

DOI: 10.12264/JFSC2024-0230

适量限饲对红鳍东方鲀残食的影响

张志君^{1,2}, 马强², 梁萌青², 徐后国², 卫育良²

1. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁 大连 116023;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071

摘要: 本研究探讨适量限饲下红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)的生长、存活、体表牙印、应激反应及 5-羟色胺(5-HT)和多巴胺代谢, 旨在探究适量限饲对红鳍东方鲀残食的影响。挑选健康无伤痕的红鳍东方鲀幼鱼(18.61 ± 0.05) g, 设置饱食投喂为 100%组(FH), 在此基础上, 分别减少投喂量至 FH 组的 85%(FM)和 70%(FL), 每个处理组 3 个重复, 共 9 个养殖桶, 每桶 30 尾, 养殖周期 56 d。结果显示, 饱食投喂的 FH 组存活和死亡鱼均存在牙印, 但数量显著低于限饲投喂的 FL 和 FM 组。相比 FH 组, 适量限饲的 FL 和 FM 组存活率显著降低($P < 0.05$), 但终末体重、增重率和特定生长率无显著差异($P < 0.05$)。与 FH 相比, FL 和 FM 组肝糖原和血清葡萄糖水平显著增加。5-HT 通路中, FL 组 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)水平显著降低, *tat1*、*maob* 和 *htr7* 的相对表达量显著高于 FM、FH 组; 此外, FL 组 *tph1a*、*tph2* 和 *vmat2* 的相对表达量显著高于 FM 组。与 FH 组相比, FM 组 *tph2* 显著下调, *ddc* 显著上调。多巴胺代谢相关基因中, FM 组 *th*、*drd1a*、*drd5* 相对表达量显著高于 FH 组。综上所述, 限饲是导致未剪牙红鳍东方鲀残食的关键因素, 但即使每天 4 次饱食投喂, 也能观察到未剪牙红鳍东方鲀的残食行为。结论认为, 适度限饲可能抑制红鳍东方鲀脑中的多巴胺通路, 进而导致残食行为加剧和存活率降低; 红鳍东方鲀也会通过增加肝糖原合成和糖异生及增强 5-HT 的代谢应对限饲引起的残食应激。

关键词: 红鳍东方鲀; 残食; 适量限饲; 血清素; 多巴胺

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)01-0035-13

红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)俗称河鲀, 是我国具有较高经济价值的海水养殖鱼类之一, 但其养殖中存在剧烈的残食现象, 尤以幼鱼开口期最为严重。残食是指对同物种攻击和捕食的现象, 肉食性鱼类中最为常见^[1-3]。集约化养殖条件下, 特别是在食物资源受限时, 残食行为会更加频繁和严重。Shen 等^[4]通过镜像刺激和配对斗争法发现许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)在投喂量受限后会增加攻击频率。Wang 等^[5]发现对中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)饥饿处理后其活动量和摄食欲望增加, 表现出攻击性。肉食性鱼类残食加剧会影响其健康并导致存活率下降, 还会引起应

激、生长受限等^[6]。因此, 为了摄取更多的食物, 一些肉食性鱼类会采取具有侵略性或攻击倾向的行为来增加其获取食物的机会^[7]。

鱼类的残食行为与应激密切相关^[8-9], 而应激反应的产生会使皮质醇、去甲肾上腺素等激素及葡萄糖、乳酸等发生变化^[10]。此外, 应激状态下的攻击行为还可能受某些单胺类神经递质的影响。Wolkers 等^[11]在亚马逊石脂鲤(*Brycon amazonicus*)上发现, 短期攻击行为, 增加了下丘脑 5-羟色胺和多巴胺的水平, 但这些神经递质的增加没有能够抑制攻击行为; Teles 等^[12]在斑马鱼(*Danio rerio*)中也发现, 5-羟色胺和多巴胺在脑不

收稿日期: 2024-08-06; 修订日期: 2024-11-04.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32273145); 现代农业产业技术体系专项(CARS-47); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2023TD52).

作者简介: 张志君(2000–), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: eues11@163.com

通信作者: 卫育良, 副研究员, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: weiyil@ysfri.ac.cn

同区域的含量会在打斗胜利者和失败者之间产生差异。这些研究表明, 5-羟色胺和多巴胺代谢可能对鱼类的攻击行为发挥着调控作用^[13-15]。

红鳍东方鲀作为海水养殖鱼类中存在典型残食行为的鱼类, 它受到限饲影响后会加剧残食, 然而这时的残食行为有什么特点, 对应激反应有何影响, 是否也会影响 5-羟色胺和多巴胺的代谢, 目前尚不清楚。因此, 本研究在适量限饲投喂条件下, 通过对红鳍东方鲀幼鱼的生长、残食行为、应激指标及 5-羟色胺和多巴胺代谢的研究, 评估适量限饲下红鳍东方鲀幼鱼的残食特征, 为深入了解红鳍东方鲀的残食行为提供理论依据。同时, 本研究也有助于进一步了解鱼类残食行为发生的原因和结果, 避免生产中因残食导致的鱼体生长缓慢和存活率降低的现象发生, 从而提高具有残食行为鱼类的养殖存活率。

1 材料与方法

1.1 实验设计

限饲实验设计 3 个不同投喂量: 将饱食投喂量设定为 100%, 在饱食投喂的基础上, 为防止投喂量过低、使残食过于严重导致无法统计, 在前期预试验的基础上, 将投喂量以 15% 的比例递减, 即将饱食投喂量的 85% 设定为中投喂量、饱食投喂量的 70% 设定为低投喂量, 分别命名为 FH 组、FM 组和 FL 组。实验设置 3 个处理, 每个处理 3 重复, 共 9 个养殖桶, 每桶放养数量为 30 尾, 养殖 56 d。实验投喂饲料为商业饲料(粗蛋白 $\geq 55\%$, 粗脂肪 $\geq 8.0\%$, 粗纤维 $\geq 3\%$)。

1.2 实验用鱼和养殖管理

实验所用鱼购自河北省唐山海都水产食品有限公司, 为同一批次红鳍东方鲀幼鱼, 实验开始前, 先将实验用鱼置于暂养桶中暂养 1 周, 饱食投喂, 使其完全适应养殖环境。随后, 随机选取大小均匀的幼鱼(18.61 ± 0.05) g 进行称重, 再将鱼随机放入 9 个养殖桶内。在实验初期 7 d 内, 若有死鱼出现, 则以相同体重的幼鱼补充, 以排除实验分鱼产生应激导致死鱼对本实验的影响。养殖实验在中国水产科学研究院黄海水产研究所琅琊基地室内车间, 养殖用桶高度 80 cm、外直径为 90 cm,

养殖过程中保持每个养殖桶水体体积约为 300 L, 水深约为 55 cm, 采用循环水养殖, 并在养殖期间每天更换整个循环水系统中 50% 的水量, 来保证养殖水体的水质。养殖期间采用自然光照, 并定期测量水体溶解氧、温度、pH、盐度(水中溶解氧为 6.5~8.0 mg/L, 水温为 22.2~30.0 °C, pH 范围为 7.5~8.0, 养殖水体盐度范围为 27~29)。同时, 根据之前对红鳍东方鲀投喂频率的研究^[16], 采用每天 4 次投喂(7:20、11:20、15:20、19:20), 以尽量减少投喂频率对残食的影响。在摄食结束后清除残饵, 根据 FH 组的摄食情况及残饵数量, 及时调整 FM 和 FL 组的饲料投喂量。

1.3 残食程度量化统计

红鳍东方鲀的牙齿锋利而皮肤具有韧性, 被咬的皮肤上仅会留下一对弧状伤痕, 即为牙印(如图 1), 部分牙印会逐渐愈合消失, 所以牙印数量可以代表一定时间内的残食频率。



图 1 红鳍东方鲀残食后的牙印痕迹

Fig. 1 Bite marks of juvenile tiger puffer *Takifugu rubripes* after cannibalism

养殖过程中, 以幼鱼沉入桶底或浮于水面、触碰无任何条件反射为死亡判断依据, 每日及时捞出、清除死鱼, 并全程记录死鱼的死亡状态, 称量死鱼体重, 并统计体表因互相残食产生的牙印数量。实验结束前 72 h 将所有剩余存活鱼捞出麻醉, 对每个养殖桶中剩余鱼进行计数, 并称取剩余鱼的总重, 然后逐个数出每条鱼的体表牙印数量进行统计。

1.4 样品采集

在养殖实验结束前 24 h 停止投喂。每个桶中随机取出 10 尾鱼, 使用麻醉剂 MS222 (1 : 10000 体积比) 将鱼体麻醉。在尾缘静脉处使用 1 mL 注射器取血后, 将血浆在 4 °C 条件下凝结 3~4 h, 然

后通过离心(4 ℃ 836 g, 离心 10 min)获得血清样品, 置于 1.5 mL 无酶无菌离心管内, 在液氮中速冻。在冰上迅速完成鱼体解剖获得肝脏和大脑样品, 置于 2 mL 冻存管中立即置于液氮中, 血清和组织样品在-80 ℃冰箱内保存。取样结束后, 每桶随机取 2 尾鱼置于-20 ℃冰箱中保存, 用于体成分测定。实验过程中操作人员严格遵守动物实验伦理规范, 并按照相关的规章制度执行。

1.5 全鱼粗成分和生化指标测定

1.5.1 生长指标计算 存活率(survival rate, %)=实验结束鱼尾数/实验开始鱼尾数×100%;

增重率(weight gain, WG, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100%;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=(ln 终末体重-ln 初始体重)/饲养天数×100%;

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %)=肝脏质量/终末体重×100%;

脏体比(viscerosomatic index, VSI, %)=内脏质量/终末体重×100%;

摄食率(feed intake, FI, %/d)=总干物质摄食量/[饲养天数×(初始体重+终末体重)/2]×100%;

饲料转化率(feed conversion ratio, FCR)=摄入饲料总量/(终末体重-初始体重);

存活残食率(survival cannibalism rate, SCR, %)=实验结束存活的存在牙印或鱼鳍残缺的鱼尾数/实验结束鱼尾数×100%。

1.5.2 体成分测定 鱼体组成的粗蛋白、粗脂肪、灰分和水分是参照 AOAC (2005)^[17]方法进行测定。鱼体水分采用 105 ℃直接干燥法将全鱼在烘箱中干燥, 并计算得出。粗蛋白含量使用凯氏定氮法(FOSS 2300, 瑞典)(N×6.25)测定, 使用索氏抽提仪(伍跃仪器有限公司, 山东)通过石油醚抽提测定粗脂肪含量。灰分含量通过将样品置于电炉上碳化后, 550 ℃下灰化 8 h 测得粗灰分。

1.5.3 生化指标测定 生化指标测定均采用商业试剂盒, 购买自南京建成生物工程研究所, 并按照试剂盒说明书中的步骤进行操作。其中, 肝脏糖原(A043-1-1)通过碱水解法处理后稀释制备成糖原检测液测定; 肝脏乳酸(A019-2-1)按照 1:9 比例加入生理盐水稀释匀浆后离心配置成检测液

测定。血清乳酸(A019-2-1)和葡萄糖(F006-1-1)使用血清样本直接测定。血清皮质醇(H094-1-2)、大脑血清素(5-HT, H104-1-2)、5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA, H411-1-2)、多巴胺(DA, H170-1-2)和去甲肾上腺素(NE, H096-1-2)水平均使用酶联免疫试剂盒(ELISA)测定。其中大脑样品切取后以 1:9 比例加入 PBS (PH7.4), 使用匀浆器充分匀浆后, 离心(876 g, 20 min)并取上清作为待测样品。实验过程中, 吸光度的测定均使用酶标仪(Infinite® 200 PRO NanoQuant, 瑞士)。

1.6 RNA 提取与基因相对表达量测定

大脑总 RNA 的提取使用 AG RNAex Pro RNA 提取试剂(艾科瑞生物, 湖南), 使用 Titertek Berthold Colibri 光谱仪(Colibri, 德国)检测 RNA 浓度及纯度, 所有 RNA 样品 260 nm/280 nm 的吸光度比值均在 1.8~2.0 范围内, 表明提取的总 RNA 样品纯度良好, 可用以进行后续分析。使用 Evo M-MLV RT Mix 试剂盒(艾科瑞生物, 湖南)两步法反转录合成 cDNA。内参基因和目标基因引物在 NCBI 网站上设计(表 1), 并由北京擎科生物科技有限公司合成。实时荧光定量 PCR 反应体系为 10 μL, 包括 5 μL 2×SYBR 混合物、1 μL cDNA (20 ng)、0.3 μL 上游引物(10 μmol/L)、0.3 μL 下游引物(10 μmol/L)和 3.4 μL 无酶无菌水。使用 Roche LightCycler 96 实时荧光定量 PCR 仪(Roche, 瑞士)中执行程序: 95 ℃ 30 s; 94 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s 循环 40 次; 在扩增阶段后进行熔解曲线分析(从 65 ℃增加到 97 ℃, 6.4 ℃/min)。根据 $E=10^{(-1/\text{斜率})}-1$, 计算扩增效率保证所有引物的扩增效率均在 90%~110%之间, 并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法^[18]计算目标基因的相对表达量。以核糖体蛋白 L13 (*rpl-13*)和核糖体蛋白 L19 (*rpl-19*)作为内参基因。

1.7 数据分析与作图

所有数据使用 SPSS 25.0 (IBM, 美国)软件进行统计分析, 存活率采用 Kaplan-Meier 方法进行对数秩(log-rank)分析。进行单因素方差分析(one-way ANOVA)检验, 当不同处理之间存在显著差异($P<0.05$)时, 采用 Tukey 法进行多重比较, 数值以平均值±标准误($\bar{x}\pm\text{SE}$)表示。数据处理后使用 Prism 9.0.0 (GraphPad Software, 美国)作图。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Tab. 1 Primers sequences of qRT-PCR

引物名称 primer name	引物序列 (5'-3') primer sequence (5'-3')	产物长度/bp product length	序列号 GenBank no.
<i>tat1</i>	F: AGTCCACACACAGCTCCAAG R: CGGTGTCAACAGTCCCTTCT	74	XM_029849143.1
<i>tph1a</i>	F: TTCTCAAAGACACTTCCAGCAT R: TGTTCAAGCCGACAGAGGG	79	NM_001032676.1
<i>tph2</i>	F: AGAGGGATGTCTCTGGACTCG R: AATGGGAGAGAAGGACGGAC	90	NM_001032677.1
<i>ddc</i>	F: GAACAGCGTCCAGTCTACCC R: GCCCAAGAGAAGCCGATACA	245	XM_003965983.3
<i>sert</i>	F: GGAGAACTACTCAGCAGCAG R: GCCAAGCACGGTAAAGAT	202	XM_029843335.1
<i>vmat2</i>	F: AGGGTGTGGTTCATCCTGC R: TTCATACATCACGCTGCCGA	158	XM_029835537.1
<i>maob</i>	F: CCCGAGTGCTTGGAGATACC R: TCAGGAAACCACCAACGGAG	82	XM_003961571.3
<i>aldh</i>	F: TACGGAGGTCAAGACGGTGA R: GGTTTCTCGAAGGTCGGTCA	76	XM_003965850.3
<i>htr1a</i>	F: TCTACTCCACTTTCGGGGCT R: GCCGGAGATAAAGTCAGGCA	154	XM_011620867.2
<i>htr2b</i>	F: CCATACCGTGTCTTGCCTT R: GCTCCAGCCCAGGATTTTCT	182	XM_029828249.1
<i>htr4</i>	F: CTGTCCAGTTTGTGGGACGA R: TTTCTTTCGCAGGTGTCGGT	180	XM_029838057.1
<i>htr6</i>	F: GGCTGTGATTGTGCATGGTT R: GCCTGCTTTCATAAGTGCCC	183	XM_029833408.1
<i>htr7</i>	F: TCGGGATGGATGTAATGTG R: TGTCGTGCTGGGTAGGTG	106	XM_011603207.2
<i>th</i>	F: AGCCGTATCAGGACCAAACG R: AAACCGAACCGAGAAGGGAC	119	XM_003967357.3
<i>dbh</i>	F: TCGGTATCGTTTGTCTCGT R: GCCGCTGTTGACCTGAAAG	163	XM_029837394.1
<i>comt</i>	F: TGTGGTCGATCACTGGCTTC R: GATACTGCACGATGGACGGT	145	XM_003973674.3
<i>drd1</i>	F: CGGCTCATCTGTGACACCT R: TCATCACGTAAGCCACTCGG	155	XM_003970533.3
<i>drd1a</i>	F: CAGCGTCATCATGGGTGTCT R: AGTTGCTCCATCCGATCCAC	164	XM_029851504.1
<i>drd2</i>	F: AAACGAGTGTC AAGCAGGGA R: AGCAGGAAGAAATCTGGTGAGT	249	XM_029839446.1
<i>drd4</i>	F: CAGTTCACCTACGCGCTGTG R: CTCGGTCTGAAAGGGGAAGG	99	XM_029833683.1
<i>drd5</i>	F: CGCTGAGGGTACTCTGGTTG R: GCGTGAGCGTAAAACAGAC	187	XM_003973551.2
<i>rpl13</i>	F: GTAACAGGTCCACAGAATCCC R: CCTCAGTGCTGTCTCCCTTC	117	XM_011610267.2
<i>rpl19</i>	F: GATCCCAACGAGACCAACGA R: CGAGCATTGGCTGTACCCTT	191	XM_003964816.3

注: *tat1*: 芳香族氨基酸转运蛋白 1; *tph1a*: 色氨酸羟化酶 1A; *tph2*: 色氨酸羟化酶 2; *ddc*: 芳香族 L-氨基酸脱羧酶; *sert*: 血清素转运体; *vmat2*: 囊泡单胺转运蛋白 2; *maob*: 单胺氧化酶 B; *aldh*: 醛脱氢酶; *htr1a*: 5-羟色胺受体 1A; *htr2b*: 5-羟色胺受体 2B; *htr4*: 5-羟色胺受体 4; *htr6*: 5-羟色胺受体 6; *htr7*: 5-羟色胺受体 7; *th*: 酪氨酸羟化酶; *dbh*: 多巴胺 β 羟化酶; *comt*: 儿茶酚-O-甲基转移酶; *drd1*: 多巴胺受体 1; *drd1a*: 多巴胺受体 1a; *drd2*: 多巴胺受体 D2; *drd4*: 多巴胺受体 D4; *drd5*: 多巴胺受体 D5; *rpl13*: 核糖体蛋白 L13; *rpl19*: 核糖体蛋白 L19。

Note: *tat1*: t-type amino acid transporter 1 (SLC16A10); *tph1a*: tryptophan hydroxylase 1A; *tph2*: tryptophan hydroxylase 2; *ddc*: aromatic L-amino acid decarboxylase; *sert*: serotonin transporter (SLC6A4); *vmat2*: vesicular monoamine transporter (SLC18A2); *maob*: monoamine oxidase B; *aldh*: aldehyde dehydrogenase; *htr1a*: 5-HT 1A receptor; *htr2b*: 5-HT 2B receptor; *htr4*: 5-HT 4 receptor; *htr6*: 5-HT 6 receptor; *htr7*: 5-HT 7 receptor; *th*: tyrosine hydroxylase; *dbh*: dopamine beta-hydroxylase; *comt*: catechol-O-methyltransferase; *drd1*: dopamine receptor D1; *drd1a*: dopamine receptor D1A; *drd2*: dopamine receptor D2; *drd4*: dopamine receptor D4; *drd5*: dopamine receptor D5; *rpl13*: ribosomal protein L13; *rpl19*: ribosomal protein L19.

2 结果与分析

2.1 适量限饲对红鳍东方鲀牙印数量

如图 2 所示, FH 组的存活幼鱼牙印数量分别

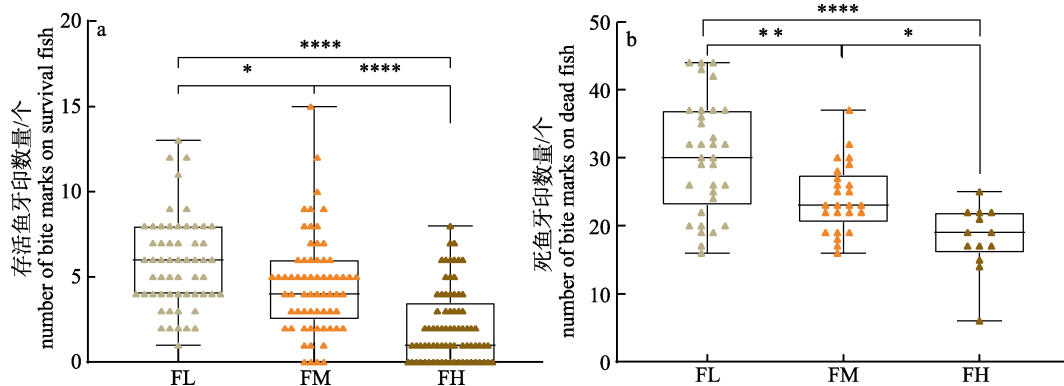


图 2 三个不同限饲水平实验组中存活鱼和死鱼体表牙印数量

*, **, ****代表两组间存在显著性差异, 显著性水平分别为 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.0001$. FH 为饱食投喂组, FM 为饱食投喂量的 85%, FL 为饱食投喂量的 70%.

Fig. 2 Number of bite marks on the surface of surviving (a) and dead tiger puffer (b) under three different levels of feed restriction. *, ** and **** mean significant differences between groups, the significance levels are set as $P<0.05$, $P<0.01$, and $P<0.0001$, respectively. FH is high amount feed group fed to apparent satiation, FM and FL is treatment groups with the amount of feed was reduced to 85% and 70%.

2.2 适量限饲对红鳍东方鲀存活的影响

适量限饲对存活率随时间变化的影响如图 3, 对数秩分析结果表明, 降低投喂量后 FM 和 FL 组存活率显著降低, 与 FH 组相比分别产生极显著 ($P<0.001$)和显著差异($P<0.05$), FL 与 FM 组存活

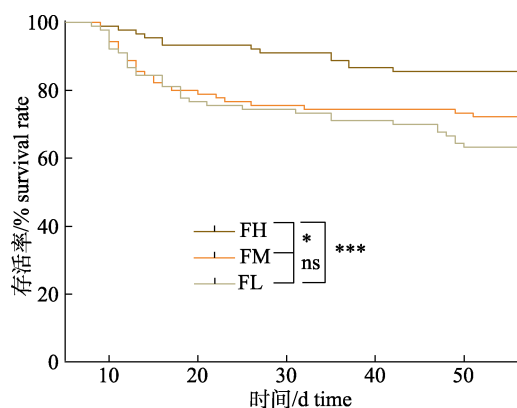


图 3 养殖过程中适量限饲对存活率的影响

*, ***代表两组间存在显著性差异, 显著性水平分别为 $P<0.05$ 、 $P<0.001$, ns 表示两组间差异不显著($P>0.05$).

Fig. 3 Effect of moderate feed restriction on survival rate of tiger puffer over time

* and *** mean significant differences between groups, the significance levels are set as $P<0.05$ and $P<0.001$, respectively. ns means no significant difference ($P>0.05$).

与 FL、FM 组相比都有极显著差异($P<0.0001$), 同时 FM 组显著少于 FL 组($P<0.05$)。FH 组的死鱼牙印数量也显著少于 FL 组($P<0.0001$)和 FM 组($P<0.05$), 同时 FM 组也显著少于 FL 组($P<0.01$)。

曲线无显著差异($P>0.05$), 表明降低投喂量会引起残食导致的红鳍东方鲀死亡率显著升高。进一步发现, FH 组在整个养殖过程中死亡速度较为稳定, 而 FL、FM 组在养殖开始后的 20 d 内死亡速度更快, 之后逐渐平缓, 即在养殖初期残食最为激烈, 随后趋于稳定。同时, FL 和 FM 组的存活率曲线在前 35 d 内相近, 但在此之后, FL 组存活率持续降低, 并在 45 d 后与 FM 组的差距逐步拉大。

2.3 适量限饲对红鳍东方鲀生长及体成分的影响

适量限饲养殖红鳍东方鲀幼鱼对生长性能和形体指标的影响见表 2。由表 2 可知, FH 组存活率、摄食率显著高于 FL 和 FM 组($P<0.05$), FM 组摄食率也显著高于 FL 组($P<0.05$); 同时, FH 组存活残食率显著低于 FL 和 FM 组($P<0.05$); 此外, FL 饲料转化率显著高于 FH 组($P<0.05$)。终末体重、增重率和特定生长率虽然在 FH 和 FM 组的数值上高于 FL 组, 但无显著差异($P>0.05$)。此外, 各组间肝体比和脏体比无显著差异($P>0.05$)。处理中投喂量的降低未对红鳍东方鲀的体成分和形体指标产生显著影响($P>0.05$)。

如图 4 所示, 红鳍东方鲀幼鱼死亡鱼体重随

表 2 适量限饲下红鳍东方鲀的生长性能和形体指标

Tab. 2 Growth performance and body condition indices of tiger puffer under of moderate feed restriction

$n=3$; $\bar{x} \pm \text{SE}$

项目 item	组别 group		
	FL	FM	FH
初始体重 IBW/g initial body weight	18.69±0.01	18.61±0.13	18.53±0.01
终末体重 FBW/g finial body weight	62.78±1.72	66.12±1.11	64.53±2.02
存活率 SR/% survival rate	63.33±1.92 ^b	72.22±2.22 ^b	85.56±2.94 ^a
增重率 WG/% weight gain	235.88±10.52	255.24±4.55	248.29±12.41
特定生长率 SGR/(%/d) specific growth rate	1.57±0.04	1.65±0.02	1.62±0.05
摄食率 FI/% feed intake rate	1.58±0.04 ^c	1.84±0.03 ^b	2.21±0.06 ^a
饲料转化率 FCR/% feed efficiency ratio	1.00±0.03 ^a	0.92±0.03 ^{ab}	0.84±0.04 ^b
存活残食率 SCR/% survival cannibalism rate	100 ^a	96.83±1.59 ^a	74.87±6.63 ^b
脏体比 VSI/% viscerosomatic index	15.44±0.44	15.56±0.07	16.49±0.33
肝体比 HSI/% hepatosomatic index	12.10±0.53	11.31±0.31	12.77±0.11

注：同一行小写字母不同代表各组间差异显著($P<0.05$)，无字母表示各组间差异不显著($P>0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences between groups ($P<0.05$), no letter means no significant difference between groups ($P>0.05$).

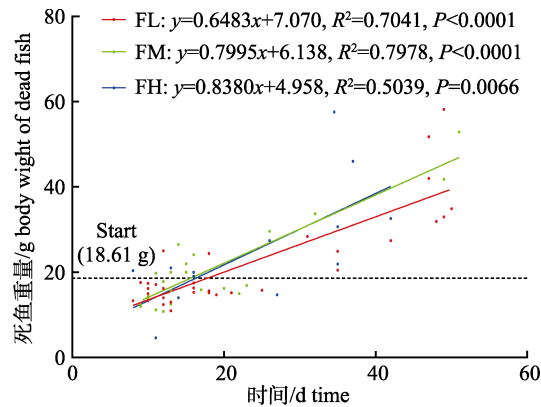


图 4 死亡红鳍东方鲀体重随时间的直线回归模型
Fig. 4 The linear regression models for the body weight of dead tiger puffer over time

养殖时间而增加，但各组中有部分鱼的死亡重量低于初始体重(<18.61 g)。利用回归分析发现，FL 组红鳍东方鲀死亡鱼体重的回归分析的斜率低于 FM 和 FH 组，即 FL 组死亡鱼体重较其他组更低。另外，FH 组与 FM 组死亡鱼重量更加接近。

由表 3 可知，鱼体粗蛋白、粗脂肪、水分、灰分在各处理组之间均无显著差异($P>0.05$)。

2.4 适量限饲对应激指标的影响

如图 5 所示，FL、FM 组血清葡萄糖、肝糖原水平显著高于 FH 组($P<0.05$)，且都随投喂量的降低而升高。血清乳酸也有相同的趋势，但差异不显著($P>0.05$)。此外，血清皮质醇、肝脏乳酸无显著差异($P>0.05$)。

表 3 适量限饲下红鳍东方鲀幼鱼鱼体成分(%湿重)

Tab. 3 Whole-body proximate composition of juvenile tiger puffer (% wet weight) under moderate feed restriction

$n=3$; $\bar{x} \pm \text{SE}$

项目 item	组别 group		
	FL	FM	FH
粗蛋白 crude protein	15.94±0.15	16.21±1.10	17.02±1.41
粗脂肪 crude lipid	7.65±0.31	7.93±0.13	7.86±0.06
水分 moisture	73.88±0.54	72.91±1.06	71.61±1.63
灰分 ash	2.39±0.31	2.16±0.21	2.16±0.24

注：同一行小写字母不同代表差异显著($P<0.05$)，无字母表示差异不显著($P>0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$), no letter means no significant difference ($P>0.05$).

2.5 适量限饲对红鳍东方鲀大脑 5-HT 通路的影响

如图 6a、b、c 所示，适量限饲对大脑中 5-HT 含量和大脑 5-HT/5-HIAA 无显著影响($P>0.05$)。而 FL 组大脑 5-HIAA 浓度显著低于 FM 组($P<0.05$)。

适量限饲养殖红鳍东方鲀大脑中 5-HT 通路中与 5-HT 合成与转运的相关基因相对表达量如图 6d、e 所示，与 FH 组相比，FL 组 *tat1* 的相对表达量显著上调($P<0.05$)，与 FM 组相比，FL 组 *tat1*、*tph1a*、*tph2* 和 *vmat2* 的相对表达量显著上调($P<0.05$)。与 FH 组相比，FM 组 *tph2* 显著下调($P<0.05$)、*ddc* 显著上调($P<0.05$)。而与 5-HT 代谢

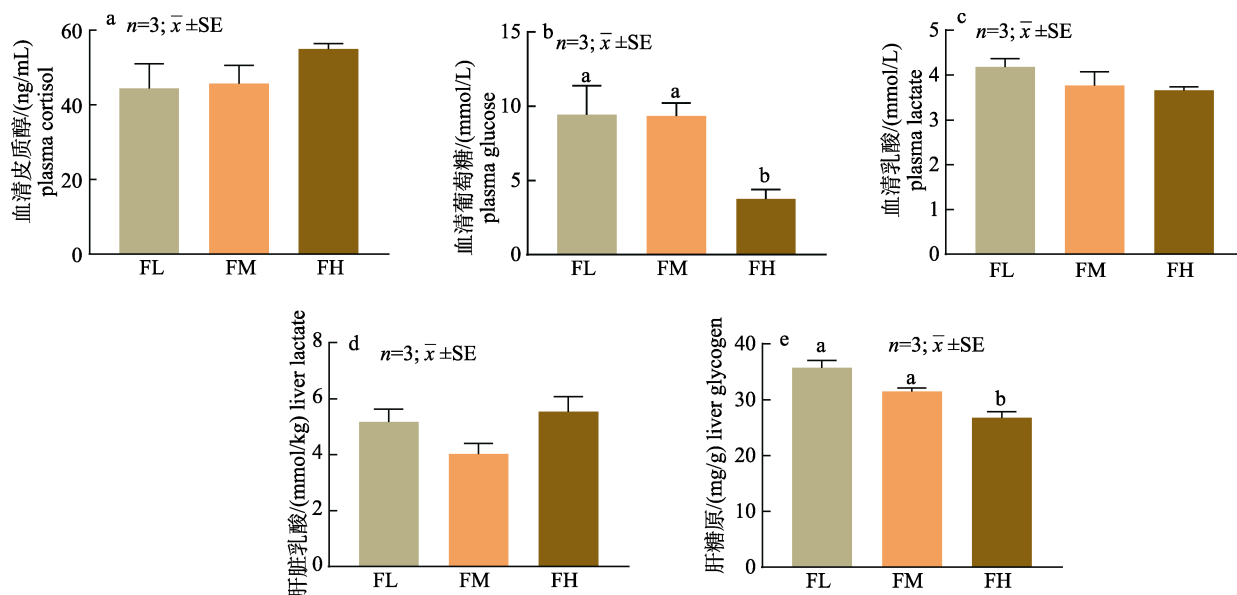


图 5 适量限饲对红鳍东方鲀应激指标的影响

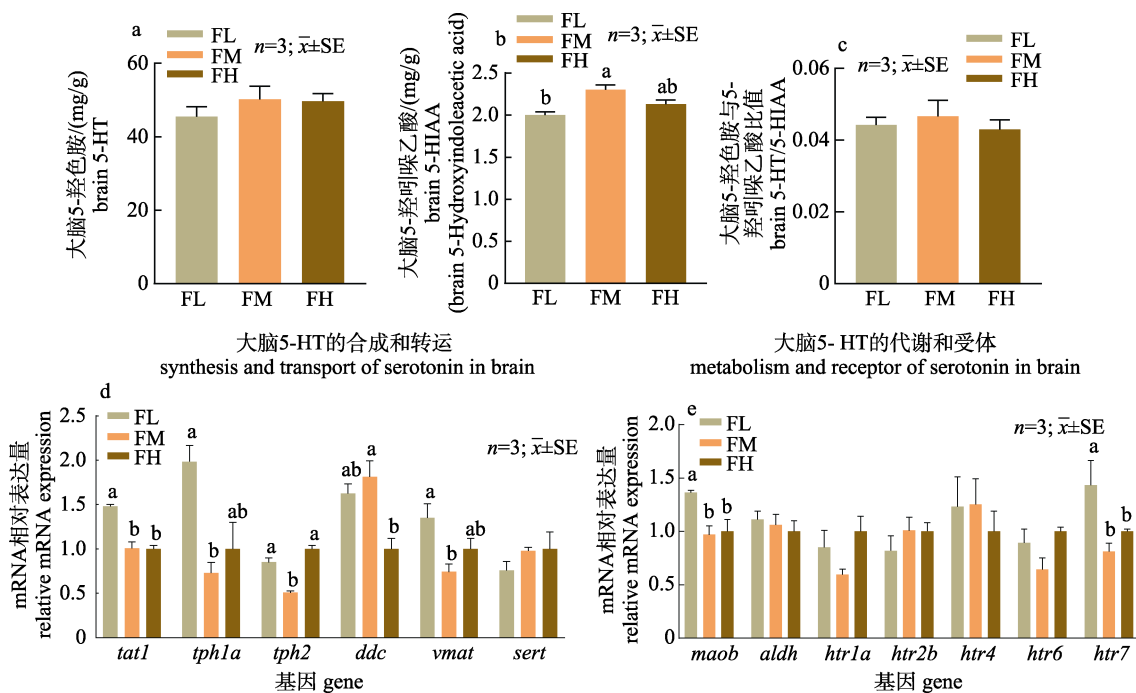
柱形图上方不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$).Fig. 5 Effect of moderate feed restriction on stress indicator of surviving *Takifugu rubripes*. Different letters above the columns indicate significant difference between groups ($P < 0.05$).

图 6 适量限饲对红鳍东方鲀大脑 5-HT 通路的影响

柱形图上方不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$).Fig. 6 Effects of moderate feed restriction on brain 5-HT pathway of *Takifugu rubripes*. Different letters above the columns indicate significant difference between groups ($P < 0.05$).

与信号转导的相关基因中 FL 组 *maob* 与 *htr7* 相对表达量显著高于 FM 和 FH 组($P < 0.05$)。

2.6 适量限饲对红鳍东方鲀大脑多巴胺通路的影响

如图 7a、b 所示, 不同投喂量对红鳍东方鲀

大脑中多巴胺和去甲肾上腺素的浓度未产生显著影响($P > 0.05$)。图 7c、d 显示多巴胺通路相关基因中, 与 FH 相比, FM 组 *th*、*drd1a*、*drd5* 相对表达量显著下调($P < 0.05$), 同时, *ddc* 相对表达量显著上调($P < 0.05$)。

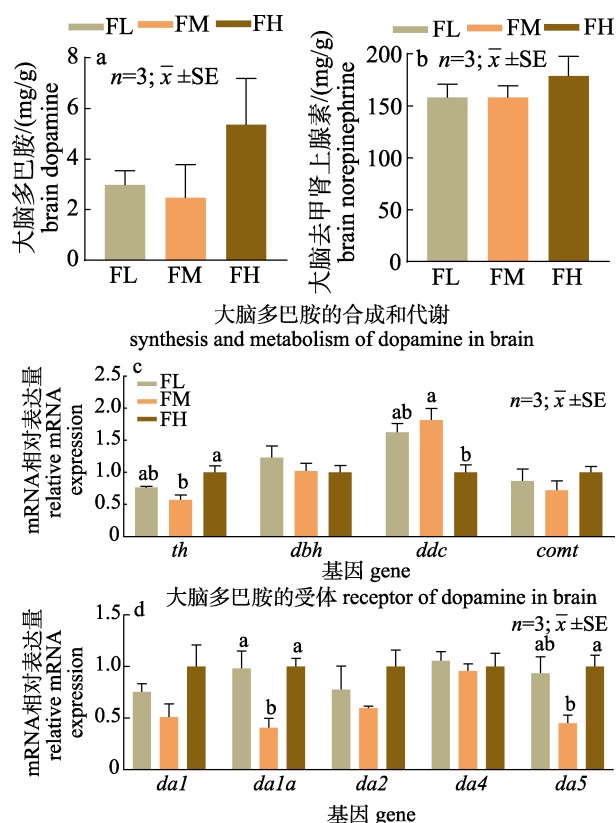


图 7 适量限饲对红鳍东方鲀大脑多巴胺通路的影响
柱形图上方不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 7 Effect of moderate feed restriction on brain dopamine pathway of *Takifugu rubripes*

Different letters above the columns indicate significant difference between groups ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 适量限饲加剧红鳍东方鲀残食行为并降低存活率

同种鱼类的互相攻击行为是一个普遍现象,在肉食性鱼类中尤为常见^[19]。在养殖环境突然改变,特别是饲料投喂量降低后,会触发或加剧鱼类之间的残食行为。Shen 等^[4]研究发现,降低投喂量后,许氏平鲈中的攻击行为明显增强。体表的牙印是红鳍东方鲀攻击后产生的量化指标,可以用来判断近一段时间的残食程度^[20]。在本研究中,根据对死亡鱼的鱼体牙印统计,适量限饲显著加剧了红鳍东方鲀残食行为,这表明投喂量的改变,会显著影响红鳍东方鲀的残食程度,这与之前研究结果类似^[21-22]。同时,在对存活鱼牙印的统计中也发现,限饲的 FL 和 FM 组牙印数量分

布与饱食投喂的 FH 组相比有极显著差异,进一步表明饱食与否是加剧残食的决定性因素,相比饱食投喂,减少投喂量直接导致牙印急剧增多。此外,将投喂量从 85% 减少到 70%,无论在死亡鱼体表还是存活鱼体表,牙印数量都有进一步的增加,表明限饲程度的提高也会进一步加剧残食行为。

当鱼类的残食行为加剧时,会观察到存活率显著降低^[23]。而本实验的研究对象红鳍东方鲀更加特殊,拥有发达的板状齿,养殖环境如密度的增加会使其产生非常严重的残食行为,在遭受攻击的鱼体身上留下伤痕;频繁攻击会使伤口难以愈合,成为导致存活率降低的重要原因^[24]。这一结论在本研究中得到证实,85% 或 70% 的适量限饲都会导致红鳍东方鲀存活率相比饱食投喂组显著降低,表明限饲加剧红鳍东方鲀的残食,进而使存活率进一步降低。

3.2 适量限饲导致的残食影响红鳍东方鲀的生长及体成分

当减少饲料的投喂量时,由于鱼体所需营养物质供应减少,会导致其生长受到显著抑制,表现为终末体重下降,以及鱼体脂肪积累减少^[25-26]。对于初始体重为 33 g 的大菱鲈 (*Scophthalmus maximus*),Blanquet 等^[27]在 90 d 的养殖实验后,发现 80% 的限饲水平会显著降低鱼体末重和粗脂肪含量;同样的,对初始体重为 32 g 的尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*),da Silva 等^[28]在 56 d 的养殖实验后,发现 75% 的限饲水平显著降低了终末的体重、鱼体粗脂肪及肝体比。而在本实验中,70% 和 85% 限饲水平下,经过 56 d 的养殖周期,红鳍东方鲀从初始体重约 18.6 g 增加到 62.78~66.12 g,但是终末体重在限饲组与饱食投喂组之间并没有产生显著差异;同样,鱼体脂肪含量及肝体比和脏体比也没有发现在限饲组中显著降低。这一结果与大菱鲈和尼罗罗非鱼中的结果不同。之前研究中大菱鲈和尼罗罗非鱼的养殖存活率均超过 95%,而本研究中红鳍东方鲀由于存在残食行为,导致限饲组的存活率分别为 63.33% 和 72.22%,显著低于饱食投喂组的 85.56%。两相对比,初步推断本研究中导致生长及鱼体脂肪含量

没有显著差异的可能原因是残食引起部分体型较小、体重较轻的红鳍东方鲀死亡。这一推断随后得到了对死亡鱼体重回归分析的支持, FL 组斜率低于 FM 和 FH 组, 证实过低的投喂量使 FL 组内体重更小的个体受到攻击, 最终导致存活个体相对较大。类似的结果在具有残食行为的其他鱼类中也有报道, Ishibashi 等^[29]发现仅降低 4 d 投喂量就会导致太平洋蓝鳍金枪鱼(*Thunnus orientalis*)的攻击频率显著增加, 残食频率升高, 并主要导致小体型个体大量死亡; Miki 等^[3]对于高体鰺(*Seriola dumerili*)中的研究也发现, 14 d 限饲 50% 以上会使残食频率显著上升, 最终存活率显著降低, 死亡鱼中同样以小体型个体为主。

3.3 红鳍东方鲀对残食引起应激的适应性反应

鱼类的残食行为是重要的应激源^[30], 发起或躲避攻击都会引起应激反应^[31]。应激发生后, 会激活鱼类的下丘脑-垂体-肾间轴(HPI 轴)以及鱼脑-交感神经-嗜铬系统, 分泌儿茶酚胺和皮质醇等激素, 从而对应激产生适应性反应^[32]。

血清皮质醇在产生应激后迅速升高, 因其稳定性和灵敏性高, 常被认为是可靠的应激指标^[33], 广泛应用于鱼类应激检测与评价。但在本研究中, 尽管适量限饲显著加剧了红鳍东方鲀的残食行为, 但相比饱食投喂, 血清皮质醇水平均无显著差异, 其原因可能是皮质醇指标主要反映急性应激, 随着鱼体适应长期应激, 皮质醇会回落到正常水平^[34]。因此, 本实验适量限饲导致的残食加剧可能是一种长期的应激状态, 故皮质醇未出现显著变化。

此外, 皮质醇还参与鱼类糖代谢等能量代谢过程, 可通过糖异生分解糖原提高血清葡萄糖水平。残食发生后应激状态的维持也需要足够的能量供应, 葡萄糖和乳酸水平在鱼类面对攻击或逃避等应激反应时会升高^[35], 以满足其在攻击或逃跑时更高的能量需求。Barreto 等^[36]发现, 尼罗罗非鱼在镜像刺激下会产生攻击行为, 且血浆皮质醇、葡萄糖水平显著高于攻击前。但由于饲料、生长阶段和糖原储备等都会对其产生影响, 所以葡萄糖和乳酸水平还需要与其他指标共同作为应激评价指标^[37]。肝脏是包括鱼类在内的脊椎动物能量代谢和储存的主要场所^[38], 而肝糖原是应激

状态下主要的糖异生来源, 持续的应激会促进肝脏糖原的合成以维持糖异生作用^[39], 即肝脏糖原也可作为应激反应的评估指标之一。在本实验中, 适量限饲使肝糖原和血清葡萄糖均显著上升, 乳酸也呈现相似的增长趋势。表明适量限饲可能会导致红鳍东方鲀产生持续的应激, 通过增强肝糖原的合成和糖异生作用, 来应对因残食加剧而增加的能量需求, 使血清葡萄糖水平升高以维持高频率游动, 从而调节残食引起的应激反应。

3.4 适量限饲下红鳍东方鲀通过 5-HT 和多巴胺代谢调节残食行为

残食行为是一种重要的应激, 而应激与大脑的 5-HT 和多巴胺代谢密切相关。在鱼类上, 发现其残食行为会受到大脑 5-HT 代谢物含量变化的调节, Winberg 等^[14]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)上发现, 其发生应激后大脑 5-HIAA 浓度会显著增加; 在红鳍东方鲀的研究中也发现, 初始体重为 15 g 的红鳍东方鲀适宜投喂量为体重的 4%^[16], 但当投喂量由体重的 3% 降至 1% 后, 其攻击频率显著增加, 尽管对 5-HT 水平无显著影响, 但 5-HIAA 水平显著降低^[40]。在本实验中, 通过对 FM 和 FL 组的红鳍东方鲀进行一定程度的限饲投喂, 发现与之前研究结果类似, 即 85% 限饲投喂的 FM 组 5-HIAA 浓度较饱食投喂的 FH 组有一定程度的升高, 表明在少量减少投喂后, 红鳍东方鲀的残食行为开始加剧。而进一步减少投喂到 70% 的限饲水平后, 尽管残食行为在进一步加剧, 但 FL 组 5-HIAA 的水平低于 FM 组, 表明当限饲导致的残食加剧时, 红鳍东方鲀在生理状态上可能会通过调节 5-HT 代谢, 维持体内的神经递质稳态, 表现出一定负反馈作用, 从而对残食行为起到一定的抑制作用。这个猜想也在对 FL、FM 组的存活率曲线分析中得到了验证, FL 组的存活率没有因为进一步限饲而比 FM 组有显著降低。

此外, 在小鼠上发现, 当产生残食行为时, 除了大脑色氨酸羟基酶(TPH)的活性会增强, 5-HT 代谢相关基因表达量也会上调^[41]。本研究中也发现, 70% 的限饲投喂导致红鳍东方鲀整个养殖过程都处于持续发生残食的状态, 这一状态显著上调了 5-HT 合成相关基因 *tph1a* 和芳香族氨基酸脱羧酶

(*ddc*)的表达,并上调了 5-HT 分解相关基因单胺氧化酶(*maob*)的表达;同时,转运色氨酸(5-HT 的前体)的芳香族氨基酸转运蛋白 1 (*tat1*)以及将 5-HT 转运至突触间隙的囊泡单胺转运蛋白 2 (*vmat2*)的表达也显著上调。这些结果表明,残食行为加剧会导致 5-HT 整个代谢过程的增强。但非常奇怪的是,FM 组同样处于限饲状态,残食相关指标相比饱食投喂的 FH 组也显著增加,但却仅发现 *ddc* 的表达上调,其余基因与 FH 组变化趋势相近,猜测可能是因为少量的限饲虽然加剧残食行为,但是对 5-HT 代谢的影响尚不明显,而随着限饲程度的增加,才会充分激活 5-HT 系统,从而负反馈抑制红鳍东方鲀的残食行为。Winberg 等^[42]在虹鳟中的研究报道了类似的结果,激活 5-HT 代谢通路可能会对残食行为有一定抑制作用,进而减少攻击行为的发生。

急性或短期应激下,鱼类大脑多巴胺、去甲肾上腺素等儿茶酚胺水平会迅速升高^[43-44],并随即被释放到血液中,从而调节鱼类的应激反应。在金头鲷(*Sparus aurata*)的研究^[45]中发现,投喂量的减少会使多巴胺和去甲肾上腺素水平降低。在鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)的研究中也发现^[46],维持较高的多巴胺水平可抑制鱼类的进攻行为。本研究中,尽管多巴胺和去甲肾上腺素均未产生显著变化,但 FM 组中,合成多巴胺和去甲肾上腺素的前体——L-多巴的关键合成酶酪氨酸羟化酶的基因 *th* 的表达量显著下调,这与多巴胺水平的变化趋势一致,说明投喂量减少抑制了 *th* 的表达,在一定程度使多巴胺合成减少,从而表现出残食行为加剧;而 FH 组多巴胺分泌量最高,抑制了其进攻欲望,从而降低了残食频率。另外,对慈鲷(*Neolamprologus pulcher*)的研究发现,D1 样受体的激活会降低其攻击性^[47];在本研究中,FM 组多巴胺受体中,属于 D1 样受体家族基因 *drd1a* 与 *drd5* 基因表达量显著下调。这进一步说明限饲导致多巴胺通路受到抑制,从而使红鳍东方鲀的残食行为加剧。

3.5 适量限饲是红鳍东方鲀产生残食行为的关键因素

由前述讨论可知,适量限饲显著加剧了红鳍

东方鲀的残食行为。值得注意的是,在本实验中,不管是对死亡鱼的鱼体牙印统计还是存活鱼鱼体牙印统计,都发现饱食投喂组同样存在由残食导致的牙印,表明在未进行剪牙处理的情况下,即使在每天 4 次的饱食投喂下,红鳍东方鲀依然存在一定程度的残食行为,饱食并不能完全消除残食行为,但相比限饲,饱食确实明显减弱了残食的程度。这一结果提示,由于红鳍东方鲀存在发达的板状齿^[48],限饲可能是导致红鳍东方鲀残食加剧的关键因素,但并非唯一决定因素,其他环境因素和个体大小差异也可能对残食行为产生影响。因此,未来在对红鳍东方鲀残食行为其他影响因素的研究中,需要在饱食投喂下开展,以避免投喂不足的干扰。此外,未来还应进一步探索其他环境条件与限饲的交互作用对残食的影响机制,这将有助于优化红鳍东方鲀的养殖管理策略,减少残食带来的经济损失。

4 结论

本研究发现,虽然饱食投喂不能避免未剪牙红鳍东方鲀养殖过程中的残食行为,但限饲是导致其残食的关键因素。适度限饲可能是通过抑制红鳍东方鲀脑中的多巴胺通路,导致残食行为加剧和存活率降低;另外,红鳍东方鲀也会通过增加肝糖原合成和糖异生及增强 5-HT 的代谢应对限饲引起的残食应激。

参考文献:

- [1] Falahatkar B, Roosta Z. The feeding/fasting strategy, size heterogeneity, and stocking density impact on body performance and cannibalism rate of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2022, 38(5): 487-492.
- [2] Frommen J G, Luz C, Bakker T C M. Nutritional state influences shoaling preference for familiars[J]. Zoology, 2007, 110(5): 369-376.
- [3] Miki T, Nakatsukasa H, Takahashi N, et al. Aggressive behaviour and cannibalism in greater amberjack, *Seriola dumerili*: Effects of stocking density, feeding conditions and size differences[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(9): 1339-1349.
- [4] Shen F Y, Zhang Z H, Fu Y Q, et al. Effects of food deprivation duration on the behavior and metabolism of black rockfish

- (*Sebastes schlegelii*)[J]. *Fishes*, 2021, 6(4): 58.
- [5] Wang Y, Fu S J, Fu C. Behavioral adjustments to prior predation experience and food deprivation of a common cyprinid fish species vary between singletons and a group[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7236.
- [6] Kua Z X, Hamilton I M, McLaughlin A L, et al. Water warming increases aggression in a tropical fish[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): Article No.20107.
- [7] Mittelbach G G, Ballev N G, Kjellvik M K. Fish behavioral types and their ecological consequences[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2014, 71(6): 927-944.
- [8] Petitjean Q, Jean S, Gandar A, et al. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 684: 371-380.
- [9] Bell A M, Hankison S J, Laskowski K L. The repeatability of behaviour: A meta-analysis[J]. *Animal Behaviour*, 2009, 77(4): 771-783.
- [10] Gorissen M, Flik G. The endocrinology of the stress response in fish: An adaptation-physiological view[J]. *Fish Physiology*, 2016, 35: 75-111.
- [11] Wolkers C P B, Serra M, Urbinati E C. Social challenge increases cortisol and hypothalamic monoamine levels in matrinxã (*Brycon amazonicus*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(6): 1501-1508.
- [12] Teles M C, Dahlbom S J, Winberg S, et al. Social modulation of brain monoamine levels in zebrafish[J]. *Behavioural Brain Research*, 2013, 253: 17-24.
- [13] Winberg S, Höglund E, Øverli Ø. Variation in the neuroendocrine stress response[J]. *Fish Physiology*, 2016, 35: 35-74.
- [14] Winberg S, Thörnqvist P O. Role of brain serotonin in modulating fish behavior[J]. *Current Zoology*, 2016, 62(3): 317-323.
- [15] Batalhão I G, Lima D, Russi A P M, et al. Effects of methylphenidate on the aggressive behavior, serotonin and dopamine levels, and dopamine-related gene transcription in brain of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(4): 1377-1391.
- [16] Wei Y L, Wang J X, Xu H G, et al. Study on optimum feeding frequency and feeding level of juvenile *Takifugu rubripes*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1755-1765. [卫育良, 王建学, 徐后国, 等. 红鳍东方鲀幼鱼适宜投喂频率和投喂水平的研究[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(3): 1755-1765.]
- [17] AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists[M]. The 18th edition. Washington: The Association of Official Analytical Chemists, 2005.
- [18] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [19] Rantin B, Bichuette M E. Territoriality and agonistic behavior of subterranean Copionodontinae catfish (*Siluriformes: Trichomycteridae*) from Brazil[J]. *Acta Ethologica*, 2019, 22(1): 17-28.
- [20] Lochmann S E, Perschbacher P W, Merry G E, et al. Aggressive biting among channel catfish in pool studies[J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1998, 60(2): 119-126.
- [21] Ohgami H, Suzuki Y. The influence of rearing conditions on survival and cannibalism on fingerlings of tiger puffer (*Takifugu rubripes*)[J]. *Bulletin of the Shizuoka Prefectural Fisheries Experiment Station (Japan)*, 1982, 16: 79-85.
- [22] Nagao S, Yamada S, Suganuma M. Preventive effect for cannibalism of ocellate puffer *Takifugu rubripes*[J]. *Bulletin of the Aichi Fisheries Research Institute*, 1993, 1: 49-54.
- [23] Hans R, Schloesser R, Brennan N, et al. Effects of stocking density on cannibalism in juvenile common snook *Centropomus undecimalis*[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(2): 844-847.
- [24] Han K N, Matsui S, Furuichi M, et al. Effect of stocking density on growth, survival rate, and damage of caudal fin in larval to young puffer fish, *Takifugu rubripes*[J]. *Aquaculture Science*, 1994, 42(4): 507-514.
- [25] Shikata T, Shimeno S. Effects of feed restriction and starvation on fatty acid synthesis and oxidation of glucose and alanine in carp hepatopancreas[J]. *Fisheries Science*, 1997, 63(2): 301-303.
- [26] Ziegelbecker A, Sefc K M. Growth, body condition and contest performance after early-life food restriction in a long-lived tropical fish[J]. *Ecology and Evolution*, 2021, 11(16): 10904-10916.
- [27] Blanquet I, Oliva-Teles A. Effect of feed restriction on the growth performance of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles under commercial rearing conditions[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(8): 1255-1260.
- [28] da Silva M A, de Alvarenga É R, da Costa F F B, et al. Feeding management strategies to optimize the use of suspended feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in bioflocs[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(2): 605-615.
- [29] Ishibashi Y, Miki T, Sawada Y, et al. Effects of feeding conditions and size differences on aggressive behaviour and cannibalism in the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (*Temminck and Schlegel*) larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2013, 45(1): 45-53.
- [30] Gabriel U U, Akinrotimi O A. Management of stress in fish

- for sustainable aquaculture development[J]. Researcher, 2011, 3(4): 28-38.
- [31] Li H X, Wang J, Zhang X, et al. Comparing behavioral performance and physiological responses of *Sebastes schlegelii* with different aggressiveness[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2022, 48(5): 1333-1347.
- [32] Ciji A, Akhtar M S. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions[J]. Reviews in Aquaculture, 2021, 13(4): 2190-2247.
- [33] Wendelaar Bonga S E. Hormonal Responses to Stress[M]// Farrell A P. Encyclopaedia of Fish Physiology. Cham: Springer, 2011: 1515-1523.
- [34] Sopinka N M, Donaldson M R, O'Connor C M, et al. Stress indicators in fish[J]. Fish Physiology, 2016, 35: 405-462.
- [35] Conde-Sieira M, Aguilar A J, López-Patiño M A, et al. Stress alters food intake and glucosensing response in hypothalamus, hindbrain, liver, and Brockmann bodies of rainbow trout[J]. Physiology & Behavior, 2010, 101(4): 483-493.
- [36] Barreto R E, Volpato G L, de Brito Faturi C, et al. Aggressive behaviour traits predict physiological stress responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 2009, 42(2): 109-118.
- [37] Raposo de Magalhães C S F, Cerqueira M A C, Schrama D, et al. A Proteomics and other Omics approach in the context of farmed fish welfare and biomarker discovery[J]. Reviews in Aquaculture, 2020, 12(1): 122-144.
- [38] Barcellos L J G, Marqueze A, Trapp M, et al. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*[J]. Aquaculture, 2010, 300(1-4): 231-236.
- [39] Mommsen T P, Vijayan M M, Moon T W. Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1999, 9(3): 211-268.
- [40] Hu Y, Liu Y, Zhou C, et al. Effects of food quantity on aggression and monoamine levels of juvenile pufferfish (*Takifugu rubripes*)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2021, 47(6): 1983-1993.
- [41] Meerlo P, Overkamp G J F, Koolhaas J M. Behavioural and physiological consequences of a single social defeat in Roman high-and low-avoidance rats[J]. Psychoneuroendocrinology, 1997, 22(3): 155-168.
- [42] Winberg S, Øverli Ø, Lepage O. Suppression of aggression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by dietary L-tryptophan[J]. Journal of Experimental Biology, 2001, 204(22): 3867-3876.
- [43] Gesto M, López-Patiño M A, Hernández J, et al. The response of brain serotonergic and dopaminergic systems to an acute stressor in rainbow trout: A time course study[J]. Journal of Experimental Biology, 2013, 216(23): 4435-4442.
- [44] Martos-Sitcha J A, Wunderink Y S, Gozdowska M, et al. Vasotocinergic and isotocinergic systems in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*): An osmoregulatory story[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 166(4): 571-581.
- [45] López-Patiño M A, Skrzynska A K, Naderi F, et al. High stocking density and food deprivation increase brain monoaminergic activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. Animals, 2021, 11(6): 1503.
- [46] Leal E, Fernández-Durán B, Agulleiro M J, et al. Effects of dopaminergic system activation on feeding behavior and growth performance of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach[J]. Hormones and Behavior, 2013, 64(1): 113-121.
- [47] Antunes D F, Soares M C, Taborsky M. Dopamine modulates social behaviour in cooperatively breeding fish[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2022, 550: 111649.
- [48] Miyajima-Taga Y, Masuda R, Kurihara A, et al. Efficacy of feeding tiger puffer *Takifugu rubripes* on moon jellyfish with respect to nutritional composition and behavioural traits[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(1): 504-514.

Effects of moderate feeding restriction on cannibalism in *Takifugu rubripes*

ZHANG Zhijun^{1,2}, MA Qiang², LIANG Mengqing², XU Houguo², WEI Yuliang²

1. College of Fish and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

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

Abstract: The cannibalism of fish is closely related to stress responses, and aggressive behavior is also affected by the metabolism of serotonin (5-HT) and dopamine. This study was conducted to study the growth, survival, bite marks on the body surface, stress response, and 5-HT and dopamine metabolism in *Takifugu rubripes*, aiming to explore the effect of moderate feed restriction on cannibalism. Uninjured juvenile *Takifugu rubripes* (18.61±0.05) g were selected in this experiment. The high amount of feed group (FH) was designed as fish fed four times a day to apparent satiation. The amount of feed was reduced to 85% (FM) and 70% (FL) of the FH group for the treatment groups. Each experimental diet was assigned to triplicate tanks with 30 fish per tank. The feeding trial lasted for 56 days. Bite marks in surviving and dead fish fed the FH diet were observed, while the number was significantly lower compared to that in fish fed the FL and FM diets. The survival rate was significantly lower in the FL and FM groups with moderate feed restriction compared to that in the FH group, but there were no significant differences in final body weight, weight gain, and specific growth rate. Compared with the FH group, the levels of liver glycogen and serum glucose were significantly increased in the FL and FM groups. For the 5-HT pathway, the level of 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) was significantly reduced in the FL group, and relative expression levels of *tat1*, *maob*, and *htr7* were significantly higher than that in the FM and FH groups. Additionally, relative expression levels of *tph1a*, *tph2*, and *vmat2* in the FL group were significantly higher than those in the FM group. Compared to the FH group, the expression of *tph2* in the FM group was significantly down-regulated, while the expression of *ddc* was significantly up-regulated. In conclusion, this study revealed that feed restriction was a key factor leading to the cannibalistic behavior of *Takifugu rubripes* with intact teeth. However, cannibalism was still observed after feeding four times a day to apparent satiation. Moderate feed restriction may exacerbate cannibalism and reduce survival rate by inhibiting the dopamine pathway in the brain. Additionally, *Takifugu rubripes* may cope with the stress of cannibalism induced by feed restriction via increasing liver glycogen synthesis and gluconeogenesis and enhancing 5-HT metabolism.

Key words: *Takifugu rubripes*; cannibalism; moderate feed restriction; serotonin; dopamine

Corresponding author: WEI Yuliang. Email: weiyul@ysfri.ac.cn