

DOI: 10.12264/JFSC2022-0122

养殖系统中不同水质区域滞留时间差异对海洋青鳉摄食行为、抗胁迫能力和生长的影响

鲁俊¹, 陈丽芝^{1,2}, 柏扬¹, 王永帅¹, 徐永健^{1,2}

1. 宁波大学海洋学院, 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315832;

2. 三门县水产技术推广站, 浙江 三门 317100

摘要: 本研究考察养殖系统中不同水质区域滞留时间差异对海洋青鳉(*Oryzias melastigma*)生长、摄食行为和抗胁迫能力的影响。将养殖系统分成中央区域和角部区域, 设置海洋青鳉在角部区域内滞留的 4 个时间梯度, 分别为 24 h、14.4 h、7.2 h、0 h, 即分别占一昼夜的 100% (P100)、60% (P60)、30% (P30)、0% (P0)。分析不同流场区域的水质差异, 然后比较海洋青鳉在不同流场中的生长、摄食行为和抗胁迫能力。结果显示, 在 28 d 的养殖实验中, 虽然中央区域和角部区域的溶解氧、pH、NO₂-N 和 NH₃-N 等水质指标均符合国家渔业水质标准(GB11607-89)要求, 但是随着养殖时间延长, 养殖容器角部区域水质质量逐渐劣于中央区域。所有处理组海洋青鳉的体长和体重均有增加, 但各处理组间的生长差异明显(P0>P30>P60=P100)($P<0.05$)。随着鱼体在容器角部区域滞留时间的增加, 其生长速率逐渐下降, 摄食效率降低, 抗胁迫能力(MDA 含量、GSH 和 CAT 活性升高)下降($P<0.05$)。综上所述, 养殖系统内水质的微差异能够影响海洋青鳉的摄食行为、抗胁迫能力和生长速率。因此, 养殖用水质量既要符合国家与行业的相关规定, 还应要求养殖系统内水质保持良好的均匀性。

关键词: 水产养殖系统; 水质均匀性; 生长; 摄食行为; 环境胁迫; 海洋青鳉

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)11-1564-10

维护养殖水体中溶解氧、pH、NO₂-N 和 NH₃-N 等重要水质指标参数的稳定是养殖成功的前提, 水质调控技术是水产养殖技术的重要组成部分。常见的水质调控技术有流水、曝气、生物处理和综合养殖等^[1-2]。通过这些技术的使用, 养殖环境在宏观上得到了极大改善, 水质主要指标达到了国家和行业许可范围, 基本能满足水产养殖生产的需求^[3]。但是随着养殖集约化程度的提高, 放养密度不断增大, 养殖生物出现大小差异、性成熟不同步、病害频发等问题^[4-5], 严重影响到养殖产量、品质和效益, 进一步精细化的养殖技术需求迫在眉睫。

关于水质差异对养殖生物影响的研究已有多报道。一些研究表明, 不同的水质环境不仅会影响到鱼群的生长状况和免疫力, 还可能成为鱼群疾病暴发的诱因之一^[6-8]。人工养殖环境中水质差异会对养殖生物造成额外的环境胁迫负担。鱼类长期处于这些环境下将导致整个群体的成活率与生长速度降低^[9], 养殖生物对恶化环境的适应能力、生长速度、摄食能力和抗病能力等也会逐渐下降^[10-12]。通过对养殖容器流场的三维可视化观察, Aung 等^[13]发现矩形养殖容器中的低流速水团通常会在底部形成滞留区, 导致养殖箱底部积累大量的生物固体废物^[14], 造成容器底部区域的

收稿日期: 2022-04-07; 修订日期: 2022-05-16.

基金项目: 国家自然科学基金项目(41276123); 宁波大学“海洋生物技术与海洋工程”学科群专项研究基金项目(422004582); 三门县农业农村局重点科技攻关项目(三招采-2021-GK135).

作者简介: 鲁俊(1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物行为和设施养殖. E-mail: igmdlj96@163.com

通信作者: 徐永健, 教授, 博士生导师, 主要从事水产动物行为与行为生态学研究. E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn

水体出现高有机负荷,从而加剧异养菌对硝化细菌的竞争性抑制,造成与氧气供应、释放的代谢物和微生物负荷相关的关键水质参数发生变化^[15-16]。Sakakura 等^[17]也发现圆形养殖容器内的曝气量、进出水口等物理因素,会导致容器内部的流场和水质形成差异,并成为影响幼鱼存活率的关键因素之一。

这些试验中的水质数值都符合养殖行业许可的标准,但上述的养殖新问题依然存在。因此,笔者认为养殖水质调控并非仅使有关指标数值达到许可范围,还要求容器内的水体有良好的均匀性。本研究将通过观测养殖容器内水流流场运动情况,找出水质差异分布区域,再考察养殖生物在不同水质区域滞留时间的不同对其生长的胁迫作用,探究水质不均匀性对养殖的影响。

1 材料与方法

1.1 养殖容器中的流场观测

流场观测参照 Sumida 等^[18]的实验方法并稍作调整。容器采用白玻璃矩形水族缸(50 cm×27 cm×25 cm),洗净干燥后,注入 27 L (水位 20 cm) 蒸馏水。将一球形气石($\varnothing 2.5$ cm)固定于缸底中心位置,连接充气泵,调节充气速率,设定曝气量为 200 mL/min。通过铝粉(平均粒径为 40 μm ,比重为 2.7)和悬浮法对矩形水族缸内流场进行可视化分析。首先将铝粉与少量乙醇混合(润湿作用),使铝粉与乙醇之间的质量比为 10^{-3} g/g,再将铝粉与水的质量比固定为 4.31×10^{-7} g/g (根据雷诺系数可知该质量比下,铝粉在水中的下降速度可忽略不计)作为示踪剂备用。将投影仪(LED-86,苏州轰天砲光电技术有限公司)作为可视化光源,调节投影仪光束,使其能垂直射向鱼缸侧立面且完全透过缸内所有水域;利用三脚架固定和调节高速摄像机(HISpec1L 2G Color, 美国 FASTEC IMAGING)高度,使高速摄像机能完整地拍摄到鱼缸正立面;用聚乙烯吸管吸取配置好的示踪剂,自气柱处液面下 2 cm 处匀速注入水中后进行拍摄。

待缸内水流稳定后,将水族缸虚拟划分为长 6 cm×宽 5 cm×高 5 cm 的 160 个小区域,利用各小区域的 pH 值变化作为水质均匀性的标记。将

10 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液自气柱处液面下 2 cm 处一次性快速注入缸内水体中。自加入盐酸溶液起开始计时,每隔 0.5 h 在 160 个小区域中分别取样,用 pH 测量仪(UB-7, 美国 DENVER INSTRUMENT)测量各小区域的 pH 并记录,直到各小区域中的 pH 不再出现差异后,结束试验。对各小区域测得 pH 进行差异性比较,将 pH 非显著性差异区域($P<0.05$)视为水质均一区域并记录其三维空间坐标。根据其空间坐标计算其最大混匀体积区域为中央区域,其余区域为角部区域。

1.2 实验设计

海洋青鳉(*Oryzias melastigma*)作为养殖试验生物,由本实验室批量培育。挑选一批大小均等、活力强的 6 月龄成鱼并随机分成 4 组进行试验,每组 3 个重复。实验用海水由海水晶加蒸馏水调配而成,养殖条件为盐度 25 ± 1 , 温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、光照强度 2000 lx、光暗周期 12L:12D。其他条件同流场试验,水位 20 cm,曝气流量 200 mL/min。

预先准备 12 个带孔、透明的三角锥体($V=108\text{ cm}^3$)塑料盒,每盒中放养 3 尾试验鱼。把盒子放置在水族缸内的不同流场区域,根据流场拍摄和水质均匀性测量结果,在充气足够长时间后,缸内流场分成中央区和角部区,设置海洋青鳉在角部区域内滞留的 4 个时间梯度,分别为 24 h、14.4 h、7.2 h、0 h,即分别占一昼夜的 100% (P100)、60% (P60)、30% (P30)、0% (P0)。试验共持续 28 d,按照设计的时间要求,每日早上 7:00 从角部区向中央区移动塑料盒,其中 P100 组停留在角部区不动, P0 停留在中央区不动,其他组按要求停留足够时间后重新移回到角部区;日常管理:早上 8:00 换 10%海水;早晚 10:00 分别投喂一次饵料(鱼游水产饵料,福州鱼游生态科技有限公司),饵料平均单粒重为 0.05 mg,投喂量以 1 h 内吃完为宜。

1.3 实验方法

1.3.1 摄食行为观察 摄食行为观察方法参照王润萍等^[19],于原位拍摄各处理组中海洋青鳉的摄食行为。2 台摄像机(Sony-220RE, 日本 SONY 公司)分别放置于水族缸的正前方和正上方进行拍摄。拍摄于投喂前 5 min 开始,持续 50 min。记

录整个摄食过程。观察录像资料分析各摄食行为参数。

摄食响应时间(s): 从饵料定点投入起到鱼开始摄入(包括尝试摄食)第一颗饵料止的持续时间。

摄食次数(freq): 每条海洋青鲈平均在一个拍摄时间内(一次饱食)进行的有摄食动作且口吻部触碰到饲料的总次数。

摄食速率(particle/min): 海洋青鲈摄入第 4 粒至第 8 粒饵料(共 5 粒)的平均速率, 即进食稳定后平均每分钟摄入的饵料数量。

摄食效率(mg/min): 在一次饱食过程中, 青鲈在单位时间内摄入的饵料量。

1.3.2 水质和酶活性测定 每周在测量生长指标前, 在容器的不同流场区域采集水样 10 mL, 用于有关水质指标测量, 包括盐度、溶解氧、pH 和氨氮、亚硝酸盐。前三者由电子盐度计(AZ8371, 中国台湾衡欣电子公司)、pH 仪(UB-7, 美国 DENVER INSTRUMENT)及溶氧仪(AR8210, 广东东莞希玛仪表公司)直接测量; 氨氮采用纳氏试剂比色法, 亚硝酸盐采用磺胺和盐酸萘乙二胺重氮偶氮法测定(GB3097-1997)。

1.3.3 生理指标测定 于试验第 2 周和 4 周分别取样测定酶类活性变化。取鱼体的肝脏匀浆取上清, 测定过氧化氢酶(catalase, CAT)、还原型谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione, GSH)活性以及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。均采用南京建成生物工程研究所试剂盒, 按各试剂盒说明书严格按步骤操作测定。

1.3.4 生长参数测定 分别于试验第 0、7、14、21 及 28 天, 测量各处理组中所有海洋青鲈的体长和体重。根据公式计算海洋青鲈的特定生长率(SGR)、相对增重率(WGR)和肥满度(K)等参数。

特定生长率(SGR, %/d)=[$\ln W_t - \ln W_i$]/ t ×100;

相对增重率(WGR, %)= $(W_t - W_i)/W_i$ ×100;

肥满度(K, %)=(W_t/L_t^3)×100。

式中, W_t 、 W_i 分别为 t 和 i 时刻鱼的湿重(g); L_t 为 t 时刻鱼的体长(cm); t 为时间(d)。

1.4 统计分析

所有数据均用 SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago,

Illinois)进行分析。Kolmogorov-Smirnov 检验用于评估数据分布的正态性, Levene's F 检验验证方差的同质性。通过单因素方差分析(one-way ANOVA)以确定不同区域滞留时间差异对鱼体的影响, 使用 Tukey 的多重极差检验来确定均值之间的差异显著性。除非另有说明, 否则所有数据均表示为平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$), 并且在 0.05 水平上的差异被认为显著。

2 结果与分析

2.1 养殖容器内流场分布和水质均匀性分析

养殖容器内垂直截面流场分布情况如图 1 所示。当气流流速 Q 固定为 200 mL/min, 容器长宽比例为 1:2 (AR=0.5)时, 光源从水族缸左侧垂直打入, 养殖容器内存在对称且旋转方向相反的 2 个涡结构, 在涡流的带动下容器内的水体被迅速地混匀。

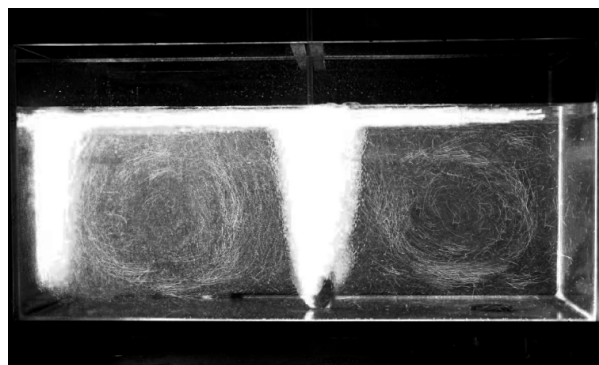


图 1 养殖容器内垂直截面流场分布情况
($Q=200$ mL/min, AR=0.5)

Fig. 1 Distribution of vertical cross-sectional flow fields in culture vessels at $Q=200$ mL/min and AR=0.5

运动中的铝粉粒子在距容器壁约 5 cm 处开始下降, 还观察到在底角和近气石的附近区域几乎没有铝粉粒子出现。通过测定, 在曝气 6 h 后, 容器内水体的混匀度基本稳定, 混匀深度能覆盖整个水柱(20 cm), 达到最大混匀体积为(93.4±0.33)%。非混匀区域主要分布在容器的底角及底边交互区域。因此, 把养殖容器的中部混匀区域划分为中央区域, 把底壁角部区域划分为角部区域。在整个实验过程中, 对角部区域及中央区域进行水质跟踪测量, 有关指标变化见表 1。

表 1 实验期间中央区域及角部区域的水质随时间变化的情况
Tab. 1 Variation of water quality in central and corner areas of aquarium during the experiment

n=32; $\bar{x}\pm SD$

采样时间/week sampling time	采样区域 sampling area	溶解氧/(mg/L) dissolved oxygen	pH	亚硝酸盐氮/(mg/L) NO ₂ -N	铵态氮/(mg/L) NH ₄ -N	非离子氨氮/(mg/L) NH ₃ -N
1	Ce	8.35±0.050 ^a	7.80±0.10 ^a	0.0093±0.0008 ^a	0.0456±0.0034 ^a	0.0026±0.0004 ^a
	Co	8.30±0.086 ^a	7.80±0.20 ^a	0.0088±0.0008 ^a	0.0530±0.0026 ^a	0.0030±0.0011 ^a
2	Ce	8.38±0.044 ^a	7.67±0.21 ^a	0.0102±0.0011 ^{ab}	0.0560±0.0013 ^a	0.0032±0.0007 ^a
	Co	8.23±0.045 ^a	7.63±0.06 ^a	0.0173±0.0016 ^c	0.0749±0.0028 ^b	0.0043±0.0012 ^b
3	Ce	8.34±0.040 ^a	7.80±0.15 ^a	0.0113±0.0021 ^b	0.0741±0.0056 ^b	0.0033±0.0009 ^a
	Co	8.05±0.350 ^{ab}	7.47±0.18 ^{ab}	0.0220±0.0028 ^{cd}	0.2628±0.0184 ^c	0.0054±0.0017 ^c
4	Ce	8.33±0.115 ^a	7.79±0.11 ^a	0.0111±0.0023 ^b	0.0788±0.0016 ^b	0.0035±0.0015 ^{ab}
	Co	7.71±0.225 ^b	7.35±0.26 ^b	0.0270±0.0061 ^d	0.3082±0.0080 ^d	0.0072±0.0021 ^d

注: Ce 为中央区域, Co 为角部区域。同列的不同字母表示中央区域和角部区域不同采样时间之间存在显著性差异($P<0.05$)。
Note: Ce is the central area and Co is the corner area. Different letters in the same column indicate significant differences among sampling times in the central and corner regions ($P<0.05$).

表 1 为养殖试验过程中对角部区域及中央区域进行的水质跟踪测量结果。其中, 试验对养殖温度和盐度进行了控制。中央区域和角部区域的溶解氧(≥ 3 mg/L)、pH (7.0-8.5)、NO₂-N (≤ 0.05 mg/L) 和 NH₃-N (≤ 0.04 mg/L)等均符合国家渔业水质标准(GB11607-89)要求。随着实验时间增加, 中央区域相关水质指标的数值保持较稳定, 表明在该养殖密度下 10%/d 换水量和充气调控能够保持系统中养殖水质的稳定。在角部区域中, 溶解氧和 pH 逐渐下降, 并于第 4 周时与中央区域达到显著性差异($P<0.05$)。水中的无机氮各指标略有上升, 其中在中央区域的上升幅度较小, 在角部区域上升幅度较

大。至第 4 周时, 亚硝态氮浓度上升约 2 倍, 铵态氮浓度上升约 6 倍, 非离子氨氮浓度上升约 2 倍。

2.2 生长比较

在 28 d 的实验周期中, 虽然所有处理组内海洋青鲈的体长和体重均有增加(表 2), 但是生长速率存在显著差异($P_0>P_{30}>P_{60}=P_{100}$)。随着鱼体在养殖容器角部区域滞留时间的增加, 其生长速率逐渐下降。SGR 和 WGR 的变化表明, 海洋青鲈在角部区域的滞留时间达到 14.4 h(P_{60})后, 其生长与 24 h(P_{100})组无显著差异, 但都显著低于 P_0 和 P_{30} 组($P<0.05$); K 值表明, P_{100} 组内海洋青鲈肥满度最低, 体脂肪积累最少。

表 2 实验期间在养殖容器角部区域滞留不同时间处理组内海洋青鲈的生长状况
Tab. 2 Growth performance of *Oryzias melastigma* in different corner region residence time treatment groups during the experiment

n=36; $\bar{x}\pm SD$

处理组 treatment group	初始体重/g initial body weight	最终体重/g final body weight	初始体长/cm initial body length	最终体长/cm final body length	特定生长率/(%/d) SGR	相对增重率/% WGR	肥满度/% K
P0	0.2840±0.037	0.3792±0.055	3.2367±0.05	3.4867±0.10	1.0275±0.06 ^a	33.35±2.22 ^a	0.8911±0.079 ^{ab}
P30	0.2935±0.026	0.3324±0.021	3.1233±0.22	3.3033±0.15	0.4502±0.10 ^b	13.46±3.09 ^b	0.9255±0.083 ^a
P60	0.3067±0.033	0.3341±0.074	3.2533±0.30	3.3967±0.30	0.2758±0.05 ^c	8.036±1.58 ^c	0.9522±0.073 ^a
P100	0.3139±0.018	0.3362±0.019	3.2100±0.14	3.3967±0.12	0.2451±0.01 ^c	7.104±0.35 ^c	0.8613±0.093 ^b

注: 同列字母不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。P0, P30, P60, P100 滞留时间依次为 0 h, 7.2 h, 14.4 h 和 24 h。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Residence times of P0, P30, P60 and P100 are 0 h, 7.2 h, 14.4 h and 24 h, respectively.

图 2 为各处理组中海洋青鲈每周的日平均生长速率变化。从图中看, P_0 组的 SGR 在整个养殖期间最大, 远高于其他组, 表明该组的养殖环境条件最适宜于海洋青鲈生长。尽管在实验前 2 周

内, P_{30} 组的 SGR 低于 P_0 组, 高于 P_{60} 和 P_{100} 组($P<0.05$), 但在后 2 周内该组的 SGR 已与 P_{60} 组无显著差异($P>0.05$)。第 4 周时, P_{100} 组的 SGR 有快速下降的趋势。

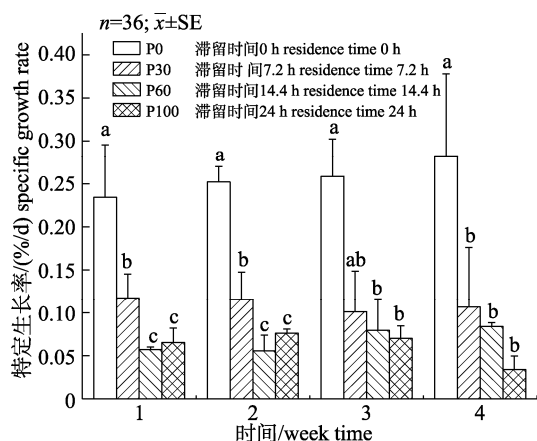
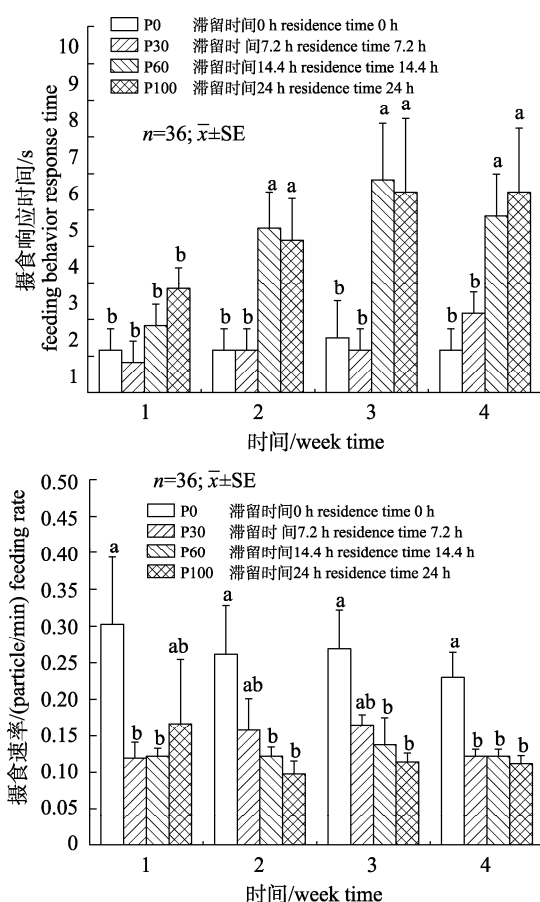


图 2 在养殖容器角部区域滞留不同时间处理组中海洋青鳉的特定生长率变化
不同小写字母表示同一时间不同处理组间存在显著性差异 ($P<0.05$).

Fig. 2 Variation of specific growth rate of *Oryzias melastigma* in different corner region residence time treatment groups
Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).



2.3 摄食行为比较

从对饲料的响应时间、一次饱食的摄食次数、稳定的摄食速率以及摄食效率等 4 个参数分析与比较各处理组中的海洋青鳉的摄食行为表现, 结果见图 3。

在响应时间上, 第 1 周各处理组间的差异不显著。第 2 周时, P0 和 P30 处理组内海洋青鳉依然保持快速响应, 表现出旺盛的食欲; 而 P60 和 P100 组的响应时间显著增加 ($P<0.05$), 并于第 3 周时与 P0 和 P30 组呈现显著差异 ($P<0.05$), 此时 P0 与 P30 组差异不显著 ($P>0.05$)。

在摄食次数上, P60 和 P100 组的摄食次数明显小于 P0 和 P30 组, 表明 P60 与 P100 组内海洋青鳉食欲不强, 稍许进食即饱腹。P30 组从第 3 周开始, 摄食次数明显下降, 到第 4 周时与 P60

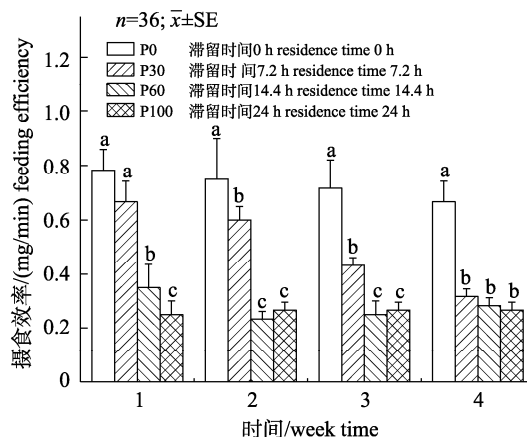
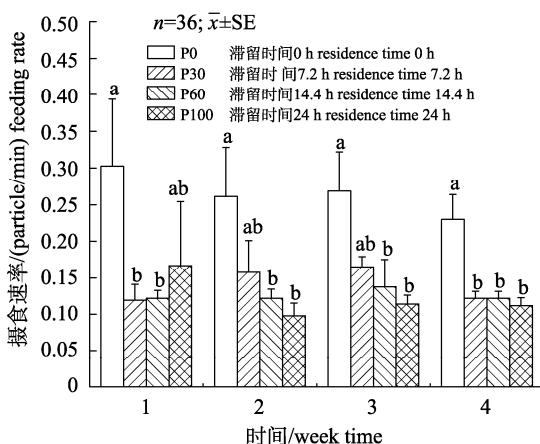
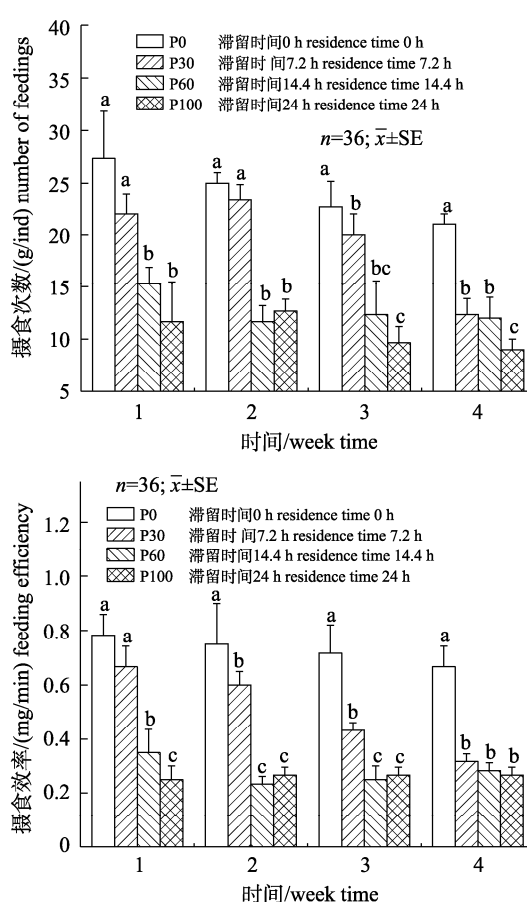


图 3 在养殖容器角部区域滞留不同时间处理组中海洋青鳉的摄食行为参数比较
不同小写字母表示同一时间不同处理组间存在显著性差异 ($P<0.05$).

Fig. 3 Comparison of feeding behavior parameters of *Oryzias melastigma* in different corner region residence time treatment groups
Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

组间差异不显著($P>0.05$); 同时, P100 组于第 3 周时也进一步降低, 显著低于 P60 组($P<0.05$)并保持到实验结束。在摄食速率上, 同样反映出各组海洋青鳉的食欲。除 P0 组始终保持较强进食速率外, 剩余 3 组的变化趋势与摄食次数类似, 摄食速率均较低, 差异不显著。在摄食效率上, 海洋青鳉的食欲得到进一步体现。其中, P0 组最高, P100 组最低, P30 和 P60 组随着养殖时间的延长, 逐渐下降, 最终在实验结束时降至与 P100 组相近。

2.4 抗胁迫能力比较

在实验的第 2 周(14 d)和第 4 周(28 d), 取样分析了各处理组中海洋青鳉体内的 MDA 含量及 CAT 和 GSH 活性, 结果见图 4。

肝脏中的 MDA 含量整体呈现随角部区域滞留时间增加而升高的趋势, 其中 P0 组含量最低、

P100 组含量最高。第 2 周时, P30 组和 P60 组 MDA 含量无显著差异($P>0.05$), 分别与 P0 和 P100 组存在显著性差异($P<0.05$), 含量介于 P0 与 P100 组之间; 第 4 周时, P30 组和 P60 组出现显著性差异($P<0.05$), P60 组鱼体中的 MDA 含量升高, 达到了 P100 组的水平。

CAT 和 GSH 活性变化与 MDA 含量变化相似。P0 与 P30 组活性较低, P100 组活性最高。P60 组活性介于其间, 且随着养殖时间的延长, CAT 和 GSH 活性均呈显著性上升($P<0.05$)。其中, GSH 活性在第 4 周升高至 P100 组水平。表明海洋青鳉位于中央区域时受到的胁迫较低, 位于角部区域时受到的胁迫较高。此外, 随着在角部区域滞留时间延长, 水质环境胁迫造成的影响将与 P100 组相近。

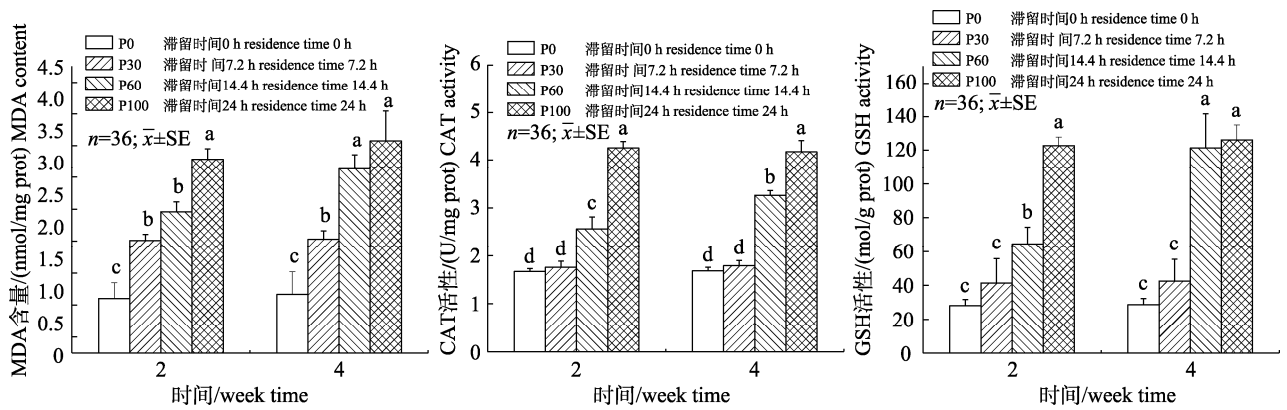


图 4 第 2 和 4 周时养殖容器角部区域滞留不同时间处理组中海洋青鳉肝脏组织内的 MDA 含量和 CAT、GSH 活性的比较
不同字母示同一时间不同处理组间差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 4 Comparison of MDA content, CAT and GSH activity in the liver tissue of *Oryzias melastigma* in different corner region area residence time treatment groups at 2 and 4 weeks
Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 养殖过程中不同区域水质存在差异

通过观测养殖容器中的实时水流流场, 发现容器角部区域与中央区域的水流速度存在差异。由于角部区域受到容器形状、水流的涡旋结构及容器壁的摩擦等因素影响^[13-14,17,20], 水流速度更缓慢, 更易造成养殖废物在此区域的积蓄和降解^[14,21], 从而导致角部区域水质劣于中央区域, 并形成养

殖系统中的水质梯度差异^[22-23]。同时, 通过养殖过程中角部区域和中央区域的水质变化与比较(表 1)可以看出, 即使在放养密度不大、换水强度较低以及各项水质指标数值都在养殖要求许可的范围内的情况下, 这种水质差异影响依然存在, 并对海洋青鳉的生长、摄食情况和抗胁迫能力造成影响。实际生产中, 随着养殖容器体积的增大, 生物在同一养殖池内的不同水质区域间移动, 或多或少会遭受水质差异胁迫, 这将影响到养殖生

物的生长、性腺发育以及抗病能力等问题^[24-25]。并可能最终反映到养殖产量和产品质量上。因此,这种在许可范围内的水质差异实际存在于当前水产养殖产业中,但关注相对比较少。综上所述,建议在养殖池设计时应考虑容器形状、充气设备的安装位置和容器底壁摩擦等因素,缩小由流场引起的水质不均一区域。此外在养殖过程中,除监测养殖池整体水质状况外,还需要注意边角区域水质变化情况,及时进行清理和充氧,降低水质梯度差异。

3.2 不同水质区域滞留时间对海洋青鲈摄食和生长的影响

行为是生物对于内外环境的直接反应,被认为是量化鱼类福利的一个良好指标^[26],其中摄食行为对于量化水产养殖环境中的鱼类福利尤为重要^[27]。同时,从能量角度考虑,摄食状况的好坏,也能直观体现鱼类的生长状况^[28-29]。本研究分别从摄食次数、摄食效率、摄食速率和摄食响应时间 4 个参数,综合分析并评估了不同水质区域滞留时间长短对海洋青鲈摄食(能量摄入)的影响。结果表明,海洋青鲈滞留在角部区域的时间越短,其摄食行为受到的负面影响越小,从而有效摄食量越大,生长系数越高,这与生长结果一致。Houlihan 等^[30]发现,在疲劳范围内保持游动状态的彩虹鱼(*Salmo gairdneri*),其蛋白质的生物合成率比对照组更高,生长速度约为对照组的两倍。本实验中,位于中央区域的海洋青鲈的摄食行为表现活跃,摄食速率和摄食量增加,摄入的能量相应增多,进一步促进了生长。另一方面,Cheng 等^[31]研究发现养殖水箱内氨氮的浓度与流速成反比,水流流速越高,上层水域中的氨氮浓度越低。本研究中(表 1),随着中央区域的沉积物受到更高流速的扰动,更多的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 被释放到中央水域中,并将更多的氧气引入沉积物中以氧化 $\text{NH}_3\text{-N}$,因此实验第 4 周时中央区域 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度相较于第 1 周仅增加约 0.0009 mg/L。而位于角部区域的沉积物始终处于低流速状态,产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 得不到有效挥发,使得角部区域的氨氮浓度增加,实验第 4 周时角部区域 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度从实验第 1 周

仅为 0.0026 mg/L 增加至 0.0072 mg/L,角部区域水质梯度增大,进而影响到鱼体。由此可见,养殖系统内水质均匀性越好,生物表现可能越活跃,生长越快;水质差异越大,生物生长越受负面影响。水质不均匀的养殖系统内,随着时间积累,养殖生物的生长差异化可能会越来越大。

3.3 不同水质区域滞留时间对海洋青鲈抗胁迫能力的影响

鱼类的生长状态与应激反应也密切相关^[32]。当鱼类面临环境变化时,与新陈代谢、血液学和免疫相关的酶活性是反映鱼体抗胁迫能力的良好指标之一。过氧化氢酶(CAT)作为主要的抗氧化酶类之一,参与动物体液免疫,其酶活力与机体的抗氧化或健康状态密切联系^[33-34]。还原型谷胱甘肽(GSH)作为机体最重要的非酶性抗氧化物,参与机体自由基清除,促进细胞生长^[35-36]。丙二醛(MDA)反映机体内脂质过氧化程度,间接反映出细胞损伤程度。这些酶类的活性变化在肝脏表现最为敏感^[37-38]。

本研究中,各处理组的 MDA 含量反映了海洋青鲈肝脏细胞的损伤程度。P100 组青鲈的肝脏损伤情况最高,CAT 和 GSH 的活性也远高于其他组。这表明长期处于角部环境中,水质微差异的胁迫能够导致鱼体内更多的能量被用于修复鱼体内受损肝细胞和清除自由基。但由于水质指标均在许可范围内,因此仅造成生长减缓,并未造成养殖生物死亡现象的发生,这也可能是该问题容易被忽略的原因。P60 与 P30 组的 MDA 变化相似,表明两组处理中鱼的肝脏细胞受损程度相近;而 CAT 和 GSH 活性值在两组间却存在显著性差异,表明海洋青鲈在角部区域滞留的时间越长,对其抗胁迫能力和免疫能力的影响就越大。一般认为,GSH 与 CAT 协同清除体内的氧自由基^[39],二者之间存在浓度互补作用^[38,40]。当生物体受到轻度逆境胁迫时,抗氧化相关的酶活力往往升高;而当受到重度逆境胁迫时,则酶活力通常降低,使生物体内积累过量的活性氧,从而导致生物体的氧化损伤,抗逆抗病能力下降^[41-43],进而产生不可逆影响。本养殖系统内水质的数值范围符合相

关要求, 虽然没有产生不可逆影响, 但是随着养殖时间延长, 负影响可能将进一步增加。因此, 水质不均匀的养殖系统内, 水质的微差异变化对养殖生物个体的胁迫差异不同, 可能导致养殖生物个体的抗逆抗病能力不同, 部分个体更易患病。

参考文献:

- [1] Wang L, Liu M, Wang B J, et al. Studies on evaluation method of microbial preparation used for environment improvement[J]. Marine Sciences, 2009, 33(5): 6-10. [王雷, 刘梅, 王宝杰, 等. 用于养殖环境调控的微生物制剂评价方法的研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(5): 6-10.]
- [2] Ge X P, Miao L H, Sun S M, et al. Study and exploration on the regulation of aquaculture environment with aquatic feed[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2014, 4(4): 1-6. [戈贤平, 缪凌鸿, 孙盛明, 等. 水产饲料对养殖环境调控的研究与探索[J]. 中国渔业质量与标准, 2014, 4(4): 1-6.]
- [3] Peng C C, Li Z J, Cao Y C, et al. A review of water environment regulation by planktonic microalgae in shrimp ponds[J]. South China Fisheries Science, 2010, 6(5): 74-80. [彭聪聪, 李卓佳, 曹煜成, 等. 虾池浮游微藻与养殖水环境调控的研究概况[J]. 南方水产, 2010, 6(5): 74-80.]
- [4] Ryer C H, Olla B L. Growth depensation and aggression in laboratory reared coho salmon: The effect of food distribution and ration size[J]. Journal of Fish Biology, 1996, 48(4): 686-694.
- [5] Wang Y. Influences of ration level and initial body weight on growth and size hierarchy of hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(2): 237-240. [王岩. 食物水平和初始体重对杂交罗非鱼生长和个体生长分化的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(2): 237-240.]
- [6] Aguilera-Rivera D, Prieto-Davó A, Rodríguez-Fuentes G, et al. A vibriosis outbreak in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc and clear seawater[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2019, 167: 107246.
- [7] Situmorang M L, Suantika G, Santoso M, et al. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) improves nursery-phase Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* defense against vibriosis[J]. North American Journal of Aquaculture, 2020, 82(1): 108-114.
- [8] Anirudhan A, Okomoda V T, Mimi Iryani M T, et al. *Pandanus tectorius* fruit extract promotes Hsp70 accumulation, immune-related genes expression and *Vibrio parahaemolyticus* tolerance in the white-leg shrimp *Penaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2021, 109: 97-105.
- [9] Wu X G, Cheng Y X, Zeng C S, et al. Reproductive performance and offspring quality of wild-caught and pond-reared swimming crab *Portunus trituberculatus* brood-stock[J]. Aquaculture, 2010, 301(1-4): 78-84.
- [10] Ellis T, North B, Scott A P, et al. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout[J]. Journal of Fish Biology, 2002, 61(3): 493-531.
- [11] Sundh H, Finne-Fridell F, Ellis T, et al. Reduced water quality associated with higher stocking density disturbs the intestinal barrier functions of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture, 2019, 512: 734356.
- [12] Colson V, Mure A, Valotaire C, et al. A novel emotional and cognitive approach to welfare phenotyping in rainbow trout exposed to poor water quality[J]. Applied Animal Behaviour Science, 2019, 210: 103-112.
- [13] Aung Naing Win, Yamazaki W, Hasegawa T, et al. Effect of tank shape on survival and growth of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* larvae[J]. Aquaculture, 2020, 524: 735283.
- [14] Oca J, Masaló I. Design criteria for rotating flow cells in rectangular aquaculture tanks[J]. Aquacultural Engineering, 2007, 36(1): 36-44.
- [15] Chen X Y, Shao T Y, Long X H. Evaluation of the effects of different stocking densities on the sediment microbial community of juvenile hybrid grouper (♀*Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*) in recirculating aquaculture systems[J]. PLoS ONE, 2018, 13(12): e0208544.
- [16] van Khoi L, Fotadar R. Effects of stocking density on the nutrient budget and growth of the western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye) in a recirculating aquaculture system[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(10): e624-e633.
- [17] Sakakura Y, Yamazaki W, Takakuwa Y, et al. Flow field control in marine fish larviculture tanks: Lessons from groupers and bluefin tuna in Japan[J]. Aquaculture, 2019, 498: 513-521.
- [18] Sumida T, Kawahara H, Shiotani S, et al. Observations of flow patterns in a model of a marine fish larvae rearing tank[J]. Aquacultural Engineering, 2013, 57: 24-31.
- [19] Wang R P, Dai L L, Chen Y F, et al. Effects of short-term temperature or salinity stress on feeding behavior and antioxidant of marine medaka (*Oryzias melastigma*)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2019, 50(2): 378-387. [王润萍, 戴铃灵, 陈雅飞, 等. 短期温度、盐度胁迫对海洋青鳉鱼 (*Oryzias melastigma*) 摄食行为及抗氧化的影响[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(2): 378-387.]
- [20] Sakakura Y, Shiotani S, Chuda H, et al. Improvement of the survival in the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*

