

DOI: 10.11964/jfc.20221213852

生物絮团培育吉富罗非鱼仔鱼的生长效果及其与肠道微生物的关系

徐志兵¹, 刘文畅^{1,2,3*}, 谭洪新^{1,2,3*}, 罗国芝^{1,2,3}, 孙大川^{1,2}

1. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学, 上海市水产动物良种创制与绿色养殖协同创新中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306

摘要:

【目的】 研究生物絮团技术 (biofloc technology, BFT) 对培育吉富罗非鱼仔鱼的生长效果及其与肠道微生物的关系。

【方法】 实验使用 BFT 饲养初始重量为 (15.35±10.62) mg 的仔鱼 37 d, 饲养密度为 5 000 尾/m³。

【结果】 实验结束, 获得了 (65.08±13.55)% 的成活率、(3 254±678) 尾/m³ 的终末密度, 鱼苗个体体重在 B 等级 (0.1~0.2 g) 分布最多, 显著高于其他 4 个等级 (0<A≤0.1 g, 0.2 g<C≤0.3 g, 0.3 g<D≤0.4 g, 0.4 g<E)。5 个等级的鱼苗肠道菌落均以变形菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、放线菌门和厚壁菌门为优势菌门。在肠道菌群优势菌属中检测到芽孢杆菌 (3.17%~5.32%)、红杆菌属 (1.91%~3.26%)、*Reyranella* sp. (1.90%~2.62%) 等有益菌; 同时也存在黄杆菌属 (4.98%~9.20%)、肠弧菌属 (0.21%~6.47%)、分枝杆菌属 (2.16%~4.37%)、气单胞菌属 (0.29%~1.10%) 等潜在致病菌。其中气单胞菌属和肠弧菌属在重量等级越低的鱼苗肠道中相对丰度越高。

【结论】 利用 BFT 培育吉富罗非鱼仔鱼效果良好, 仔鱼的健康状况和生长速率受到肠道益生菌和潜在致病菌共同影响, 但致病菌过多可能会打破菌群平衡, 进而影响鱼苗的生长速率。本实验结果阐述了 BFT 系统中水质状况以及吉富罗非鱼仔鱼生长速率与肠道微生物间的可能关系, 为利用 BFT 培育吉富罗非鱼仔鱼提供借鉴意义。

关键词: 吉富罗非鱼; 仔鱼; 生物絮团技术; 生长速率; 肠道微生物

应用生物絮团技术 (biofloc technology, BFT) 是一种发展迅速的环境友好型养殖方式^[1]。生物絮团是由有机颗粒、细菌、微藻、原生动物和环节动物等聚合形成的^[2-3]。BFT 一方面通过调控碳氮比 (C/N), 促进异养细菌或自养硝化细菌等微生物大量繁殖, 从而实现对水环境的控制^[4-5]; 另一方面, 微生物利用废弃物转化成自身的生物量, 为养殖动物提供额外的营养来源^[6]。此外, BFT 具有提高尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 繁殖性能^[7], 改善养殖对象血液学、免疫反应、抗氧化和消化酶特性^[8], 提高集约化养殖中抗应激能力^[9], 抵抗病原微生物感染等优势^[10-11]。

第一作者: 徐志兵, 从事循环水养殖工程和技术研究, E-mail: 516811263@qq.com



通信作者: 刘文畅, 从事工厂化养殖系统工程与污染调控研究, E-mail: liuwenchang2012@126.com; 谭洪新, 从事循环水养殖系统与工程研究, E-mail: hxtan@shou.edu.cn

资助项目: 上海市科学技术委员会扬帆人才计划(22YF1416400); 上海水产养殖工程技术研究中心能力提升项目(19DZ2284300)

收稿日期: 2022-12-13
修回日期: 2023-03-27

文章编号: 1000-0615(2025)04-049609-11
中图分类号: S 963
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



研究表明, 罗非鱼生长速率快, 对不同生长环境有较强的抵抗力和适应性, 应用 BFT 养殖罗非鱼是一个非常具有前途的养殖模式^[12]。如何供应充足的优质鱼苗是罗非鱼养殖业面临的主要挑战之一, 目前不少学者利用 BFT 进行集约化育苗取得了不错效果。通过对生物絮团的利用, 吉富罗非鱼 (GIFT *O. niloticus*) 幼鱼 [始重 (0.99±0.10) g] 对饲料蛋白质水平的需求下降^[13]。Vieira 等^[14] 确定尼罗罗非鱼幼鱼在 BFT 系统中最适养殖密度为 800 尾/m³ [始重 (1.00±0.07) g]。另有学者研究表明, 1.40 g/尾的尼罗罗非鱼幼鱼即可转移到 BFT 中进行培育, 无需在其他系统中过渡且生长不受影响^[15]。此外, BFT 还可显著提高鲮 (*Mugil cephalus*) 幼鱼 [始重 (0.91±0.01) g]^[16]、金鱼 (*Carassius auratus*) [始重 (0.80±0.25 mg)]^[17]、尖齿胡鲶 (*Clarias gariepinus*)^[10] 仔鱼育苗期间的生长速率和成活率。

研究表明, 早期定植的肠道微生物可以促进幼鱼消化道的成熟和营养物质的消化^[18], 而 BFT 也可以通过益生菌的定植和肠道致病菌的清除对吉富罗非鱼产生积极作用^[19]。但是, 前述 BFT 中培育罗非鱼幼鱼的研究大多是从始重 1.00 g 左右开始, 仅有 Ekasari 等^[20] 利用 BFT 培育尼罗罗非鱼仔鱼 [始重 (20±4) mg], 并发现可以提高一定的抗逆性。此外, 苗种培育和鱼苗养殖过程中的大小分化问题时有发生, 而肠道菌群结构对其产生重要影响。王悦等^[21] 对不同生长速率的花鳗鲡 (*Anguilla marmorata*) 肠道菌群进行研究, 认为其肠道中不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 中的一些细菌可能是潜在益生菌, 使得花鳗鲡生长速率不一致。Zhang 等^[22] 认为七彩神仙鱼 (*Symphysodon haraldi*) 肠道中芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 和乳球菌 (*Lactococcus* sp.) 可能是其生长速率不一致的原因之一。在 BFT 养殖模式下培育罗非鱼仔鱼, 关于早期阶段仔鱼生长速率与肠道微生物之间的研究鲜有报道。因此, 本研究应用 BFT 培育吉富罗非鱼仔鱼, 并分析吉富罗非鱼仔鱼生长速率与其肠道微生物的关系。

1 材料与方法

1.1 实验设计与养殖管理

本实验开展于上海海洋大学循环水养殖系

统研发平台。吉富罗非鱼仔鱼购自海南天之渔水产科技有限公司, 初始体重 (15.35±10.62) mg, 全长 (10.91±0.62) mm。仔鱼培育使用 3 个有效容积为 1 000 L 的圆柱体玻璃纤维养殖缸, 分别记为 G1、G2 和 G3。实验开始前, 每缸接种 60 L 来自罗非鱼养殖缸的生物絮团, 其特征为总悬浮固体物 (total suspended solid, TSS) 1 700 mg/L、总氮 (total nitrogen, TN) 234 mg/L、总氨氮 (total ammonia nitrogen, TAN) 0.01 mg/L、亚硝态氮 (nitrite-N, NO₂⁻-N) 0.02 mg/L、硝态氮 (nitrate-N, NO₃⁻-N) 87.56 mg/L。仔鱼的放养密度为 5 000 尾/m³, 培育期间不断曝气, 维持溶解氧 (DO) >5 mg/L, 水温 25~28 °C。投喂饲料为经 50 目过筛后的粉碎商用配合饲料 (主要营养成分, 粗蛋白≥30%, 粗脂肪≥3%, 粗纤维≤8%, 粗灰分≤16%, 钙≤4%)。实验共进行 37 d, 期间不进行水体交换, 仅添加自来水弥补蒸发损失的水量。实验开始日投喂 20 g/缸, 之后每天增加 5% 的投喂量, 每日平均分为 8 次投喂。根据养殖水体总氨氮、亚硝酸盐含量与剩料情况灵活调节日增投喂量。使用碳酸氢钠维持养殖水体的碱度为 150~300 mg/L (以 CaCO₃ 计)。

1.2 水质和絮团体积的测定

每天检测水体 TAN、NO₂⁻-N 浓度; 每 3~4 天检测 1 次 NO₃⁻-N、TN、TSS、絮团沉降 15 min 体积 (bioflocs volume, FV-15min), 上述指标均采用标准方法测定^[23]。用多参数水质测定仪 (WTW Multi 3430, 德国) 直接测定 pH、温度 (T)、DO, 用酸碱滴定指示剂法测定水体的碱度。

1.3 生长指标测定

养殖 37 d 后, 停止投喂 24 h, 称取每缸鱼苗总重 W_t , 随机取 400 尾实验鱼, 测量其体重 (g) 和全长 (cm)。利用以下公式计算成活率 (survival rate, SR)、终末密度 (final density, FD) (尾/m³)、特定生长率 (specific growth rate, SGR)、增重率 (weight gain rate, WGR)、饲料系数 (feed coefficient rate, FCR)、体重变异系数 (coefficient of variation, CV)。

$$\text{成活率 (SR, \%)} = (W_t / W_2) / N_1 \times 100\%$$

$$\text{终末密度 (FD, kg/m}^3\text{)} = W_t / V$$

$$\text{增重率 (WGR, \%)} = (W_t - W_3) / W_3 \times 100\%$$

$$\text{特定生长率 (SGR, \% / d)} = [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 -$$

$t_1]$ × 100%

饲料系数 (FCR) = $F / (W_1 - W_3)$

变异系数 (CV, %) = $SD / W_2 \times 100\%$

式中, W_1 (g) 和 W_2 (g) 为时间 t_1 和 t_2 时的平均重量 (g), 且 t_1 和 t_2 分别为实验第 1 天和最后 1 天; W_1 (g) 为每缸收鱼总重量, W_3 为每缸放养总重, N_1 为放养尾数; F (g) 为 $t_1 \sim t_2$ 天食物总摄入量; V (m^3) 表示养殖缸体积; SD 为终末鱼苗重量的标准偏差。

1.4 肠道微生物收集与测定

在养殖实验结束后, 根据终末个体体重将获得的鱼苗划分 5 个重量等级, 即 $0 < A \leq 0.1$ g、 0.1 g < $B \leq 0.2$ g、 0.2 g < $C \leq 0.3$ g、 0.3 g < $D \leq 0.4$ g 和 0.4 g < E 。每缸分别剖取 5 个重量等级鱼苗 0.25 g 的肠道样本, 保存于 5 mL 灭菌离心管中, 并送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。按照 E.Z.N.A.[®] Soil DNA Kit DNA 抽提试剂盒 (Omega, 美国) 说明书进行 DNA 提取, 然后利用 1% 的琼脂糖电泳检测 DNA 的完整性; 使用 NanoDrop2000 来检测 DNA 的纯度和浓度。PCR 扩增与 16S *rDNA* 文库构建: 取 10 ng 以上述提取的 DNA 为模板, 以 338F_806R 为引物, 对 16S *rRNA* 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。PCR 采用 TransGen AP221-02; TransStart Fast-pfu DNA Polymerase, 20 μ L 反应体系。使用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 对纯化后的 PCR 产物进行建库, 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。原始测序数据上传到国家生物信息中心 (China National Center for Bioinformatics, CNCB), 编号: CRA006935。本研究获得了上海海洋大学科学伦理委员批准 (审批号: SHOU-DW-2021-035), 实验过程中操作人员严格遵守上海海洋大学科学伦理委员会伦理规范。

1.5 数据分析

采用 Excel 软件进行实验结果的统计分析, 利用 Origin 9.5 软件进行相关图表的绘制, 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 及多重比较 (Duncan 法), 实验结果用平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 水质和生物絮团的变化

实验期间水温维持在 (26.51 ± 0.91) °C, 溶解氧为 (7.24 ± 0.62) mg/L, 碱度为 (239.05 ± 32.24) mg/L $CaCO_3$ 。养殖后期, NO_2^- -N 出现峰值, 随后立即降低较低水平 (< 0.1 mg/L), TAN、 NO_2^- -N 浓度大部分时间在低水平内波动 (< 0.1 mg/L), NO_3^- -N 和 TN 的浓度一直呈上升趋势, 且 1~20 d 上升较慢, 后期上升较快, 均在养殖结束时达到最大值 (图 1)。TSS 浓度在前期不断上升, 后期出现波动, 整体呈现上升趋势, 在实验结束时达到最高值 437.3 mg/L。前期 FV-15 min 由初始 6.83 mL/L 不断上升, 后期到达最高值 37.66 mL/L, 最后稳定在约 28 mL/L (图 1)。

2.2 生长性能

吉富罗非鱼仔鱼经过 37 d 培育后, 体重达到 (0.22 ± 0.17) g, 全长为 (2.37 ± 0.45) cm (表 1)。至实验结束时, 仔鱼成活率为 $(65.08 \pm 13.55)\%$, 终密度为 $(3\ 254 \pm 678)$ 尾/ m^3 , 饵料系数为 3.01 ± 0.45 , 特定生长率为 $(7.25 \pm 0.26)\%/d$, 增重率为 $(1\ 362.16 \pm 145.37)\%$, 重量的变异系数为 $(79.47 \pm 21.69)\%$ 。仔鱼的生长速率不一致, 终末个体重量分布在 B 等级的最多, 显著多于其他重量等级 ($P < 0.05$) (图 2)。

2.3 肠道微生物组成分析

肠道菌群的 Alpha 多样性分析 选取 Shannon 指数、Simposon 指数、Chao 指数、Ace 指数和 Coverage 指数估算吉富罗非鱼鱼苗肠道微生物的物种丰度、多样性和测序深度。结果显示, 多样性指数在不同等级间均未发现显著差异 ($P > 0.05$), 各样品覆盖率均达到 99.5% 以上 (表 2)。

肠道菌群组成和差异分析 将种水平序列相似度高于 97% 的定义为一个分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTU), 每个 OTU 代指一个物种。E 等级的总 OTUs 数较其他组的总 OTUs 少。其中 A 等级独有 19 个 OTUs, B 等级独有 25 个 OTUs, C 等级独有 38 个 OTUs, D 等级独有 18 个 OTUs, E 等级独有 16 个 OTUs。5 个等级重叠部分共有 585 个 OTUs, 占比均超过各组的 75.2% (图 3)。

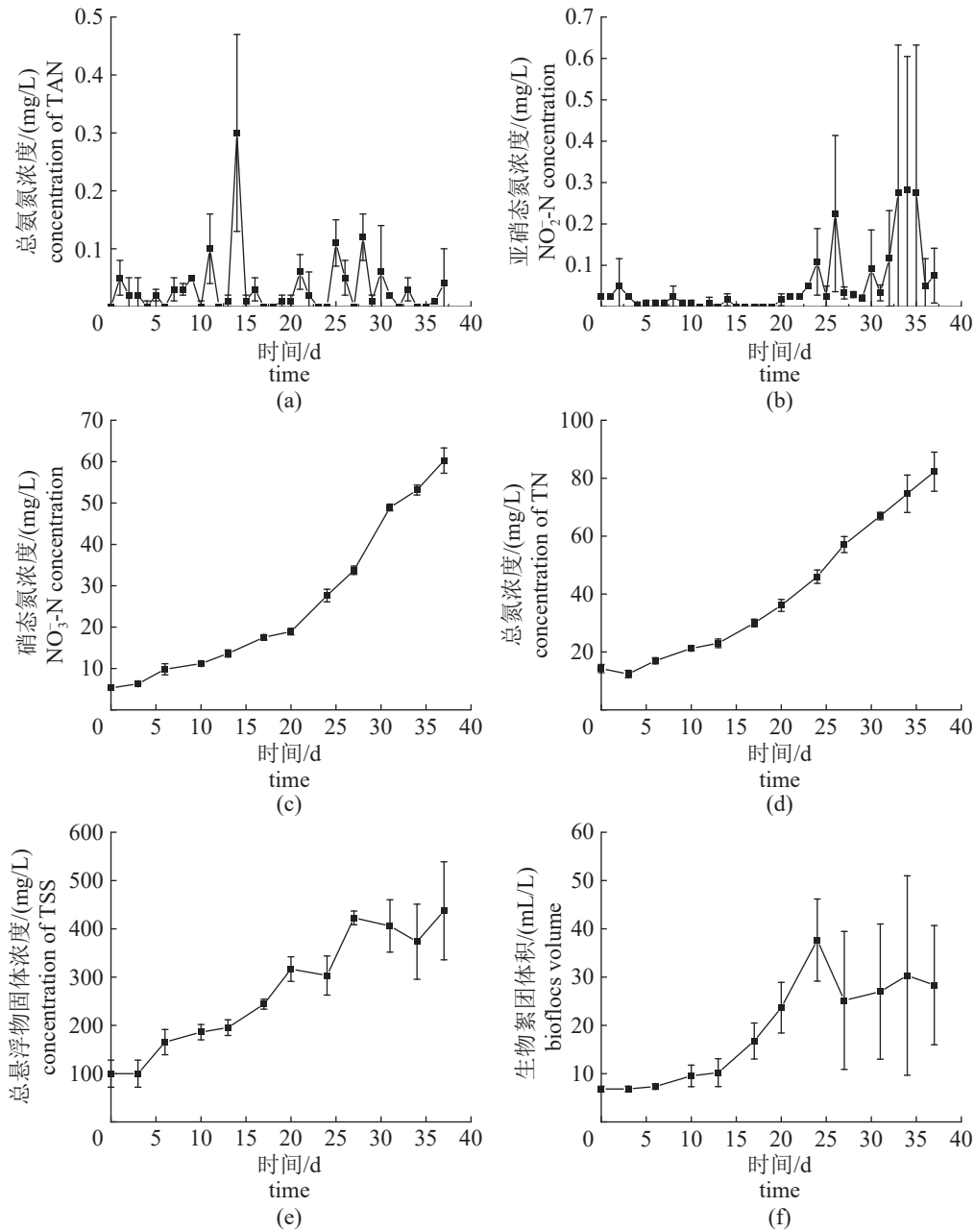


图 1 实验期间总氨氮 (a)、亚硝态氮 (b)、硝态氮 (c)、总氮 (d)、总悬浮物固体 (e) 和生物絮团体积 (f) 的动态变化

Fig. 1 The dynamic changes of TAN (a), NO_2^- -N (b), NO_3^- -N (c), TN (d), TSS (e) and bioflocs volume (f) were observed during the experiment

根据检测注释的结果, 5 个重量等级的吉富罗非鱼肠道微生物存在同样的优势菌门, 但菌门占比不同。变形菌门 (Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteriota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、髌骨细菌门 (Patescibacteria)、浮霉菌门 (Planctomycetota)、螺旋菌门 (Spirochaetota) 为肠道优势菌门, 共占细菌总量的 96.48% 以上 (图 4), 其余菌门相对

丰度占比均不足 1%。其中, D 等级鱼苗肠道中的绿弯菌门相对丰度要高于其他等级, 而螺旋菌门的相对丰度要低于其他等级。

4 个菌属在不同生长速率的吉富罗非鱼鱼苗肠道中存在显著差异 ($P < 0.05$), 分别是疣微菌科未分类属、动孢菌属 (*Kineosporia*)、鞘脂杆菌属 (*Sphingobacterium*)、巴斯德氏芽菌属 (*Pasteuria*), 其中鞘脂杆菌属和巴斯德氏芽菌属在 D 等级和 E 等级中相对丰度显著低于其他等

表 1 BFT 中培育吉富罗非鱼仔鱼的生长性能

Tab. 1 Growth performance of larvae GIFT *O. niloticus* cultured in BFT

项目 parameter	组别 group			
	G1	G2	G3	全体 all
初始个体体重/mg initial weight	15.35±10.62	15.35±10.62	15.35±10.62	15.35±10.62
终末个体全长/cm final individual length	2.43±0.54	2.37±0.41	2.33±0.40	2.37±0.45
终末个体体重/g final individual weight	0.25±0.26	0.22±0.13	0.21±0.15	0.22±0.17
成活率/% SR	58.02	80.71	56.52	65.08±13.55
终末密度/(尾/m ³) FD	2901	4035	2826	3254±678
饵料系数 FCR	3.06	2.53	3.43	3.01±0.45
特定生长率/(%/d) SGR	7.54	7.16	7.03	7.25±0.26
增重率/% WGR	1525.73	1313.03	1247.72	1362.16±145.37
体重变异系数/% CV	103.40	61.08	73.94	79.47±21.69

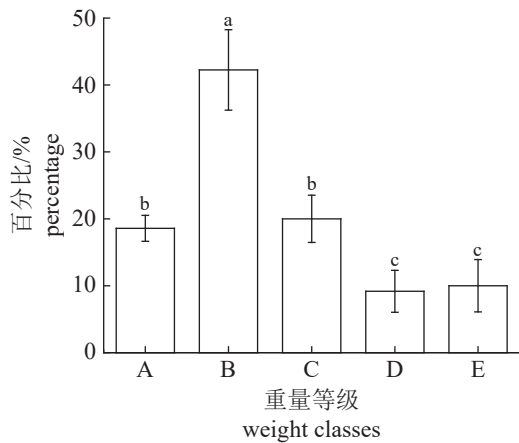


图 2 吉富罗非鱼鱼苗重量分布

0<A≤0.1 g, 0.1 g<B≤0.2 g, 0.2 g<C≤0.3 g, 0.3 g<D≤0.4 g, 0.4 g<E; 上标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。

Fig. 2 Weight distribution of larvae GIFT *O. niloticus*

0<A≤0.1 g, 0.1 g<B≤0.2 g, 0.2 g<C≤0.3 g, 0.3 g<D≤0.4 g, 0.4 g<E; different superscript letters indicate significant differences ($P<0.05$); the same below.

级 ($P<0.05$)。各重量等级的优势菌属中均含有

多种有益菌、潜在致病菌和具有处理水质作用的功能菌。其中, 有益菌和潜在致病菌相对丰度如表 3 所示, 鱼苗肠道益生菌中芽孢杆菌的相对丰度最高, 潜在致病菌中黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 相对丰度最高, 其次为气单胞菌属 (*Aeromonas*) 和肠弧菌属 (*Enterovibrio*) 的相对丰度在 A 等级的鱼苗肠道中最高, 而 E 等级的鱼苗肠道中最低。功能菌包括 *Nakamurella* sp.、微杆菌 (*Microbacterium* sp.)、*Mesorhizobium* sp.、*Pseudorhodoplanes* sp.、*Pseudomonas* sp.等。

3 讨论

3.1 水质和生物絮团变化

仔鱼培育过程中, BFT 可以有效调控养殖水环境, 使各项水质参数维持在安全水平内。实验中较高溶解氧不仅满足鱼类需要, 而且维持着生物絮团中同化细菌和硝化细菌的正常功能, 较高的碱度 (>200 mg/L CaCO₃) 更有利于生

表 2 不同重量等级的吉富罗非鱼鱼苗肠道微生物多样性分析 ($n=3$)Tab. 2 Analysis of intestinal microbial diversity of larvae GIFT *O. niloticus* with different weight classes ($n=3$)

组别 group	多样性指数 diversity index		丰富度指数 richness index		覆盖范围 coverage
	Simpson	Shannon	Ace	Chao	
A	0.03±0.01 ^a	4.50±0.29 ^a	750.45±28.89 ^a	759.18±30.12 ^a	0.995 0±0.000 1 ^a
B	0.02±0.01 ^a	4.64±0.25 ^a	766.31±34.53 ^a	780.10±24.30 ^a	0.995 0±0.000 5 ^a
C	0.02±0.01 ^a	4.62±0.26 ^a	729.80±65.31 ^a	719.84±72.00 ^a	0.996 0±0.000 6 ^a
D	0.02±0.00 ^a	4.69±0.03 ^a	724.68±36.54 ^a	738.46±68.93 ^a	0.996 0±0.000 4 ^a
E	0.04±0.02 ^a	4.35±0.42 ^a	679.15±68.08 ^a	698.70±88.19 ^a	0.995 0±0.000 5 ^a

注: 同列不同字母表示存在显著差异 ($P<0.05$)。

Notes: Different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

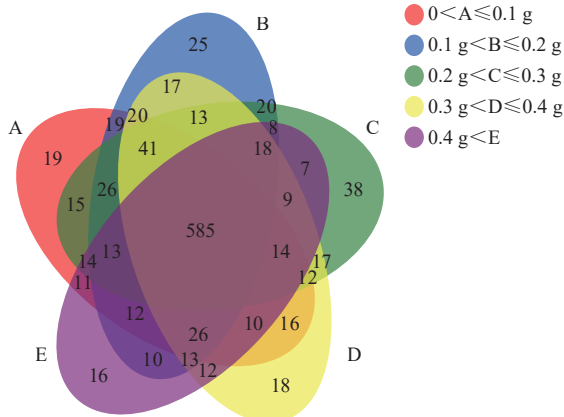


图 3 肠道菌群韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of intestinal microbiota

物絮团的形成和稳定及硝化过程的进行^[33]。

在 BFT 养殖系统中严格依赖添加碳源的方法处理氮素经常出现 TAN、NO₂⁻-N 长期积累的情况^[14-15]，这是因为高 C/N 下，自养硝化作用仍会发生^[12]。本实验全过程不额外添加碳源，在低 C/N 比的水体中，氨氮主要通过自养硝化作用来处理^[4]。实验后期仅有一个缸因曝气问题出现亚硝酸盐暂时积累，调整后立即降至较低水平，其余大部分时间内 TAN、NO₂⁻-N 分别在 0~0.3 mg/L、0~0.1 mg/L 低水平内波动，使用硝化型生物絮团水质调控效果优于同化型生物絮团，与高远等^[34] 对比两种生物絮团下的水质结果类似。实验结束时 NO₃⁻-N 浓度达到最高的 60.26 mg/L，低于 500 mg/L 的建议浓度^[35]。由于饲料中的 N 只有约 25% 被鱼苗利用，所以水体 TN 浓度呈现不断上升趋势。TSS 最高值为 437.3 mg/L，低于 Luo 等^[12] 建议 500 mg/L 的安全浓度。FV-15min 与 TSS 之间的相关性较低，其达到最大值后开始下降，最后趋于稳定，大部分时间在 Pinho 等^[36] 推荐范围内。因此，在密度为 5 000 尾/m³，不进行絮团的除去和额外添加碳源的情况下，BFT 就可满足吉富罗非鱼仔鱼培育时对水质和絮团耐受性的需求。

3.2 仔鱼培育效果

实验仔鱼最后取得了 (65.08±13.55)% 的成活率，与 Ekasari 等^[20] 使用清水孵化后并经过 BFT 培育后的成活率接近，但是 (7.25±0.26)%/d 的特定生长率低于其 (11.7±1.5)%/d 的结果，推测高 C/N 的 BFT 系统更有利于仔鱼生长。本实验中 FCR 值过高，可能是由于投喂的粉状饲

料不易被早期仔鱼摄食到，造成大量饲料浪费；其次，大量悬浮固体物增加了水体浊度，这种视觉干扰会影响罗非鱼早期仔鱼的摄食能力^[37]。鱼的均匀度通常用变异系数来评价，本实验重量变异系数为 (79.47±21.69)%，与 Ekasari 等^[20] 报道 BFT 中培育罗非鱼仔鱼均匀度更高的结果相反。同批鱼苗体重变异系数大说明其生长速率不一致，而肠道菌群结构可能在其中发挥重要作用。Zhang 等^[22] 发现七彩神仙鱼肠道中一些益生菌和潜在致病菌丰度可能会造成其生长速率不一致。王悦等^[21] 研究了不同生长速率的花鳉肠道菌群也给出类似推测。笔者推测，本实验 BFT 培育吉富罗非鱼仔鱼结果出现较大变异系数可能与其肠道菌群的结构有关。

3.3 生长速率与肠道微生物间的关系

实验收获的鱼苗肠道菌群相对丰度占比前五的菌门中，变形菌门、放线菌门、厚壁菌门均属于鱼类肠道常见菌门，与杜欣泽等^[38] 研究结果一致。其中变形菌门是各组中最主要的菌群，厚壁菌门和变形菌门被认为可以产生蛋白酶，放线菌门影响碳水化合物代谢，拟杆菌门可以改善宿主的代谢和免疫功能障碍，诱导宿主的免疫应答^[39]，这些优势菌门在维持鱼苗的肠道健康中发挥着重要作用。

肠道菌群中疣微菌科未分类属、功孢囊菌属、鞘脂杆菌属和巴斯德氏芽菌属虽然存在着显著性差异，但并未报道对鱼苗造成影响。本实验在鱼苗肠道优势菌属中有 4 种益生菌，相对丰度最高的芽孢杆菌属是生物絮团中常见的优势菌属，其具有提高水生动物的饲料利用率、生长性能、抗病力，降低应激反应、维持肠道菌群平衡等众多益处^[24]。此外，红杆菌属是光合细菌的一种，其广泛存在于水体中，可以产生消化酶、合成叶黄素和 β-类胡萝卜素，与养殖动物消化酶协调处理饵料^[25]。Reyranella sp. 是鳊 (*Siniperca chuatsi*) 鱼苗肠道的有益菌，对鳊驯化起着重要作用^[26]。微杆菌作为益生菌，具有抵抗病原菌的作用^[27]。

