

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20191028001

http://www.yykxjz.cn/

张晓, 梁萌青, 卫育良, 廖章斌, 张庆功, 徐后国. 饲料中蛋白质含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长性能、氮排泄及相关生化指标的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 74-83

Zhang X, Liang MQ, Wei YL, Liao ZB, Zhang QG, Xu HG. Effects of dietary protein content and stocking density on growth performance, nitrogen excretion, and relevant biochemical parameters of juvenile *Takifugu rubripes*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(1): 74-83

饲料中蛋白质含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长性能、氮排泄及相关生化指标的影响*

张 晓^{1,2} 梁萌青^{2,3①} 卫育良^{2,3} 廖章斌² 张庆功² 徐后国^{2,3}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;
3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

摘要 本实验以平均初始体重为 15.60 g 的红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)幼鱼为研究对象, 研究饲料中蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长性能、氮排泄及相关生理生化指标的影响。设计两因素三水平(2×3)实验, 配制 3 种不同蛋白梯度(38.87%、45.55%和 51.00%, 干重)的等脂实验饲料, 设置 3 个密度梯度为 1.53 kg/m³(0.196 m³ 体积的实验桶, 每桶 20 尾鱼)、2.30 kg/m³(每桶 30 尾鱼)和 3.06 kg/m³(每桶 40 尾鱼)。每组饲料设 3 个重复, 养殖实验为期 56 d, 在室内流水系统内进行。结果显示, 增重率在高、中蛋白组显著高于低蛋白组($P<0.05$), 但当饲料蛋白含量一定时, 养殖密度对增重率没有显著性影响。饲料蛋白含量和养殖密度对鱼体常规成分没有显著性影响。当饲料蛋白一定时, 高密度组的血清总蛋白和胆固醇含量显著高于中密度组($P<0.05$)。血清总蛋白含量在低蛋白组显著高于中蛋白组($P<0.05$)。血清碱性磷酸酶含量在低蛋白组显著高于高蛋白组($P<0.05$)。饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼的生长、氨氮排泄没有显著性交互作用。静水投喂 3 h 后, 氨氮排泄率在高密度组显著高于低密度组($P<0.05$)。研究表明, 45.55%饲料蛋白质含量已经能够满足红鳍东方鲀幼鱼正常生长的需求。饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼的生长性能和氨氮排泄没有显著性交互作用。

关键词 红鳍东方鲀; 饲料蛋白; 养殖密度; 生长性能; 氮排泄; 生理生化指标

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)01-0074-10

环境因素是对鱼类生长最重要的因素之一, 养殖环境通常会对鱼类的营养需求产生影响。不适宜的养殖密度、养殖水温和水体盐度, 以及水中过高的氨氮含量等都会对鱼类的生长产生不利的影响。养殖密度作为一种非常重要的环境胁迫因子, 对鱼类的生长、

发育、代谢等生命活动具有显著的影响, 养殖密度过高和过低都会对鱼类的生长产生负面影响(曹阳等, 2014)。养殖密度过高会造成鱼类生存空间的拥挤以及水质的恶化, 鱼体长期处于应激状态, 严重时导致死亡(Allen, 1974; Suresh *et al*, 1992)。然而, 在实际

* 中国水产科学研究院基本科研业务费(2018HY-ZD0505, 2020TD48)和现代农业产业技术体系专项资金(CARS-47-15)共同资助 [This work was supported by Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2018HY-ZD0505, 2020TD48), and China Agriculture Research System (CARS-47-15)]. 张 晓, E-mail: 757170691@qq.com

① 通讯作者: 梁萌青, 研究员, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2019-10-28, 收修改稿日期: 2019-11-18

养殖生产过程中,养殖户通常会通过提高养殖密度来增加效益(Zhu *et al*, 2011),养殖密度对营养需求和代谢的影响需要进行科学地评估。养殖密度可能会影响饲料中营养物质的利用率,而且,密度造成的胁迫还可能改变养殖鱼类的能量消耗状态,从而影响机体营养物质的积累。

蛋白质在鱼类营养中具有非常重要的功能,是动物生长、发育和维持机体正常生命活动的必需营养素(刘永坚等, 2002)。饲料蛋白质水平的变化不仅影响消化酶活性和蛋白质合成,调节内分泌激素的合成,还直接影响细胞内氨基酸库的变化,从而影响蛋白质的周转,最终影响鱼体生长和健康(秦钦等, 2018)。蛋白质供应不足会阻碍鱼类的生长发育和繁殖,导致生长速度下降,而蛋白质过量不仅能抑制鱼类生长,而且增加鱼体的负荷、提高养殖成本,造成不必要的浪费。鉴于养殖密度和饲料蛋白含量在影响鱼体蛋白代谢和能量供应方面具有某些共同的路径,因此,本研究拟通过两因素三水平实验,同时评价养殖密度和饲料蛋白含量在影响鱼体生长和代谢方面的交互作用。

红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)是东亚地区重要的高价值养殖鱼类,随着 2016 年农业部办公厅和国家食品药品监督管理总局联合发布《关于有条件放开养殖红鳍东方鲀和养殖暗纹东方鲀加工经营的通知》,其养殖和市场推广大大提速,显示出良好的市场前景。在对红鳍东方鲀蛋白质需求的研究中,有研究发现,红鳍东方鲀幼鱼饲料中适宜的蛋白质含量应为 41%左右(王淑敏, 2008; Kim *et al*, 2009),也有研究表明,红鳍东方鲀饲料中最适蛋白质含量为 50%左右(朱钦龙, 2003; 扬州等, 2002),不同研究结果间存在一定的差异。而关于红鳍东方鲀养殖密度对生长及代谢的影响,目前,国内外尚未见相关研究报道。鉴于如前所述蛋白营养生理和密度因素可能存在的交互作用,尤其是对于红鳍东方鲀等具有较严重撕咬残食行为的养殖鱼类,研究不同养殖密度下的蛋白营养需求及养殖密度和饲料蛋白水平在影响鱼类生理代谢中的交互作用,对阐明水产动物的精准营养调控具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 实验设计

本实验通过向基础饲料中等梯度添加 0、7.5%和 15%的酪蛋白,配制成 3 种不同蛋白质梯度水平的等脂的半精制饲料,实验饲料配方如表 1。其中,蛋白水平分别参照 Kim 等(2009)和朱钦龙(2003)的方法。

经测定,各组饲料的实际蛋白质含量分别为 38.87%、45.55%和 51.00%。所有原料测定常规成分后,经粉碎机粉碎,过 80 目筛网,按配方称量原料,逐级混匀,然后加鱼油和大豆卵磷脂混匀,加 30%水搅拌均匀。用制粒机制成直径为 2 mm 的颗粒饲料,55℃鼓风干燥 12 h 后置于-20℃冷库保存。

表 1 实验饲料配方及营养成分组成(%干物质)
Tab.1 Formulation and proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

原料 Ingredients	Diet1	Diet2	Diet3
鱼粉 Fish meal	42.00	42.00	42.00
酪蛋白 Casein	0.00	7.50	15.00
豆粕 Soybean meal	12.50	12.50	12.50
小麦粉 Wheat meal	21.38	21.38	21.38
无机盐混合物 Mineral premix ¹	0.50	0.50	0.50
维生素混合物 Vitamin premix ¹	0.20	0.20	0.20
磷酸二氢钙 Calcium dihydrogen phosphate	1.00	1.00	1.00
维生素 C Vitamin C	0.50	0.50	0.50
氯化胆碱 Choline chloride	0.50	0.50	0.50
甜菜碱 Betaine	0.30	0.30	0.30
抗氧化剂 Antioxidant	0.02	0.02	0.02
丙酸钙 Calcium propionate	0.10	0.10	0.10
大豆卵磷脂 Lecithin	2.00	2.00	2.00
鱼油 Fish oil	4.00	4.00	4.00
α 淀粉 Alpha starch	15.00	7.50	0.00
饲料的营养成分 Proximate composition(%)			
粗蛋白 Crude protein	38.87	45.55	51.00
粗脂肪 Crude lipid	9.38	9.61	9.19
粗灰分 Crude ash	8.73	8.92	9.36

1: 海水鱼专用维生素和矿物质预混料,购自青岛玛斯特生物技术有限公司

1: Vitamin premix and mineral premix, designed for marine fish, were purchased from Qingdao Master Biotech Co., Ltd, Qingdao

1.2 实验鱼和养殖管理

实验用鱼来自大连天正有限公司河北唐山育苗场人工孵化的同一批鱼苗,体重为 15 g 左右,用商业配合饲料投喂 14 d 驯化。正式实验前,在暂养桶(直径为 230 cm,高度为 100 cm)中暂养 7 d 后,对每尾幼鱼剪牙,剪牙后继续暂养 7 d 以适应养殖环境。挑选规格一致、健康无病的鱼苗进行分组实验。养殖实验在山东省烟台海阳市黄海水产公司基地养殖桶(方形,70 cm×70 cm×40 cm)中进行,设置 3 个不同密度

和3个不同蛋白梯度的交互实验,共9组,每组3个重复。3个不同密度的养殖桶(0.196 m³)分别放20、30和40尾鱼苗,在每天08:00和19:30手工缓慢投喂至表观饱食。养殖周期为56 d,养殖期间记录每天的摄食、死鱼数量和重量,监测海水温度、盐度和溶解氧(DO)等。养殖过程中,养殖车间采用自然光周期,流水养殖,水温为20℃~27℃,盐度为30~31, pH为7.4~8.2,溶解氧为5~7 mg/L。

1.3 实验取样

养殖实验结束饥饿24 h后,对每桶鱼进行计数和称重,随机在每桶中取6尾鱼,取每条鱼的血液、肠道、肝脏和肌肉样本。采用尾静脉取血液方式,采集血液样本置于4℃过夜后,3500 r/min离心5 min,取上层血清,置于液氮中保存。将鱼解剖后收集同一部位肠道、肝脏和肌肉样品。所有样品立即置于液氮中保存,再转移到-80℃冰箱中储存备用。取样结束后,随机挑选4条全鱼放入-20℃备用,用于体成分分析和计算肝体比、脏体比和肥满度。

1.4 生化分析

饲料、饲料原料以及实验开始前和结束后鱼体样品、鱼体肌肉常规成分的分析全部采用AOAC(1995)的方法。其中,样品在(105±2)℃烘干至恒重后求得水分含量,蛋白质含量的测定采用凯氏定氮法(VELP, UDK142 automatic distillation unit, VELP, Usmate, MB, 意大利);脂肪采用索氏抽提仪测定(Foss Tecator, Hoganas, 瑞典),以石油醚作为抽提液;灰分是将样品在电炉上炭化后,在550℃马福炉中灼烧6 h后测得。血清、肠道和肝脏的酶活均采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定。

1.5 水质测定与分析方法

总氮的测定采用次溴酸钠氧化比色法,亚硝氮采用盐酸萘乙二胺分光光度法,分析方法参照《海洋调查规范》。

1.6 计算方法及统计分析方法

增重率(Weight gain, WG, %)=(终末重-初始重)/初始重×100

饲料效率(Feed efficiency ratio, FER)=体重增加量(g)/摄食量饲料干重(g)

摄食率(Feeding rate, FI, %/d)=摄食饲料干重/[实验天数×(初始体重+终末体重)/2]×100

存活率(Survival rate, SR, %)=实验结束时活鱼总数/实验开始时活鱼总数×100

肥满度(Condition factor, CF)=体重(g)/体长³(cm)×100

肝体比(Hepatosomatic index, HSI, %)=肝脏重(g)/体重(g)×100

脏体比(Viscerosomatic index, VSI, %)=内脏重(g)/体重(g)×100

采用SPSS 20.0软件对所得数据进行双因素方差(Two-way ANOVA)分析,当差异显著时($P<0.05$),采用Tukey检验进行多重比较;当2个因素有交互作用时,则固定一个因素,对另一个因素进行Tukey多重比较。结果以平均值±标准误(Mean±SE)表示。

2 结果

2.1 不同饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长、饲料利用和鱼体组成的影响

不同饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长的影响如表2所示。各组存活率介于54%~68%,存活率无显著差异($P>0.05$)。本实验成活率总体偏低是由于养殖期间,遭遇急性高温天气导致。高蛋白和中蛋白饲料组的终末体重和增重率显著高于低蛋白组($P<0.05$),而高蛋白和中蛋白饲料组间无显著差异。高蛋白组饲料效率显著高于低蛋白组($P<0.05$),而中蛋白组与高、低蛋白组间相比无显著性差异($P>0.05$)。各密度组饲料效率和增重率无显著性差异($P>0.05$)。饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长指标的影响无显著性交互作用($P>0.05$)。

饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼全鱼体成分的影响如表3所示。各组之间粗成分无显著差异($P>0.05$),鱼体粗蛋白含量随饲料蛋白含量的升高有升高的趋势。

2.2 饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼氨氮排泄的影响

饲料蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀氨氮排泄率的影响如图1所示。不同蛋白质饲料组静水投喂3 h后,氨氮排泄率无显著差异($P>0.05$),高密度组静水投喂3 h后,氨氮排泄率显著高于低密度组($P<0.05$),中密度组与高、低密度组相比无显著差异($P>0.05$),饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼氨氮排泄的影响无显著性交互作用($P>0.05$)。

2.3 饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼血清、肠道和肝脏相关生化指标的影响

饲料蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼营养代谢相关生理生化指标的影响如表4所示。当养殖

表 2 不同饲料蛋白质含量和养殖密度对红鳍东方鲀生长指标的影响(平均值±标准误, n=3)

Tab.2 Growth performances of *Takifugu rubripes* fed the diets with different protein contents under different stocking densities (Mean±SE, n=3)

饲料分组 Diet No. (Protein/density)	终末体重 Final weight (g)	存活率 SR (%)	饲料效率 FE	摄食率 FI (%/day)	增重率 WG (%)	肝体比 VSI (%)	脏体比 HSI (%)	肥满度 CF
1(P39/D20)	57.67±1.31 ^{ab}	68.33±3.33	0.77±0.02	2.04±0.14	284.52±8.71 ^{ab}	9.01±0.20	14.49±0.16	3.75±0.13
2(P39/D30)	56.07±1.22 ^a	62.22±2.93	0.77±0.04	1.70±0.14	273.79±8.13 ^a	9.86±0.94	14.92±1.01	3.81±0.31
3(P39/D40)	56.49±1.98 ^a	60.83±5.07	0.75±0.03	1.97±0.20	276.62±13.18 ^a	9.26±0.40	14.68±0.72	3.67±0.05
4(P45/D20)	59.97±1.02 ^{ab}	65.00±5.77	0.83±0.05	1.91±0.18	299.82±6.81 ^{ab}	8.56±0.38	13.57±0.17	3.89±0.11
5(P45/D30)	61.52±1.78 ^{ab}	63.33±6.09	0.84±0.05	1.82±0.19	310.12±11.87 ^{ab}	8.95±0.67	13.92±0.82	3.89±0.01
6(P45/D40)	59.89±0.72 ^{ab}	55.00±1.44	0.80±0.03	1.73±0.16	299.27±4.80 ^{ab}	9.00±0.26	14.18±0.33	3.65±0.03
7(P51/D20)	62.03±1.86 ^{ab}	56.67±6.01	0.86±0.07	1.55±0.25	313.50±12.42 ^{ab}	8.84±0.39	13.88±0.41	3.68±0.14
8(P51/D30)	63.69±1.84 ^b	58.89±1.11	0.92±0.03	1.50±0.17	324.61±7.09 ^b	8.90±0.92	13.69±0.61	3.77±0.22
9(P51/D40)	63.37±0.76 ^b	54.17±3.63	0.83±0.04	1.56±0.16	300.53±5.08 ^b	8.88±0.56	13.97±0.73	3.70±0.05

单因素 ANOVA(差异显著性标注在数据后面, 用小写字母标示)

P 值 P value	0.01	0.31	0.08	0.36	0.01	0.92	0.80	0.92
-------------	------	------	------	------	------	------	------	------

双因素 ANOVA(差异显著性标注在大括号后面, 用大写字母标示)

P value (蛋白 protein)	0.00	0.13	0.00	0.05	0.00	0.46	0.19	0.72
P value (密度 density)	0.87	0.16	0.73	0.55	0.88	0.67	0.84	0.48
P value (蛋白×密度 protein×density)	0.71	0.79	0.91	0.85	0.71	0.96	0.97	0.94

P 表示饲料蛋白含量; D 表示养殖密度。下同。同一列中不共有字母的数据间具有显著差异(P<0.05)

P indicates the feed protein content and D indicates the stocking density. The same as below. Data within a column not sharing a superscript letter are significantly different (P < 0.05)

表 3 不同饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀全鱼体成分的影响(平均值±标准误, n=3)

Tab.3 Effects of different dietary protein contents under different stocking densities on whole-body proximate composition of *T. rubripes* (Mean±SE, n=3)

饲料分组 Diet No. (protein/density)	水分 Moisture (%)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗脂肪 Crude lipid (%)	粗灰分 Crude ash (%)
1(P39/D20)	76.36±0.21	14.93±0.27	5.11±0.61	2.47±0.06
2(P39/D30)	76.08±0.64	15.01±0.09	5.40±0.70	2.59±0.12
3(P39/D40)	76.16±0.22	15.17±0.30	5.21±0.15	2.56±0.05
4(P45/D20)	76.65±0.35	15.18±0.28	4.66±0.43	2.52±0.11
5(P45/D30)	76.53±0.42	14.99±0.35	4.90±0.64	2.63±0.05
6(P45/D40)	76.42±0.21	15.18±0.14	4.78±0.15	2.55±0.03
7(P51/D20)	76.92±0.35	15.26±0.25	4.77±0.60	2.53±0.04
8(P51/D30)	76.54±0.35	15.15±0.45	4.79±0.12	2.74±0.09
9(P51/D40)	76.18±0.28	15.28±0.23	4.83±0.13	2.60±0.05

双因素 ANOVA

P value (蛋白 protein)	0.60	0.31	0.40	0.39
P value (密度 density)	0.74	0.92	0.89	0.07
P value (蛋白×密度 protein×density)	0.95	0.86	1.00	0.94

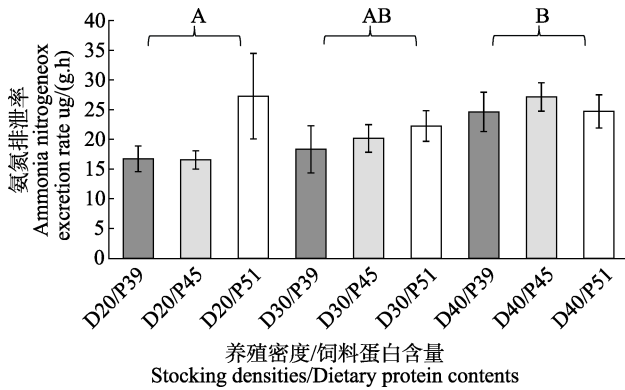


图1 饲料蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀氨氮排泄率的影响(平均值±标准误, $n=3$)

Fig.1 Effects of different dietary protein contents on ammonia nitrogen excretion rate of *T. rubripes* under different stocking densities (Mean±SE, $n=3$)

不同大写字母为差异显著($P<0.05$)

Means in each column with different superscripts have significant differences ($P<0.05$)

密度一定时,血清总蛋白含量中低蛋白组显著高于中蛋白组($P<0.05$),高蛋白组和中、低蛋白组间无显著

差异($P>0.05$)。当饲料蛋白一定时,高密度组的血清总蛋白含量显著高于中密度组($P<0.05$),低密度组和中、高密度组相比无显著差异($P>0.05$)。饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼血清总蛋白含量的影响具有显著性交互作用($P<0.05$)。高密度组的血清胆固醇含量显著高于中密度组($P<0.05$)。低密度组与中、高密度组相比无显著性差异($P>0.05$)。当养殖密度一定时,血清碱性磷酸酶含量在低蛋白组显著高于高蛋白组($P<0.05$),中蛋白组和低、高蛋白组相比无显著差异($P>0.05$),饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼血清碱性磷酸酶含量的影响具有显著性交互作用($P<0.05$)。各处理组肠道中胃蛋白酶和胰蛋白酶没有显著性差异,但是在中高密度组中,随着饲料蛋白含量的升高具有上升的趋势。

饲料蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼抗应激相关生化指标的影响如表5所示。血清和肝脏中的谷丙转氨酶和谷草转氨酶并无显著差异($P>0.05$)。血清中皮质醇和血糖含量也没有显著差异($P>0.05$),但在中高蛋白组中,随着养殖密度的增加都具有上升趋势。

表4 饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀营养代谢相关生化指标的影响(平均值±标准误, $n=3$)

Tab.4 Effects of dietary protein content and stocking density on nutrient metabolism-related biochemical parameters of in tiger puffer (Mean±SE, $n=3$)

饲料分组 Diet No. (protein/density)	肠道胃蛋白酶 Pepsin (U/gprot)	肠道胰蛋白酶 Trypsin (U/gprot)	血清甘油三酯 TG (mmol/L)	血清总胆固醇 T-CHO (mmol/L)	血清碱性磷酸酶 AKP (金氏单位/gprot)	血清总蛋白 TP (g/L)	血清白蛋白 ALB (g/L)
1(P39/D20)	31.66±8.11	626.8±136.0	1.64±0.33	7.21±0.62	7.52±0.35	24.31±1.21	0.42±0.00
2(P39/D30)	28.12±3.49	535.2±150.5	1.37±0.08	8.07±0.15	6.31±0.21	25.22±1.03	0.37±0.04
3(P39/D40)	24.47±5.39	419.5±136.0	1.53±0.34	9.63±0.13	6.95±0.41	29.00±0.82	0.38±0.08
4(P45/D20)	27.25±4.41	435.6±66.43	1.20±0.08	7.67±0.46	6.72±0.12	21.00±1.57	0.43±0.03
5(P45/D30)	31.03±1.63	565.7±235.1	1.06±0.22	5.14±0.54	5.26±0.43	19.15±0.62	0.35±0.04
6(P45/D40)	36.95±1.53	650.8±265.1	1.52±0.33	8.64±0.93	8.30±0.41	25.50±1.10	0.41±0.02
7(P51/D20)	24.09±3.14	621.0±51.40	1.56±0.02	8.03±0.42	5.78±0.23	26.59±0.42	0.44±0.02
8(P51/D30)	33.13±5.17	773.6±265.5	1.10±0.05	7.54±0.76	6.33±0.76	22.33±1.54	0.40±0.03
9(P51/D40)	37.46±4.63	803.3±173.3	1.42±0.27	7.91±0.64	5.33±0.49	21.69±0.98	0.37±0.05

双因素 ANOVA(差异显著性标注在大括号后面)

P value (蛋白 protein)	0.56	0.33	0.42	0.13	0.02	0.00	0.94
P value (密度 density)	0.39	0.89	0.20	0.01	0.06	0.02	0.27
P value (蛋白×密度 protein×density)	0.25	0.78	0.82	0.07	0.00	0.01	0.82

大括号后面具有不同大写字母者为差异显著($P<0.05$)

Significant differences between the braces with different uppercase letters ($P<0.05$)

表 5 饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀抗应激相关生化指标的影响(平均值±标准误, $n=3$)
Tab.5 Effects of dietary protein content and culture density on serum and liver biochemical parameters of tiger puffer (Mean±SE, $n=3$)

饲料分组 Diet no. (protein/density)	肝脏谷草转氨酶 GOT (U/gprot)	肝脏谷丙转氨酶 GPT (U/gprot)	血清谷丙转氨酶 GPT (U/gprot)	血清谷草转氨酶 GOT (U/gprot)	血清皮质醇水平 Serum cortisol (ng/ml)	血糖水平 Serum glucose (mg/dl)
1(P39/D20)	6.49±1.50	14.22±0.72	12.35±6.88	6.22±1.51	35.50±1.02	5.28±1.15
2(P39/D30)	7.81±1.05	12.46±0.31	18.60±11.45	7.56±3.95	33.29±6.69	3.35±1.45
3(P39/D40)	7.08±1.10	12.90±1.28	10.13±2.37	5.02±0.79	36.94±3.25	4.43±0.96
4(P45/D20)	6.58±0.78	11.71±0.48	11.00±2.98	5.71±2.56	31.92±3.53	3.38±0.84
5(P45/D30)	6.54±1.47	13.81±3.40	16.02±5.88	5.32±1.84	36.19±3.31	3.08±1.38
6(P45/D40)	6.64±0.96	14.29±2.45	12.19±2.71	7.84±0.47	39.90±0.35	5.04±1.01
7(P51/D20)	8.24±0.70	11.34±3.06	13.99±5.75	5.26±2.18	34.63±2.31	4.49±1.48
8(P51/D30)	11.64±3.67	18.46±3.78	15.96±1.66	4.17±1.14	37.68±0.11	3.83±0.73
9(P51/D40)	7.34±0.89	15.90±0.51	13.96±0.91	6.05±1.46	42.22±4.10	7.46±2.40
双因素 ANOVA						
<i>P</i> value (蛋白 protein)	0.12	0.48	0.94	0.74	0.55	0.44
<i>P</i> value (密度 density)	0.39	0.43	0.51	0.92	0.14	0.16
<i>P</i> value (蛋白×密度 protein×density)	0.68	0.42	0.98	0.75	0.82	0.69

3 讨论

3.1 饲料蛋白含量及养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼生长、饲料利用和鱼体组成的影响

鱼类的增重率和饲料效率一直被认为是生长方面最重要的指标之一, 本实验中, 增重率在高、中蛋白组显著高于低蛋白组, 而在高、中饲料蛋白组间无显著性差异。饲料效率也得到了类似的结果。本研究表明, 45.55%饲料蛋白质含量已经能满足红鳍东方鲀幼鱼正常生长的需求。但有研究表明, 为使红鳍东方鲀幼鱼获得较好的生长速度, 饲料中最适粗蛋白质含量应该在 50%左右(扬州等, 2002; 朱钦龙, 2003)。本研究结果与这些研究间的差异可能主要是因为养殖环境和实验条件不同造成的。本研究中, 由于养殖中后期水温过高, 鱼存活率较低, 各组存活率介于 54%~68%, 存活率无显著性差异。在半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*) (王峰等, 2015)、点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*) (王楠楠, 2015)等鱼中发现, 随着养殖密度的增大, 存活率呈下降趋势, 这与本研究有所不同。

本研究表明, 各密度组增重率无显著差异, 这与乌鳢(*Ophiocephalus argus* Cantor)的放养密度对增重率无显著性影响的结果相似(原居林等, 2017)。但也

有学者研究发现, 随着养殖密度的升高, 增重率会出现明显下降的趋势, 在对龙纹斑(*Maccullochella peelii*) (张庆阳等, 2015)、点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*) (逯尚尉等, 2011)、褐鲟(*Salmo trutta*) (王炳谦等, 2014)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) 稚鱼(江仁堂, 2009)的研究中发现, 随着养殖密度的升高, 增重率会出现明显下降的趋势。本研究中, 各密度组增重率显著性差异的缺失, 可能主要是由于实验后期随着死亡率增加, 养殖密度并未达到对红鳍东方鲀幼鱼的生长产生不利影响的密度。

本研究设定的 3 种饲料蛋白含量和 3 种养殖密度对红鳍东方鲀形体指数和粗成分之间均无显著影响, 但随着饲料蛋白含量的增加, 粗蛋白含量有上升的趋势。或许更加优化的实验条件和更长的养殖周期能够使蛋白方面的差异显著显现出来。

3.2 不同饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀氨氮排泄的影响

高养殖密度常引起水质恶化, 氨氮浓度过高, 进而导致鱼类组织溃烂和呼吸功能受阻, 损伤鱼类的抗氧化系统和免疫系统。氨氮作为水质检测中的重要指标之一, 其主要存在形式是游离态氨和离子态铵, 其对评价水体生态环境和水体功能具有重要意义(曾巾等, 2007)。当水中的氨氮浓度过高时, 会对鱼

鳃等免疫器官造成损害,降低鱼类的免疫力,引起病变甚至造成死亡(Colt *et al.*, 1981)。本研究中,经过56 d的养殖,在3 h静水氨氮排泄实验中,中、高密度组的氨氮排泄率高于低密度组,各蛋白组间无显著差异。结果表明,高密度养殖造成了氨氮排泄量的增加,使水体中氨氮含量升高。对大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)的研究发现,高密度组的氨氮浓度显著高于中、低密度组(韩岑等, 2017),在斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*) (郑乐云等, 2013)和鳊鱼(*Siniperca chuatsi*) (古勇明等, 2015)的研究中也得到一致的结果。这说明高密度的养殖的确会增加水体中氨氮的排泄率,长期下去会对养殖水体产生不利的影响,氨氮的积累有可能造成养殖鱼类患病,甚至死亡。因此,在进行高密度养殖时,需要考虑增加降低水体氨氮的措施。

3.3 不同饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀血清、肝脏、肠道相关生化指标的影响

蛋白酶活性的高低与饲料中蛋白质水平关系紧密(钟国防等, 2019)。在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) (李金秋等, 2005)、鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*) (陈壮等, 2014)等的研究中发现,在一定范围内,随着饲料蛋白水平的提高,蛋白酶活性呈升高的趋势。本研究中,饲料蛋白质含量和养殖密度没有使胃蛋白酶、胰蛋白酶产生显著差异,出现这种结果的原因可能是红鳍东方鲀幼鱼对40%~50%的饲料蛋白含量不敏感。血清总蛋白是机体蛋白质的一个来源,用于修补组织和提供能量。血清总蛋白和白蛋白含量在一定程度上反映了机体对蛋白质的消化吸收程度和代谢状况(Coma *et al.*, 1995)。血清蛋白质(白蛋白和球蛋白以及总蛋白)的含量与动物对饲料蛋白质的摄取量有关,同时受内源蛋白质分解代谢、外界环境等众多因素的影响(李辉等, 2009)。本研究中,血清白蛋白含量没有显著性差异。当养殖密度一定时,血清总蛋白含量在低蛋白组显著高于中蛋白组,高蛋白组和中、低蛋白组相比无显著差异。说明39%蛋白质含量的饲料刺激了红鳍东方鲀幼鱼血液中的蛋白质更替速度。当饲料蛋白一定时,高密度组的血清总蛋白含量显著高于中密度组。这在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)幼鱼的研究中发现,团头鲂血清中总蛋白含量随着养殖密度的升高显著增加的研究结果相似(亓成龙等, 2014)。在对俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedti*)幼鱼的研究中也发现,高密度养殖条件下血红蛋白含量显著升高(曹阳等, 2014)。

甘油三酯是营养物质被机体消化吸收后在血液里的主要形式,反应了脂肪代谢的基本状况。血清中

的甘油三酯和总胆固醇浓度反应了机体摄取或合成甘油三酯和总胆固醇的能力。碱性磷酸酶是一种磷酸单脂酶,可催化单脂的水解反应,是生物体内的一种重要的与蛋白质、脂质有关的代谢调控酶(黄金凤等, 2013)。在大菱鲂的研究中发现,高密度组大菱鲂的血浆胆固醇含量显著高于低密度组(贾瑞, 2016)。本研究中,高密度组的血清胆固醇含量显著高于中密度组。说明较高的养殖密度会增加总胆固醇的合成,从而对脂肪代谢产生一定影响。同样,在对团头鲂幼鱼的研究中也发现,团头鲂血清中总胆固醇含量随着养殖密度的升高显著增加。当养殖密度一定时,低蛋白组血清碱性磷酸酶活性显著高于高蛋白组。说明39%含量的饲料蛋白质会对红鳍东方鲀幼鱼血液中的脂肪代谢产生一定影响,但具体产生影响的代谢机理有待进一步研究。

糖、蛋白质和脂肪是鱼类的主要能量来源,其中,葡萄糖是营养物质被机体消化吸收后在血液里的主要形式,反应了糖代谢的基本状况(周顺伍, 1999)。高密度养殖会造成养殖鱼类的应激反应,水产动物受到环境因子刺激后,下丘脑可分泌促肾上腺皮质激素释放激素传递至脑下腺,垂体前叶受到促肾上腺皮质激素释放激素调节,将分泌促肾上腺皮质激素,传递到肾间组织,产生皮质类固醇释放至血液中(Barton, 2002)。血糖和皮质醇的含量常用来评价鱼类应激情况(Barton *et al.*, 1991),高密度胁迫下,皮质醇水平升高可能是鱼类对能量需求增加以适应胁迫环境的反应(Pickering, 1989)。在高密度养殖条件下,虹鳟血液中皮质醇浓度会上升(Barton *et al.*, 1987),在点带石斑鱼幼鱼的研究中也发现,高密度组中的血糖和皮质醇的含量显著高于低密度组(逯尚尉等, 2011)。本研究中,饲料蛋白含量和养殖密度并未对红鳍东方鲀幼鱼葡萄糖和皮质醇产生显著影响,但随着养殖密度的升高,血浆中的血糖和皮质醇含量均有上升趋势。这与在大菱鲂(贾瑞, 2016)、俄罗斯鲟(曹阳等, 2014)和点带石斑鱼(逯尚尉等, 2011)的研究中养殖密度的升高会使血糖和皮质醇含量升高的研究结果相似。谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性与机体氨基酸的分解转化关系密切相关(Berge *et al.*, 1998),这2种酶的活性升高说明氨基酸被大量分解以供能。在本研究中,血清和肝脏中的谷丙转氨酶和谷草转氨酶均无显著差异,可能与养殖后期不利的养殖条件有关。

4 结论

研究表明,在本实验条件下,45.55%饲料蛋白质

含量已经能满足红鳍东方鲀幼鱼正常生长的需求。较高的养殖密度 3.06 kg/m^3 会增加水体中的氨氮排泄率, 对养殖水环境产生不利的影 响。饲料蛋白含量和养殖密度对红鳍东方鲀幼鱼的生长、氨氮排泄没有显著性交互作用, 但会在一定程度上影响机体的蛋白代谢和脂肪代谢。

参 考 文 献

- Allen KO. Effects of stocking density and water exchange rate on growth and survival of channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) in circular tanks. *Aquaculture*, 1974, 4: 29–39
- Barton BA, Iwama GK. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1991, 1: 3–26
- Barton BA, Schreck B, Barton LD. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1987(2): 173–186
- Barton BA. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(3): 517–525
- Berge GE, Sveier H, Lied E. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); the requirement and metabolic effect of lysine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 1998, 120(3): 477–485
- Cao Y, Li EQ, Chen LQ, *et al.* Effects of stocking density on growth, physiological and immune responses in juvenile Russian sturgeon. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(5): 968–974 [曹阳, 李二超, 陈立侨, 等. 养殖密度对俄罗斯鲟幼鱼生长、生理和免疫指标的影响. *水生生物学报*, 2014, 38(5): 968–974]
- Chen Z, Liang MQ, Zheng KK, *et al.* Impact of dietary protein level on growth performance, body composition and protease activity of juvenile *Lateolabrax japonicus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(2): 51–59 [陈壮, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 饲料蛋白水平对鲈鱼生长、体组成及胃蛋白酶活力的影响. *渔业科学进展*, 2014, 35(2): 51–59]
- Colt JE, Armstong DA. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and mollusks. In: LJ Allen, EC Kinney (eds) proceedings of the bio-engineering symposium for fish culture. American Fisheries Society and North East Society of Conservation Engineers. Bethesda, MD, 1981, 34–47
- Coma J, Carrion D, Zimmeman DR. Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. *Journal of Animal Science*, 1995, 73(2): 472–481
- Gu YM, Lu X, Xu P, *et al.* Effects of stocking density, water quality and multi-stage rearing strategy on *Siniperca chuatsi* fry culture. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42(16): 84–88 [古勇明, 卢薛, 胥鹏, 等. 养殖密度、水质和分级对水泥池鳜鱼苗种培育的影响. *广东农业科学*, 2015, 42(16): 84–88]
- Han C, Lei JL, Liu BL, *et al.* Effect of stocking density on growth and protein metabolism of *Scophthalmus maximus* in a recirculating aquaculture system. *Marine Sciences*, 2017, 41(3): 32–40 [韩岑, 雷霖霖, 刘宝良, 等. 养殖密度对循环水系统中大菱鲆生长和蛋白质代谢的影响. *海洋科学*, 2017, 41(3): 32–40]
- Huang JF, Xu QY, Wang CA, *et al.* Effects of temperature and dietary protein content on the blood biochemical parameters in juvenile Songpu mirror carp *Cyprinus specularis* Songpu. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, 28(2): 185–190 [黄金凤, 徐奇友, 王常安, 等. 温度和饲料蛋白质水平对松浦镜鲤幼鱼血清生化指标的影响. *大连海洋大学学报*, 2013, 28(2): 185–190]
- Jia R. Study of stress response mechanism of turbot (*Scophthalmus maximus*) to stocking density, nitrite and ammonia exposure. Doctoral Dissertation of Nanjing Agricultural University master's degree thesis, 2016 [贾瑞. 大菱鲆对养殖密度、亚硝酸盐和氨氮胁迫的应激响应机制的研究. 南京农业大学博士研究生学位论文, 2016]
- Jiang RT. Effect of stocking density on growth of rainbow trout juvenile. *Chinese Journal of Fisheries*, 2009, 22(4): 32–33 [江仁堂. 放养密度对虹鳟稚鱼生长的影响. *水产学杂志*, 2009, 22(4): 32–33]
- Kim SS, Lee KJ. Dietary protein requirement of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*). *Aquaculture*, 2009, 287(1–2): 219–222
- Li H, Diao QY, Zhang NF, *et al.* Effects of different protein sources on nutrient digestibility and serum biochemical parameters in early-weaning calves (I). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2009, 21(1): 47–52 [李辉, 刁其玉, 张乃锋, 等. 不同蛋白质来源对早期断奶犊牛消化及血清生化指标的影响(一). *动物营养学报*, 2009, 21(1): 47–52]
- Li JQ, Lin JB, Zhu QG, *et al.* Effects of different energy-protein ratio in the diet on the activities of digestive enzymes for flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Jimei University (Natural Science)*, 2005, 10(4): 296–299 [李金秋, 林建斌, 朱庆国, 等. 不同能量蛋白比饲料对牙鲆体内消化酶活性的影响. *集美大学学报(自然科学版)*, 2005, 10(4): 296–299]
- Liu YJ, Liu DH, Tian LX, *et al.* Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile *Sciaenops ocellatus*. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(3): 242–246 [刘永坚, 刘栋辉, 田丽霞, 等. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响. *水产学报*, 2002, 26(3): 242–246]
- Lu SW, Liu ZP, Yu Y. Effects of density stress on growth and metabolism of juvenile *Epinephelus malabaricus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(2): 322–328 [谔尚尉, 刘兆普, 余燕. 密度胁迫对点带石斑鱼幼鱼生长、代谢的影响. *中国水产科学*, 2011, 18(2): 322–328]
- Pickering AD. Environmental stress and the survival of brown trout, *Salmo trutta*. *Freshwater Biology*, 1989, 21(1): 47–55

- Qi CL, Li DP, Tang R. Effects of stocking density on growth, physiological and biochemical levels of juveniles. *Livestock and Veterinary*, 2014, 46: 147–148 [亓成龙, 李大鹏, 汤蓉. 养殖密度对团头鲂幼鱼生长及生理生化水平的影响. *畜牧兽医*, 2014, 46: 147–148]
- Qin Q, Chen XH, Pan JL, *et al.* Effects of families and feed protein contents on growth performance and hepatic expression of IGF-I mRNA of juvenile yellow catfish. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(2): 190–195 [秦钦, 陈校辉, 潘建林, 等. 日粮蛋白含量及家系对黄颡鱼幼鱼生长性能和肝脏 IGF-I mRNA 表达水平的影响. *上海海洋大学学报*, 2018, 27(2): 190–195]
- Suresh AV, Lin CK. Effect of stocking density on water quality and production of red tilapia in a recirculated water system. *Aquacultural Engineering*, 1992, 11(1): 1–22
- Wang BQ, Wang F, Gu W, *et al.* Effect of different stocking density on growth performance of developing fry of *Salmo trutta*. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2014, 45(12): 18–23 [王炳谦, 王芳, 谷伟, 等. 不同养殖密度对褐鳟(*Salmo trutta*)稚鱼生长性能的影响. *东北农业大学学报*, 2014, 45(12): 18–23]
- Wang F, Lei JL. Effect of stocking density on growth and quality in muscles of *Cynoglossus semilaevis* Günther adult fish in industrial recirculating aquaculture. *Chinese Engineering Science*, 2015, 17(1): 19–26 [王峰, 雷霖霖. 工厂化循环水养殖模式放养密度对半滑舌鳎成鱼生长和肌肉营养成分的影响. *中国工程科学*, 2015, 17(1): 19–26]
- Wang NN. Effects of stocking density on growth and survival of malabar grouper *Epinephelus malabaricus* and water quality in an indoor recirculating aquaculture system. *Chinese Journal of Fisheries*, 2015, 28(3): 44–47 [王楠楠. 循环水养殖中放养密度对点带石斑鱼幼鱼生长、存活和水质的影响. *水产学杂志*, 2015, 28(3): 44–47]
- Wang XM. Study on the optimum dietary protein level of juvenile tiger puffer, *Fugu rubripes*. Master's Thesis of Hebei Normal University, 2008, 14–27 [王淑敏. 红鳍东方鲀幼鱼饲料最适蛋白质含量的研究. 河北师范大学硕士研究生学位论文, 2008, 14–27]
- Yang Z, Yang JX. Overview of nutrient requirements and feed application in the tiger fish. *Reservoir Fisheries*, 2002, 22(1): 1–2 [杨州, 杨家新. 河鲀营养需求与饲料应用概况. *水利渔业*, 2002, 22(1): 1–2]
- Yuan JL, Guo JL, Liu M, *et al.* Comparison of growth performances and nutritional quality of muscle in snakehead *Channa argus* fed different diets at different stocking densities. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(5): 534–543 [原居林, 郭建林, 刘梅, 等. 不同饲料类型和放养密度对乌鳢生长特性及营养品质的影响. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(5): 534–543]
- Zeng J, Yang LY, Xiao L, *et al.* Biogeochemical cycling of nitrogen in lakes and the role of microorganisms in conversion of nitrogen compounds. *Journal of Lake Sciences*, 2007, 19(4): 382–389 [曾巾, 杨柳燕, 肖琳, 等. 湖泊氮素生物地球化学循环及微生物的作用. *湖泊科学*, 2007, 19(4): 382–389]
- Zhang QY, Li XJ, Yan J, *et al.* Effects of stocking density on growth, survival and behavior of juvenile Murray cod. *Journal of Aquaculture*, 2015, 36(4): 34–39 [张庆阳, 李小进, 闫杰, 等. 养殖密度对龙纹斑幼鱼生长的影响. *水产养殖*, 2015, 36(4): 34–39]
- Zheng LY, Yang QH, Huang ZC, *et al.* Effect of the breeding density and ammonia-nitrogen on growth and immunity of *Epinephelus coioides* in recirculating system. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(5): 706–712 [郑乐云, 杨求华, 黄种特, 等. 循环水养殖密度和氨氮对斜带石斑鱼生长和免疫力的影响. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(5): 706–712]
- Zhong GF, Zhou HQ, Hua XM. Effect of corn gluten meal partially replaced fish meal on digestive enzymes activities in puffer (*Fugu obscurus*). *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(2): 227–236 [钟国防, 周洪琪, 华雪铭. 玉米蛋白粉替代鱼粉对暗纹东方鲀消化酶活性的影响. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(2): 227–236]
- Zhou SW. *Animal biochemistry*. Beijing: China Agricultural Press, 1999 [周顺伍. *动物生物化学*. 北京: 中国农业出版社, 1999]
- Zhu QL. Optimum protein content of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*) feed. *Jiangxi Feed*, 2003(3): 41 [朱钦龙. 红鳍东方鲀(稚鱼)饲料的最适蛋白质含量. *江西饲料*, 2003(3): 41]
- Zhu YJ, Yang DG, Chen JW, *et al.* An evaluation of stocking density in the cage culture efficiency of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Journal of Applied Ichthyology*, 2011, 27(2): 545–549

(编辑 陈 辉)

Effects of Dietary Protein Content and Stocking Density on Growth Performance, Nitrogen Excretion, and Relevant Biochemical Parameters of Juvenile *Takifugu rubripes*

ZHANG Xiao^{1,2}, LIANG Mengqing^{2,3①}, WEI Yuliang^{2,3}, LIAO Zhangbin²,
ZHANG Qinggong², XU Houguo^{2,3}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

3. Pilot National Laboratory of Marine Science and Technology (Qingdao), Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao 266071)

Abstract The effects of protein content and stocking density on growth performance, nitrogen excretion, and related physiological and biochemical indexes of juvenile fish were studied using juvenile tiger puffers (*Takifugu rubripes*) with an average initial body weight of 15.60 g. A two-factor, three-level (2×3) design was used, with three different protein levels (38.87%, 45.55%, and 51.00% dry matter) and stocking densities of 1.53 kg/m³ (20 fish in a tank of 0.196 m³ volume), 2.30 kg/m³ (30 fish per tank), and 3.06 kg/m³ (40 fish per tank). The feeding trial was conducted in an indoor flow-through system. Each diet was fed to triplicate tanks for 8 weeks. The results showed that, at a certain stocking density, low dietary protein resulted in lower weight gain compared with the medium and high dietary protein levels ($P<0.05$). Neither dietary protein content nor stocking density significantly affected body proximate composition of experimental fish. At a certain dietary protein level, high stocking density increased total protein and total cholesterol contents in serum compared with medium stocking density ($P<0.05$). The total protein in serum was higher in the low-protein group than in the medium-protein group ($P<0.05$). The activity of alkaline phosphatase in serum was significantly higher in the low-protein group than in the high-protein group ($P<0.05$). No significant interaction was observed between the effects of dietary protein content and stocking density on growth performance and nitrogen excretion. Ammonia nitrogen excretion in the high-stocking-density group was higher than that in the low-stocking-density group at 3 hours after still-water feeding ($P<0.05$). Results of this study suggest that 45.55% dietary protein was sufficient to maintain normal growth in tiger puffers. Dietary protein content and stocking density had no significant interaction in the effects on growth performance and ammonia nitrogen excretion.

Key words Tiger puffer; Dietary protein content; Stocking density; Growth performance; Nitrogen excretion; Biochemical indices

① Corresponding author: LIANG Mengqing, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn