

DOI: 10.12264/JFSC2024-0318

管海马和海水青鳉昼夜行为节律的分析与比较

李加伟, 林芃宏, 徐永健

宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315832

摘要: 为探究不同鱼类昼夜行为节律差异及其变化规律, 提升人工养殖技术, 本研究分析比较了管海马和海水青鳉在人工养殖条件下的昼夜行为节律。结果表明: 在光强 2000 lx、温度(25±1) °C、盐度(25±0.5)及光周期 14L:10D 的条件下, 管海马和海水青鳉的行为节律均表现出昼强夜弱。管海马在 08:00—10:00 间活动节律最强, 行为组成最丰富。其中, 宏观行为组成包括游动占比(47.40±1.10)%、爬行(3.00±0.60)%、移动(4.80±0.70)%以及摆动(32.50±2.10)%和静止(12.30±0.80)%等; 细微行为组成包括: 鳃盖运动(38.77±1.14)次/min、吻盖运动(38.77±1.14)次/min、眼球运动(108.50±5.52)次/min、背鳍运动(116.87±0.64)次/min 和胸鳍运动(67.81±2.27)次/min。次强节律时间段为 12:00—14:00, 主要为摆动行为, 占比为(59.20%±5.10)%。海水青鳉也在 08:00—10:00 时间段有最强烈的活动节律, 其中, 游动占比(88.0%±1.10)%、鳃盖运动(407.88±3.80)次/min、颌运动(407.88±3.80)次/min、眼球运动(7.38±0.90)次/min、背鳍运动(373.17±2.50)次/min、胸鳍运动(400.83±6.80)次/min、尾鳍运动(416.58±7.70)次/min。因此, 不管是管海马还是海水青鳉, 作为视觉性鱼类, 均存在明显的昼夜行为节律表现。其中, 8:00—10:00 时间段是两种鱼类行为的活跃期, 活动节律强、行为组成丰富, 因此可以选择该时间段作为相关行为学研究的适宜观察时段。

关键词: 管海马; 海水青鳉; 昼夜节律; 活动节律; 行为组成

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)03-0321-12

昼夜节律是自然界可预测的周期变化规律, 持续时间约为 24 h。生物适应这种周期变化产生了昼夜活动的节律。行为节律是其中重要的表现形式之一, 且在不同物种之间存在差异^[1]。节律差异主要体现在不同时间段的行为表现上^[2], 由中枢的一系列生物钟基因调控^[3]。如, 鱼类的昼夜活动节律受到光照和温度等影响^[4], 其控制系统位于鱼类大脑松果体中, 能感知光线变化, 调节体内激素水平, 从而影响行为节律。当在黑暗环境中, 鱼体内的褪黑素分泌增加, 促进了休息和睡眠^[5]。此外, 除温度和光照外, 年龄也影响鱼类的昼夜活动节律^[3], 如有研究发现低龄斑马鱼(*Danio rerio*)存在正常的昼夜活动节律, 而高龄鱼白天和夜间的游泳行为参数差异不明显^[6]。还有研究发现斑马鱼昼夜节律调节机制与其他脊椎

动物有相似之处, 因此常把斑马鱼作为行为研究的模式生物^[3]。海水青鳉(*Oryzias melastigma*)被誉为海水中的斑马鱼^[7], 研究其行为节律, 并与其他养殖鱼类如管海马(*Hippocampus kuda*)作比较, 对于深入了解新兴养殖对象生物学特征有重要的意义。

水生生物昼夜节律研究, 当前主要集中在活跃度、运动距离、摄食活动等整体及综合性行为上^[8], 包括有毒物质暴露的影响研究^[9], 如, 镉扰乱 *clock1b*、*clock2* 和 *cry1b* 的正常表达进而引起昼夜节律的紊乱^[10-12]。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的运动活动呈现出明显的昼夜节律, 在正常的光周期条件下, 它们在白天表现出相对较高的活动水平, 而在夜间活动水平则明显降低^[3]。Garcia 等^[13]研究发现养殖鲍氏海马(*Hippocampus barbourin*)夜间时的活动强度相较于白天下降, 主

收稿日期: 2024-11-05; 修订日期: 2025-01-14.

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).

作者简介: 李加伟(2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类行为与行为生态学应用. E-mail: 3140556259@qq.com

通信作者: 徐永健, 教授, 研究方向为精准养殖技术研究. E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn

要体现在游泳速度下降。Ueda 等^[14]研究发现青鳉白天的活跃度显著高于夜间。除了鱼类外,其他水生生物的昼夜节律也有报道。如, Strauss 等^[15]研究发现清洁虾(*Lysmata amboinensis*)白天活动比例比夜间活动比例更强。Mat 等^[16]研究了光周期为 12L:12D 和连续黑暗时牡蛎(*Crassostrea gigas*)的昼夜活动节律,发现牡蛎最活跃的时间段为第 20 h 到第 28 h 之间。Gray 等^[17]研究了刺参(*Stichopus cf. monotuberculatus*)昼夜活动节律的影响,并发现白天运动路程小于夜间的运动路程。摄食节律是其中的研究重点,通过研究掌握合理的投饵时间和投喂量,以达到更好的养殖效果^[18]。关于海马也有一些研究,主要涉及光强影响,如,人工养殖条件下管海马在早上 6 点到中午 12 点之间摄食量不断增加,在中午达到摄食最高峰^[13]。Faleiro 等^[19]研究长吻海马(*Hippocampus reidi*)的昼夜摄食节律发现摄食活动主要集中在白天。也有例外,直立海马(*Hippocampus erectus*)的昼夜摄食量没有显著差异^[20]。另外,斑马鱼白天更喜欢在养殖系统的顶部活动,夜间则偏爱在养殖系统底部活动^[5]。从上述研究结果看,影响鱼类昼夜节律的机制是复杂的,有必要先搞清楚鱼类正常的昼夜行为节律,进而分析其他环境因素的影响。

本研究主要针对管海马和海水青鳉宏观行为和细微行为的组成与变化进行研究来评估他们的昼夜行为节律。宏观行为是指整体和综合视角下的行为,而细微行为则是局部视角下的行为。目前针对鱼类的行为研究主要集中在宏观行为上,对细微行为变化研究不足,不能充分反映环境因素的影响,尤其是快速或小梯度变化对养殖生物的影响。本研究将总结管海马和海水青鳉正常昼夜节律规律,比较两种鱼宏观行为和细微行为的异同,旨在为两种鱼类节律行为的研究提供技术支持,也为优化鱼类行为学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用管海马和海水青鳉均自繁自养于宁波大学海洋学院中试基地。管海马平均体长为(12.75±0.23) cm,平均体重为(4.5±0.21) g;海水