BFT 水产养殖系统已被发现是高度生物安全的系统，养殖动物很少出现病原菌感染。密集的微生物群落在 BFT 养殖系统可通过与致病性和机会性细菌竞争养分和空间来促进竞争性排斥^[40]，从而提高养殖动物的福利和生长性能。

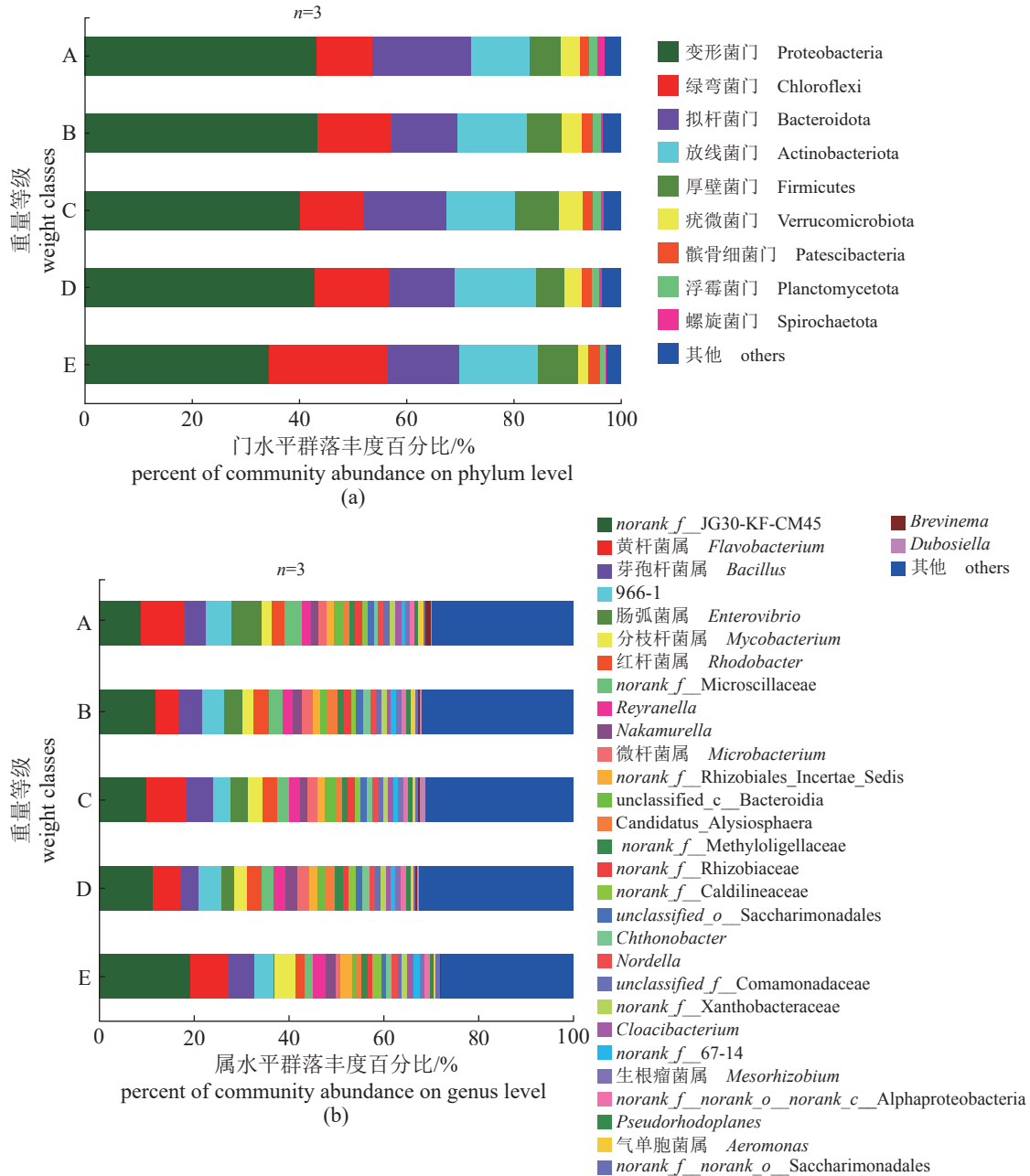


图 4 菌群柱状图

(a) 门水平, (b) 属水平。

Fig. 4 Histogram of bacterial community

(a) phylum level, (b) genus level.

然而, 在 BFT 系统中仍有病原体致病性感染和疾病暴发的病例报告^[41-42]。本实验发现, 气单胞菌属、肠弧菌属等潜在致病菌, 在等级重量越轻的鱼苗肠道中的相对丰度越高。根据注释结果确定, 本实验出现的菌种是维氏气单胞菌 (*A. veronii*), 具有较强的致病性, 可导致多种养殖对象伤口感染、胃肠炎以及败血症等^[31]。本实验早期阶段观察到实验仔鱼持续性死亡的现

象, 发病鱼出现皮肤溃烂、出血和肠炎等症状, 笔者推测这是由鱼苗肠道中的维氏气单胞菌引起的, 并且对吉富罗非鱼仔鱼生长速率造成影响。此外, 潜在致病菌还包括黄杆菌属、分枝杆菌属等。杜欣泽等^[38]利用硝化型生物絮团培育罗非鱼鱼苗时也有发现相应菌种, 并且黄杆菌属、分枝杆菌属在硝化型生物絮团的相对丰度高于同化型生物絮团。本实验所用生物絮团

表 3 不同重量等级的吉富罗非鱼鱼苗肠道微生物中的有益菌、潜在致病菌的相对丰度 ($n=3$)

