

## 生物絮凝养殖条件下吉富罗非鱼的消化能力和非特异性免疫能力研究

谭洪新\*, 刘文畅, 高启, 王潮辉

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 为研究生物絮凝养殖条件下吉富罗非鱼的消化能力和免疫能力, 采用室内循环水养殖系统(对照组)和生物絮凝养殖系统(实验组)饲养吉富罗非鱼(24.17 ± 2.49)g 59 d。结果显示, 与对照组相比, 实验组水体中总氨氮(TAN)和亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)浓度均显著高于对照组, 分别为(20.48 ± 14.66)和(33.77 ± 34.57)mg/L。但实验结束时实验组终末密度(FD)高达36.89 kg/m<sup>3</sup>, 终末质量(FIW)、增重率(WGR)和特定生长率(SGR)均高于对照组(P < 0.05), 饵料系数(FCR)比对照组降低18.7% (P < 0.05)。实验组饲料氮利用率为57.97%, 显著高于对照组(49.51%)。实验组和对照组中罗非鱼的胃蛋白酶、胃脂肪酶、肠蛋白酶和肠脂肪酶活性无显著差异。除肝脏总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性显著低于对照组外, 实验组血清、肝脏和头肾的T-SOD、溶菌酶(LZM)、碱性磷酸酶活力(AKP)活性较对照组无差异(P > 0.05)。

**关键词:** 吉富罗非鱼; 生物絮凝技术; 水质; 生长性能; 氮利用率; 消化酶; 非特异免疫

**中图分类号:** S 965

**文献标志码:** A

罗非鱼是中国主要淡水养殖鱼类之一, 2011年全国产量为144.1万t, 占水产养殖淡水水产品总产量的5.8%<sup>[1]</sup>。研究表明, 养成1kg罗非鱼大约需要消耗1.41kg野生鱼类资源为其提供饲料蛋白质<sup>[2]</sup>。由于鱼类的代谢特性, 饲料中约75%的氮元素不能被有效利用, 而是残留于养殖水体中<sup>[3]</sup>, 既污染环境, 影响养殖对象的生长, 也是对日趋紧张的鱼粉蛋白的浪费。生物絮凝技术(biofloc technology, BFT)添加额外碳源, 提高养殖水体中的碳氮比(carbon to nitrogen ratio, C/N), 促进异养细菌的生长繁殖, 通过同化作用快速去除水体中的残饵粪便和无机氮, 并将其转化为可被鱼虾摄食的微生物絮体有机氮, 从而高效地控制水质和提高饲料利用率<sup>[3]</sup>。基于生物絮凝技术的水产养殖模式能够有效提高饲料蛋白的利用率和原位净化养殖水体, 被认为是解决当前集约化水产养殖面临的资源和环境问题的有效方

法之一<sup>[4-5]</sup>。

近年来, 生物絮凝技术已经成功应用于罗非鱼<sup>[6-8]</sup>、虾<sup>[9-11]</sup>和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)<sup>[12]</sup>等养殖中。在养殖过程中应用生物絮凝技术可以提高凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)胃蛋白酶、胃淀粉酶活性以及抗菌、抗氧化能力<sup>[10-11, 13]</sup>, 提高虾和罗非鱼饲料蛋白质的利用率, 实现养殖的零污染排放等<sup>[3]</sup>。

关于罗非鱼—生物絮凝养殖系统, 前人主要开展了其在越冬池中的应用、水质调控、絮体营养价值及鱼体肌肉组成等方面的研究<sup>[6-8]</sup>。罗非鱼同虾类一样, 可以直接摄食水体中由污染物“升级”而成的生物絮体, 与摄食经过营养搭配的配合饲料相比, 絮体微生物可能在肠道干扰产生消化酶的微生物菌群<sup>[10]</sup>, 因此有必要开展BFT对罗非鱼消化能力的研究。此外, BFT虽然不会对罗非鱼的鳍条、鳃、血细胞比容和血

收稿日期: 2014-03-23 修回日期: 2014-05-10

资助项目: “十二五”农村领域国家科技支撑计划(2012BAD25B03); 上海工程技术中心能力提升项目(13DZ2280500)

通信作者: 谭洪新, E-mail: hxtan@shou.edu.cn

浆皮质醇水平等方面产生不利影响<sup>[6]</sup>,但是该系统需要维持(150~500)mg/L的絮体浓度<sup>[6]</sup>,水体高度浑浊,为了维持异养细菌优势生长,要定期加入有机碳源<sup>[14]</sup>,有可能造成溶解氧的骤然下降<sup>[15]</sup>,而且较高密度养殖时水质波动较大<sup>[6,8]</sup>。因此,进一步研究该系统中罗非鱼的免疫能力十分必要。本研究分析吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)生物絮凝养殖系统中水质、生长性能、饲料氮利用率、鱼体消化酶指标和非特异免疫酶指标,探讨BFT对鱼类消化能力和免疫能力的影响,为该技术在罗非鱼养殖中的研究和应用奠定理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验鱼和饲料

实验所用吉富品系罗非鱼取自上海海洋大学鱼类种质研究实验站。实验用鱼运回后先暂养于一套循环水养殖系统(recirculating aquaculture system, RAS)中,盐浴消毒,驯养3周。整个暂养和实验期间投喂“农好”牌膨化商品配合饲料(粗蛋白质 $\geq 45.0\%$ ,粗灰分 $\leq 16.0\%$ ,粗纤维 $\leq 3.0\%$ ,钙 $\leq 4.5\%$ ,总磷 $\geq 1.2\%$ ,食盐 $\leq 4.0\%$ ,赖氨酸 $\geq 2.0\%$ ,水分 $\leq 11.0\%$ ,数据由厂家提供)。

### 1.2 实验设施

采用2套室内闭合循环水养殖系统(图1),分别用于对照组和实验组。每套系统包括3个玻璃纤维养殖缸,1个砂滤缸和一组生物过滤器。养殖缸和砂滤缸直径110 cm,全高90 cm,底部为锥形,锥高30 cm,工作容积300 L。RAS日循环次数为9.6,以曝气后的自来水作为水源。

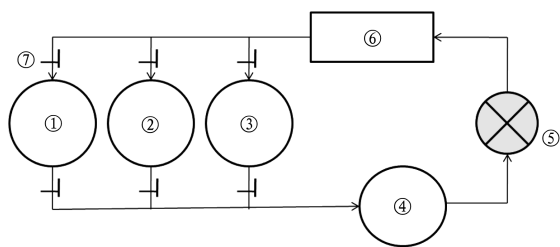


图1 循环水养殖系统配置图

①~③:养殖缸;④:砂滤缸;⑤:循环泵;⑥:生物过滤器;⑦:阀门

Fig.1 Construction of recirculating aquaculture system

①~③:culture tanks;④:sand filter;⑤:pump;⑥:biofilters;⑦:valves

### 1.3 实验设计

实验分为生物絮凝养殖组(实验组)和循环水养殖组(对照组),每组3个重复。实验开始前20 d,对照组暂养罗非鱼,使系统挂膜成熟。实验组进行生物絮凝体的培养,具体培养方法:关闭实验组循环水养殖系统及其养殖缸进出水阀门,以醋酸钠和碾磨后的商品饲料作为营养来源培养成熟絮体<sup>[16]</sup>。对照组移出暂养鱼后直接放鱼,实验组放鱼前通过部分换水调整总悬浮固体颗粒物(total suspended solids, TSS)为150 mg/L。随机挑选健康、规格相近的个体用于实验,实验鱼初始体质量(24.17 $\pm$ 2.49)g,初始体长(9.65 $\pm$ 0.85)cm。每缸放养100尾,放养密度8.06 kg/m<sup>3</sup>。

### 1.4 饲养管理

日投饵率为2%,每天于08:30、12:30和18:30分3次投喂。每10天称重1次,调整投喂量。实验组每天添加用适量自来水溶解后的醋酸钠,醋酸钠的添加量为理论添加量的75%<sup>[9,14]</sup>。饲养59 d。

用电磁式空气泵(型号ACO-008,浙江森森实业有限公司)连接沸石曝气增氧,调节曝气量,使养殖期间溶解氧(DO)保持 $>5$  mg/L。室内自然水温24.0~26.0 $^{\circ}\text{C}$ 。用碳酸氢钠调节pH为7.0~7.5。当实验组TSS $>500$  mg/L时<sup>[6]</sup>,移出适量含有生物絮体的水体,静置1 h,取上清液重新倒入养殖缸中,调整TSS为150 mg/L。每周补充日常损耗的水量。

### 1.5 测定指标与方法

水质指标的测定 每3天上午09:00取水样,经0.45 $\mu\text{m}$ 滤膜过滤后测定总氨氮(TAN)、亚硝酸氮( $\text{NO}_2^-$ -N)、硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-$ -N)。TAN采用纳氏试剂分光光度法(分光光度计型号752S06017,上海棱光技术有限公司生产,下同), $\text{NO}_2^-$ -N采用盐酸萘乙二胺光度法, $\text{NO}_3^-$ -N采用紫外分光光度法,TSS采用称重法<sup>[17]</sup>。pH、DO、温度(T)直接使用YSI多参数水质测量仪测定(型号556MPS,美国YSI公司生产)。实验所用药品均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

生长性能测定 养殖实验结束后,实验鱼饥饿处理24 h,每个养殖缸随机取5尾测量体长、体质量。计算终末密度(FD)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饵料系数(FCR)、肝体比

(HSI)、肥满度(CF)和成活率(SR);计算公式如下:

终末密度(final density, FD, kg/m<sup>3</sup>) = 终末均质量 × 终末尾数/养殖缸工作容积

增重率(weight gain rate, WGR, %) = 100 × (终末体质量 - 初始体质量)/初始体质量

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d) = 100 × [Ln(终末均质量) - Ln(初始均质量)]/饲养天数

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %) = (肝脏重/体质量) × 100

肥满度(condition factor, CF, g/cm<sup>3</sup>) = 100 × 鱼体质量/鱼体长<sup>3</sup>

饲料系数(feed coefficient rate, FCR) = 摄食量/(终末体质量 - 初始体质量)

成活率(survival rate, SR, %) = 100 × (终末尾数)/初始尾数

饲料氮利用率的测定 实验开始时共取初始实验鱼9尾;实验结束时每缸取鱼3尾(即每组9尾),饥饿24 h,将鱼处死,65 ℃下烘干,经研磨均匀后储存于-20 ℃冰箱中待用。鱼体及饲料样品氮含量的测定采用丹麦 FOSS Kjeltel2300 型凯氏定氮仪。

饲料氮的利用率(nitrogen utilization rate, NUR, %) = [(产出鱼体总 N 质量 - 投入鱼体总 N 质量)/投喂饲料总 N 质量] × 100

消化酶的测定 每个养殖缸取鱼3尾,取出胃和全肠,用低温生理盐水漂洗,滤纸拭干,称重,加入9倍体积(m/v)低温生理盐水,匀浆,4 ℃条件下4 000 r/min 离心10 min 后取上清液-20 ℃保存待测。粗酶液中蛋白浓度均用考马斯

亮蓝法测定(试剂盒均购自南京建成生物技术研究,下同)。蛋白酶活性:福林-酚试剂法<sup>[18]</sup>;37 ℃条件下,每分钟水解底物酪蛋白(20 mg/L)产生1 μg 酪氨酸为1个活力单位(U)。脂肪酶活性采用南京建成组织脂肪酶测定试剂盒测定。

非特异免疫酶的测定 每个养殖缸取鱼3尾,以肝素钠作为抗凝剂,尾静脉处采血,4 ℃条件下4 000 r/min 离心10 min 后取血清-20 ℃保存待测;解剖取肝胰脏、头肾,用低温生理盐水漂洗,滤纸拭干,称重,加入9倍体积(m/v)低温生理盐水,匀浆,4 ℃条件下4 000 r/min 离心10 min 后取上清液-20 ℃保存待测。总超氧化物歧化酶活力(T-SOD)测定采用黄嘌呤氧化酶法;溶菌酶(LZM)测定采用比浊法;碱性磷酸酶活力(AKP)采用对硝基苯磷酸盐法;采用南京建成相关试剂盒进行测定。

## 1.6 数据分析与处理

实验数据通过 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)。实验结果用平均数 ± 标准差(mean ± SD)表示,  $P < 0.05$  为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 养殖水质

实验组 TAN、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的平均含量分别为(20.48 ± 14.66)和(33.77 ± 34.57) mg/L,显著高于对照组, TAN 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 最高分别达到60.98和119.68 mg/L。实验组 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 平均水平为(5.94 ± 4.57) mg/L,显著低于对照组,维持在小于16.09 mg/L 的较低水平(表1)。

表1 养殖水体三态氮的变化

Tab.1 The average concentration of TAN, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N in the aquatic water			mean ± SD
组别 group	总氮/(mg/L) TAN	亚硝态氮/(mg/L) NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	硝态氮/(mg/L) NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N
实验组 treatment	20.48 ± 14.66 <sup>a</sup> (0.09 ~ 60.98)	33.77 ± 34.57 <sup>a</sup> (1.03 ~ 119.68)	5.94 ± 4.57 <sup>a</sup> (0.13 ~ 16.09)
对照组 control	7.95 ± 4.22 <sup>b</sup> (1.85 ~ 14.60)	1.23 ± 0.88 <sup>b</sup> (0.16 ~ 3.14)	140.18 ± 40.50 <sup>b</sup> (73.03 ~ 211.39)

注:同列上标不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同

Notes: values in the same row with different superscript alphabets mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as below

### 2.2 生长性能

实验组和对照组成活率均为100%。与对照组相比,实验组罗非鱼末均质量更大( $P < 0.05$ ),终末密度高达36.89 kg/m<sup>3</sup>;显著提高了增重率

和特定生长率( $P < 0.05$ );实验组 FCR 为0.74,与对照组相比,饵料系数降低了18.7% ( $P < 0.05$ );但是实验组肝体比和肥满度显著高于对照组( $P < 0.05$ )(表2)。

表2 生物絮凝技术对罗非鱼生长性能的影响  
Tab.2 Effect of BFT on growth performance of GIFT *O. niloticus*

组别 group	末均质量/g FIW	终末密度/ (g/m <sup>3</sup> ) FD	增重率/% WGR	特定增长率/ (%/d) SGR	肥满度/ (g/m <sup>3</sup> ) CF	肝体比/% HIS	饵料系数 FCR	成活率/% SR
实验组 treatment	110.65 ± 24.70 <sup>a</sup>	36.89 ± 8.23 <sup>a</sup>	357.81 ± 102.18 <sup>a</sup>	2.54 ± 0.37 <sup>a</sup>	4.01 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.75 ± 0.56 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.05 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
对照组 control	90.74 ± 14.16 <sup>b</sup>	30.25 ± 4.72 <sup>b</sup>	275.44 ± 58.61 <sup>b</sup>	2.22 ± 0.26 <sup>b</sup>	3.58 ± 0.24 <sup>b</sup>	1.70 ± 0.23 <sup>b</sup>	0.91 ± 0.04 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>

### 2.3 饲料氮的利用率

实验组和对照组饲料氮投入分别为(382.28 ± 27.49)和(356.16 ± 17.23)g,无显著性差异,但是实验组的氮利用率为57.97%,显著高于对照组(49.51%)(表3)。

### 2.4 消化酶活性

与对照组相比,实验组胃蛋白酶、胃脂肪酶、肠蛋白酶和肠脂肪酶活性均无显著性差异( $P > 0.05$ )(表4)。

表3 养殖系统饲料氮的利用率

Tab.3 Utilization of nitrogen in aquaculture systems mean ± SD

组别 group	饲料氮/g-N feed input	氮利用/g-N NUR
实验组 treatment	382.28 ± 27.49 <sup>a</sup> (100%)	221.59 ± 17.80 <sup>a</sup> (57.97%)
对照组 control	356.16 ± 17.23 <sup>a</sup> (100%)	176.27 ± 11.18 <sup>b</sup> (49.51%)

表4 生物絮凝技术对罗非鱼消化酶活性的影响

Tab.4 Effect of BFT on digestive enzyme activity of GIFT *O. niloticus*

组别 group	胃 stomach		肠 intestine	
	蛋白酶/(U/g prot) protease	脂肪酶/(U/g prot) lipase	蛋白酶/(U/g prot) protease	脂肪酶/(U/g prot) lipase
实验组 treatment	367.86 ± 189.91 <sup>a</sup>	54.24 ± 13.89 <sup>a</sup>	1405.71 ± 694.79 <sup>a</sup>	13.43 ± 7.19 <sup>a</sup>
对照组 control	470.56 ± 150.40 <sup>a</sup>	72.07 ± 19.23 <sup>a</sup>	1520.33 ± 383.03 <sup>a</sup>	16.90 ± 3.56 <sup>a</sup>

### 2.5 非特异性免疫酶活性

对血清、肝胰脏和头肾非特异性免疫指标的测定表明(表5),实验组除肝胰脏 T-SOD 活性显

著低于对照组( $P < 0.05$ )外,其他指标无显著性差异。

表5 生物絮凝技术对吉富罗非鱼非特异免疫指标的影响

Tab.5 Effect of BFT on non-specific immune related enzymes of GIFT *O. niloticus*

组别 group	血清 serum			肝胰脏 hepatopancreas			头肾 head-kidney		
	LZM/ (U/mL)	AKP/ (U/mL)	T-SOD/ (U/mL)	LZM/ (U/g prot)	AKP/ (U/g prot)	T-SOD/ (U/g prot)	LZM/ (U/g prot)	AKP/ (U/g prot)	T-SOD/ (U/g prot)
实验组 treatment	32.42 ± 7.37 <sup>a</sup>	22.24 ± 4.89 <sup>a</sup>	35.16 ± 4.96 <sup>a</sup>	6.17 ± 3.40 <sup>a</sup>	9.83 ± 4.64 <sup>a</sup>	36.97 ± 8.0 <sup>a</sup>	6.55 ± 0.84 <sup>a</sup>	5.44 ± 0.80 <sup>a</sup>	7.92 ± 0.84 <sup>a</sup>
对照组 control	26.88 ± 5.75 <sup>a</sup>	25.09 ± 7.32 <sup>a</sup>	37.90 ± 10.62 <sup>a</sup>	6.53 ± 1.50 <sup>a</sup>	12.97 ± 4.70 <sup>a</sup>	65.52 ± 10.34 <sup>b</sup>	6.28 ± 1.30 <sup>a</sup>	4.51 ± 0.94 <sup>a</sup>	7.15 ± 1.21 <sup>a</sup>

## 3 讨论

### 3.1 BFT 对吉富罗非鱼养殖水质的影响

在合适 C/N 条件下,异养细菌的大量繁殖可以同化吸收养殖水体中的无机氮<sup>[6]</sup>,由于异养细菌同化作用的氨氮去除速率是自养微生物硝化作用的氨氮去除率的 10 倍<sup>[15]</sup>,所以 BFT 可以更快地去除无机氮,达到高效控制水质的目的。本实

验组中,调控 C/N,理论上可以控制水质指标处于较低水平<sup>[7,9,19]</sup>。但是,较高的养殖密度也会使养殖环境产生较多的污染。BFT 原位养殖系统中,Zhao 等<sup>[19]</sup>和 Gao 等<sup>[9]</sup>的研究表明,凡纳滨对虾终末密度分别为 1.3 和 1.20 kg/m<sup>2</sup>,TAN 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 分别低于 0.50 和 1.10 mg/L;Azim 等<sup>[6]</sup>研究中罗非鱼终末密度为 16.9 kg/m<sup>3</sup>,TAN 峰值约为 8 mg/L;Nootong 等<sup>[8]</sup>研究中罗非鱼终末密

度为  $8.82 \text{ kg/m}^3$ , TAN 和  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  峰值分别为 12 和  $29 \text{ mg/L}$ 。本实验 TAN 和  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  水平高、波动大, TAN 和  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  峰值分别为  $60.98$  和  $117.34 \text{ mg/L}$ , 这与本实验养殖终末密度高达  $36.89 \text{ kg/m}^3$  有关。

### 3.2 BFT 对吉富罗非鱼饵料利用率的影响

絮体的主要营养指标能够基本满足部分水产动物的日常需求<sup>[6,20]</sup>, 絮体粒径可以超过  $1000 \mu\text{m}$ , 能被滤食性鱼虾滤食, 从而促进养殖动物生长, 降低饲料成本<sup>[3,21]</sup>。运用生物絮凝技术养殖罗非鱼, 可以获得更大的鱼体末均质量, 增重率提高 25%, 饵料系数降低 29%<sup>[6,8]</sup>, 饲料蛋白质的利用率由 23% 提高到 43%<sup>[4]</sup>。本研究, 控制 TSS 为  $150 \sim 500 \text{ mg/L}$ , 实验组鱼体末均质量和生长速度显著高于对照组, FCR 比对照组低 18.7% ( $P < 0.05$ ), 再次证明生物絮凝养殖技术可以将絮体作为养殖动物的额外饵料, 降低饲料成本。

传统养殖系统中, 鱼类仅有效利用了营养物质中大约 25% 的 N, 大部分以污染物的形式残留在环境中<sup>[3]</sup>。本研究中, 对照组的饲料氮利用率为 49.51%, 这与罗非鱼在循环水养殖系统中生长所需氮占饲料投入氮的比例为 47%~64% 的结果基本一致<sup>[22]</sup>。生物絮凝技术在提高养殖系统 C/N 的前提下, 将残饵粪便和水体中的无机氮转化为可被鱼类摄食的有机氮, 实现了饲料氮的再次利用, 使氮利用率达到 58.66%, 显著高于对照组, 能够降低饲料成本和养殖对象对野生鱼类资源的需求。此外, 实验组中由于控制 TSS 而移出的絮体 N (本研究未量化分析), 可以用作水产饲料原料<sup>[23-24]</sup>, 从而实现 N 的进一步利用。因此, BFT 提高了鱼类对营养物质中 N 的利用率, 不仅可以降低养殖成本<sup>[4]</sup>, 而且对野生鱼类资源的合理利用和环境污染控制具有重要意义。

### 3.3 BFT 对吉富罗非鱼消化能力的影响

研究表明, 日粮中添加芽孢杆菌和光合细菌可以提高罗非鱼消化酶活性, 促进其生长<sup>[25]</sup>。但是芽孢杆菌、硒酵母无论是单独添加还是混合添加, 异育银鲫 (*Carassais auratus gibelio*) 肠道和肝胰脏中蛋白酶、淀粉酶活性均未随着添加量的增加而提高, 肠道和肝胰脏淀粉酶的活性甚至随着芽孢杆菌添加量的增加反而降低, 认为这可能是由于不同的菌种造成的<sup>[26]</sup>。Anand 等<sup>[27]</sup> 的研究表明, 日粮中絮体添加量会影响消化酶活性。斑

节对虾 (*Penaeus monodon*) 日粮中添加 4% 的干絮体可以显著提高肝胰脏蛋白酶和脂肪酶活性, 对肠道消化酶没有显著影响; 添加量为 0、8% 和 12% 时, 消化酶活性均没有显著提高; 随着添加量的增大, 肝胰腺蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶和肠脂肪酶活性均有降低的趋势<sup>[27]</sup>。Xu 等<sup>[10]</sup> 的研究结果表明, BFT 原位养殖凡纳滨对虾虽然提高了胃消化酶活性, 但是没有提高消化腺和肠道消化酶活性。絮体微生物被摄食后进入肠道, 会干扰已经平衡的、产生或诱导产生消化酶的微生物菌群<sup>[10]</sup>。

絮体包含浮游生物、细菌和活的或者死的颗粒有机体等<sup>[15]</sup>, 其内部微生物群落结构复杂, 种类可高达 20 种<sup>[19]</sup>。罗非鱼—生物絮凝养殖系统的絮体浓度虽然可以人为控制, 但是不易实现鱼体对絮体摄食量的控制。相关研究已用<sup>15</sup>N 同位素的方法证实, 罗非鱼在生物絮凝系统中大量地摄食絮体<sup>[21]</sup>。本研究中, 实验组饵料系数降低了 18.7%, 表明罗非鱼可能摄食了大量絮体。与对照组相比, 实验组消化酶活性没有显著性差异, 均较对照组稍低 ( $P > 0.05$ ), 这与斑节对虾日粮中干絮体添加量较大的结果基本一致<sup>[27]</sup>, 可能与罗非鱼摄食絮体和絮体菌群结构复杂等因素有关。因此, 生物絮凝原位养殖系统中, 罗非鱼摄食由残饵粪便“升级”而成的絮体, 对其消化能力没有影响。

研究表明, 凡纳滨对虾通过摄食额外饵料 (絮体) 和提高部分消化酶活性来提高饲料利用率<sup>[10]</sup>。本研究中, 实验组的饵料系数显著降低, N 利用率显著高于对照组, 实现了 N 的再次利用, 提高了饲料 N 利用率。

### 3.4 BFT 对吉富罗非鱼免疫能力的影响

鱼类处于生物进化的较低阶段, 非特异免疫在鱼类免疫系统中发挥着更为重要的作用<sup>[28]</sup>。病原微生物和环境因子胁迫会导致鱼类的免疫力下降<sup>[29-30]</sup>。相关研究表明, 高浓度氨氮胁迫或亚硝氮胁迫会降低罗非鱼 LZM、AKP 和 T-SOD 活性, 导致机体免疫力下降<sup>[31-32]</sup>。微生物制剂作为饲料添加剂可以促进鱼体生长, 改善鱼体免疫力<sup>[33]</sup>, 向养殖水体添加益生菌也会增强罗非鱼的非特异免疫力<sup>[34]</sup>。凡纳滨对虾 BFT 原位养殖和以絮体作为对虾饲料添加剂的研究表明, BFT 和絮体均可提高虾体的抗菌和抗氧化等非特异免

疫能力<sup>[11,13]</sup>。本实验组中,TAN和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N处于较高水平波动,鱼体原本因受水质因子胁迫而免疫力下降。但是,实验组除肝脏T-SOD指标显著低于对照组外,其他器官组织非特异性免疫指标并没有显著性差异,表明实验组在水质环境因子胁迫下免疫力没有下降。这可能是因为絮体内含有一些例如芽孢杆菌的益生菌<sup>[19]</sup>、聚-β-羟丁酸(poly-β-hydroxybutyrate,PHB)<sup>[35]</sup>、多糖和生物活性物质<sup>[13,36]</sup>等,被鱼体摄食或存在于养殖环境中,可以通过促进鱼体生长和诱导消化道微生物菌群变化来改善养殖动物免疫力<sup>[11,33-34,37]</sup>,增强其抵御环境胁迫的能力。

#### 参考文献:

- [1] Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. China Fisheries Yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2012. [农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2012.]
- [2] Naylor R L, Goldburg R J, Primavera J H, et al. Effect of aquaculture on world fish supplies [J]. Nature, 2000, 405 (6790): 1017 - 1024.
- [3] Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production [J]. Aquaculture, 2007, 270 (1 - 4): 1 - 14.
- [4] Avnimelech Y. Bio-filters: The need for a new comprehensive approach [J]. Aquacultural Engineering, 2006, 34 (3): 172 - 178.
- [5] De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture [J]. Aquaculture, 2008, 277 (3 - 4): 125 - 137.
- [6] Azim M E, Little D C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2008, 283 (1 - 4): 29 - 35.
- [7] Crab R, Kochva M, Verstraete W, et al. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia [J]. Aquacultural Engineering, 2009, 40 (3): 105 - 112.
- [8] Nootong K, Pavasant P, Powtongsook S. Effects of organic carbon addition in controlling inorganic nitrogen concentrations in a biofloc system [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2011, 42 (3): 339 - 346.
- [9] Gao L, Shan H W, Zhang T W, et al. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system [J]. Aquaculture, 2012, 342 - 343: 89 - 96.
- [10] Xu W J, Pan L Q. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed [J]. Aquaculture, 2012, 356 - 357: 147 - 152.
- [11] Xu W J, Pan L Q. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input [J]. Aquaculture, 2013, 412 - 413: 117 - 124.
- [12] Lu B G, Wang H Y, Xe J, et al. Effect of C/N ratio on bioflocs formation and water quality in zero-water exchange grass carp tank [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37 (8): 1220 - 1228. [卢炳国, 王海英, 谢骏, 等. 不同 C/N 水平对草鱼池生物絮团的形成及其水质的影响. 水产学报, 2013, 37 (8): 1220 - 1228.]
- [13] Sun Z, Wang X H, Huang J. The biochemical analysis of a microbial floc and its effect on the immunity of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37 (3): 473 - 480. [孙振, 王秀华, 黄健. 一种微生物絮团的生化分析及其对凡纳滨对虾免疫力的影响. 水产学报, 2013, 37 (3): 473 - 480.]
- [14] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems [J]. Aquaculture, 1999, 176 (3 - 4): 227 - 235.
- [15] Hargreaves J A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture [J]. Aquacultural Engineering, 2006, 34 (3): 344 - 363.
- [16] Luo G Z, Avnimelech Y, Pan Y F, et al. Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge [J]. Aquacultural Engineering, 2013, 52: 73 - 79.
- [17] State Environmental Protection Administration of China. Methods of Monitoring and Analyzing for Water and Wastewater [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002. [国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.]
- [18] Biochemistry and Microbiological Laboratory of Biological Department of Sun Yat-sen University. Directions of Biochemistry Technology [M].

- Beijing: People's Education Press, 1979: 53 - 54. [中山大学生物系生化微生物学教研室. 生化技术导论. 北京: 人民教育出版社, 1979: 53 - 54.]
- [19] Zhao P, Huang J, Wang X H, *et al.* The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2012, 354 - 355: 97 - 106.
- [20] Crab R, Chielens B, Wille M, *et al.* The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae [J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41 (4): 559 - 567.
- [21] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds [J]. *Aquaculture*, 2007, 264 (1 - 4): 140 - 147.
- [22] Wang Z H, Liu H, Su M, *et al.* Nitrogen budget changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) during growth [J]. *South China Fisheries Science*, 2013, 9 (3): 85 - 89. [王振华, 刘晃, 宿墨, 等. 吉富罗非鱼生长过程中氮收支变化的研究. 南方水产科学, 2013, 9(3): 85 - 89.]
- [23] Bauer W, Prentice-Hernandez C, Tesser M B, *et al.* Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2012, 342 - 343: 112 - 116.
- [24] Kuhn D D, Boardman G D, Lawrence A L, *et al.* Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed [J]. *Aquaculture*, 2009, 296 (1 - 2): 51 - 57.
- [25] Mao H S, Lao H Y, Qi Z X, *et al.* Effects of probiotics A on activities of digestive enzyme for tilapia [J]. *Journal of South China Normal University: Natural Science Edition*, 2010 (2): 112 - 115. [牟洪生, 劳惠燕, 齐振雄, 等. 微生态制剂 A 对罗非鱼生长及消化酶活性的影响. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2010(2): 112 - 115.]
- [26] Liu X G, Zhou H Q, Hua X M, *et al.* Effects of dietary *Bacillus* sp. and selenoyeast on activities of digestive enzymes of allogynogenetic crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26 (5): 448 - 452. [刘小刚, 周洪琪, 华雪铭, 等. 微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响. 水产学报, 2002, 26(5): 448 - 452.]
- [27] Anand P S S, Kohli M P S, Kumar S, *et al.* Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2014, 418 - 419: 108 - 115.
- [28] Jones S R M. The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2001, 25 (8 - 9): 841 - 852.
- [29] Liu C H, Chen J C. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 16 (3): 321 - 334.
- [30] Castex M, Lemaire P, Wabete N, *et al.* Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28 (4): 622 - 631.
- [31] Chen J Z, Zang X L, Hu G D, *et al.* The immune response of GIFT *Oreochromis niloticus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in different ammonia [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20 (4): 629 - 634. [陈家长, 臧学磊, 胡庚东, 等. 氨氮胁迫下罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响. 生态环境学报, 2011, 20 (4): 629 - 634.]
- [32] Chen J Z, Zang X L, Meng S L, *et al.* Effect of nitrite nitrogen stress on the activities of nonspecific immune enzymes in serum of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21 (5): 897 - 901. [陈家长, 臧学磊, 孟顺龙, 等. 亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 血清非特异性免疫酶活性的影响. 生态环境学报, 2012, 21 (5): 897 - 901.]
- [33] Ding L, Zhang S Y, Zhou W R, *et al.* Effects of probiotics on growth performance and immune function of allogynogenetic crucian carp [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38 (11): 5689 - 5691, 5779. [丁丽, 章世元, 周维仁, 等. 微生态制剂对异育银鲫生长性能及免疫机能的影响. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5689 - 5691, 5779.]
- [34] Zhou X, Tian Z, Wang Y, *et al.* Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, 36 (3): 501 - 509.

- [35] Ruan Y J, Zhu L, Xu X Y. Study on the flocs poly- $\beta$ -hydroxybutyrate production and process optimization in the bio-flocs technology system [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(16): 7599 – 7602.
- [36] Ju Z Y, Forster I, Conquest L, *et al.* Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2008, 14(6): 533 – 543.
- [37] Defoirdt T, Boon N, Sorgeloos P, *et al.* Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example [J]. *Trends in Biotechnology*, 2007, 25(10): 472 – 479.

## Study of digestive activity and non-specific immunity activity of GIFT *Oreochromis niloticus* cultured with biofloc technology

TAN Hongxin\*, LIU Wenchang, GAO Qi, WANG Chaohui

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In order to investigate the digestive activity and non-specific immunity activity of GIFT *Oreochromis niloticus* cultured with biofloc technology (BFT), tilapia [(24.17 ± 2.49) g] were raised in indoor recirculating aquaculture system (control group) and biofloc technology system (treatment group), respectively. During 59 days' culturing, fluctuations of total ammonia nitrogen (TAN) and nitrite nitrogen ( $\text{NO}_2^-$ -N) in the treatment group were (20.48 ± 14.66) and (33.77 ± 34.57) mg/L respectively, which were significantly higher than those of the control group. Final density (FD) in the treatment was as high as 36.89 kg/m<sup>3</sup>, individual weight (FIW), weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) of the treatment group were significantly higher than those of the control group, and the feed conversion rate (FCR) decreased by 18.7% ( $P < 0.05$ ). Nitrogen utilization rate (NUR) of the treatment group was 57.79%, which was significantly higher than the control group (49.51%). Compared with the control group, activities of stomach protease, stomach lipase, intestine protease and intestine lipase of the treatment group were lightly lower, but there were no significant differences. Besides, total superoxide dismutase (T-SOD) activity in hepatopancreas of the treatment group was significantly lower than that of the control group, there were no significant differences of T-SOD, lysozyme (LZM) and alkaline phosphatase (AKP) activities in serum, hepatopancreas and head-kidney between the treatment group and the control group.

**Key words:** GIFT *Oreochromis niloticus*; biofloc technology (BFT); water quality; growth performance; nitrogen utilization rate; digestive enzyme; non-specific immunity

**Corresponding author:** TAN Hongxin. E-mail: hxtan@shou.edu.cn