青鳉平均体长为(2.48±0.04) cm,平均体重为(0.25±0.01) g。选择用于试验的鱼雌雄比例都为 1:1。养殖与试验条件为:温度 25±1 ℃,盐度 25±1 (由海水晶盐加自来水配制而成),光强 2000 lx,光周期 14L:10D,光照时间从 6:00 到 20:00。每日 8 点,管海马投喂冰冻糠虾,海水青鳉投喂颗粒饲料,1 天 1 次,投喂量约为体重的 5%。投喂后 4 h,进行吸污和换水,换水量 30%~40%。

1.2 实验方法

1.2.1 行为观察 本试验主要观察人工养殖条件下的节律行为,以非原位拍摄为主,因为养殖容器太大难以聚焦以及生物的标记等问题,我们采用模拟方法进行拍摄。

海马的拍摄容器为白玻水族缸,尺寸为 26 cm×17 cm×19 cm,内投放缠绕物(直径 0.5 cm、高为 20 cm 白色带吸盘塑料杆)。将 2 台摄像机(松下 vx1,日本)置于拍摄容器正前方及正上方并调整到合适的位置。所有行为都于喂食后(早上 8 点投喂)进行,并持续 24 h,即从早上 9 点拍摄到次日 9 点。拍摄前随机选取活力强、身体健康的海马转移到拍摄容器中,先在其中适应 24 h 至拍摄时间,然后再进行试验。整个拍摄期间拍摄容器内不换水,不充气,其他条件都与暂养时相同。每次拍摄 1 尾海马,共拍摄 6 尾管海马。海水青鳉的拍摄容器尺寸为 10 cm×10 cm×10 cm 白玻水族缸。不放缠绕物,其他实验条件与海马相同,共拍摄 6 尾海水青鳉。

1.2.2 主要行为参数设定 宏观行为包含活动和休息两个方面,其中,活动包括游泳、爬行和移动等行为;休息包括静止和摆动等行为。所有行为参数依靠人工肉眼观看进行统计。

管海马和海水青鳉的行为参数及定义分别见表 1 和表 2。

1.3 数据分析

以 2 h 为单位,把 1 昼夜分成 12 个单位,统计各单位时间段内上述各种行为所占时间比例。按以下公式进行计算:

行为占比(%)=1 个单位时间内管海马或海水青鳉的某个行为的所占时间(h)/2 h×100%;

表 1 管海马的行为定义

Tab. 1 The behavioral definitions of *Hippocampus kuda*

行为参数 behavioral parameter		行为定义 behavior definition
宏观行为 macroscopic behavior	游动 swim	整体脱离缠绕物处于水体中, 背鳍和胸鳍不停摆动共同驱使身体移动 the whole body is detached from the holdfast in the water , and the dorsal and pectoral fins are constantly moving to drive the body swimming
	静止 rest	尾部固定或不固定在缠绕物上, 身体不位移, 整体姿势始终保持不变 the tail is fixed or unfixed to the entanglement, the body is not displaced, and the overall posture remains unchanged
	爬行 crawl	腹部贴在池底, 依靠尾部和胸鳍摆动发生位移 the belly attach the bottom tank, rely on the tail and pectoral moving
	移动 move	整体脱离缠绕物, 未发生位移, 身体伴随背鳍和胸鳍的摆动进行活动 seahorse remains in the same place with the whole body detached from the holdfast and the body moved with dorsal and pectoral fins
	摆动 swing	尾部固定在缠绕物上并保持不动, 头和躯干在不同方向作位置移动 the tail fixed to the holdfast and remain rest, with head and body moving in different directions
细微行为 microcosmic behavior	鳃盖运动 gill operculum movement	单位时间内鳃盖一开一合的次数 the frequency of gill operculum movement per unit time
	眼球运动 eyeballs movement	单位时间内眼球运动的次数 the frequency of eyeball movement per unit time
	背鳍运动 dorsal fin movement	单位时间内背鳍摆动的次数 the frequency of dorsal fin movement per unit time
	胸鳍运动 pectoral fin movement	单位时间内胸鳍摆动的次数 the frequency of pectoral fin movement per unit time
	吻盖运动 jaws movement	单位时间内吻盖一开一合的次数 the frequency of jaws movement per unit time

表 2 海水青鲷的行为定义

Tab. 2 The behavioral definitions of marine medaka (*Oryzias melastigma*)

行为参数 behavioral parameter		行为定义 behavior definition
宏观行为 macroscopic behavior	游动 swim	依靠鳍的摆动进行位置移动 body moves by the movement of fins
	静止 rest	整个身体保持在同一位置, 未作任何位移 entire body remains in the same position without any displacement
细微行为 microcosmic behavior	鳃盖运动 gill operculum movement	单位时间内鳃盖一张一合的次数 the frequency of gill operculum movement per unit time
	眼球运动 eyeball movement	单位时间内眼球运动的次数 the frequency of eyeballs movement per unit time
	背鳍运动 dorsal fin movement	单位时间内背鳍摆动的次数 the frequency of dorsal fin movement per unit time
	胸鳍运动 pectoral fin movement	单位时间内胸鳍摆动的次数 the frequency of pectoral fin movement per unit time
	尾鳍运动 caudal fin movement	单位时间内尾鳍摆动的次数 the frequency of tail fin movement per unit time
	颌运动 jaw movement	单位时间内上下颌一开一合的次数 the frequency of jaws movement per unit time

位置偏好选择(%)=1 个单位时间内管海马或海水青鲷在容器内不同位置活动所占的时间(h)/2 h×100% (位置偏好分为底部偏好和顶部偏好, 底部为拍摄容器 1/2 以下的区域, 顶部为拍摄容器 1/2 以上的区域)。

实验数据使用 Excel 2021 软件进行整理, 使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 结果以(平均值±标准误差)表示, 对结果正态检验和方差齐性检验, 若符合正态分布和满足方差齐性, 则使用方差 (One-way ANOVA)检验不同时间单位内行为参数差异显著性, 使用 LSD 检验和邓肯 Duncan’s 检验

进行组间比较。利用 prime 9.5 软件画图。

2 结果与分析

2.1 昼夜节律中的宏观行为

2.1.1 行为占比分析 管海马和海水青鲷不同时间段行为占比如图 1 所示。结果表明, 尽管两种鱼类都是视觉性的, 但它们在宏观行为上的差异很大。管海马的活动时间主要集中在上午有光出现后的 6:00—12:00, 活动占比约在 40%~50%, 其余时间都处于休息状态。海水青鲷昼夜的每一时间段活动占比保持在 40%以上, 在 6:00—14:00 时

间段内活动占比大于 70%，在 8:00—10:00 时间段内活动占比达到 88%；相对的休息占比较小，仅

在凌晨前夕(2:00—6:00)及午后(14:00—16:00)略比活动占比高。

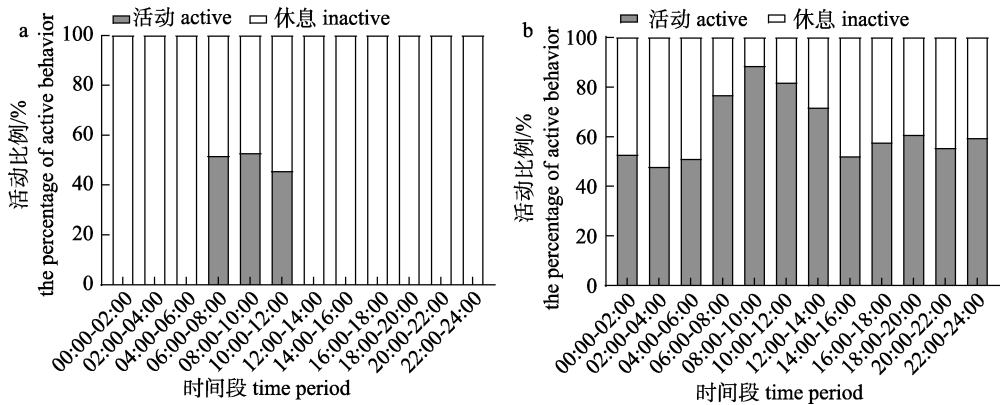


图 1 (a)管海马和(b)海水青鳉在不同时间段的活动与休息占比

Fig. 1 The percentages of active and inactive behaviors of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods

进一步分析了管海马在不同时间段的活动行为和休息行为。结果表明，管海马有相对明显的活动和休息行为(图 2)。无光照时，表现为全面的休息状态。该状态下，以静止行为为主，在所有行为中占比高达 90%以上；活动行为只有摆动，占比低于 10%，仅在开灯前的单位时段(4:00—6:00)，观察到海马的摆动行为占比有所增加。有光照时，海马的宏观行为组成比较丰富，在上述休息行为的基础上，出现了移动、爬行和游动等活动行为。这些行为主要出现在有光的上午时段(6:00—12:00)，各行占比分别为游动 35%~45%、爬行 1%~4%

和移动 2%~6%，总占比在 50%左右。在上午时段，海马的休息行为相对较少；其中，在 8:00—10:00 时段静止行为占比最小，仅 10%左右。随后，静止行为逐渐增加，到关灯前达 60%，到无光照时达 90%以上。此外，在午后时段，各活动行为均不再出现，休息行为中的摆动行为在有光照时大幅提高，占比达 40%~60% (图 2)。

2.1.2 位置偏好选择 管海马和海水青鳉不同时间段内在容器内的位置偏好性如图 3 所示。结果表明管海马主要以在缠绕物上附着为主，只有在进食阶段(6:00—12:00)才离开缠绕物，随着进食

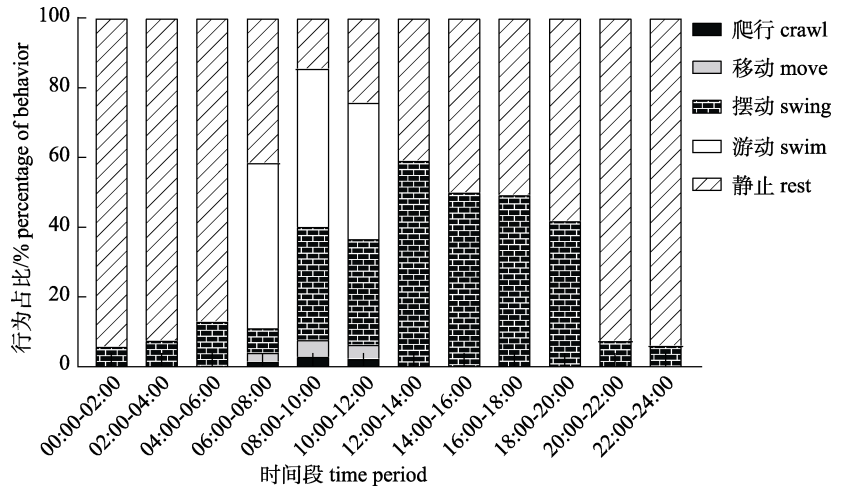


图 2 管海马在不同时间段的不同类型活动和休息的行为占比

Fig. 2 The percentages of active behavior (crawl, move and swim) and inactive behavior (swing and rest) of *Hippocampus kuda* in different periods

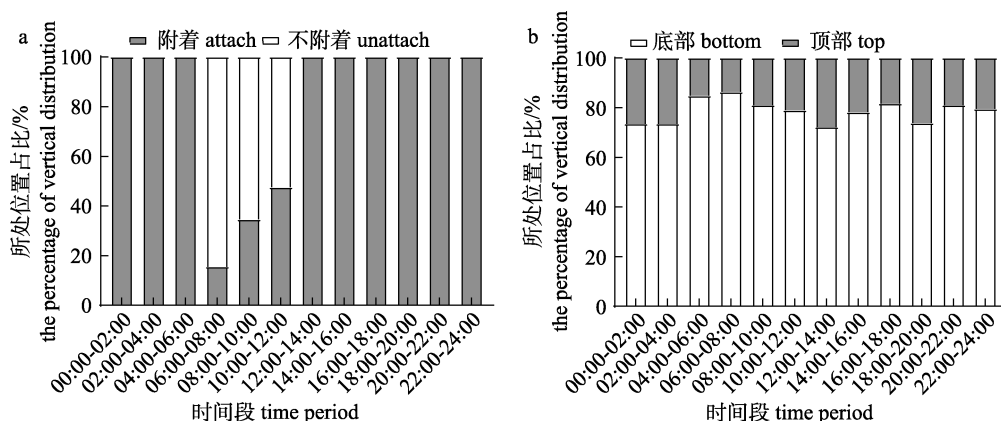


图3 (a)管海马和(b)海水青鲷在不同时间段位置偏好性的比较

Fig. 3 The comparison of position preferences of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods

的结束, 逐渐又附着在缠绕物上。而海水青鲷主要以底部活动为主, 在上部水层的活动时间占比较少。

2.2 昼夜节律中的细微行为

昼夜节律中的细微行为的组成有很多, 本研究重点关注包括头部(鳃盖、眼球、唇)及鳍的有关活动。

2.2.1 鳃盖运动 管海马和海水青鲷不同时间段

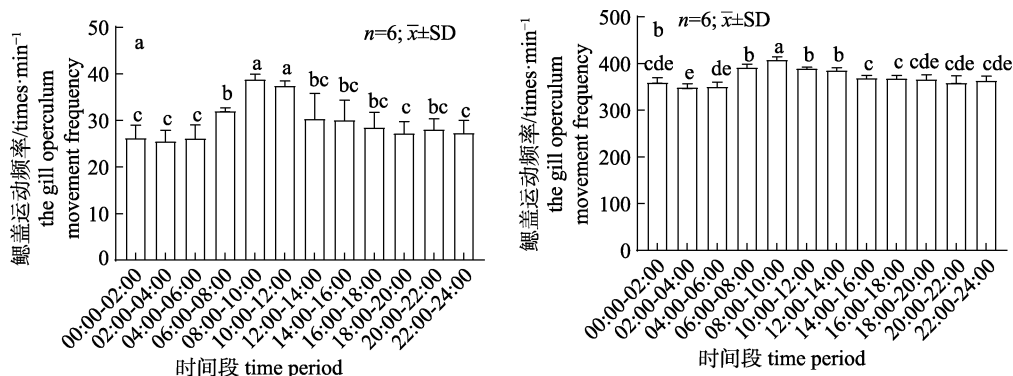


图4 (a)管海马和(b)海水青鲷在不同时间段的鳃盖运动频率

条形图上不同字母表示不同时间段间差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 4 The gill operculum movement frequencies of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods. Different letters above the columns of each panel indicate significant differences at the 0.05 confidence level ($P < 0.05$).

2.2.2 眼球运动 尽管管海马和海水青鲷都是视觉性的鱼类, 但二者的眼球运动频率差异很大, 管海马眼球运动最高超过 100 次/min, 而海水青鲷却不到 10 次/min (图 5)。此外, 管海马眼球运动较快的时间都集中在有光的时间段(6:00—20:00), 平均运动频率高于 70 次/min, 最高达 110.8 次/min; 其在暗环境中, 眼球运动相对较慢, 平均运动频率

的鳃盖运动频率变化如图 4 所示。结果表明, 管海马和海水青鲷的鳃盖运动与其宏观行为节律较为相近, 均呈现昼强夜弱的特征。强节律主要出现在开灯后的上午时段(6:00—12:00), 尤其是进食后期(8:00—10:00)阶段, 管海马达到其最大的 38.77 次/min, 海水青鲷超过 407.88 次/min。因此, 在相同的条件下, 海水青鲷的鳃盖运动频率远高于管海马。

低于 25 次/min (图 5a)。海水青鲷眼球运动较快的时间段也集中在有光照时段, 在时间段 8:00—12:00 最快, 平均运动频率大于 6 次/min, 最高为 7.38 次/min; 在 12:00—20:00 时间段眼球运动频率也较高, 与光照时段相近, 略高于暗时段中(图 5b)。整体上, 海水青鲷在光照时段和暗时段眼球运动的差异比管海马小。

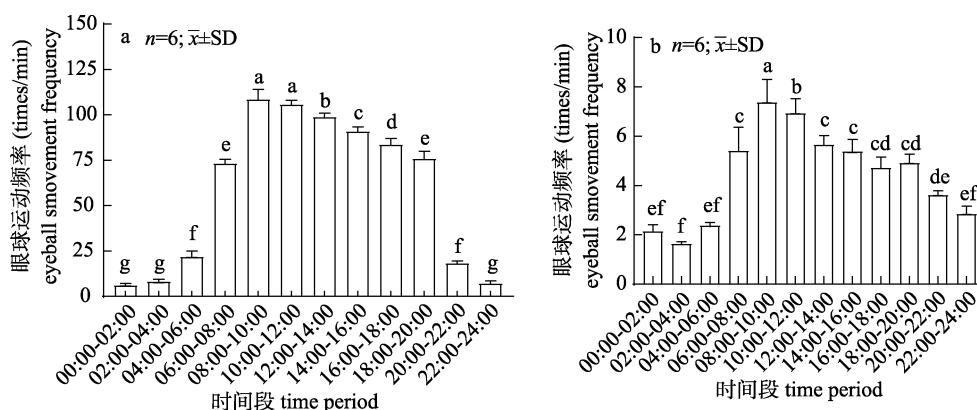


图 5 (a)管海马和(b)海水青鳉在不同时间段的眼球运动频率
不同字母表示不同时间段间差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 5 The eyeball movement frequencies of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods
Different letters above the columns of each panel indicate significant differences at the 0.05 confidence level ($P < 0.05$).

2.2.3 吻盖或颌的运动

管海马和海水青鳉不同时间段吻盖/颌的运动频率变化如图 6 所示。结果表明, 管海马吻盖的运动和海水青鳉上下颌的运动与其呼吸节律(鳃盖运动)较为接近, 且摄食时的运动频率大于非摄食时(图 6)。吻盖或颌的运动与其宏观行为节律较为相近, 均呈现昼强夜弱的特征。强节律主要出现在开灯后的上午时段(6:00—12:00), 尤其是进食后期(8:00—10:00), 管海马达到 38.77 次/min, 海水青鳉超过 407.88 次/min。因此, 在相同的条件下, 海水青鳉颌的运动频率远高于管海马。

2.2.4 鳍的运动 管海马和海水青鳉不同时间段各鳍的运动频率变化如图 7 所示。管海马的背鳍和胸鳍的运动主要集中在开灯后的上午时段(6:00—12:00)。在该时段内, 胸鳍运动频率平均在

75 次/min 以上, 背鳍运动频率平均在 50 次/min 以上; 二者最高值均出现在 8:00—10:00 时段, 胸鳍运动频率达 116.87 次/min, 背鳍运动频率达 67.81 次/min(图 7a)。而后, 管海马进入休息状态, 在其他的有光时段胸鳍和背鳍的运动频率都小于 10 次/min, 而在暗环境下未观察到胸鳍和背鳍的运动(图 7a)。海水青鳉在每一时段都有鳍(背鳍、胸鳍和尾鳍)的运动。其中, 胸鳍运动较快集中在 8:00—12:00 时段内, 平均频率为 390.58 次/min, 最快达 400.83 次/min; 背鳍运动较快集中在 6:00—12:00 时段, 平均频率为 352.25 次/min, 最快达 373.17 次/min; 尾鳍运动较快集中在 6:00—12:00, 平均频率为 403.64 次/min, 最快达 416.58 次/min(图 7b)。总之, 在相同条件下, 海水青鳉鳍的运动频率远高于管海马。

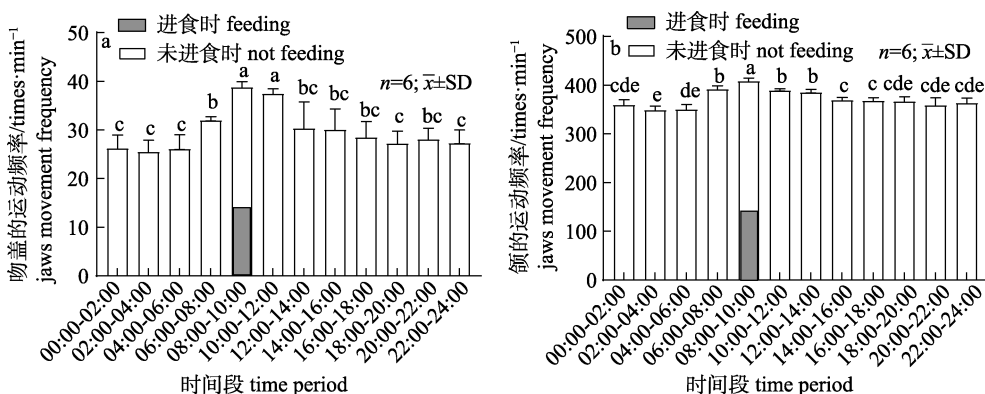


图 6 (a)管海马和(b)海水青鳉在不同时间段吻盖/颌的运动频率
不同字母表示不同时间段间差异显著($P < 0.05$)

Fig. 6 The jaws movement frequencies of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods
Different letters above the columns of each panel indicate significant differences at the 0.05 confidence level ($P < 0.05$).

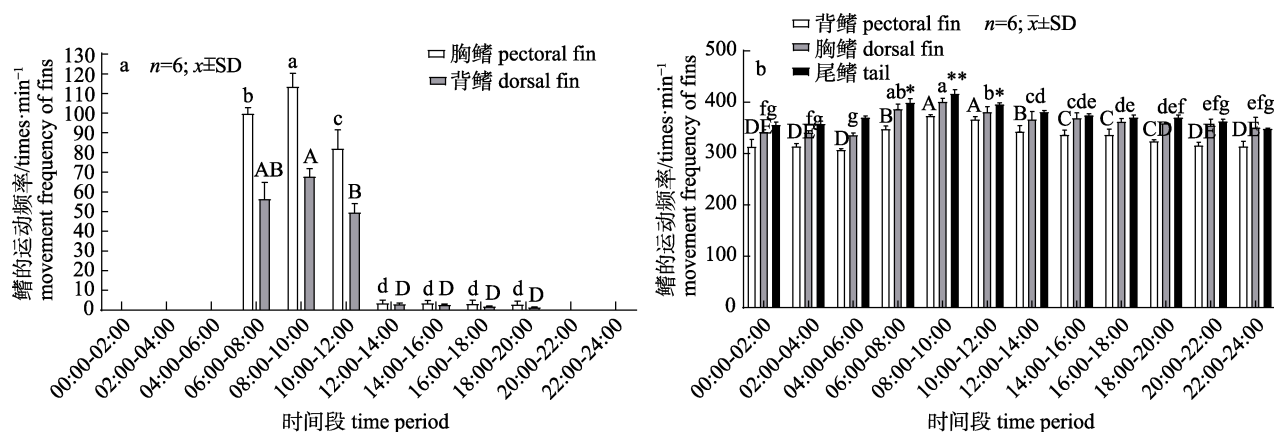


图7 (a)管海马和(b)海水青鳉在不同时间段鳍的运动频率

不同字母表示不同时间段间差异显著($P < 0.05$), *表示不同时间段下尾鳍运动差异显著($P < 0.05$), **表示差异极显著($P < 0.01$).

Fig. 7 The fins movement frequencies of (a) *Hippocampus kuda* and (b) *Oryzias melastigma* in different time periods. Different letters above the columns of each panel indicate significant differences at the 0.05 confidence level ($P < 0.05$), and * and ** represent significant ($P < 0.05$) and extremely significant ($P < 0.01$) difference between different time periods for tail beat frequency.

3 讨论

鱼类的昼夜节律活动与光照、温度等环境因素密切相关^[2]。人工养殖可以对环境条件进行有效地控制,尽管管海马与海水青鳉都是视觉性鱼类,但从试验结果看,两者间仍然存在许多不同之处。

3.1 宏观行为上的差异

不同于青鳉和其他鱼类,管海马的昼夜活动节律差异很大。白天相对活跃,夜晚活动会降低,说明管海马的活动受到光照的影响。其活动强度最大的时间段为 06:00—08:00 和 08:00—10:00。这与其他海马的活动节律相似,长吻海马^[19]夜间活动比例明显降低,而克尼斯纳海马(*Hippocampus capensis*)和怀氏海马(*Hippocampus whitei*)具有明显的昼夜节律,即白天比夜间更活跃,且上午 6:00—10:00 是活动的高峰期^[21-22]。这充分反映了海马是依靠视觉进行觅食鱼类,当夜间光线减弱时,视觉能力下降,活动强度降低,甚至停止活动。而次日一旦有光,就要进行觅食,这也是海马清晨活动量较高的原因^[19,23]。海马的各个行为的节律也都支持上述情况,如,游动、爬行、移动行为等的高峰期也都出现在清晨及上午。有研究表明,直立海马在白天和夜间都很活跃^[20],这与本研究结果存在差异。

游动是鱼类最典型的昼夜节律行为之一。本

研究海水青鳉白天的活动占比都大于夜间,这与其他研究^[24-25]是一致的,这种节律与自然界中昼夜交替的环境变化相适应,表明生物钟在调节鱼类活动模式方面起着重要作用,而光照是影响鱼类生物钟最重要的环境因素,白天时鱼类的生物钟会引导鱼类进入活跃状态,而黑暗时生物钟会引导鱼类进入低活动状态^[3]。游动占比最大的时间段是 08:00—10:00,主要与摄食有关,因此活动强度较大,反映了两种鱼类依靠视觉进行觅食的特性。之后随着食欲下降,高强度摄食的行为(如游动)迅速减少,增加了如爬行和移动等耗能低的行为。投喂 4 h 后,管海马活动减少,海水青鳉的休息时间也在增加。综合分析,从宏观行为上看,作为视觉性鱼类的管海马和海水青鳉差异较少,行为上有较一致的规律性。有光时,积极觅食;吃饱后选择适宜环境进行消化吸收。由于在 08:00—10:00 之间管海马和海水青鳉活动较强,因此可以选择在该时间段内进行两个物种的行为学研究。

本研究中,管海马 75%以上时间段处于附着状态,研究发现在自然条件下,海马选择海草、树根和珊瑚礁等物体作为缠绕物,用尾巴固定其上休息,80%的时间会固定在缠绕物上^[26],这与 Faleiro 等^[19]的研究结果是一致的。本研究中海水青鳉的位置偏好没有明显的昼夜节律,而研究表明斑马鱼的位置偏好具有明显的昼夜节律,生物

钟基因参与调节斑马鱼的位置偏好^[5],而对于生物钟基因是否参与调节海水青鳉的位置偏好有待研究。

3.2 细微行为上的差异

尽管在宏观行为上管海马与海水青鳉的差异不大,但在细微行为上两鱼之间的差异很多。这与其自身生理特性有关。

首先是与呼吸相关的细微行为,包括鳃盖运动、口器翕张等。鱼类呼吸频率可从鳃盖运动表现出来,代表着对氧气的需求^[27]。我们观察到管海马和海水青鳉夜间的鳃盖运动频率相对白天减弱,说明光照会影响鱼类的呼吸频率,这与前人的研究结果一致。如,鲤鱼(*Carassius auratus*)幼鱼的鳃盖运动频率随光强的增加而增加,在无光条件下,鳃盖运动频率显著降低^[28];鳕鱼(*Gadus morhua*)的鳃盖运动频率也受到光照强度的影响,夜间鳃盖运动频率较白天较低^[29]。因为在有光时,鱼要觅食,运动量增加进而提高新陈代谢水平,对氧气的需求增加,而在摄食完成后鱼类的耗氧率会下降到摄食前的水平^[30],管海马和海水青鳉的鳃盖运动频率均在摄食结束之后出现下降。温度也有相似的影响结果^[31]。此外,鳃盖运动还与身体的活动强度有关,如管海马附着时的鳃盖运动频率比不附着时要低,是因为附着时海马的活动较弱,管海马的新陈代谢降低,这与 Qin 等^[32]的研究结果一致。鳃盖运动频率也与鱼的种类有关。如,本研究中的管海马和海水青鳉间鳃盖运动频率差异很大,这应该与鱼的生活习性 & 能量需要相关;不同海马种间也存在差异,如长吻海马成体的鳃盖运动频率为 30~40 次/min^[33],野生海马的平均鳃盖运动频率为 15 次/min^[34];养殖条件下吻海马(*Hippocampus reidi*)的平均鳃盖运动频率为 45 次/min^[35],本研究中管海马的鳃盖运动频率在 25~40 次/min 之间。因此,通过研究鱼类在不同时间段的鳃盖运动频率可以间接反映鱼类的代谢需求和营养需求,进而为鱼类精准投喂策略制定提供参考。

其次是与摄食相关的细微行为,包括眼球运动、口器(吻盖/上下颌)翕张等。一般来说,依靠视觉进行觅食的鱼类有较强大的视觉能力用来寻

找饵料及逃避敌害^[36]。管海马和海水青鳉都是视觉生物,通过眼球运动寻找饵料,当发现食物时,先将眼睛对准猎物,然后进食^[37]。在这个过程中,眼球运动频率相比其他时间段会显著增加。然而,对于相对游泳能力较弱的管海马来说,进食时眼球运动频率的增加尤其显著,这可能与管海马的视觉在觅食过程中还起到警觉和警戒作用有关,海马眼球运动加快表明处于极度警惕状态,保证自身安全^[38]。这与观察结果相符。与其他鱼类相比,海马的眼球运动频率相对较高,如斑马鱼幼鱼眼球运动频率约为 7 次/min^[39],这说明海马的警惕性较强。此外,开灯前后的眼球运动频率也存在明显差异,有可能与适应光线变化调节有关。因此,在养殖过程中,我们要注意相关的应激反应。口是鱼类的捕食器官,也是呼吸时的入水通道^[40]。在大多情况下,口器翕张与鳃盖运动是相一致的^[41]。但我们发现,管海马和海水青鳉在进食时,其口器翕张速率要高于鳃盖运动频率。在保证获得足够氧气的前提下,还要完成进食,反应在 08:00—10:00 时段吻盖/颌运动频率提高。其他时间段,与鳃盖运动相一致,如夜间活动量减少,鳃盖运动和吻盖/颌运动频率降低。因此,养殖过程中要密切注意,如食物/饵料所在水环境较差影响呼吸等^[42]情况的出现。

再次是与游泳相关的细微行为,主要涉及各鳍的运动频率变化。鱼的运动和平衡是靠鳍的摆动实现,且需各鳍之间的协同作用^[43]。而海马通过背鳍和胸鳍的快速摆动前进和控制身体平衡^[44],游动时靠背鳍和胸鳍的摆动共同作用,移动和爬行需要胸鳍来维持平衡^[42]。这种方式适合海马在其栖息环境中进行缓慢移动^[45]。海马的背鳍和胸鳍运动频率受到生理活动的影响,如摄食、逃跑时会略有增加,但增加有限。海水青鳉的背鳍运动变化趋势也与其活动强度变化趋势相一致。胸鳍主要起着平衡鱼体的作用^[46],使鱼类能够平稳游动和静止时保持悬停。与背鳍一样,胸鳍也有推进作用,鱼类依靠胸鳍运动进行低速移动^[47]。这在管海马中表现的尤为明显,且更为重要。因为海马缺失尾鳍,仅靠背鳍和胸鳍的协同作用完成位置移动。尾鳍是鱼类游泳的主要动力来源,

对于鱼类运动和方向改变都很重要^[48]。海水青鲷的尾鳍运动频率在白天摄食期间达到最高, 夜间最低。这与斑马鱼在有光时尾鳍运动频率高于无光时^[49]相一致。研究表明鱼类尾鳍运动频率与游泳速度存在线性关系, 说明鱼类的游动能力受到尾鳍运动频率的影响^[50]。不同鱼类的尾鳍运动频率存在差异, 如黑鲫(*Carassius carassius*)的尾鳍运动频率为 170 次/min^[51], 大西洋鲑幼鱼(*Salmo salar*)的尾鳍运动频率为 60~180 次/min^[46]。都与青鲷存在一定差异, 本研究中青鲷尾鳍运动频率高达 300 次/min 以上, 而在前人的研究中青鲷的尾鳍运动频率为 150~200 次/min^[52], 尾鳍运动频率主要受到体长和活动水平的影响。管海马由于缺失尾鳍所以游泳速度慢, 而海水青鲷在进食时尾鳍运动最快, 因为当鱼类捕食时, 会通过增加尾鳍运动频率在短时间内获得更大的推进力来提高游泳速度^[53]。因此, 在海马的养殖过程中, 结合其游泳特性和眼球运动特点, 选择的饵料要活的, 且游泳速度要慢。如选择不动的饵料或配合饲料, 则要做好驯化工作, 以达到最佳养殖效果。而海水青鲷的养殖在这方面不需考虑太多。

4 结论

综上, 管海马和海水青鲷都有明显的昼夜行为节律。尽管在宏观行为的活动强度以及行为中的鳃盖运动、眼球运动、吻/颌运动、鳍运动等都有表现, 但两鱼在昼夜节律上存在一些差异, 海水青鲷相较于管海马在行为上更加活跃。管海马在附着行为上表现出昼弱夜强, 海水青鲷在位置偏好上无昼夜节律。此外, 本研究还观察到在实验室养殖条件下 08:00—10:00 时间段两种鱼的行为最活跃, 活动节律最强, 行为组成最丰富, 因此可以在该时间段内进行管海马和海水青鲷相关的行为学实验。

参考文献:

[1] Kim Y H, Lazar M A. Transcriptional control of circadian rhythms and metabolism: A matter of time and space[J]. *Endocrine Reviews*, 2020, 41(5): 707-732.

[2] Hurd M W, Debruyne J, Straume M, et al. Circadian rhythms of locomotor activity in zebrafish[J]. *Physiology & Behavior*,

1998, 65(3): 465-472.

[3] Vera L M, Cairns L, Sánchez-Vázquez F J, et al. Circadian rhythms of locomotor activity in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Chronobiology International*, 2009, 26(4): 666-681.

[4] Vera L M, De Alba G, Santos S, et al. Circadian rhythm of preferred temperature in fish: Behavioural thermoregulation linked to daily photocycles in zebrafish and Nile tilapia[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2023, 113: 103544.

[5] Livne Z B M, Alon S, Vallone D, et al. Genetically blocking the zebrafish pineal clock affects circadian behavior[J]. *PLoS Genetics*, 2016, 12(11): e1006445.

[6] Whitmore D, Foulkes N S, Strähle U, et al. Zebrafish Clock rhythmic expression reveals independent peripheral circadian oscillators[J]. *Nature Neuroscience*, 1998, 1(8): 701-707.

[7] Lin C Y, Chiang C Y, Tsai H J. Zebrafish and Medaka: New model organisms for modern biomedical research[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2016, 23: Article No.19.

[8] Krylov V V, Izvekov E I, Pavlova V V, et al. Circadian rhythms in zebrafish (*Danio rerio*) behaviour and the sources of their variability[J]. *Biological Reviews*, 2021, 96(3): 785-797.

[9] Zhao R B, Hu Y Y, Li B, et al. Potential effects of internal physio-ecological changes on the online biomonitoring of water quality: The behavior responses with circadian rhythms of zebrafish (*Danio rerio*) to different chemicals[J]. *Chemosphere*, 2020, 239: 124752.

[10] Liao G Z, Wang P J, Zhu J W, et al. Joint toxicity of lead and cadmium on the behavior of zebrafish larvae: An antagonism[J]. *Aquatic Toxicology*, 2021, 238: 105912.

[11] Rani S, Gupta R K, Yadav J. Heavy metal induced alterations in acetylcholinesterase activity of Indian major carps[J]. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2017, 5(4): 818-821.

[12] PAN Y X, TAO J S, ZHANG Y, et al. Expression characteristics of *pgcl* and effects of cadmium exposure on its rhythmic expression in Chinese perch *Siniperca chuatsi*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(1): 75-85. [潘亚雄, 陶晋升, 张宇, 等. 翘嘴鲈 *pgcl* 基因表达特征及水体镉暴露对其节律性表达的影响[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(1): 75-85.]

[13] Garcia L M B, Hilomen-Garcia G V, Celino F T, et al. Diet composition and feeding periodicity of the seahorse *Hippocampus barbouri* reared in illuminated sea cages[J]. *Aquaculture*, 2012, 358-369: 1-5.

[14] Ueda M, Oishi T. Circadian oviposition rhythm and locomotor activity in the medaka, *Oryzias latipes*[J]. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research*, 1982, 13(2): 97-104.

- [15] Strauss J, Dirksen H. Circadian clocks in crustaceans: Identified neuronal and cellular systems[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2010, 15(3): 1040-1074.
- [16] Mat A M, Massabuau J C, Ciret P, et al. Looking for the clock mechanism responsible for circatidal behavior in the oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Marine Biology*, 2014, 161(1): 89-99.
- [17] Gray B C T, Byrne M, Clements M, et al. Movement dynamics, sediment turnover and sheltering behaviours of the nocturnal coral reef sea cucumber, *Stichopus cf. monotuberculatus*[J]. *Coral Reefs*, 2023, 42(6): 1329-1341.
- [18] López-Olmeda J F, Noble C, Sánchez-Vázquez F J. Does feeding time affect fish welfare?[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(1): 143-152.
- [19] Faleiro F, Narciso L, Vicente L. Seahorse behaviour and aquaculture: How to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction?[J]. *Aquaculture*, 2008, 282(1-4): 33-40.
- [20] James P L, Heck K L. The effects of habitat complexity and light intensity on ambush predation within a simulated seagrass habitat[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1994, 176(2): 187-200.
- [21] Claassens L, Hodgson A N. Gaining insights into *in situ* behaviour of an endangered seahorse using action cameras[J]. *Journal of Zoology*, 2018, 304(2): 98-108.
- [22] Vincent A C J, Sadler L M. Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei*[J]. *Animal Behaviour*, 1995, 50(6): 1557-1569.
- [23] Masonjones H D, Lewis S M. Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*[J]. *Copeia*, 1996(3): 634-640.
- [24] Audira G, Siregar P, Chen K H, et al. Interspecies behavioral variability of medaka fish assessed by comparative phenomics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(11): 5686.
- [25] Cuesta I H, Lahiri K, Lopez-Olmeda J F, et al. Differential maturation of rhythmic clock gene expression during early development in medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Chronobiology International*, 2014, 31(4): 468-478.
- [26] Van Wassenbergh S, Roos G, Ferry L. An adaptive explanation for the horse-like shape of seahorses[J]. *Nature Communications*, 2011, 2(1): Article No.164.
- [27] Sun J L, Zhao L L, Cui C, et al. Influence of long-term temperature stress on respiration frequency, Na^+/K^+ -ATPase activity, and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2019, 83: 165-171.
- [28] Ruchin A B. Respiration intensity in the goldfish *Carassius auratus* Gibelio and its diurnal rhythm at different illumination regimens[J]. *Journal of Ichthyology*, 2005, 45(6): 837-843 (in Russian).
- [29] Secor S M. Specific dynamic action: A review of the postprandial metabolic response[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2009, 179(1): 1-56.
- [30] Ruchin A B. Effect of illumination on fish and amphibian: development, growth, physiological and biochemical processes[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 13(1): 567-600.
- [31] Shelley C E, Johnson D W. Larval fish in a warming ocean: A bioenergetic study of temperature-dependent growth and assimilation efficiency[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2022, 691: 97-114.
- [32] Qin G, Zhang Y H, Huang L M, et al. Effects of water current on swimming performance, ventilation frequency, and feeding behavior of young seahorses (*Hippocampus erectus*)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2014, 461: 337-343.
- [33] Spoto M, Pierri C, Rinaldi A, et al. Opercular beat frequency of long-snouted seahorse, *Hippocampus Guttulatus* Cuvier 1829[C]// *Proceedings of 2024 IEEE International Workshop on Metrology for the Sea; Learning to Measure Sea Health Parameters (MetroSea)*. Piscataway: IEEE, 2024: 434-437.
- [34] De Brauwier M, Gordon L M, Shalders T C, et al. Behavioural and pathomorphological impacts of flash photography on benthic fishes[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): Article No.748.
- [35] Freret-Meurer N V, Fernández do Carmo T, Cabiró G. Opercular beat: A non-invasive and rapid method to detect stress in seahorses[J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2021, 33(4): 291-299.
- [36] Kendrick A J, Hyndes G A. Variations in the dietary compositions of morphologically diverse syngnathid fishes[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2005, 72(4): 415-427.
- [37] Bergert B A, Wainwright P C. Morphology and kinematics of prey capture in the syngnathid fishes *Hippocampus erectus* and *Syngnathus floridae*[J]. *Marine Biology*, 1997, 127: 563-570.
- [38] Wallis C. Seahorses: Mysteries of the Oceans[M]. Los Angeles: Bunker Hill Publishing, 2004: 32-45.
- [39] Zhuang Y Y, Xiang L, Wen X R, et al. *Slc7a14* is indispensable in zebrafish retinas[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2019, 7: 333.
- [40] Friel J P, Wainwright P C. Evolution of complexity in motor

- patterns and jaw musculature of tetraodontiform fishes[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1999, 202(7): 867-880.
- [41] Taylor E W, Leite C A C, McKenzie D J, et al. Control of respiration in fish, amphibians and reptiles[J]. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2010, 43(5): 409-424.
- [42] Zhao Z G, Dong S L, Wang F, et al. Effect of algae density on breathing and feeding of filter-feeding silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.)[J]. *Aquaculture*, 2014, 433: 133-136.
- [43] Drucker E G, Lauder V L. Locomotor function of the dorsal fin in teleost fishes: Experimental analysis of wake forces in sunfish[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2001, 204(17): 2943-2958.
- [44] Li X H, Chen G, Tang Y B, et al. Hydrodynamic analysis of the upright swimming of seahorse[J]. *Physics of Fluids*, 2024, 36(2): 021913.
- [45] Consi T R, Seifert P A, Triantafyllou M S, et al. The dorsal fin engine of the seahorse (*Hippocampus* sp.)[J]. *Journal of Morphology*, 2001, 248(1): 80-97.
- [46] Warren-Myers F, Svendsen E, Føre M, et al. Novel tag-based method for measuring tailbeat frequency and variations in amplitude in fish[J]. *Animal Biotelemetry*, 2023, 11(1): Article No.12.
- [47] Wilga C D, Lauder G V. Three-dimensional kinematics and wake structure of the pectoral fins during locomotion in leopard sharks *Triakis semifasciata*[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2000, 203(15): 2261-2278.
- [48] Drucker E G, Lauder G V. Locomotor forces on a swimming fish: Three-dimensional vortex wake dynamics quantified using digital particle image velocimetry[J]. *Journal of Experimental Biology*, 1999, 202(18): 2393-2412.
- [49] Cai L, Chen J, Johnson D, et al. Effect of tail fin loss on swimming capability and tail beat frequency of juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus*[J]. *Aquatic Biology*, 2020, 29: 71-77.
- [50] Wolter M E, Svoboda K R. Doing the locomotion: Insights and potential pitfalls associated with using locomotor activity as a readout of the circadian rhythm in larval zebrafish[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2020, 330: 108465.
- [51] Xiao G, Feng M, Cheng Z B, et al. Water quality monitoring using abnormal tail-beat frequency of crucian carp[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 111: 185-191.
- [52] Zhang R, Zheng H Y, Li L, et al. A computer vision algorithm which was used for measuring the oscillation frequency of the Japanese medaka's pectoral fin and caudal fin[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(4): 154-161. [张融, 郑宏远, 李录, 等. 一种计量青鳉鱼胸鳍和尾鳍摆动频率和幅值的计算机视觉算法[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(4): 154-161.]
- [53] Peake S J. Gait transition speed as an alternate measure of maximum aerobic capacity in fishes[J]. *Journal of Fish Biology*, 2008, 72(3): 645-655.

Analysis and comparison of circadian behavioral rhythms between *Hippocampus kuda* and *Oryzias melastigma*

LI Jiawei, LIN Penghong, XU Yongjian

School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China

Abstract: To explore the differences in circadian behavioral rhythms and the changing regularity of different fish species, and improve artificial culture technology, we analyzed and compared the circadian behavioral rhythms of *Hippocampus kuda* and *Oryzias melastigma* under the artificial culture conditions detailed in this paper. The results showed that under the conditions of light intensity of 2000 lx, temperature of 25 ± 1 °C, salinity of 25 ± 0.5 , and photoperiod of 14L : 10D, the behavioral rhythms of *H. kuda* and *O. melastigma* during the daytime are stronger than in the nighttime. *H. kuda* showed the strongest rhythm and the most abundant behavioral component between 08:00 and 10:00. The macroscopic behavior components included active behaviors (swimming $47.40\pm 1.1\%$, crawling $3.0\pm 0.6\%$, moving $4.80\pm 0.7\%$), and inactive behaviors (swing $32.50\pm 2.1\%$, resting $12.30\pm 0.8\%$). The microcosmic behavior components included gill operculum movement 38.77 ± 1.14 times/min, jaws movement 38.77 ± 1.14 times/min, and eyeball rotation 108.50 ± 5.52 r/min, dorsal fin movement 116.87 ± 0.64 times/min and pectoral fin movement 67.81 ± 2.27 times/min. The sub-strongest rhythmic period was 12:00–14:00, and the rhythmic behaviors were dominated by swinging with a percentage of $59.20\pm 5.1\%$. *O. melastigma* also had the strongest activity between 08:00 and 10:00, in which the percentage of swimming amounted to $88.0\pm 1.1\%$; the frequency of gill operculum movement was 407.88 ± 3.8 times/min, jaw movement 407.88 ± 3.8 times/min, eyeball rotation 7.38 ± 0.9 r/min, dorsal fin movement 373.17 ± 2.5 times/min, pectoral fin movement 400.83 ± 6.8 times/min, and tail movement 416.58 ± 7.7 times/min. Therefore, both *H. kuda* and *O. melastigma* have strong circadian behavioral rhythms, and the period of 8:00–10:00 is their peak period of behavioral activity, which is the strongest rhythm and the most abundant behavioral components. Therefore, the period of 08:00–10:00 can be selected as a suitable observation time for related behavioral studies.

Key words: *Hippocampus kuda*; *Oryzias melastigma*; circadian rhythm; active rhythm; behavior component

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