		组别 group	0<A≤0.1	0.1<B≤0.2	0.2<C≤0.3	0.3<D≤0.4	0.4<E	参考文献 references
有益菌 probiotics	芽孢杆菌	<i>Bacillus</i> sp.	4.46±1.87 ^a	4.86±2.09 ^a	5.56±1.26 ^a	3.79±0.97 ^a	5.32±1.18 ^a	[24]
	红杆菌属	<i>Rhodobacter</i>	2.54±1.58 ^a	3.13±2.24 ^a	3.26±2.02 ^a	3.21±2.18 ^a	1.91±1.13 ^a	[25]
		<i>Reyranella</i>	1.90±0.37 ^a	2.11±0.35 ^a	2.38±0.78 ^a	2.60±1.00 ^a	2.62±0.60 ^a	[26]
	微杆菌属	<i>Microbacterium</i>	1.64±0.74 ^a	2.25±1.29 ^a	2.15±1.74 ^a	2.48±2.07 ^a	0.97±0.42 ^a	[27]
潜在致病菌 potential pathogenic bacteria	黄杆菌属	<i>Flavobacterium</i>	9.20±5.61 ^a	4.98±2.08 ^a	8.42±6.61 ^a	6.02±3.97 ^a	8.13±6.90 ^a	[28]
	肠弧菌属	<i>Enterovibrio</i>	6.47±10.0 ^a	3.93±5.19 ^a	3.61±3.17 ^a	2.69±2.64 ^a	0.21±0.30 ^a	[29]
	分枝杆菌属	<i>Mycobacterium</i>	2.16±1.15 ^a	2.28±1.13 ^a	2.98±1.47 ^a	2.80±0.94 ^a	4.37±2.01 ^a	[30]
	气单胞菌属	<i>Aeromonas</i>	1.10±0.77 ^a	1.05±1.24 ^a	0.57±0.47 ^a	0.56±0.55 ^a	0.29±0.37 ^a	[31]
	假单胞菌属	<i>Pseudomonas</i>	0.79±0.08 ^a	0.80±0.42 ^a	0.87±0.35 ^a	0.64±0.37 ^a	0.94±0.86 ^a	[32]

为二次使用, 之前养殖吉富罗非鱼已使用过, 可能成为本次实验致病菌的潜在来源之一, 建议使用新培养的生物絮团进行 BFT 养殖, 以降低生物絮团携带致病菌造成的威胁。

4 结论

生物絮团系统在不换水的情况下, 可以为吉富罗非鱼的仔鱼培育提供良好的水质条件。培育 37 d 后, 仔鱼由 (15.35±10.62) mg 生长到平均个体体重为 0.22 g 的规格苗种, 成活率 (65.08±13.55)%、终末密度 (3 254±678) 尾/m³, 培育效果良好。不同生长速率的吉富罗非鱼鱼苗肠道均定植了有益菌 (以芽孢杆菌为核心菌群), 但是也存在不少致病菌, 其中气单胞菌属和肠弧菌属在生长速率越慢的鱼苗肠道中的相对丰度越高, 它们可能导致仔鱼生长出现大小差异。因此, 利用 BFT 培育罗非鱼仔鱼时, 仍需额外注意致病菌数量的调控。

参考文献 (References):

- [1] Rego M A S, Sabbag O J, Soares R, et al. Financial viability of inserting the biofloc technology in a marine shrimp *Litopenaeus vannamei* farm: a case study in the state of Pernambuco, Brazil[J]. *Aquaculture International*, 2017, 25(1): 473-483.
- [2] Avnimelech Y, Kochba M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by *tilapia* in bio floc tanks, using ¹⁵N tracing[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(1-2): 163-168.
- [3] Gallardo-Colli A, Perez-Rostro C I, Hernández-Vergara M P, et al. Microeukaryote community and the nutritional composition

of the biofloc during Nile tilapia culture in water-reusing biofloc systems[J]. *Aquaculture International*, 2019, 27(2): 381-398.

- [4] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. *Aquaculture*, 1999, 176(3-4): 227-235.
- [5] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds[J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1-4): 140-147.
- [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] Ekasari J, Zairin M, Putri D U, et al. Biofloc-based reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. broodstock[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(2): 509-512.
- [8] Long L N, Yang J, Li Y, et al. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 135-141.
- [9] Liu G, Ye Z Y, Liu D Z, et al. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 81: 416-422.
- [10] Poli M A, Schweitzer R, de Oliveira Nuñez A P. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: effect of suspended solids in the performance of larvae[J]. *Aquacultural Engineering*, 2015, 66: 17-21.
- [11] Qiao G, Zhang M M, Li Y, et al. Biofloc technology (BFT): an alternative aquaculture system for prevention of *Cyprinid herpesvirus 2* infection in gibel carp (*Carassius auratus*

- gibelio*][J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 83: 140-147.
- [12] Luo G Z, Gao Q, Wang C H, *et al.* Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system[J]. *Aquaculture*, 2014, 422-423: 1-7.
- [13] Sgnaulin T, Durigon E G, Pinho S M, *et al.* Nutrition of genetically improved farmed tilapia (GIFT) in biofloc technology system: optimization of digestible protein and digestible energy levels during nursery phase[J]. *Aquaculture*, 2020, 521: 734998.
- [14] Vieira R B, Barreto L M, Fonseca K Z, *et al.* Zootechnical performance evaluation of the use of biofloc technology in Nile tilapia fingerling production at different densities[J]. *Boletim do Instituto de Pesca*, 2019, 45(4): e505.
- [15] de Oliveira Alves G F, Fernandes A F A, de Alvarenga É R, *et al.* Effect of the transfer at different moments of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to the biofloc system in formation[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 564-570.
- [16] Haridas H, Chadha N K, Sawant P B, *et al.* Growth performance, digestive enzyme activity, non-specific immune response and stress enzyme status in early stages of grey mullet reared in a biofloc system[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(10): 4923-4933.
- [17] Besen K P, da Cunha L, Delziovo F R, *et al.* Goldfish (*Carassius auratus*) larviculture in biofloc systems: level of *Artemia* nauplii, stocking density and concentration of the bioflocs[J]. *Aquaculture*, 2021, 540: 736738.
- [18] Nayak S K. Role of gastrointestinal microbiota in fish[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(11): 1553-1573.
- [19] Yuvarajan P. Study on floc characteristics and bacterial count from biofloc-based genetically improved farmed tilapia culture system[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(4): 1743-1756.
- [20] Ekasari J, Rivandi D R, Firdausi A P, *et al.* Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance[J]. *Aquaculture*, 2015, 441: 72-77.
- [21] 王悦, 赵盼月, 陈学豪, 等. 精养池模式下不同生长速度花鲢的肠道菌群比较研究 [J]. *饲料工业*, 2021, 42(4): 48-52.
Wang Y, Zhao P Y, Chen X H, *et al.* The Comparative research on intestinal flora of *Anguilla marmorata* with different growth rates under intensive culture ponds condition[J]. *Feed Industry*, 2021, 42(4): 48-52 (in Chinese).
- [22] Zhang Y, Wen B, David M A, *et al.* Comparative analysis of intestinal microbiota of discus fish (*Symphysodon haraldi*) with different growth rates[J]. *Aquaculture*, 2021, 540: 736740.
- [23] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 第 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
State Environmental Protection Administration. Methods for monitoring and analysis of water and wastewater [M]. 4th edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002. (in Chinese).
- [24] 雷新雨, 陈玉珂, 王桂芹, 等. 芽孢杆菌在水产养殖中的研究进展 [J]. *饲料工业*, 2021, 42(20): 46-49.
Lei X Y, Chen Y K, Wang G Q, *et al.* Research progress of *Bacillus* in aquaculture[J]. *Feed Industry*, 2021, 42(20): 46-49 (in Chinese).
- [25] 张诗雨, 谢梦琪, 许荔立, 等. 壳寡糖对克氏原螯虾消化酶活性、肠道菌群结构、血清非特异性免疫指标及抗病力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(12): 5864-5874.
Zhang S Y, Xie M Q, Xu L L, *et al.* Effects of chitosan oligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora structure, serum non-specific immune indices and disease resistance of *Procambarus clarkii*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(12): 5864-5874 (in Chinese).
- [26] 孙龙芳. 人工饲料驯食对鳊鱼肠道微生物和肠道结构功能的影响研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
Sun L F. Effect of feeding habits domestication on intestinal microflora, gut structure and function of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [27] 刘凌燕, 陈志宇, 曾还雄, 等. 美洲大蠊肠道内生微杆菌的分离鉴定及其抑菌活性研究 [J]. *生物技术通报*, 2018, 34(6): 172-177.
Liu L Y, Chen Z Y, Zeng H X, *et al.* Isolation and identification of endophytic microbacilli in the gut of *Periplaneta americana* and their antibacterial activity[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(6): 172-177 (in Chinese).
- [28] 柴静茹, 王荻, 卢彤岩, 等. 虹鳟源嗜冷黄杆菌的分离鉴定及致病性 [J]. *水产学报*, 2021, 45(6): 929-939.
Chai J R, Wang D, Lu T Y, *et al.* Isolation, identification and pathogenicity of *Flavobacterium psychrophilum* from *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 929-939 (in Chinese).
- [29] Austin B, Austin D, Sutherland R, *et al.* Pathogenicity of vibrios to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(9): 1488-1495.

- [30] Kušar D, Zajc U, Jenčič V, *et al.* Mycobacteria in aquarium fish: results of a 3-year survey indicate caution required in handling pet-shop fish[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2017, 40(6): 773-784.
- [31] 康元环, 张冬星, 杨滨僮, 等. 维氏气单胞菌最新研究进展 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2018, 34(5): 452-459,465.
- Kang Y H, Zhang D X, Yang B T, *et al.* Latest research progress on *Aeromonas veronii*[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2018, 34(5): 452-459,465 (in Chinese).
- [32] 周琳. 大黄鱼源变形假单胞菌的致病性研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2015.
- Zhou L. Studies on the pathogenicity of *Pseudomonas plecoglossicida* isolated from *Pseudosciaen crocea*[D]. Xiamen: JiMei University, 2015 (in Chinese).
- [33] 马涛. 碱度调节对水产生物絮体形成及对处理养殖用水效率的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- Ma T. The study of alkalinity regulation on the formation of bioflocs and treatment of aquaculture water efficiency[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese).
- [34] 高远, 李菟, 董登攀, 等. 凡纳滨对虾养殖系统中异养和自养型生物絮团的微生物特性及其与养殖水环境的关系 [J]. *中国水产科学*, 2022, 29(6): 864-873.
- Gao Y, Li M, Dong D P, *et al.* Microbial characteristics of heterotrophic and autotrophic biofloc in *Litopenaeus vannamei* culturing systems and their relationship with water quality[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, 29(6): 864-873 (in Chinese).
- [35] Monsees H, Klatt L, Kloas W, *et al.* Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(7): 3482-3492.
- [36] Pinho S M, Molinari D, de Mello G L, *et al.* Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 103: 146-153.
- [37] Chaparro-Herrera D J, Nandini S, Sarma S S S. Turbidity effects on feeding by larvae of the endemic *Ambystoma mexicanum* and the introduced *Oreochromis niloticus* in Lake Xochimilco, Mexico[J]. *Ecologyhydrology & Hydrobiology*, 2020, 20(1): 91-101.
- [38] 杜欣泽, 刘文畅, 谭洪新, 等. 硝化型和异养型生物絮团养殖系统罗非鱼养殖效果和微生物群落结构比较 [J]. *上海海洋大学学报*, 2022, 31(5): 1108-1119.
- Du X Z, Liu W C, Tan H X, *et al.* Comparison of culture effects and microbial community structure of tilapia in nitrifying and heterotrophic bioflocs culture systems[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(5): 1108-1119 (in Chinese).
- [39] Rawls J F, Mahowald M A, Ley R E, *et al.* Reciprocal gut microbiota transplants from zebrafish and mice to germ-free recipients reveal host habitat selection[J]. *Cell*, 2006, 127(2): 423-433.
- [40] 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.
- [41] Hoang M N, Nguyen P N, Bossier P. Water quality, animal performance, nutrient budgets and microbial community in the biofloc-based polyculture system of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* and gray mullet, *Mugil cephalus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 515: 734610.
- [42] Aguilera-Rivera D, Prieto-Davó A, