



# 饲料磷水平对虎龙杂交斑生长、骨矿化及肝脏、血液相关生理生化指标的影响\*

周智愚<sup>1,2</sup>, 邓银生<sup>1</sup>, 张金枫<sup>1</sup>, 梁程锦<sup>1</sup>, 吴小易<sup>1,2</sup>

1. 海南大学/海南省热带水生生物技术重点实验室, 海南海口 570228  
2. 海南大学/南海海洋资源利用国家重点实验室, 海南海口 570228

**摘要:** 本文旨在探究饲料不同磷(P)水平对虎龙杂交斑生长、骨矿化及肝脏、血液相关生理生化指标的影响。实验设计了7组以干物质计, 其等能(以每100 g计)、等蛋白、等脂分别为1 421.2 kJ、47%、8%的实验饲料, 饲料中磷的实测值分别为1.05%、1.10%、1.20%、1.37%、1.52%、1.59%和1.70%, 相应缩写为P1.05、P1.10、P1.20、P1.37、P1.52、P1.59及P1.70, 每组3个平行。实验鱼[初始体质量(12.14 ± 0.05) g]每日表观饱食投喂两次(8:00和16:30), 养殖周期为6周。分析结果显示, P1.05组体质量增长率(WG)、特定增长率(SGR)和饱满度(CF)均极显著高于其他实验组( $P < 0.01$ ), 蛋白质增长值(PPV)在P1.05和P1.10组高于其他实验组, 但各组间无显著差异( $P > 0.05$ )。随着饲料磷水平升高, P1.05组血浆及肝脏碱性磷酸酶(ALP)、甘油三酯(TG)含量高于其他实验组, 而全鱼灰分以及血浆、肝脏总胆固醇(TC)含量呈现相反趋势。P1.05组血浆钙(Ca)含量在各实验组中最高, 而磷含量最低, 脊椎骨Ca、P含量在P1.05组均低于其他实验组。P1.05组肝脏胰岛素样生长因子1(igf-1)基因表达水平显著高于其他实验组( $P < 0.05$ )。综上所述, 在本实验条件下, w=1.05%饲料磷水平已满足虎龙杂交斑幼鱼生长的需要, 过高磷水平则会导致实验鱼生长下降。

**关键词:** 虎龙杂交斑; 饲料磷水平; 生长; 骨矿化

中图分类号: S963 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137(2025)01-0147-11

## Effect of dietary phosphorus levels on growth, bone mineralization and relatively physiological and biochemical indices in blood and liver of hybrid grouper

ZHOU Zhiyu<sup>1,2</sup>, DENG Yinsheng<sup>1</sup>, ZHANG Jinfeng<sup>1</sup>, LIANG Chengjin<sup>1</sup>, WU Xiaoyi<sup>1,2</sup>

1. Hainan University / Hainan Provincial Key Laboratory for Tropical Hydrobiology and Biotechnology, Haikou 570228, China

2. Hainan University / State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Haikou 570228, China

**Abstract:** The purpose of this study was to investigate the effects of different dietary phosphorus levels on growth, bone mineralization, relatively physiological and biochemical indices in blood and liver of hybrid grouper juveniles. Seven feeding diets with isoenergetic, isoproteic and isolipidic (1 421.2 kJ/100 g, 47% and 8%, dry matter) were designed. The analyzed dietary phosphorus (P)

\* 收稿日期: 2024-07-26

录用日期: 2024-08-23

网络首发日期: 2024-09-26

基金项目: 海南省重点研发计划项目(ZDYF2022XDNY157)

作者简介: 周智愚(1993年生), 男; 研究方向: 水产动物营养与饲料; E-mail: 995217@hainanu.edu.cn

通信作者: 吴小易(1980年生), 男; 研究方向: 水产动物营养与饲料; E-mail: 992588@hainanu.edu.cn

全文阅读



ZR20240242

levels were 1.05%, 1.10%, 1.20%, 1.37%, 1.52%, 1.59%, and 1.70%, and experimental treatments were abbreviated as P1.05, P1.10, P1.20, P1.37, P1.52, P1.59, and P1.70. The average initial fish weight was  $(12.14 \pm 0.05)$  g, and experimental fish was hand-fed (8:00 and 16:30) to apparent satiation for 6 weeks. The results showed that the weight gain percentage (WG), specific growth rate (SGR) and condition factor (CF) in P1.05 group were significantly higher than those in other experimental groups ( $P < 0.01$ ), and protein increase value (PPV) was slightly higher in both P1.05 and P1.10 groups than that in the other experimental groups, but there was no significant difference between the groups ( $P > 0.05$ ). With increasing feed phosphorus levels, plasma and liver alkaline phosphatase (ALP) and triglyceride (TG) concentrations were higher in the P1.05 group than those in the other experimental groups, whereas whole fish ash as well as plasma and liver total cholesterol (TC) content showed the opposite trend. Plasma calcium (Ca) content was the highest and P content was the lowest among the experimental groups in the P1.05 group, and vertebral Ca and P contents were lower in the P1.05 group than in the other experimental groups. The expression of liver insulin-like growth factor-1 (*igf-1*) of P1.05 group was also significantly higher than that of other experimental groups ( $P < 0.05$ ). In summary, the 1.05% of dietary phosphorus level can meet the P demand for the growth of hybrid grouper juveniles, and excessive phosphorus supplementations will lead to the decline of fish growth performance.

**Key words:** hybrid grouper; phosphorus; growth; bone mineralization

磷(P)是影响动物生长及骨矿化的重要矿物质之一,广泛参与动物细胞分化、蛋白质合成及酸碱平衡等生理生化过程(NRC, 2011)。研究表明,大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、银汉鱼(*Odontesthes bonariensis*)和美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)摄食适宜磷水平饲料可提高增重率及饲料利用效率(Rocha et al., 2014; Xie et al., 2017; Xu et al., 2018; Wang et al., 2022)。在印度野鲮(*Labeo rohita*)、鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)、胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)和银鲑(*Oncorhynchus kisutch*)的结果则显示,适宜的磷水平还能够增强血清碱性磷酸酶活性,并降低血浆甘油三酯水平(Yuan et al., 2011; Ji et al., 2017; Musharraf et al., 2019; Xu et al., 2021)。此外,磷还在鱼类骨质形成和骨骼形态维持方面发挥重要作用,鱼类脊椎骨中磷的沉积与饲料磷水平具有显著的正相关性(Chavez-Sanchez et al., 2000; Hossain et al., 2017)。

饲料中磷含量不足时,鱼体会产生许多不良反应。欧洲白鲑(*Coregonus lavaretus*)在摄入低磷饲料后,其全鱼、血浆中磷含量及抗高温胁迫能力降低(Jokinen et al., 2003)。Shao et al.(2008)的研究表明,黑鲷(*Sparus macrocephalus*)饲料中磷缺乏时,血浆碱性磷酸酶及溶菌酶活性受到抑制,甘油三酯和总胆固醇水平下降,肌肉及脊椎骨钙、磷沉积能力减弱。在杂交鳢(*Channa maculata*♀ × *Channa*

*argus*♂)和黑线鳢鱼(*Melanogrammus aeglefinus*)的研究均显示,饲料磷含量不足,会严重影响骨骼的生长发育(Roy et al., 2003; Shen et al., 2017)。

饲料中磷含量过高时,不仅会导致鱼类对磷的生物利用率下降,还会损伤其生理、代谢功能(Lall et al., 2021)。例如,当饲料磷水平超过0.8%时,会导致黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)肝脏抗氧化能力降低,丙二醛含量升高(Tang et al., 2012),降低吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肝脏脂质代谢酶活性(白富瑾等, 2015)。在牙鲆(*Pvalichthys olivaceus*)和斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的研究中也都有类似报道(Choi et al., 2005; Ye et al., 2006)。同时,饲料磷过量也会引起鱼类的骨骼矿化过度。例如,饲料磷水平达到1.65%时,牙鲆出现脊柱变形(Uyan et al., 2007)。

虎龙杂交斑(*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂)具有生长速度快、抗逆性强和市场价值高的特点,是我国主养的海水经济鱼类之一(Nankervis et al., 2022)。当前,得益于虎龙杂交斑饲料中非鱼粉蛋白源应用技术的研究(Yao et al., 2018; Zhou et al., 2020; Ye et al., 2021),饲料中鱼粉添加量不断减少,但在降低饲料成本的同时也会降低饲料中有效磷的水平,因此,有必要研究其低鱼粉饲料中磷的适宜添加水平。本研究基础饲料配方的设计是基于我们前期

虎龙杂交斑低鱼粉饲料技术的研究结果(Irm et al., 2022),并在此基础上添加不同水平的磷作为实验组,拟探讨不同饲料磷水平对虎龙杂交斑生长、骨矿化及肝脏、血液相关生理生化指标的影响,以期获得虎龙杂交斑低鱼粉饲料中磷的适宜添加水平,为其高效环保饲料开发提供基础理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验设计与饲料配方

饲料基础配方参考实验室前期发表的虎龙杂交斑基本营养需求结果(Irm et al., 2022),设计7组不同磷含量,以干物质计,其等能(以每100 g计)、等蛋白、等脂分别为1 421.2 kJ、47%、8%的低鱼粉饲料(鱼粉占比20.54%),每组设立3个平行。饲料中磷的实测值分别为1.05%、1.10%、1.20%、1.37%、1.52%、1.59%和1.70%。实验饲料配方及营养成分见表1。

根据配方成分表,配制5 kg(干质量)饲料,准确称取每组所需的原料。将称取的磷酸氢二钠、晶体蛋氨酸与异亮氨酸、复合矿物质、复合维生素、羧甲基纤维素钠(CMC)和微晶纤维素充分混匀后,按1:2(质量比)比例加水包被成团,依次加入鱼粉、棉籽蛋白粉、鸡肉粉、玉米淀粉和鱼油,2:5(质量比)比例加水充分混匀。采用压条机(F-75型双螺旋杆挤条机,中国)将饲料制成直径为2.5 mm条带状,再经制粒机(G-500型造粒机,中国)制粒,饲料经风干(16 °C,36 h)、过筛后放入冰柜(-20 °C)储存。

### 1.2 实验鱼饲养管理

虎龙杂交斑幼鱼购自海南儋州海头商业石斑鱼育苗场,经高锰酸钾溶液(0.5 mg/L)药浴消毒后,置于包含21个玻璃缸(长50 cm×宽60 cm×高60 cm)的循环水养殖系统,采用石斑鱼商品饲料驯化14 d。驯化结束后,随机选取294尾大小均匀、体格健壮的实验鱼(12.14 ± 0.05) g,每缸14尾;另随机选取10尾鱼置于-20 °C保存,用于初始体成分分析。养殖实验期间,每日2次(8:00和16:30)表观饱食投喂。每日通过手持式多参数仪(型号:ProQuatro,YSI,美国)检测水质,包括温度28~30 °C、pH值7.3~7.8、溶解氧质量浓度6.0~6.3 mg/L和盐度30‰~33‰。此外,使用快速检测测试盒(货号:Ammonia N Kit,桑普生化,中国)测量总氨氮质量浓度,以确保水体氨氮质量浓度小于0.20 mg/L。养殖环境保持12 h光照和12 h黑

暗的稳定光周期,养殖周期为6周。

### 1.3 样品采集

养殖实验结束后,实验鱼禁食24 h,记录每缸内鱼的数量并称量。使用0.1 g/L的间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐溶液(MS-222)(Sigma-Aldrich,美国)对实验鱼麻醉后取样。每个玻璃缸随机选2尾实验鱼称重记录后置于-20 °C保存用于全鱼体成分分析;其他3尾实验鱼分别测量体长、体质量,随后用肝素钠(上海医药集团,中国)处理的2 mL一次性注射器于尾静脉取血。血样采集后,依次解剖取每尾鱼内脏、肝脏、腹腔脂肪、肠道并称量,肝脏、肠道样品于-80 °C储存;同时收集每尾鱼白肌并称量记录后,放入自封袋(10 cm×13 cm)至-20 °C保存,用于肌肉组成成分分析;最后再采集每尾脊椎骨,-20 °C保存,用于骨骼中Ca、P含量的测定。血样放入离心机(FC5515R,Hamburg,Germany)4 000 r/min离心15 min,取血浆于冻存管内并置于-80 °C备用。

### 1.4 分析方法

**1.4.1 饲料、全鱼、肌肉营养成分测定** 水分采用减重法(105 °C烘干,电热鼓风干燥箱,BGZ-140,上海右一,中国)测定;粗蛋白含量采用杜马斯(RAPID MAXN EXCEED SYSTEM,Germany)燃烧法测定;粗脂肪含量采用索氏抽提法(ANKOM XT15i Extractor脂肪分析仪,XT15i,USA)测定(抽提剂为石油醚);粗灰分含量采用550 °C马弗炉(SX2-2.5-10Z,上海博讯,中国)煅烧法测定。饲料磷含量通过GB/T6437-2018方法检测,在波长400 nm下测定经酸化消解溶液中钒钼黄的吸光度值,与标准溶液比较定量。

**1.4.2 血浆、肝脏生化指标测定** 血浆及肝脏中ALP、TG、TC含量均采用试剂盒参考说明书操作方法进行测定(货号:R21786、R24192和R21737,上海源叶生物科技有限公司,中国)。

**1.4.3 血浆、脊椎骨钙磷含量测定** 血浆Ca、P含量采用Elabscience试剂盒参考说明书操作方法进行测定(货号:E-BC-K103-M和E-BC-K245-M)。脊椎骨Ca、P含量测定先取约0.5 g脊椎骨样品进行固液转化,然后依次在每一个样品加入0.5 mL超纯水、2 mL硝酸( $\rho = 68\%$ ,光华科技)和0.5 mL双氧水( $\rho = 30\%$ ),超级微波消解系统(Multiwave 7000,青岛,中国)消解1 h,待消解液冷却后取出,定容至30 mL;使用液相色谱-电感耦合等离子体串联质谱仪(ELSpe-2/NexION 5000G, USA)

表 1 实验饲料配方及成分分析(干质量)

Table 1 Formulations and analyzed composition of experimental diets (dry-matter basis)								%
原料	$w_p$							
	1.05	1.10	1.20	1.37	1.52	1.59	1.70	
鳀鱼鱼粉 <sup>1)</sup>	20.54	20.54	20.54	20.54	20.54	20.54	20.54	
鸡肉粉 <sup>2)</sup>	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	9.23	
棉籽蛋白 <sup>3)</sup>	37.24	37.24	37.24	37.24	37.24	37.24	37.24	
蛋氨酸	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	0.76	
异亮氨酸	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	
复合矿物质 <sup>4)</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	
玉米淀粉 <sup>5)</sup>	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	
智利鲑鱼油	3.93	3.93	3.93	3.93	3.93	3.93	3.93	
复合维生素 <sup>6)</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
CMC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
纤维素 <sup>7)</sup>	5.33	4.47	3.61	2.75	1.88	1.02	0.16	
磷酸二氢钠二水合物	0.00	0.86	1.72	2.58	3.45	4.31	5.17	
合计	100	100	100	100	100	100	100	

成分	$w_p$						
	1.05	1.10	1.20	1.37	1.52	1.59	1.70
w(干质量)	87.3	87.8	87.5	88.5	89.0	89.2	88.8
w(粗蛋白)	47.2	47.7	48.2	48.5	48.2	48.2	48.6
w(粗脂肪)	7.1	7.1	7.3	7.4	7.0	7.3	7.3

1) 鳀鱼鱼粉:w(水分)=9.9%,w(粗蛋白)=73.3%,w(粗脂肪)=9.6%;

2) 鸡肉粉:w(水分)=4.6%,w(粗蛋白)=68.7%,w(粗脂肪)=14.7%;

3) 棉籽蛋白:w(水分)=8.6%,w(粗蛋白)=65.4%,w(粗脂肪)=2.0%;

4) 复合矿物质配方:163.5 mg 乳酸钙,14.85 mg 柠檬酸铁,67.9 mg  $\text{CaCl}_2$ ,66 mg  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,1.5 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,0.5 mg  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,0.4 mg  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,0.075 mg KI,0.075 mg  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,0.05 mg  $\text{CuCl}_2$ ,165.15 mg 微晶纤维素;

5) 玉米淀粉:w(水分)=13.2%;

6) 复合维生素配方:2.5 mg 维生素  $\text{B}_1$ ,10 mg 维生素  $\text{B}_2$ ,25 mg 泛酸钙,37.5 mg 烟酸,2.5 mg 维生素  $\text{B}_6$ ,0.75 mg 叶酸,26.79 mg 肌醇,维生素 C,14.84 mg;2 mg 维生素 K,6.3 mg 维生素 E,1 mg 维生素 A,0.28 mg 维生素  $\text{D}_3$ ,0.05 mg 维生素  $\text{B}_{12}$ ,0.25 mg 生物素,870.24 mg 纤维素;

7) 纤维素:w(水分)=4.2%。

测定 P 含量;采用原子吸收光谱仪(安捷伦 240DUO,中国)测定 Ca 含量。

**1.4.4 RNA 提取、cDNA 合成及实时荧光定量反应(RT-qPCR)** 使用灭菌手术剪刀剪取 60 mg 肝脏组织置于 2 mL RNase-Free 离心管(货号:KG2911,科进生物,中国)中,立即加入 1 mL TRIzol™试剂(货号:15596026,Invitrogen,美国),每个离心管分别加入 2 颗灭菌钢珠,然后使用冷冻匀浆机(型号:JXFSTPRP-CLN-24,上海净信,中国)充分研磨至无明显组织碎块为止, RNA 后续提取步骤按照制造商的说明书进行。提取后的 RNA 通过 UV-Vis 分光光度计(型号:NanoDrop® ND-1000,Thermo Fisher

Scientific,美国)检测浓度与质量,使用琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 的完整性。RNA 质量评估后,将 RNA 稀释至同一浓度,使用 PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒(货号:RR047A,Takara,日本)合成 cDNA,该反应按照制造商的说明书进行。所有引物的设计(表 2)根据 NCBI 中的 mRNA 序列使用 Primer 5.0 软件设计(PREMIER Biosoft,美国)。

定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR)体系包含 5  $\mu\text{L}$  TB Green™ Premix Ex Taq™ II(货号 RR420A,Takara,日本)、0.4  $\mu\text{L}$  正向引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )、0.4  $\mu\text{L}$  反向引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )、3.2  $\mu\text{L}$  RNase free  $\text{dH}_2\text{O}$

和1  $\mu\text{L}$  cDNA模板。反应程序基于Takara公司提供的用户手册,在实时PCR系统上运行(型号LightCycler® 480, Roche, 瑞士)。每个样本3个重复。引物在正式使用前,先通过与同一cDNA样本

的5个不同稀释梯度反应,根据获得的定量周期(Cq)值构建标准曲线,通过 $E=10^{(-1/\text{slope})}-1$ 计算扩增效率,采用 $2^{-\Delta\Delta Cq}$ 方法计算表达水平。 $\beta\text{-actin}$ 和 $igf\text{-I}$ 基因引物序列见表2。

表2 实时荧光定量基因引物序列

Table 2 Primers used for quantitative RT-PCR (qPCR)

基因	基因序列编号	引物序列 (5'-3')
$igf\text{-I}^{1)}$	XM_020085100.1	F: TCCTTCTCCGTCTGTAAACGA R: CATGAACACCTGCTTACCAT
$\beta\text{-actin}^{2)}$	AY510710.2	F: CTCTGGGCAACGGAACCTCT R: GTGCGTGACATCAAGGAGAAGC

1)  $igf\text{-I}$ : 胰岛素样生长因子1; 2)  $\beta\text{-actin}$ :  $\beta$ 肌动蛋白。

### 1.5 数据计算及统计学分析

体质量增长率(WG)、特定生长率(SGR)、蛋白质增长值(PPV)和形态学指标肥满度(CF)的计算公式为

$$\text{WG}/\% = [(m_{\text{均,末}} - m_{\text{均,初}}) / m_{\text{均,初}}] \times 100,$$

$$\text{SGR}/\% = [(\ln m_{\text{均,末}} - \ln m_{\text{均,初}}) / t] \times 100,$$

$$\text{PPV}/\% = ([\Delta m_{\text{鱼体蛋白}} / m_{\text{饲料蛋白}}]) \times 100,$$

$$\text{CF} = (m_{\text{末}} / l^3) \times 100,$$

其中 $m_{\text{均,末}}$ 为末期平均体质量(g),  $m_{\text{均,初}}$ 为初始平均体质量(g),  $t$ 为饲养时间(d),  $\Delta m_{\text{鱼体蛋白}}$ 为鱼体蛋白增长质量(g),  $m_{\text{饲料蛋白}}$ 为饲料蛋白质质量(g),  $m_{\text{末}}$ 为末期体质量(g),  $l$ 为末期体长(cm)。

所有的数据采用“平均值 $\pm$ 标准误”表示。数据先进行正态性分布和方差齐性检验,再运用SPSS18软件的单因素方差(One-Way-ANOVA)和Tukey's检验方法,分析不同组之间的差异是否显著;当 $P < 0.05$ 时,差异性显著, $P < 0.01$ 时,差异

性极显著。

## 2 结果

### 2.1 饲料磷水平对虎龙杂交斑生长性能、形态学及饲料利用的影响

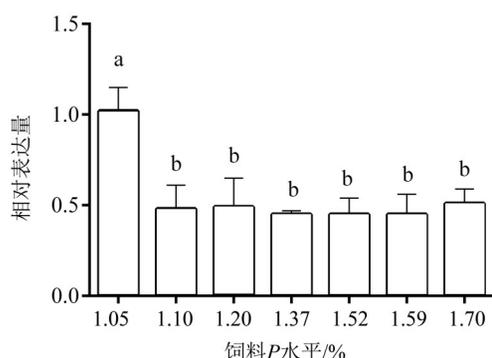
如表3所示,不同饲料磷水平对实验鱼存活率无显著影响( $P > 0.05$ ),但WG、SGR和CF均有极显著影响( $P < 0.01$ ),P1.05组WG、SGR和CF显著高于其他实验组,P1.10、P1.20、P1.37、P1.52、P1.59及P1.70之间,WG和SGR均无显著差异( $P > 0.05$ )。PPV在P1.05组和P1.10组高于其他实验组,但各组之间无显著差异( $P > 0.05$ )。如图1显示,不同磷水平饲料对虎龙杂交斑肝脏 $igf\text{-I}$ 基因表达量有显著性影响( $P < 0.05$ ),P1.05肝脏 $igf\text{-I}$ 基因表达量显著高于其他实验组,但除P1.05组外,其他实验组间的肝脏 $igf\text{-I}$ 基因表达量无显著差异( $P > 0.05$ )。

表3 饲料磷水平对虎龙杂交斑生长性能、形态学和饲料利用的影响<sup>1)</sup>

Table 3 Effects of dietary P levels on growth performance and feed utilization of hybrid grouper juveniles

$w_p/\%$	WG/%	SGR/%	PPV/%	CF	存活率/%
1.05	637 $\pm$ 22.3 <sup>a</sup>	4.43 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	34.61 $\pm$ 0.85	2.85 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.10	554 $\pm$ 4.9 <sup>b</sup>	4.17 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	34.78 $\pm$ 0.49	2.59 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.20	558 $\pm$ 13.0 <sup>b</sup>	4.19 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	34.25 $\pm$ 1.11	2.54 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.37	540 $\pm$ 11.4 <sup>b</sup>	4.12 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	33.71 $\pm$ 0.49	2.49 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.52	539 $\pm$ 7.4 <sup>b</sup>	4.12 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	34.13 $\pm$ 0.37	2.46 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.59	539 $\pm$ 3.7 <sup>b</sup>	4.12 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	33.84 $\pm$ 0.84	2.31 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	100.00 $\pm$ 0.00
1.70	548 $\pm$ 12.1 <sup>b</sup>	4.15 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	32.58 $\pm$ 0.67	2.41 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	97.62 $\pm$ 2.38
P-value	0.001	0.001	0.462	0.000	0.463

1) 同列数据上标字母不同者表示差异显著( $P < 0.05$ )。



误差线上的不同字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

图1 饲料磷水平对虎龙杂交斑肝脏 *igf-1* 表达量的影响

Fig. 1 Effects of dietary P levels on expression of hepatic *igf-1* of hybrid grouper juveniles

## 2.2 饲料磷水平对虎龙杂交斑全鱼及白肌组成的影响

如表4所示, 不同饲料磷水平对虎龙杂交斑全

鱼的灰分含量有极显著影响 ( $P < 0.01$ ), P1.05组全鱼灰分含量显著低于其他实验组。各实验组之间的白肌灰分含量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。不同处理组之间的全鱼及白肌的水分无显著差异 ( $P > 0.05$ )。全鱼和白肌粗脂肪、粗蛋白含量在各实验组之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

## 2.3 饲料磷水平对虎龙杂交斑血浆及肝脏中ALP、TG、TC浓度的影响

如表5所示, 不同磷水平饲料对虎龙杂交斑血浆ALP、TG浓度以及肝脏ALP、TC浓度有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 对血浆TC浓度及肝脏TG浓度有极显著影响 ( $P < 0.01$ )。随着饲料磷水平升高, P1.05组血浆及肝脏的ALP和TG浓度均高于其他实验组。血浆和肝脏TC浓度变化趋势与ALP和TG相反, 且P1.05组显著高于P1.70组。

表4 饲料磷水平对虎龙杂交斑全鱼和白肌组成的影响(湿质量)<sup>1)</sup>

Table 4 Effects of dietary P levels on whole-body and white muscle compositions of hybrid grouper juveniles (fresh weight based)

$w_p$ /%	$w$ (全鱼组成)/%				$w$ (白肌组成)/%			
	水分	粗蛋白	粗脂肪	灰分	水分	粗蛋白	粗脂肪	灰分
1.05	71.70±0.15	17.84±0.26	6.63±0.20	3.38±0.09 <sup>d</sup>	78.29±2.04	19.09±1.93	1.68±0.07	1.14±0.10
1.10	70.53±0.61	18.46±0.30	6.91±0.32	3.66±0.02 <sup>cd</sup>	77.15±0.53	20.06±0.33	1.68±0.07	1.25±0.06
1.20	71.49±0.41	17.85±0.52	6.33±0.17	3.96±0.18 <sup>bc</sup>	76.80±0.07	20.26±0.07	1.87±0.09	1.28±0.02
1.37	71.74±0.15	17.74±0.18	5.65±0.01	4.34±0.06 <sup>ab</sup>	77.22±0.06	19.94±0.20	1.62±0.09	1.27±0.01
1.52	71.18±0.01	17.75±0.21	6.15±0.27	4.48±0.15 <sup>ab</sup>	77.15±0.20	19.88±0.20	1.61±0.03	1.28±0.01
1.59	71.24±0.25	17.45±0.29	6.19±0.36	4.41±0.17 <sup>ab</sup>	77.15±0.28	19.97±0.34	1.57±0.09	1.30±0.01
1.70	71.43±0.10	17.62±0.16	6.03±0.27	4.63±0.07 <sup>a</sup>	77.28±0.08	20.04±0.09	1.53±0.02	1.27±0.02
<i>P</i> -value	0.175	0.389	0.066	0.000	0.908	0.956	0.082	0.246

1) 同列数据上标字母不同者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

## 2.4 饲料磷水平对虎龙杂交斑血浆、脊椎骨Ca、P含量及脊椎骨Ca/P比的影响

不同磷水平饲料对虎龙杂交斑血浆和脊椎骨Ca、P含量均有显著性影响 ( $P < 0.05$ ) (表6)。随着饲料磷水平升高, 血浆Ca含量呈现下降后缓慢上升趋势, P1.05组与P1.10、P1.20组之间无显著差异, 但显著高于P1.37、P1.52、P1.59及P1.70组; 脊椎骨Ca含量与血浆Ca含量呈现相反趋势, 且P1.05组与P1.10、P1.20、P1.37、P1.52组之间无显著差异, 但显著低于P1.59及P1.70组。P1.05组血浆P含量低于其他实验组, 且与P1.10和P1.20组具有显著差异, 但与P1.37、P1.52、P1.59及P1.70组无显著差异。P1.05组脊椎骨P含量低于其他实验

组, 且与P1.20、P1.52、P1.59及P1.70组具有显著差异。不同磷水平饲料对实验鱼脊椎骨Ca/P比也有显著性影响 ( $P < 0.05$ ), P1.05组的脊椎骨Ca/P比高于其他实验组; 与P1.10、P1.20、P1.37及P1.52组无显著差异, 但显著高于P1.59和P1.70组。

## 3 讨论与结论

### 3.1 饲料磷水平对虎龙杂交斑生长性能、形态学和饲料利用的影响

由于水体中磷的含量较低, 鱼类对其利用能力有限, 因此, 养殖鱼类饲料中磷的添加尤为关键 (NRC, 2011)。本研究结果表明, 1.05%的饲料磷水平可以满足虎龙杂交斑幼鱼生长, 说明了虎

表 5 饲料磷水平对虎龙杂交斑幼鱼血浆及肝脏 ALP、TG、TC 浓度的影响<sup>1)</sup>

Table 5 Effects of dietary P levels on plasma and liver ALP, TG and TC concentrations of hybrid grouper juveniles

$w_p / \%$	血浆			肝脏		
	ALP/(U·L <sup>-1</sup> )	$c_{TG} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$c_{TC} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	ALP/(U·L <sup>-1</sup> )	$c_{TG} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$c_{TC} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$
1.05	2.05±0.17 <sup>a</sup>	1.09±0.01 <sup>a</sup>	0.71±0.20 <sup>c</sup>	7.89±2.13 <sup>a</sup>	0.63±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.05 <sup>b</sup>
1.10	1.68±0.09 <sup>b</sup>	1.06±0.00 <sup>ab</sup>	1.07±0.21 <sup>c</sup>	2.44±0.93 <sup>b</sup>	0.62±0.01 <sup>a</sup>	0.49±0.12 <sup>ab</sup>
1.20	1.69±0.05 <sup>b</sup>	1.06±0.01 <sup>ab</sup>	1.19±0.48 <sup>bc</sup>	2.28±0.64 <sup>b</sup>	0.60±0.01 <sup>a</sup>	0.50±0.06 <sup>ab</sup>
1.37	1.68±0.06 <sup>b</sup>	1.06±0.01 <sup>ab</sup>	2.14±0.36 <sup>abc</sup>	2.65±0.53 <sup>b</sup>	0.59±0.00 <sup>ab</sup>	0.65±0.08 <sup>ab</sup>
1.52	1.60±0.08 <sup>b</sup>	1.06±0.01 <sup>ab</sup>	2.86±0.74 <sup>abc</sup>	2.92±1.17 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>ab</sup>	0.63±0.09 <sup>ab</sup>
1.59	1.60±0.06 <sup>b</sup>	1.06±0.00 <sup>ab</sup>	3.81±0.52 <sup>ab</sup>	2.05±1.01 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>ab</sup>	0.64±0.08 <sup>ab</sup>
1.70	1.63±0.09 <sup>b</sup>	1.03±0.01 <sup>b</sup>	4.29±1.10 <sup>a</sup>	3.65±0.32 <sup>ab</sup>	0.55±0.01 <sup>b</sup>	0.75±0.09 <sup>a</sup>
<i>P</i> -value	0.044	0.017	0.004	0.027	0.004	0.027

1) 同列数据上标字母不同者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

表 6 饲料磷水平对虎龙杂交斑幼鱼血浆和脊椎骨 Ca、P 含量及脊椎骨 Ca/P 的影响<sup>1)</sup>

Table 6 Effects of dietary P levels on plasma and vertebrae Ca, P contents and vertebrae Ca/P of hybrid grouper juveniles

$w_p / \%$	血浆		脊椎骨		
	$w_{Ca} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$w_p / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$w_{Ca} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$w_p / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$w_{Ca} / w_p$
1.05	1.60±0.29 <sup>a</sup>	2.56±0.12 <sup>c</sup>	9.68±0.49 <sup>c</sup>	5.95±0.35 <sup>d</sup>	1.63±0.04 <sup>a</sup>
1.10	1.03±0.52 <sup>ab</sup>	3.35±0.15 <sup>a</sup>	10.57±0.52 <sup>bc</sup>	7.14±0.16 <sup>cd</sup>	1.48±0.04 <sup>ab</sup>
1.20	0.93±0.52 <sup>ab</sup>	3.31±0.13 <sup>ab</sup>	11.52±0.90 <sup>abc</sup>	7.75±0.47 <sup>bc</sup>	1.49±0.03 <sup>ab</sup>
1.37	0.16±0.01 <sup>b</sup>	2.98±0.10 <sup>abc</sup>	11.14±0.17 <sup>abc</sup>	7.53±0.12 <sup>bcd</sup>	1.48±0.02 <sup>ab</sup>
1.52	0.15±0.05 <sup>b</sup>	2.77±0.08 <sup>bc</sup>	11.65±0.46 <sup>abc</sup>	7.87±0.15 <sup>abc</sup>	1.48±0.04 <sup>ab</sup>
1.59	0.01±0.01 <sup>b</sup>	2.80±0.25 <sup>abc</sup>	13.11±1.11 <sup>a</sup>	9.02±0.26 <sup>a</sup>	1.45±0.04 <sup>b</sup>
1.70	0.11±0.05 <sup>b</sup>	2.86±0.24 <sup>abc</sup>	12.31±0.47 <sup>ab</sup>	8.58±0.28 <sup>ab</sup>	1.43±0.03 <sup>b</sup>
<i>P</i> -value	0.013	0.040	0.005	0.000	0.031

1) 同列数据上标字母不同者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

龙杂交斑对饲料中磷的需求量不应高于 1.05%。肉食性鱼类饲料蛋白原料中, 鱼粉是磷的主要来源之一, 本研究中使用的基础饲料是低鱼粉配合饲料 (Irm et al., 2022), 符合生产实际的要求。由此可见, 在虎龙杂交斑饲料实际生产过程中不需要额外添加磷源。目前, 关于鱼类饲料磷适宜需求量的评估主要依据生长性能、血清磷酸酶活性、血浆和鱼骨磷含量等指标 (Wen et al., 2015; Molina-Poveda et al., 2016; Li et al., 2022)。例如, 基于 WG 的研究结果得出大西洋鲑 (*Salmo salar*)、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 和狼鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 饲料磷适宜水平分别为 1.00% ~ 1.10%、0.89% ~ 0.91% 及 0.65% (Asgard et al., 1997; Mai et al., 2006; Schamber et al., 2014)。这与本研究中报道的虎龙杂交斑饲料磷的适宜添加水平不应高于 1.05% 相似。鱼类对饲料磷的需求量可能受多种

因素的影响, 比如种类、规格、养殖环境等 (Schamber et al., 2014)。

与哺乳动物相似, 鱼类的生长受到 GH-IGF 轴的调控 (Reindl et al., 2012)。生长激素 (GH) 通过与 GH 受体 (GHR) 结合, 能够刺激鱼类肝脏和其他部位合成和分泌 IGF-1, 从而发挥促进肌成纤维细胞增殖和蛋白质合成的关键作用 (Jimenez-Amilburu et al., 2013)。本研究中, 实验鱼 WG 变化趋势和肝脏 *igf-1* 基因表达量呈正相关, 说明肝脏 *igf-1* 基因是决定实验鱼生长速度的关键影响因素之一, 这与我们早期的报道一致 (Wu et al., 2017)。在其他鱼类中也有研究发现, *igf-1* 在鱼类生长过程中起重要作用 (Hassaan et al., 2019)。

此外, 饲料磷含量还会影响鱼类蛋白质效率和鱼体 CF (Yang et al., 2006)。本研究也发现, 随着饲料磷水平的增加, 虎龙杂交斑 PPV 和 CF 整体

呈现下降趋势。在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)中的研究结果显示,当饲料磷含量超过0.85%时,WG、蛋白质效率和CF呈下降趋势(Liang et al., 2012),在黄颡鱼的研究中也得到相同的结果(Luo et al., 2010)。这可能是因为过量的磷会减少鱼体蛋白沉积和降低脂肪含量,鱼体修长,肥满度降低。

### 3.2 饲料磷水平对虎龙杂交斑脂代谢的影响

ALP是一种非特异性的磷酸水解酶,参与了动物体内磷酸基团的转移和代谢过程,进而在动物脊椎骨形成以及钙磷平衡维持等方面起重要作用(Villanueva et al., 1997; Lallès, 2020)。本实验结果也显示,过高的饲料磷水平显著降低了虎龙杂交斑血浆及肝脏组织ALP的活性。Lallès (2019)报道了,鱼体摄入过量的磷会导致ALP活性降低,并间接影响钙含量及钙磷比。在尼罗罗非鱼和草鱼的研究中也得到类似的结果(Yao et al., 2014; Chen et al., 2017)。

TG和TC具有提供不饱和脂肪酸和保证细胞膜结构的完整性等功能(Turchini et al., 2013)。在本研究中,随着饲料磷含量的增加,血浆和肝脏TG浓度呈下降趋势,而TC含量呈上升趋势。在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的研究中也发现,当饲料磷过量时,肝脏TG水平下降(Sugiura et al., 2011)。在异育银鲫和暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)的研究中也有类似的结果报道(Xie et al., 2017; Xu et al., 2019; Liu et al., 2020)。

### 3.3 饲料中磷水平对虎龙杂交斑钙磷代谢的影响

有学者发现,磷的过量摄入,会导致狼鲈和尼罗罗非鱼的体脂质代谢紊乱以及脊椎骨钙、磷比例失衡,最终使得实验鱼生长下降(Oliva-Teles et al., 2004; Schamber et al., 2014)。同样,在吉富罗非鱼、花鲈(*Lateolabrax japonicus*)和鲫鱼(*Carassius auratus*)也报道了类似的结果(Zhang et al., 2006; Yuan et al., 2011; Sun et al., 2018)。

本研究中,P1.05组血磷含量低于其他实验组,当饲料中磷含量升至1.10%时,血磷含量逐渐下降,到P1.37后趋于稳定。这可能是由于肠道以简单扩散的方式吸收磷为主,血浆中磷含量上升,

但随着肠道无机磷浓度升高,Na<sup>+</sup>依赖型无机磷转运的主动运输逐渐占主导地位,肠道对磷的吸收减少(Brichon, 1973)。太阳鲈(*Morone chrysops* × *M.saxxatilis*)的研究中也出现相似结果,血液磷含量随饲料磷水平升高而升高,但到一定浓度后保持平衡(Brown et al., 1993)。

体内沉积量是评价矿物元素影响鱼类生长发育的重要参考指标(Davis et al., 1996)。本实验结果显示,随着饲料磷水平的提高,全鱼灰分含量先上升后趋于平稳,这与在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)中的研究结果类似(Yang et al., 2021)。在军曹鱼(*Rachycentron canadum*)中,当以鱼体灰分作为生长的评价指标时,随着军曹鱼饲料中磷含量升高,其鱼体灰分含量及生长速度均随之升高(Fraser et al., 2009)。Sambraus et al. (2020)的研究显示,骨骼及鳞片组织具有储存磷的能力,三倍体大西洋鲑(*Salmo salar*)能够通过调控磷的摄入量及其在体内的沉积来响应饵料磷含量的变化,以满足其最大生长需要。本实验中,低磷饲料组(P1.05组)的脊椎骨钙、磷含量均低于其他高磷饲料组,说明鱼体内钙、磷的沉积与饲料磷含量存在正相关,这也在对印度囊鳃鲈(*Heteropneustes fossilis*)和尖吻鲈(*Lates calcarifer*)的研究中得到了证实(Chaimongkol et al., 2001; Zafar et al., 2018)。

脊椎骨钙、磷比也常被用作评价鱼类磷营养的指标之一(Liu et al., 2021)。本研究结果表明,饲料中磷添加过量会降低虎龙杂交斑脊椎骨钙、磷比。鱼类脊椎骨钙、磷比下降,会引发钙、磷稳态失衡,最后导致鱼体生长下降(Mai et al., 2006)。在对七彩神仙鱼(*Symphysodon haraldi*)和黄颡鱼的研究中也发现了类似的现象(Liu et al., 2021; Zhao et al., 2021)。

### 3.4 结论

在本实验条件下,以WG为评价指标得出虎龙杂交斑饲料磷的添加水平不应高于1.05%;饲料磷水平超过1.05%时,虎龙杂交斑生长性能下降,骨骼发育受阻。

### 参考文献:

白富瑾,罗莉,陈任孝,等. 2015. 饲料中有效磷对吉富罗非鱼生长、体组成及生化指标的影响[J]. 水产学报, 39(7): 1024-1033.

ASGARD T, SHEARER K D, 1997. Dietary phosphorus requirement of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Aquac Nutr, 3(1): 17-23.

- BRICHON G, 1973. Phosphorus absorption by the intestine of the eel (*Anguilla L.*). 1: Demonstration and characteristics of in vitro phosphate ion transport in the fresh water eel[J]. Comptes Rendus Des Seances De La Soc De Biol De Ses Fil, 167(8): 1142-1145.
- BROWN M L, JARAMILLO F Jr, GATLIN D M III, 1993. Dietary phosphorus requirements of juvenile sunshine bass, *Morone chrysops* ♀ × *M. saxxatilis* ♂ [J]. Aquaculture, 113(4): 355-363.
- CHAIMONGKOL A, BOONYARATPALIN M, 2001. Effects of ash and inorganic phosphorus in diets on growth and mineral composition of seabass *Lates calcarifer* (Bloch.) [J]. Aquac Res, 32: 53-59.
- CHAVEZ-SANCHEZ C, MARTINEZ-PALACIOS C A, MARTINEZ-PEREZ G, et al, 2000. Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther) [J]. Aquacult Nutr, 6(1): 1-9.
- CHEN K, JIANG W D, WU P, et al, 2017. Effect of dietary phosphorus deficiency on the growth, immune function and structural integrity of head kidney, spleen and skin in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 63: 103-126.
- CHOI S M, KIM K W, KANG Y J, et al, 2005. Reevaluation of phosphorus requirement of juvenile olive flounder *Pavalichthys olivaceus* and the bioavailability of various inorganic phosphorus sources [J]. World Aquac Soc, 36(2): 217-222.
- DAVIS D A, GATLIN D M III, 1996. Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans [J]. Rev Fish Sci, 4(1): 75-99.
- FRASER T W K, DAVIES S J, 2009. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): A review [J]. Aquac Res, 40(11): 1219-1234.
- HASSAAN M S, EL-SAYED A I M, SOLTAN M A, et al, 2019. Partial dietary fish meal replacement with cotton seed meal and supplementation with exogenous protease alters growth, feed performance, hematological indices and associated gene expression markers (GH, IGF-I) for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Aquaculture, 503: 282-292.
- HOSSAIN M S, KOSHIO S, 2017. Dietary substitution of fishmeal by alternative protein with guanosine monophosphate supplementation influences growth, digestibility, blood chemistry profile, immunity, and stress resistance of red sea bream, *Pagrus major* [J]. Fish Physiol Biochem, 43(6): 1629-1644.
- IRM M, YE B, WU X Y, et al, 2022. Assessment of conventional and low gossypol cottonseed meal as alternative protein sources in low-fishmeal diets of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂): Growth, feed utilization, gut histology, and immunity [J]. Animals, 12(15): 1906.
- JI K, LIANG H, MI H, et al, 2017. Effects of dietary phosphorus levels on growth performance, plasma biochemical parameters and relative gene expression of lipogenesis of bighead carp, *Aristichthys nobilis* [J]. Isr J Aquac Bamidgeh, 69:1451.
- JIMÉNEZ-AMILBURU V, SALMERÓN C, CODINA M, et al, 2013. Insulin-like growth factors effects on the expression of myogenic regulatory factors in gilthead sea bream muscle cells [J]. Gen Comp Endocrinol, 188: 151-158.
- JOKINEN E I, VIELMA J, AALTONEN T M, et al, 2003. The effect of dietary phosphorus deficiency on the immune responses of European whitefish (*Coregonus lavaretus L.*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 15(2): 159-168.
- LALL S P, KAUSHIK S J, 2021. Nutrition and metabolism of minerals in fish [J]. Animals, 11(9): 2711.
- LALLÈS J P, 2019. Biology, environmental and nutritional modulation of skin mucus alkaline phosphatase in fish: A review [J]. Fish Shellfish Immunol, 89: 179-186.
- LALLÈS J P, 2020. Intestinal alkaline phosphatase in the gastrointestinal tract of fish: Biology, ontogeny, and environmental and nutritional modulation [J]. Rev Aquac, 12(2): 555-581.
- LI M, ZHANG L, HU B, et al, 2022. Dietary phosphorus requirement for juvenile bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. Aquac Int, 30(4): 1675-1692.
- LIANG J J, LIU Y J, TIAN L X, et al, 2012. Dietary available phosphorus requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Aquac Nutr, 18(2): 181-188.
- LIU Q, YE H, XU M, et al, 2020. The effect and mechanism of dietary monocalcium phosphate restriction on hepatic lipid deposition and immune status in obscure puffer, *Takifugu obscurus* [J]. Aquaculture, 524: 735261.
- LIU Y, LIU Y N, TIAN X C, et al, 2021. Growth and tissue calcium and phosphorus deposition of juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*) fed with graded levels of calcium and phosphorus [J]. Aquaculture, 541: 736755.
- LUO Z, TAN X Y, LIU X, et al, 2010. Dietary total phosphorus requirement of juvenile yellow catfish *Pelteo-*

- bagrus fulvidraco*[J]. Aquac Int, 18(5): 897–908.
- MAI K, ZHANG C, AI Q, et al, 2006. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Aquaculture, 251(2/3/4): 346–353.
- MOLINA-POVEDA C, 2016. Nutrient requirements [M]// Aquafeed formulation. Amsterdam: Elsevier: 75–216.
- MUSHARRAF M, KHAN M A, 2019. Dietary phosphorus requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton)[J]. J World Aquac Soc, 50(2): 469–484.
- NANKERVIS L, COBCROFT J M, NGUYEN N V, et al, 2022. Advances in practical feed formulation and adoption for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) aquaculture[J]. Rev Aquacult, 14(1): 288–307.
- (National Research Council) NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington, D.C. National Academy Press: 168–170.
- OLIVA-TELES A, PIMENTEL-RODRIGUES A, 2004. Phosphorus requirement of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles [J]. Aquac Research, 35(7): 636–642.
- REINDL K M, SHERIDAN M A, 2012. Peripheral regulation of the growth hormone–insulin–like growth factor system in fish and other vertebrates[J]. Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol, 163(3/4): 231–245.
- ROCHA C B, PORTELINHA M K, FERNANDES J M, et al, 2014. Dietary phosphorus requirement of pejerrey fingerlings (*Odontesthes bonariensis*)[J]. R Bras Zootec, 43(2): 55–59.
- ROY P K, LALL S P, 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.)[J]. Aquaculture, 221(1/2/3/4): 451–468.
- SAMBRAUS F, HANSEN T, DAAE B S, et al, 2020. Triploid Atlantic salmon *Salmo salar* have a higher dietary phosphorus requirement for bone mineralization during early development[J]. J Fish Biol, 97(1): 137–147.
- SCHAMBER C R, BOSCOLO W R, NATALI M R M, et al, 2014. Growth performance and bone mineralization of large Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of available phosphorus [J]. Aquac Int, 22(5): 1711–1721.
- SHAO Q, MA J, XU Z, et al, 2008. Dietary phosphorus requirement of juvenile black seabream, *Sparus macrocephalus*[J]. Aquaculture, 277(1/2): 92–100.
- SHEN H M, CHEN X R, CHEN W Y, et al, 2017. Influence of dietary phosphorus levels on growth, body composition, metabolic response and antioxidant capacity of juvenile snakehead (*Channa Argus* × *Channa maculata*) [J]. Aquacult Nutr, 23(4): 662–670.
- SUGIURA S, A. H, T. S, 2011. Effects of dietary phosphorus restriction on fillet fat deposition and hepatic lipid metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and crucian carp (*Carassius auratus grandoculis*) [J]. Aquaculture Sci, 59(1): 109–122.
- SUN Y, LI B, ZHANG X, et al, 2018. Dietary available phosphorus requirement of crucian carp, *Carassius auratus*[J]. Aquacult Nutr, 24(5): 1494–1501.
- TANG Q, WANG C, XIE C, et al, 2012. Dietary available phosphorus affected growth performance, body composition, and hepatic antioxidant property of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Sci World J, 2012: 987570.
- TURCHINI G M, HERMON K, CLEVELAND B J, et al, 2013. Seven fish oil substitutes over a rainbow trout growout cycle effects on performance and fatty acid metabolism[J]. Aquacult Nutr, 19: 82–94.
- UYAN O, KOSHIO S, ISHIKAWA M, et al, 2007. Effects of dietary phosphorus and phospholipid level on growth, and phosphorus deficiency signs in juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 267(1/2/3/4): 44–54.
- VILLANUEVA J, VANACORE R, GOICOECHEA O, et al, 1997. Intestinal alkaline phosphatase of the fish *Cyprinus carpio*: regional distribution and membrane association [J]. J Exp Zool, 279(4): 347–355.
- WANG P, Li X, Xu Z, et al, 2022. The digestible phosphorus requirement in practical diet for largemouth bass (*Microp-terus salmoides*) based on growth and feed utilization[J]. Aquac Fish, 7(6): 632–638.
- WEN J, JIANG W, FENG L, et al, 2015. The influence of graded levels of available phosphorus on growth performance, muscle antioxidant and flesh quality of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Anim Nutr, 1(2): 77–84.
- WU M, LU S, WU X, et al, 2017. Effects of dietary amino acid patterns on growth, feed utilization and hepatic IGF–I, TOR gene expression levels of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) juveniles [J]. Aquaculture, 468: 508–514.
- XIE D, HAN D, ZHU X, et al, 2017. Dietary available phosphorus requirement for on–growing gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) [J]. Aquacult Nutr, 23(5): 1104–1112.
- XU C M, YU H R, ZHANG Q, et al, 2021. Dietary phospho-

- rus requirement of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) alevins cultured in freshwater[J]. *Aquacult Nutr*, 27(6): 2427–2435.
- XU H, LIAO Z, ZHANG Q, et al, 2019. A moderately high level of dietary lipid inhibited the protein secretion function of liver in juvenile tiger puffer *Takifugu rubripes* [J]. *Aquaculture*, 498: 17–27.
- XU Q, GATLIN D M III, 2018. Effects of alpha-ketoglutarate (AKG) on growth performance and non-specific immunity of juvenile red drum fed diets with low or adequate phosphorus levels[J]. *Fish Physiol Biochem*, 44(2): 573–582.
- YANG Q, LIANG H, MAULU S, et al, 2021. Dietary phosphorus affects growth, glucolipid metabolism, antioxidant activity and immune status of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 274: 114896.
- YANG S D, LIN T S, Liu F G, et al, 2006. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*) [J]. *Aquaculture*, 253: 592–601.
- YAO W, WU X, GAO Y, et al, 2018. Effects of replacing fishmeal protein by hemoglobin powder protein on growth performance, food intake, feeding-related gene expression and gut histology of hybrid grouper juveniles (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) juveniles [J]. *Aquaculture*, 488: 235–243.
- YAO Y F, JIANG M, WEN H, et al, 2014. Dietary phosphorus requirement of GIFT strain of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* reared in freshwater [J]. *Aquacult Nutr*, 20(3): 273–280.
- YE B, XUE M, WU X F, et al, 2021. Replacing poultry by-product meal protein with soybean protein isolate in low fishmeal diets for juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂) [J]. *Aquacult Nutr*, 27(6): 2405–2415.
- YE C X, LIU Y J, TIAN L X, et al, 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides* [J]. *Aquaculture*, 255(1/2/3/4): 263–271.
- YUAN Y C, YANG H J, GONG S Y, et al, 2011. Dietary phosphorus requirement of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus* [J]. *Aquacult Nutr*, 17(2): 159–169.
- ZAFAR N, KHAN M A, 2018. Determination of dietary phosphorus requirement of stinging catfish *Heteropneustes fossilis* based on feed conversion, growth, vertebrae phosphorus, whole body phosphorus, haematology and antioxidant status [J]. *Aquacult Nutr*, 24(5): 1577–1586.
- ZHANG C, MAI K, AI Q, et al, 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 255(1): 201–209.
- ZHAO H, WANG G, WANG H, et al, 2021. Effects of dietary sodium butyrate on growth, digestive enzymes, body composition and nutrient retention related gene expression of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Anim Nutr*, 7(2): 539–547.
- ZHOU Z Y, YAO W, YE B, et al, 2020. Effects of replacing fishmeal protein with poultry by-product meal protein and soybean meal protein on growth, feed intake, feed utilization, gut and liver histology of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂) [J]. *Aquaculture*, 516: 734503.

(责任编辑 张冰)