

社会等级因素对虎斑乌贼生长、存活及相关酶活的影响

阮鹏, 蒋霞敏*, 韩庆喜, 王双健, 王鹏帅, 江茂旺

(宁波大学海洋学院, 浙江宁波 315211)

摘要: 为探究虎斑乌贼养殖过程中, 社会等级因素存在下优势大个体对劣势小个体的生长是否产生胁迫影响, 本实验在室内小网筐($\Phi=60$ cm, 高20 cm)控制条件下, 采用单因子实验, 研究了不同规格(大规格L: 体质量为4~5 g, 中规格M: 体质量为2.5~3.5 g, 小规格S: 体质量为1~2 g)的虎斑乌贼单一规格养殖和混合规格养殖(LMS比1:1:1)条件下的存活率、特定生长率、耗氧率、排氨率和代谢酶(ATP酶、丙酮酸激酶和己糖激酶)的变化, 培养时间40 d。结果显示, 单一规格养殖和混合规格养殖条件下L乌贼特定生长率差异不明显, 但混合规格养殖组M和S乌贼特定生长率明显低于单一规格养殖组M和S乌贼特定生长率, 各组乌贼特定生长率排序: $LMS-M(3.12\pm 0.35)\%/d < M(5.21\pm 0.24)\%/d, LMS-S(1.39\pm 0.28)\%/d < S(4.37\pm 0.42)\%/d$; 养殖10 d, 单一规格养殖组和混合规格养殖组乌贼成活率差异不明显, 从20 d开始, 混合规格养殖组成活率明显低于单一规格养殖组, 养殖40 d各组乌贼成活率排序: $LMS(41\%\pm 5.35\%) < M(60\%\pm 4.58\%) < L(61\%\pm 6.43\%) < S(63\%\pm 5.57\%)$; 单一规格养殖和混合规格养殖条件下L乌贼耗氧率差异不明显, 但混合规格养殖组M和S乌贼耗氧率明显低于单一规格养殖组M和S乌贼耗氧率, 各组乌贼耗氧率排序: $LMS-M[(0.48\pm 0.03)mg/(g\cdot h)] < M[(0.69\pm 0.02)mg/(g\cdot h)], LMS-S[(0.75\pm 0.04)mg/(g\cdot h)] < S[(0.94\pm 0.04)mg/(g\cdot h)]$; 单一规格养殖和混合规格养殖条件下L乌贼排氨率差异不明显, 但混合规格养殖组M和S乌贼排氨率明显低于单一规格养殖组M和S乌贼排氨率, 各组乌贼排氨率排序: $LMS-M[(0.057\pm 0.004)mg/(g\cdot h)] < M[(0.082\pm 0.007)mg/(g\cdot h)], LMS-S[(0.085\pm 0.007)mg/(g\cdot h)] < S[(0.135\pm 0.007)mg/(g\cdot h)]$; 单一规格养殖和混合规格养殖条件下L乌贼ATP酶、丙酮酸酶和己糖激酶活性差异不明显, 但混合规格养殖组M和S乌贼3种酶活性明显低于单一规格养殖组M和S乌贼, 各组乌贼ATP酶活性 $LMS-M[(1.25\pm 0.16)U/mg\ prot] < M[(2.74\pm 0.26)U/mg\ prot], LMS-S[(0.77\pm 0.11)U/mg\ prot] < S[(1.94\pm 0.09)U/mg\ prot]$; 各组乌贼丙酮酸酶活性 $HET-M[(51.14\pm 6.24)U/mg\ prot] < M[(78.05\pm 8.38)U/mg\ prot], LMS-S[(27.94\pm 6.65)U/mg\ prot] < S[(55.92\pm 2.81)U/mg\ prot]$; 各组乌贼己糖激酶活性 $LMS-M[(10.71\pm 1.24)U/mg\ prot] < M[(23.59\pm 1.67)U/mg\ prot], LMS-S[(5.91\pm 0.83)U/mg\ prot] < S[(13.82\pm 1.66)U/mg\ prot]$ 。研究表明, 在混合规格养殖条件下L乌贼对M和S乌贼的正常生长产生显著影响, 对养殖十分不利, 因此在人工养殖虎斑乌贼的过程中, 要定期地挑拣分级, 保证规格的均一性, 以减轻大个体乌贼对小个体乌贼的胁迫作用, 进而提高乌贼养殖的生产效率。

关键词: 虎斑乌贼; 生长; 存活; 酶活性; 社会等级

中图分类号: S 967

文献标志码: A

收稿日期: 2016-01-20 修回日期: 2016-07-01

资助项目: 宁波市农业重大专项(2014C11001); 浙江省海洋与渔业项目(浙海渔计2013[82]号)

通信作者: 蒋霞敏, E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

在水生动物尤其是鱼类中,规格较大、身体强壮以及侵略能力强的个体往往能优先抢占到食物资源和更好的生存空间,控制摄食领域,进而成为社会等级中的优势者^[1],等级地位较高的优势者就会通过侵略行为抑制等级地位较低的劣势个体的摄食行为,从而使劣势者的生长受到抑制^[2-8]。在水产养殖经济种类中,倘若存在较大的生长差异,将会导致养殖产量显著降低,而这种社会等级制度的存在经常会给水产养殖业带来很大的负面影响^[9]。因此在水产养殖的实践中,弄清规格等级是否会引起个体生长差异进而影响养殖产量,是十分必要且具有重要意义。

虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)是我国南海重要的经济头足类,其个体大(体质量可达5 kg以上),生长快(养殖3~4个月就能上市)、肉质鲜美,蛋白质含量高,是一种极具养殖前景的品种。近年来,其繁育和养殖技术的研究备受国内学者关注,目前主要集中在胚胎发育^[10]、营养成分分析^[11-13]、乌贼膜特性^[14]、生态因子的影响和耐受程度等^[15-20]。而关于虎斑乌贼养殖过程中社会等级因素对其生长和存活的影响尚未有相关报道。在养殖过程中发现,乌贼出现大小分化后,部分规格大的乌贼越来越大,规格小的乌贼生长很缓慢或者成活率降低。针对上述原因,本研究采用单因子试验测试了单一规格养殖和混合规格养殖对虎斑乌贼生长、存活及相关酶活性的影响,旨在确定大规格乌贼是否对小规格乌贼的生长产生影响,从而确定合理的养殖条件,为虎斑乌贼的人工养殖提供理论依据和科学指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验于2015年4—7月在宁波象山来发水产育苗场进行。实验所用的虎斑乌贼幼体是采自广东湛江沿海海域(110°24'E, 21°11'N)的亲乌贼,经催产、孵化后,人工培育所得。所有实验幼体均取自同一时间出膜,规格整齐、活力好、健康的初孵幼体[胴长(1.32±0.08) cm,体质量(0.56±0.03) g]。实验用自然海水经过暗沉淀与沙滤,培养条件:水温22~24 °C,盐度 25~28, pH 7.80~8.10, COD (6.15~8.85) mg/L。

1.2 实验方法

选上述虎斑乌贼初孵幼体3000个放在水泥池(7.0 m×5.0 m×1.4 m)中培养,投喂活糠虾(*Acanthomysis* sp.),培养条件同“实验材料”中,培养60 d。待培养乌贼出现明显的个体差异后,再从池中选取不同规格乌贼,设置实验组:大规格(L),体质量(4.45±0.36) g;中规格(M),体质量(3.36±0.28) g;小规格(S),体质量(1.82±0.15) g和混合规格(LMS)(L:M:S为1:1:1),各组5平行,每平行组乌贼的数量和形态参数见表1。实验在室内控制条件下,采用水泥池(7.0 m×5.0 m×1.4 m)中悬浮塑料筐(Φ=60 cm,高20 cm)为实验培养装置。每天投喂冰鲜小杂鱼、虾,日投喂量为体质量的10%~15%,日换水1次,换水量1/2。实验开始后,每隔10 d测量乌贼体质量、胴长,并统计成活数,实验时间40 d。

表1 各实验平行组乌贼数量与形态参数

Tab. 1 The numbers and body weight of *S. pharaonis* in different size treatments

实验组 size codes	数量/个 numbers	初始湿重/g initial wet weight	胴长/cm mantle length
L	30	4.45±0.36 ^a	3.0±0.08 ^a
单一规格养殖 M	30	3.36±0.28 ^b	2.5±0.07 ^b
S	30	1.82±0.15 ^c	2.0±0.05 ^c
混合规格养殖 L:M:S	10:10:10	同上	同上

注:同列数据的上标不同字母代表差异显著($P<0.05$)

Notes: the value with different subscripts within column mean significantly different from each other ($P<0.05$)

1.3 测定方法

耗氧率的测定方法 实验采用密闭静水法,以10 000 mL广口瓶为呼吸室,根据预实验每瓶放置1只乌贼幼体,每组设置5个平行和1个空白对照瓶(不放乌贼),然后立即用液体石蜡密封,记录时间。呼吸室均浸没于恒温的水浴泡沫箱中,为了避免阳光直射,实验装置置于双层遮阳网下,待实验持续2 h后迅速用虹吸法取水样。

采用Winkler碘量法测定水样中溶解氧(DO)含量,采用次溴酸钠氧化法测定水样中 NH_4^+ -N含量。

代谢酶活力的测定 实验结束后,分别从各处理组随机挑选15只乌贼,用吸水纸吸取其体表的水分,然后在冰盘上进行活体解剖取肌肉

和鳃, 准确称量各组织重量, 按重量(g): 体积(mL)=1: 9的比例加入9倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 r/min, 离心10 min, 制备成10%的匀浆上清液置于-20 °C冰箱中保存待测。取得的上清液需进行总蛋白测定, 测定方法采用标准牛血清蛋白作标准曲线的考马斯亮蓝染色法。己糖激酶(HK)、丙酮酸激酶(PK)、Na⁺/K⁺-ATP酶的活性和总蛋白浓度的测定方法均采用南京建成生物研究所提供的试剂盒测定(A077-1、A076-1、A070-2和A045-2), 具体方法参照说明书。

1.4 数据处理与统计

存活率(survival rate, SR, %)=(终末数量/初始数量)×100

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=(ln终末体质量 - ln初始体质量)/实验时间×100

耗氧率(OR) [mg/(g·h)]=[$(DO_0 - DO_t) \times V$]/($W \times t$)

排氨率(NR) [mg/(g·h)]=[$(N_t - N_0) \times V$]/($W \times t$)

式中, DO_0 和 DO_t 分别为实验结束时, 空白对照瓶、实验瓶水中溶解氧的含量(mg/L); N_0 和 N_t 分别为实验结束时, 空白对照瓶、实验瓶水中NH₄⁺-N的含量(mg/L); V 为呼吸瓶中水的体积(L); W 为虎斑乌贼幼体体质量(g); t 为实验持续时间(h)。

使用SPSS 19.0统计分析软件对数据进行方差分析、ANOVED单因素分析, 并用Duncan氏进行多重比较分析。数据均表示为mean±SE, $P < 0.05$ 作为差异显著的标准。

2 结果

2.1 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼存活率的影响

在实验第10天, 各组乌贼存活率差异不显著($P > 0.05$), 但养殖20~40 d, 单一规格养殖组乌贼存活率显著高于混合格格养殖组乌贼($P < 0.05$), 特别是养殖40 d单一规格养殖各组乌贼存活率差异不显著($P > 0.05$), 存活率为61%~63%, 而混合格格实验组存活率仅41%(图1)。

2.2 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼特定生长率的影响

混合格格养殖组中的L乌贼和单一规格养殖组中的L乌贼特定生长率没有显著性差异($P > 0.05$), 但混合格格养殖组中的M和S乌贼特定生长率显著低于单一规格养殖组中M和S乌贼特定生长率

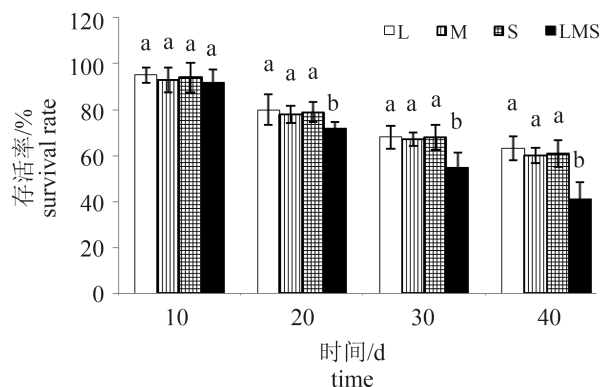


图1 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼存活率的影响

字母不同代表差异显著($P < 0.05$), 下同

Fig. 1 Effect of different body sizes on the survival rates(SR) of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

Different letters mean significant difference ($P < 0.05$), the same below

($P < 0.05$), 各组乌贼特定生长率排序: LMS-M [3.12 ± 0.35]/d] < M [5.21 ± 0.24]/d], LMS-S [1.39 ± 0.28]/d] < S [4.37 ± 0.42]/d] (图2)。

2.3 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼耗氧率的影响

无论是单一规格养殖组还是混合格格养殖组, L乌贼的耗氧率均显著低于M和S乌贼耗氧率($P < 0.05$)(图3)。混合格格养殖组中的L乌贼耗氧率稍低于单一规格养殖组中的L乌贼, 但差异不

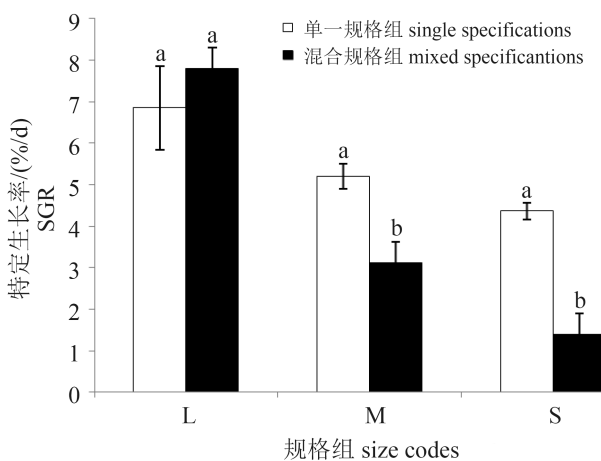


图2 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼特定生长率的影响

Fig. 2 Effect of different body sizes on specific growth rates (SGR) of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

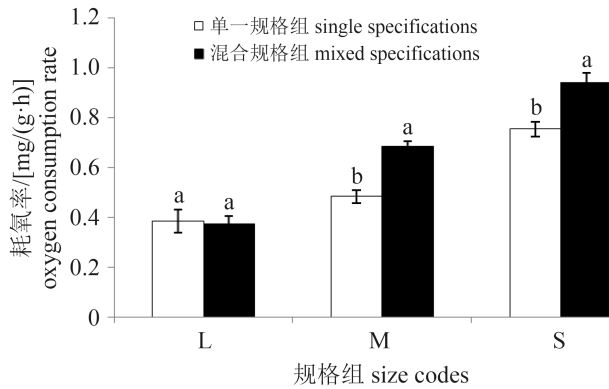


图3 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼耗氧率的影响

Fig. 3 Effect of different body sizes on the oxygen consumption rates of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

显著($P>0.05$)。混合规格养殖组中的M和S乌贼耗氧率显著高于单一规格养殖组中的M和S乌贼($P<0.05$)，各组乌贼耗氧率排序： $LMS-M[(0.686\pm 0.018) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] > M[(0.484\pm 0.026) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ ， $LMS-S[(0.939\pm 0.039) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] > S[(0.754\pm 0.045) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ 。

2.4 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼排氨率的影响

单一规格养殖组和混合规格养殖组中的L乌贼的排氨率均显著低于M和S乌贼排氨率($P<0.05$)。混合规格养殖组中的L乌贼排氨率稍低于单一规格养殖组中的L乌贼，但差异不显著($P>0.05$)。混合规格养殖组中的M和S乌贼排氨率显著高于单一规格养殖组中的M和S乌贼($P<0.05$)，各组乌贼排氨率排序： $LMS-M[(0.082\pm 0.007) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] > M[(0.057\pm 0.004) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ ， $LMS-S[(0.135\pm 0.007) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] > S[(0.085\pm 0.006) \text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ (图4)。

2.5 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼 Na^+/K^+ -ATP酶活性的影响

混合规格养殖组中的L乌贼 Na^+/K^+ -ATP酶活性稍高于单一规格养殖组中的L乌贼，但差异不显著($P>0.05$) (图5)。混合规格养殖组中的M和S乌贼ATP酶活性显著低于单一规格养殖组中的M和S乌贼($P<0.05$)，各组乌贼 Na^+/K^+ -ATP酶活性排序： $LMS-M[(1.249\pm 0.162) \text{ U}/\text{mg prot}] < M[(2.744\pm 0.263) \text{ U}/\text{mg prot}]$ ， $LMS-S[(0.771\pm 0.089) \text{ U}/\text{mg prot}] < S[(1.941\pm 0.099) \text{ U}/\text{mg prot}]$ 。

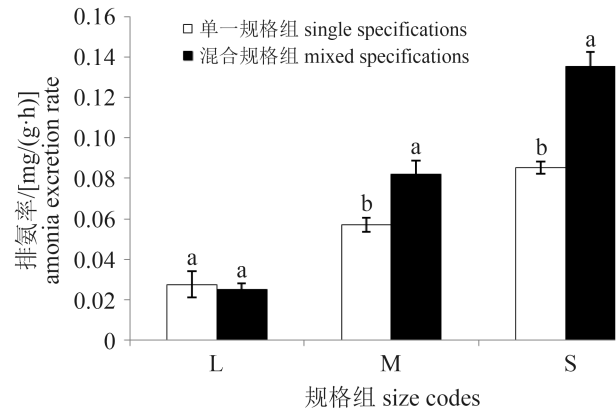


图4 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼排氨率的影响

Fig. 4 Effect of different body size on ammonia excretion rates of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

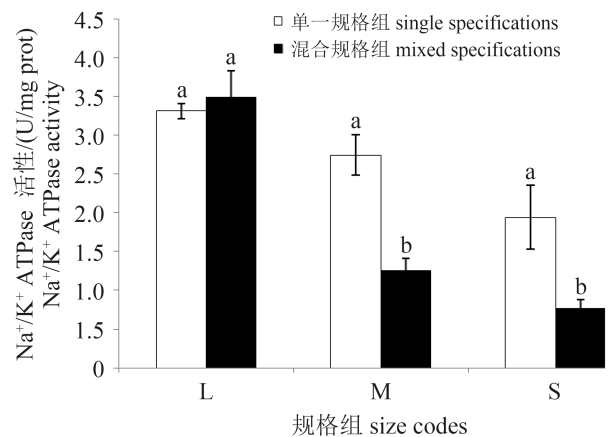


图5 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼 Na^+/K^+ -ATP酶活性的影响

Fig. 5 Effect of different body sizes on Na^+/K^+ -ATPase activities of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

2.6 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼HK活性的影响

混合规格养殖组中的L乌贼HK活性稍高于单一规格养殖组中的L乌贼，但差异不显著($P>0.05$)。混合规格养殖组中的M和S乌贼HK活性显著低于单一规格养殖组中的M和S乌贼($P<0.05$)，各组乌贼HK活性排序： $LMS-M[(10.714\pm 1.238) \text{ U}/\text{mg prot}] < M[(23.597\pm 1.676) \text{ U}/\text{mg prot}]$ ， $LMS-S[(5.908\pm 0.833) \text{ U}/\text{mg prot}] < S[(13.819\pm 1.658) \text{ U}/\text{mg prot}]$ (图6)。

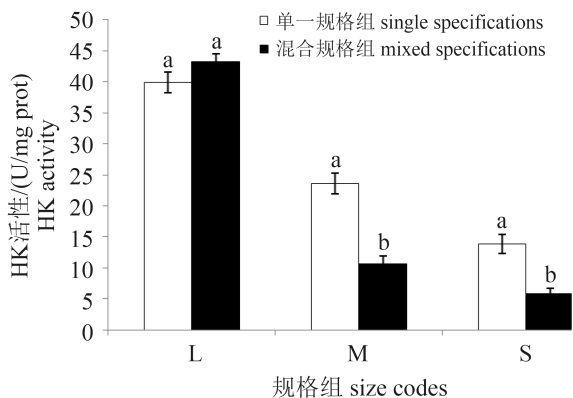


图 6 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼HK活性的影响

Fig. 6 Effect of different body sizes on HK activity of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

2.7 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼PK活性的影响

混合规格养殖组中的L乌贼PK活性稍高于单一规格养殖组中的L乌贼, 但差异不显著($P>0.05$) (图7)。混合规格养殖组中的M和S乌贼PK活性显著低于单一规格养殖组中的M和S乌贼($P<0.05$), 各组乌贼PK活性排序: $LMS-M[(51.141\pm 6.242) \text{ U/mg prot}] < M[(78.053\pm 8.384) \text{ U/mg prot}]$, $LMS-S[(27.936\pm 6.654) \text{ U/mg prot}] < S[(55.915\pm 2.805) \text{ U/mg prot}]$ 。

3 讨论

3.1 社会等级因素对乌贼存活、生长的影响

社会等级是指在动物群体中各个动物的地

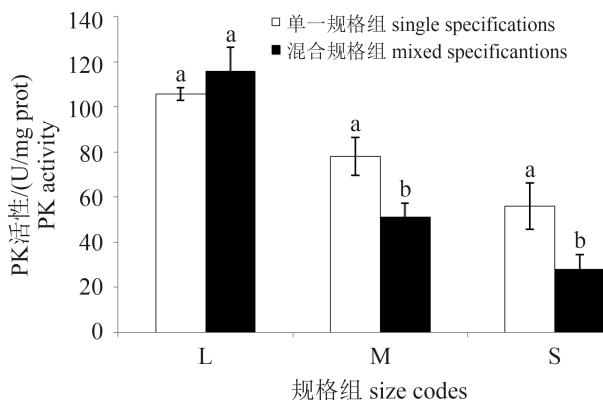


图 7 不同规格的单养与混养对虎斑乌贼PK活性的影响

Fig. 7 Effect of different body sizes on PK activity of *S. pharaonis* for separate cultivation and mixed cultivation

位具有一定顺序的等级现象。在群居性动物中, 个体大小的差异决定了它们对食物和配偶的优先选择权, 通过竞争(攻击、抢食、压抑等行为), 使得某些个体成为群体中的优势者, 其他个体成为从属者, 因而形成社会等级^[21]。

相关报道已经指出, 哺乳动物、鸟类、鱼类以及无脊椎动物中的一些昆虫如蜜蜂、蚂蚁等均具有明显的社会等级行为^[21-23]。本实验发现, 虎斑乌贼这一头足类动物也具有明显的社会等级行为, 社会等级因素对虎斑乌贼生长和存活的影响显著。混合规格养殖组乌贼的存活率从第20天开始, 明显低于单一规格养殖组乌贼的存活率, 到实验结束时, 混合规格养殖组乌贼的存活率仅为41%, 差异达到最大。实验发现由于投饵充足, 虎斑乌贼没有观察到明显的相互攻击行为, 但较大的乌贼个体经常在水面附近活动、摄食, 而小个体乌贼则时常伏在网筐侧部和底部, 很少活动、摄食, 并且生长缓慢, 这与刺参(*Apostichopus japonicus*)^[22]的研究结果相同。实验中的单一规格养殖组中M和S乌贼由于没有大个体乌贼的干扰, 生长相对迅速, 而混合规格养殖组中的M和S乌贼由于较大优势者的存在, 摄食和活动多少存在干扰, 所以生长受到抑制, 特定增长率显著低于单一规格养殖组中M和S乌贼。此前研究表明社会等级因素的胁迫致使个体之间侵略行为产生, 从而使社会等级底层劣势者的摄食和生长受到抑制, 生存空间变得越来越狭窄, 存活率也随之降低^[24-26]。社会等级制度还有可能是优势大个体的某些细微小动作或者释放某种化学信息素引起的^[27], 比如小龙虾(*Orconectes rusticus*), 大个体小龙虾能通过尿液将尿素排放到水中, 然后产生某种小分子化学物质, 以水为媒介传播给劣势小个体, 从而取得主导地位^[27]。本实验虽未发现乌贼间有明显的侵略、攻击行为, 但投喂饵料时大个体乌贼会迅速抢食, 而小个体乌贼常常避开、躲于一角, 等大个体乌贼饱食后, 小个体才会胆战心惊地吃些残饵。所以作者也认同可能大个体乌贼通过新陈代谢排出废物的时候, 释放出某些小分子化学物质, 并在水中释放, 从而形成某种化学信号并凭借水为媒介传递给劣势小个体乌贼, 通过化学信息的这种胁迫效应来垄断大部分的食物资源, 使得小个体不敢正常地进行摄食, 从而抑制其生长。因此, 在食物资

源比较充足的情况下, 优势大个体能侵占较多的食物, 表现为摄食率高、生长快、存活率高, 劣势小个体获得接近食物的机会比较少, 其摄食行为会受到抑制, 表现为摄食率低、生长慢、存活率低。

3.2 社会等级因素对乌贼耗氧率、排氨率的影响

水生生物的耗氧率和排氨率是反映其体内代谢活动的主要标志, 可以直接或间接地反映出它们的新陈代谢规律以及生理和生活状况, 并且对水生生物能量代谢的研究也十分重要。

本实验结果表明, 无论是单一规格组还是混合规格组, 耗氧率和排氨率都是 $L < M < S$, 即乌贼耗氧率和排氨率与规格(体质量)呈幂函数负相关, 耗氧率和排氨率随乌贼规格(体质量)的增加而相对减小, 这与其他鱼类呼吸排泄的研究结果是一致的^[29-33]。姜祖辉等^[34]认为, 这可能是与水生动物在生长过程中的组织、脏器比重有关, 直接维持生命活动的组织和脏器, 如肾脏、肝脏等, 其新陈代谢高于非直接维持生命活动的其他组织, 如肌肉、脂肪等。随着水生生物的生长, 这两种组织的比率也随之减小, 即肌肉和脂肪等积累增多, 从而引起随着个体增大而单位重量的耗氧率和排氨率反而降低的现象。本实验中, 混合规格养殖组劣势小个体(M、S)乌贼由于受大个体(L)乌贼的等级胁迫, 其生长受到抑制, 个体相对单一规格养殖组中的M、S乌贼较小, 因而表现出较高的耗氧率和排氨率。

3.3 社会等级因素对乌贼代谢酶活性的影响

机体维持生存所需能量的形成主要包括有氧的氧化磷酸化和无氧的糖酵解过程, 当机体受到外界一定的胁迫时, 氧化磷酸化过程就会受到抑制, 糖酵解就会成为其主要的供能方式。而作为糖酵解过程中的两个限速酶—丙酮酸激酶(PK)和己糖激酶(HK), 在调节糖代谢的过程中具有重要作用^[35]。Na⁺/K⁺-ATP酶在细胞质膜上不仅能起到阳离子的运输和转运, 调节新陈代谢水平、参与氧化磷酸化作用和帮助蛋白转运^[36], 而且还在糖酵解过程中起到限速的作用^[37]。在本实验中, L乌贼的存在对M乌贼和S乌贼的PK、HK和Na⁺/K⁺-ATP酶活性都产生了显著的影响,

由于大规格乌贼的等级胁迫, 小规格乌贼体内参与糖酵解循环的PK和HK反应速率下降, 能量代谢受到抑制, 因而表现出较低的PK和HK活性, 而大规格的乌贼由于控制着大部分食物资源和生存空间, 其生理上处于一种相对平衡状态, 所以PK和HK活性较高且比较稳定。同样, 小规格乌贼Na⁺/K⁺-ATP酶也因为在大规格乌贼的胁迫下, 摄食减少, 糖酵解速率下降, 表现出较低的活性。

4 结论

研究表明, 在大规格虎斑乌贼的等级胁迫下, 小规格的虎斑乌贼其生长、存活和相关代谢酶活力都受到了显著的影响, 对养殖十分不利, 因此在人工养殖虎斑乌贼的过程中, 建议要进行定期分级, 保证养殖规格的均一性, 以减轻大个体乌贼对小个体乌贼的胁迫作用, 进而提高乌贼养殖的生产效率。

参考文献:

- [1] Webster M S, Hixon M A. Mechanisms and individual consequences of intraspecific competition in a coral-reef fish[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2000, 196: 187-194.
- [2] Dou S Z, Masuda R, Tanaka M, *et al.* Size hierarchies affecting the social interactions and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture*, 2004, 233(1-4): 237-249.
- [3] Alanärä A, Burns M D, Metcalfe N B. Intraspecific resource partitioning in brown trout: the temporal distribution of foraging is determined by social rank[J]. *Journal of Animal Ecology*, 2000, 70(6): 980-986.
- [4] Hart P J B, Salvanes A G V. Individual variation in competitive performance of juvenile cod and its consequences for growth[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 2000, 80(3): 569-570.
- [5] Stefánsson M Ö, Imsland A K, Jonassen M D, *et al.* The effect of different initial size distributions on the growth of Atlantic halibut[J]. *Journal of Fish Biology*, 2000, 56(4): 826-836.
- [6] Cutts C J, Betcalfe N B, Caylor A C. Aggression and growth depression in juvenile Atlantic salmon: The consequences of individual variation in standard

- metabolic rate[J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, 52(5): 1026-1037.
- [7] Brännäs E. Individual variation in distribution, activity and growth rate of Arctic charr kept in a three-tank system[J]. *Journal of Fish Biology*, 1998, 53(4): 795-807.
- [8] Johnsson J I. Individual recognition affects aggression and dominance relations in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Ethology*, 1997, 103(4): 267-282.
- [9] Ringø E, Olsen R E, Øverli Ø, *et al.* Effect of dominance hierarchy formation on aerobic microbiota associated with epithelial mucosa of subordinate and dominant individuals of *Arctic charr*(L.)[J]. *Aquaculture Research*, 1997, 28(11): 901-904.
- [10] 陈道海, 王雁, 梁汉青, 等. 虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)胚胎发育及孵化历期观察[J]. *海洋与湖沼*, 2012, 43(2): 394-400.
Chen D H, Wang Y, Liang H Q, *et al.* Studies on the embryonic development and the hatching periods of *Sepia pharaonis*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 43(2): 394-400(in Chinese).
- [11] 高晓兰, 蒋霞敏, 乐可鑫, 等. 野生虎斑乌贼不同组织营养成分分析及评价[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(12): 3858-3867.
Gao X L, Jiang X M, Le K X, *et al.* Analysis and evaluation of nutritional components in different tissues of wild *Sepia pharaonis*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(12): 3858-3867(in Chinese).
- [12] 陈道海, 文菁, 赵玉燕, 等. 野生与人工养殖的虎斑乌贼肌肉营养成分比较[J]. *食品科学*, 2014, 35(7): 217-222.
Chen D H, Wen J, Zhao Y Y, *et al.* Analysis of nutritional components in muscle of cultivated and wild *Sepia pharaonis*[J]. *Food Science*, 2014, 35(7): 217-222(in Chinese).
- [13] 彭瑞冰, 乐可鑫, 蒋霞敏, 等. 虎斑乌贼受精卵卵黄营养成分分析[J]. *水产学报*, 2015, 39(7): 1034-1042.
Peng R B, Le K X, Jiang X M, *et al.* Analysis of nutritive composition of yolk of fertilized egg of *Sepia pharaonis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(7): 1034-1042(in Chinese).
- [14] Hoque M S, Benjakul S, Prodpran T. Properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin incorporated with cinnamon, clove and star anise extracts[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 1085-1097.
- [15] 乐可鑫, 蒋霞敏, 彭瑞冰, 等. 4种生态因子对虎斑乌贼幼体生长与存活的影响[J]. *生物学杂志*, 2014, 31(4): 33-37.
Le K X, Jiang X M, Peng R B, *et al.* Effects of four ecological factors on the growth and survival of *Sepia pharaonis* larvae[J]. *Journal of Biology*, 2014, 31(4): 33-37(in Chinese).
- [16] 黄建盛, 陈刚, 张健东, 等. 盐度对虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)受精卵孵化及幼体活力的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2012, 32(1): 35-38.
Huang J S, Chen G, Zhang J D, *et al.* Effects of salinity on fertilized egg hatch and survival activity index of the larvae of *Sepia pharaonis*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2012, 32(1): 35-38(in Chinese).
- [17] 戴远棠, 谢晓晖, 黄国光, 等. 虎斑乌贼幼体对盐度及pH值耐受力的研究[J]. *河北渔业*, 2012(10): 8-11, 16.
Dai Y T, Xie X H, Huang G G, *et al.* Tolerance of the cuttlefish *Sepia pharaonis* larvae to water salinities and pH[J]. *Hebei Fisheries*, 2012(10): 8-11, 16(in Chinese).
- [18] 刘建勇, 许光林, 简润超, 等. 温度对虎斑乌贼受精卵孵化及幼体存活的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2010, 30(6): 87-90.
Liu J Y, Xu G L, Jian R C, *et al.* Effects of water temperature on fertilized egg hatch and larvae survival of *Sepia pharaonis*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2010, 30(6): 87-90(in Chinese).
- [19] 谭永胜, 刘建勇, 徐彬晓. 高锰酸钾对虎斑乌贼胚胎和幼体的毒性研究[J]. *水产养殖*, 2011, 32(1): 12-15.
Tan Y S, Liu J Y, Xu B X. Acute toxicity tests of potassium permanganate on activity of embryos and larval of *Sepia pharaonis*[J]. *Journal of Aquaculture*, 2011, 32(1): 12-15(in Chinese).
- [20] 文菁, 曹观蓉, 李施颖, 等. 环境因子对虎斑乌贼幼体存活率及行为的影响[J]. *水产科学*, 2011, 30(6): 321-324.
Wen J, Cao G R, Li S Y, *et al.* Effects of environmental factors on survival and behavior in juvenile cuttlefish *Sepia pharaonis*[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(6): 321-324(in Chinese).
- [21] 孙儒泳. *动物生态学原理*[M]. 2版. 北京: 北京师范大学出版社, 1992: 249-252.
Sun R Y. *The Principle of Animal Ecology*[M]. 2nd ed.

- Beijing: Beijing Normal University Press, 1992: 249-252(in Chinese).
- [22] 梁淼. 刺参(*Apostichopus japonicus*)个体生长差异的实验研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- Liang M. Experimental studies on individual variation in growth and causes in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010(in Chinese).
- [23] Sloman K A, Gilmour K M, Taylor A C, *et al.* Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural conditions[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2000, 22(1): 11-20.
- [24] Baras E, Jobling M. Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fish[J]. *Aquaculture Research*, 2002, 33(7): 461-479.
- [25] Sogard S M, Olla B L. Effects of group membership and size distribution within a group on growth rates of juvenile sablefish *Anoplopoma fimbria*[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2000, 59(2): 199-209.
- [26] Giaquinto P C, Volpato G L. Chemical cues related to conspecific size in pintado catfish, *Pseudoplatystoma coruscans*[J]. *Acta Ethologica*, 2005, 8(2): 65-69.
- [27] Schneider R A Z, Huber R, Moore R A. Individual and status recognition in the crayfish, *Orconectes rusticus*: the effects of urine release on fight dynamics[J]. *Behaviour*, 2001, 138(2): 137-153.
- [28] Cui Y, Wootton R J. The metabolic rate of the minnow, *Phoxinus phoxinus* (L.) (Pisces: Cyprinidae), in relation to ration, body size and temperature[J]. *Functional Ecology*, 1988, 2(2): 157-161.
- [29] 张兆琪, 张美昭, 李吉清, 等. 牙鲆鱼耗氧率、氮排泄率与体重及温度的关系[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 483-489.
- Zhang Z Q, Zhang M Z, Li J Q, *et al.* Oxygen consumption and nitrogen excretion of *Paralichthys olivaceus* with different body weights at different water temperature[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1997, 27(4): 483-489(in Chinese).
- [30] 王波, 李继强, 曹志海, 等. 大西洋牙鲆幼鱼标准代谢的初步研究[J]. 海洋科学进展, 2004, 22(1): 62-68.
- Wang B, Li J Q, Cao Z H, *et al.* A preliminary study on standard metabolism of juvenile summer flounder (*Paralichthys dentatus*)[J]. *Advances in Marine Science*, 2004, 22(1): 62-68(in Chinese).
- [31] 张美昭, 张兆琪, 郑春波, 等. 牙鲆幼鱼能量代谢的初步研究[J]. 中国水产科学, 1999, 6(1): 75-78.
- Zhang M Z, Zhang Z Q, Zheng C B, *et al.* Energy metabolism of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, 6(1): 75-78(in Chinese).
- [32] 线薇薇, 朱鑫华. 梭鱼标准代谢、内源氮排泄与体重和温度的关系[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(3): 368-374.
- Xian W W, Zhu X H. Effects of temperature and body weight on standard metabolism and endogenous nitrogen excretion of mullet *Liza haematocheila* (T. et S.)[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2002, 32(3): 368-374(in Chinese).
- [33] 王瑁, 丘书院. 花尾胡椒鲷幼鱼内、外源性氮和总氮排泄率的研究[J]. 热带海洋学报, 2001, 20(3): 87-92.
- Wang M, Qiu S Y. Studies on excretion rate of endogenous, exogenous and total nitrogen of juvenile *Plectorhynchus cinctus* temminck[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2001, 20(3): 87-92(in Chinese).
- [34] 姜祖辉, 王俊, 唐启升. 菲律宾蛤仔生理生态学研究 I. 温度、体重及摄食状态对耗氧率及排氮率的影响[J]. 海洋水产研究, 1999, 20(1): 40-44.
- Jiang Z H, Wang J, Tang Q S. Studies on physiological ecology of short-necked clam (*Ruditapes philippinarum*) I. Effects of temperature, body weight and feeding state on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate[J]. *Marine Fisheries Research*, 1999, 20(1): 40-44(in Chinese).
- [35] Dong Y W, Dong S L, Ji T T. Effect of different thermal regimes on growth and physiological performance of the sea cucumber *Apostichopus japonicus selenka*[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1-4): 329-334.
- [36] Mobasheri A, Avila J, C6zar-Castellano I, *et al.* Na⁺, K⁺-ATPase isozyme diversity; comparative biochemistry and physiological implications of novel functional interactions[J]. *Bioscience Reports*, 2000, 20(2): 51-91.
- [37] Haas M, Askari A, Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na⁺/K⁺-ATPase[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(36): 27832-27837.

Effects of social hierarchy on the growth, survival and related enzyme activities of *Sepia pharaonis*

RUAN Peng, JIANG Xiamin*, HAN Qingxi, WANG Shuangjian,
WANG Pengshuai, JIANG Maowang

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: To explore whether big individuals can affect small individuals' growth for cuttlefish *Sepia pharaonis* under the stress of social hierarchy, this study was conducted indoors in small cages ($\Phi=60$ cm, $h=20$ cm), and the survival rate, specific growth rate, oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and metabolic enzyme (ATP enzyme, pyruvate kinase and hexokinase) changes were measured after 40 days of cultivation, to analyze the effects of different body sizes (large size L: body weight of 4 to 5 g, middle size M: body weight of 2.5 to 3.5 g, small size S: body weight of 1 to 2 g, with separate cultivation and mixed cultivation (LMS ratio 1 : 1 : 1), using single factor design. The results showed that: the L *S. pharaonis*' special growth rate was not significantly different between separate cultivation and mixed cultivation, but the growth rates of groups M and S *S. pharaonis*' were significantly lower with separate cultivation, specific growth rates for each group were LMS-M (3.12 ± 0.35) %/d, M (5.21 ± 0.24) %/d, LMS-S (1.39 ± 0.28) %/d and S (4.37 ± 0.42) %/d; after 10 days of cultivation, the survival rates of *S. pharaonis* were not significantly different between separate cultivation or mixed cultivation, but after 20 days of cultivation, the survival rate of mixing cultivation was significantly lower than that of separate cultivation; after 40 days, the survival rate for each group were LMS ($41\%\pm 5.35\%$), M ($60\%\pm 4.58\%$), L ($61\%\pm 6.43\%$) and S ($63\%\pm 5.57\%$). The oxygen consumption rate showed no significant difference for separate cultivation and mixed cultivation, but groups M and S with mixing cultivation oxygen consumption rate was lower than the single standard breeding groups M and S *S. pharaonis*' oxygen consumption rate, oxygen consumption rate in each group were LMS-M [(0.48 ± 0.03) mg/(g·h)], M [(0.69 ± 0.02) mg/(g·h)], LMS-S [(0.75 ± 0.04) mg/(g·h)], S [(0.94 ± 0.04) mg/(g·h)]; L *S. pharaonis*' ammonia excretion rate showed no significant difference under separate cultivation and mixed cultivation, but the ammonia excretion rates of mixed cultivation of groups M and S were lower than the single standard breeding groups M and S *S. pharaonis*' oxygen consumption rates, ammonia excretion rates in each group were LMS-M [(0.057 ± 0.004) mg/(g·h)], M [(0.082 ± 0.007) mg/(g·h)], LMS-S [(0.085 ± 0.007) mg/(g·h)], S [(0.135 ± 0.007) mg/(g·h)]; L *S. pharaonis*' ATP enzyme, pyruvate enzyme and hexokinase activities showed no significant difference between separate cultivation and mixed cultivation, but mixing cultivation of groups M and S, *S. pharaonis*' ATP enzyme, pyruvate kinase and hexokinase activity were lower than the single standard breeding group M and S *S. pharaonis*' oxygen consumption rate, ATP enzyme activity in each group were LMS-M [(1.25 ± 0.16) U/mg prot], M [(2.74 ± 0.26) U/mg prot], LMS-S [(0.77 ± 0.11) U/mg prot], S [(1.94 ± 0.09) U/mg prot]; pyruvate kinase activity in each group were HET-M [(51.14 ± 6.24) U/mg prot], M [(78.05 ± 8.38) U/mg prot], LMS-S [(27.94 ± 6.65) U/mg prot], S [(55.92 ± 2.81) U/mg prot]; hexokinase activity in each group were LMS-M [(10.71 ± 1.24) U/mg prot], M [(23.59 ± 1.67) U/mg prot], LMS-S [(5.91 ± 0.83) U/mg prot], S [(13.82 ± 1.66) U/mg prot]. Thus, L *S. pharaonis* have a significant impact on the normal growth rates of M and S *S. pharaonis* under mixed cultivation, which is bad for cuttlefish farming.

Key words: *Sepia pharaonis*; growth; survival; metabolic enzyme; social hierarchy

Corresponding author: JIANG Xiamin. E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn

Funding projects: Major Agriculture Projects of Ningbo (2014C11001); Marine and Fishery Projects of Zhejiang Province (Zhejiang Marine Fisheries Project 2013-82)