和体重。实验结束时对实验鱼计数, 确定死亡率, 测定个体的体长和体重, 并在紫外灯下监测荧光标记, 确定标志保持率。试验期间根据幼鱼的生长情况调整投饵量。

1.5 数据分析

试验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行处理分析, 采用单因子方差分析(One-way ANOVA)来检验处理组间差异的显著性, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著, 数值以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。以特定生长率(SGR)来描述幼鱼的生长特性。

体重特定生长率(SGR)采用以下公式计算:

$$SGR = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

式中 W_0 和 W_t 分别为投喂前和投喂后 t 天(60d)时的体重。

2 结 果

将 VIFE 标志注射至西伯利亚鲟幼鱼吻部腹面皮下, 24h 后检查发现该标志已固化成有弹性的白色固体。实验结束后, 自然光下肉眼观察实验鱼的标志部位, 可见有一白色的标志物(图 1a), 在紫外灯下, VIFE 标志物可发出明显的绿色荧光(图 1b)。经 60d 后, VIFE 标志保持率为 100%(表 1)。



图 1 西伯利亚鲟幼鱼 VIFE 标志检测

Fig. 1 Visible implant fluorescent elastomers (VIFE) tag in juvenile *Acipenser baerii*

a. 自然光; b. 紫外灯; 箭头所示 VIFE 标志

a. Natural light; b. UV light; The arrows indicate VIFE tag

实验开始前标志组和对照组的实验鱼初始全长和初始体重均没有显著的差异(表 1)。60 d 实验结束时, 标志组幼鱼全长较对照组小 0.56%, 体重小 1.40%, 但差异均不显著($P > 0.05$, 表 1)。试验期间标志组和对照组体重特定生长率差异不显著($P > 0.05$)。试验期间标志组实验鱼存活率 92% 与对照组(93%)差异不显著。

3 讨 论

因捕捞强度的增加和人类活动所导致的环境恶化, 渔业资源受到了极大的破坏, 人类对渔业资源的保护和增殖放流工作日益受到重视。在大规模增殖放流过程中, 为评价放流效果, 掌握渔业资源的动态特征, 开展标志放流是一个重要的途径, 国内外已进行了大量的研究工作^[1—4]。目前国内渔业资源放流增殖中常用的有挂牌标志、剪鳍标志、贴签标志等传统的外部标志法, 这些标志

表 1 西伯利亚鲟幼鱼标志组与对照组生长存活与标志保持率比较

Tab. 1 Comparison of growth, survival and tag retention in tagged and untagged juvenile *A. baerii*

参数 Parameter	样本量 Number of samples	标志组 Tagged group	对照组 Untagged group
初始全长 Initial total length (cm)	60	17.71±2.06 ^a	17.83±3.03 ^a
初始体重 Initial body weight (g)	60	17.98±5.58 ^a	18.55±8.02 ^a
最终全长 Final total length (cm)	60	31.82±1.50 ^a	32.00±1.25 ^a
最终体重 Final body weight (g)	60	85.11±11.24 ^a	86.32±9.65 ^a
特定生长率 SGR (%)	60	2.59±0.02 ^a	2.56±0.04 ^a
存活率 Survival rate (%)	185	92.00±2.83 ^a	93.00±1.41 ^a
标志保持率 Tag retention (%)	92	100%	—

注: 同行不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different letters in the row indicate significant difference at 0.05 level

方法会影响标志对象的生长、存活和运动等造成一定的负面影响,而且标志保持率相对较低。近年来,随着科技的进步,VIE、PIT、CWT等新型标志方法均以问世,并得到了广泛的应用,它们对标志对象的影响小,且标志保持率高^[3]。但是,这些标志及其检测仪器大都依靠进口,而且价格较高。

内置可视硅橡胶标志(Visible implant elastomer tags, VIE)是美国西北海洋科技公司(Northwest Marine Technology, Shaw Island, WA, USA)于1990年开发的一种新型标志^[8],在国外VIE标志广泛应用在鱼类^[9]和甲壳类^[10]上,但国内仅在2004—2005年在黑鲷(*Sparus macrocephalus*)和大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)幼鱼的增殖放流上进行了应用。又长80 mm左右的黑鲷标记20d和50d后的标记保存率分别达97%和93%;体长130 mm左右的大黄鱼标记20d和50d后的标记保存率达96%和93%,且死亡率低于0.7%^[4]。本研究采用与VIE标志相类似的材料和方法研制的VIFE标志,其标志的基本材料为医用级硅橡胶,具有对生物体的刺激小,生物相容性高的特点,已在医学上得到了广泛的应用^[11—15],且在水产动物上已作为埋植药条的缓释基质使用^[12]。紫外线激发绿色荧光粉为一种稀土无机氧化物,具有很高的稳定性,在生物体内也不会产生不良影响。本文结果表明,采用自行研制的VIFE标志对西伯利亚鲟幼鱼进行标志是可行的。标志对幼鱼的生长和存活没有产生不利影响。因鲟鱼吻部腹面无色素分布,采用吻部腹面皮下单次标志,有效避免了VIFE标志在色素组织下不易识别的缺点,标志检测率高,而且在60d内标志保持率达到100%。

鲟鱼作为珍稀濒危鱼类,具有很高的科研和经济价值,目前在鲟鱼的放流增殖中常用挂牌、CWT^[18]、PIT^[19]和荧光色素标记^[20],这些标志技术具有各自的缺点,如体外挂牌容易脱落;CWT和PIT内植于鱼体,肉眼无法识别,需要专门的检测设备;荧光色素标记肉眼看不见,需要取鳍条进行检测,会对鱼体产生损伤。这些均不利于渔民误捕后对标志放流个体的确认。我们研制的VIFE标及其标志和检测的方法,为今后中华鲟(*Acipenser sinensis*)的放流增殖效果的评估研究提供了好的标志方法。

参考文献:

- [1] Hilborn R, Walters C J, Jester D B. Value of fish marking in fisheries management [C]. American Fisheries Society Symposium, 1990, **7**: 5—7
- [2] Zhang T L, Li Z J, Shu S W. A review on marking techniques in fish [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, **10**(3): 246—253 [张堂林, 李钟杰, 舒少武. 鱼类标志技术的研究进展. 中国水产科学, 2003, **10**(3): 246—253]
- [3] Nielsen L A. Methods of marking fish and shellfish [M]. American Fisheries Society Special Publication. 1993, **23**: 37—38
- [4] Zhou Y D, Xu H X, Dai X J, et al. An application effect of several tagged methods in fisheries resource enhancement [J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2008, **1**: 6—12 [周永东, 徐汉祥, 戴小杰, 等. 几种标识方法在渔业资源增殖放流中的应用效果. 福建水产, 2008, **1**: 6—12]
- [5] Arce S M, Argue B J, Thompson D A, et al. Evaluation of a fluorescent, alphanumeric tagging system for penaeid shrimp and its application in selective breeding programs [J]. *Aquaculture*, 2003, **228**: 267—278
- [6] Guy C S, Blankenship H L, Nielsen L A. Tagging and marking [A]. In: Murphy B R, Willis D W (Eds.), *Fisheries Techniques* [C]. American Fisheries Society, Bethesda. 1996, 353—383
- [7] Bergman P K, Haw F, Blankenship H L, et al. Perspectives on design, use, and misuse of fish tags [J]. *Fisheries*, 1992, **17**(4): 20—25
- [8] Northwest Marine Technology, Inc. Visible Implant Elastomer Tag Project Manual [EB/OL]. (2008-06). <http://www.nmt-inc.com/support/appnotes/ape06.pdf>
- [9] Frederick J L. Evaluation of fluorescent elastomer injection as a method for marking small fish [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1997, **61**(2): 399—408
- [10] Godin D M, Carr W H, Hagino G, et al. Evaluation of a fluorescent elastomer internal tag in juvenile and adult shrimp *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 1995, **139**: 243—248
- [11] Zhang C Y. Applications of silicone rubber in the field of biomedicine [J]. *Silicone Material*, 2002, **16**(2): 14—17 [张承焱. 硅橡胶在生物医学领域的应用. 有机硅材料, 2002, **16**(2): 14—17]
- [12] Deng Y S, Lin H R. Prepare enveloped silastic bar containing 4-androstene-3 and 17-dione for fish [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2001, **20**(2): 97—100 [邓岳松, 林浩然. 鱼用含雄烯二酮的包膜型硅橡胶药条的研制. 浙江海洋大学学报(自然科学版), 2001, **20**(2): 97—100]
- [13] Yang D G, Wei Q W, Wang K, et al. Downstream migration of tag-released juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in the Yangtze River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(1): 26—30 [杨德国, 危起伟, 王凯, 等. 人工标志放流中华鲟幼鱼的降河洄游. 水生生物学报, 2005, **29**(1): 26—30]
- [14] Benson A C, Sutton T M, Elliott R F, et al. Biological attributes of age-0 lake sturgeon in the lower Peshtigo River, Wisconsin [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2006, **2006**, **22**: 103—108
- [15] Chang J B. Variations in structure of spawning stock and resource of *Acipenser sinensis* in Yangtze River [D]. Thesis for Doctor of Science. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan. 1999 [常剑波. 长江中华鲟产卵群体结构和资源变动. 博士学位论文. 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 1999]