- ciatus* larvae by optimizing aeration and water inlet in the mass-scale rearing tank[J]. *Fisheries Science*, 2006, 72(5): 939-947.
- [21] Takakuwa Y, Yamazaki W, Sumida T. Bubbly flow simulation for clarification of flow field in larval fish rearing tank[J]. *The Proceedings of Conference of Hokuriku-Shinetsu Branch*, 2017, 2017.54: H012.
- [22] Watten B J, Beck L T. Comparative hydraulics of a rectangular cross-flow rearing unit[J]. *Aquacultural Engineering*, 1987, 6(2): 127-140.
- [23] Nakagawa Y, Kurata M, Sawada Y, et al. Enhancement of survival rate of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) larvae by aeration control in rearing tank[J]. *Aquatic Living Resources*, 2011, 24(4): 403-410.
- [24] Liu W, Zhuge Y S, Ouyang L, et al. Experimental study of the effect of hydrodynamic conditions on fish growth[J]. *Advances in Water Science*, 2009, 20(6): 812-817. [刘稳, 诸葛亦斯, 欧阳丽, 等. 水动力学条件对鱼类生长影响的试验研究[J]. *水科学进展*, 2009, 20(6): 812-817.]
- [25] Flodmark L E W, Völlestad L A, Forseth T. Performance of juvenile brown trout exposed to fluctuating water level and temperature[J]. *Journal of Fish Biology*, 2004, 65(2): 460-470.
- [26] Martins C I M, Galhardo L, Noble C, et al. Behavioural indicators of welfare in farmed fish[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(1): 17-41.
- [27] Alfonso S, Sadoul B, Cousin X, et al. Spatial distribution and activity patterns as welfare indicators in response to water quality changes in European Sea bass, *Dicentrarchus labrax*[J]. *Applied Animal Behaviour Science*, 2020, 226: 104974.
- [28] Cooke S J, Chandroo K P, Beddow T A, et al. Swimming activity and energetic expenditure of captive rainbow trout-*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) estimated by electromyogram telemetry[J]. *Aquaculture Research*, 2000, 31(6): 495-505.
- [29] Nelson J A. Oxygen consumption rate v. rate of energy utilization of fishes: A comparison and brief history of the two measurements[J]. *Journal of Fish Biology*, 2016, 88(1): 10-25.
- [30] Houlihan D F, Laurent P. Effects of exercise training on the performance, growth, and protein turnover of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1987, 44(9): 1614-1621.
- [31] Cheng X J, Zhu D T, Wang X X, et al. Effects of nonaerated circulation water velocity on nutrient release from aquaculture pond sediments[J]. *Water*, 2016, 9(1): 6.
- [32] Prunet P, Øverli Ø, Dourfils J, et al. Fish welfare and genomics[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(1): 43-60.
- [33] Bian P J, Qiu C G, Xu S L, et al. Effects of salinity on growth, activity of non-specific immune and antioxidant enzymes in obscure puffer takifugu obscures[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(1): 108-114. [边平江, 邱成功, 徐善良, 等. 盐度对暗纹东方鲀生长、非特异性免疫和抗氧化酶活力的影响[J]. *水生生物学报*, 2014, 38(1): 108-114.]
- [34] Kong Y D, Li M, Chu G S, et al. The positive effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria on *Channa argus*: Digestive enzyme activity, antioxidant capacity, intestinal microbiota and morphology[J]. *Aquaculture*, 2021, 531: 735852.
- [35] Nam S E, Haque M N, Shin Y K, et al. Constant and intermittent hypoxia modulates immunity, oxidative status, and blood components of red seabream and increases its susceptibility to the acute toxicity of red tide dinoflagellate[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 105: 286-296.
- [36] Han S Y, Wang M Q, Liu M, et al. Comparative sensitivity of the hepatopancreas and midgut in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* to oxidative stress under cyclic serious/medium hypoxia[J]. *Aquaculture*, 2018, 490: 44-52.
- [37] Yang J W, Zhou Y G, Huang M, et al. Comparative studies on digestive and antioxidant enzyme activities between juvenile rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) and steelhead trout (*O. mykiss*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2019, 49(3): 119-128. [杨静雯, 周演根, 黄铭, 等. 盐度对虹鳟和硬头鳟幼鱼消化酶和抗氧化酶活性的比较研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(3): 119-128.]
- [38] Yin F, Sun P, Peng S M, et al. Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APTase activities in its gill and kidney[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 1059-1066. [尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐胁迫对银鲈幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1059-1066.]
- [39] Xiong H L, Jiang Z Y, Zhang R X, et al. Effects of enrofloxacin hydrochloride on activities of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in liver of juvenile hybrid sturgeon[J]. *Fisheries Science*, 2017, 36(5): 601-605. [熊铎龙, 蒋左玉, 张儒学, 等. 盐酸恩诺沙星对杂交鲟幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. *水产科学*, 2017, 36(5): 601-605.]
- [40] Jia X Q, Zhang H Y, Wang L, et al. Effect of hypoxia stress on the antioxidant enzyme and ATP enzyme activity in tissues of *Odontobutis potamophila*[J]. *Marine Fisheries*, 2017, 39(3): 306-313. [贾秀琪, 张宏叶, 王丽, 等. 低氧胁迫

- 迫对河川沙塘鳢抗氧化酶及 ATP 酶活性的影响[J]. 海洋渔业, 2017, 39(3): 306-313.]
- [41] Tang X X, Zhang P Y. Effects of anthracene on activity of superoxide dismutase in *Sebastes fuscescens*[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(3): 217-220. [唐学玺, 张培玉. 蒽对黑鱼君超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 217-220.]
- [42] Jin M H, Feng Z W, Zhang F Z. Effects of ozone on membrane lipid peroxidation and antioxidant system of rice leaves[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2000, 21(3): 1-5. [金明红, 冯宗炜, 张福珠. 臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2000, 21(3): 1-5.]
- [43] Yi L B, Ma T W, Peng Q J. Effects of NaVO₃ on hepatic antioxidant activities in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)[J]. Journal of Environment and Health, 2012, 29(3): 225-228. [易浪波, 马陶武, 彭清静. 钒酸钠对日本青鳉肝脏抗氧化酶活力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2012, 29(3): 225-228.]

Effects of different residence time in different water quality regions of aquaculture systems on feeding behavior, stress tolerance, and growth of *Oryzias melastigma*

LU Jun¹, CHEN Lizhi^{1,2}, BO Yang¹, WANG Yongshuai¹, XU Yongjian^{1,2}

1. School of Marine Sciences, Ningbo University; Key Lab of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo 315832, China;

2. Sanmen County Aquatic Technology Promotion Station, Sanmen 317100, China

Abstract: This study investigated the effects of different residence time in different water quality regions in aquaculture systems on the growth, feeding behavior and stress resistance of marine medaka (*Oryzias melastigma*). The culture system was divided into a central area and a corner area, and four time gradients were set for the retention of marine medaka in the corner area, which were 24 h, 14.4 h, 7.2 h, and 0 h, respectively. That is, they account for 100% (P100), 60% (P60), 30% (P30), and 0% (P0) of a whole day (24 h). The water quality differences in different flow fields were analyzed, and then the growth, feeding behavior and stress resistance of marine medaka were compared in different flow fields. The results showed that in the 28-day culture experiment, although the water quality indicators such as dissolved oxygen (DO), pH, nitrite (NO₂-N) and non-ionic ammonia (NH₃-N) in the central area and corner area all met the requirements of the national fishery water quality standard (GB11607- 89), with the extension of the culture time, the water quality in the corner area of the culture container gradually got worse than that in the central area. The body length and body weight of marine medaka in all treatment groups increased, but the growth differences among the treatment groups were significant (P0>P30>P60=P100) ($P<0.05$). With the increase of fish residence time in the corner of the aquarium, its growth rate decreased gradually, feeding efficiency decreased, and stress resistance (MDA content, GSH and CAT activities increased) decreased ($P<0.05$). In conclusion, slight differences in water quality in aquaculture systems can affect the feeding behavior, stress resistance and growth rate of marine medaka. Therefore, when analyzing the quality of aquaculture water, it is not only required that the water quality comply with the relevant regulations of the state and the industry, but also that the water quality in the aquaculture system should be well uniform.

Key words: aquaculture system; water uniformity; growth; feeding behavior; environmental stress; *Oryzias melastigma*;

Corresponding author: XU Yongjian. E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn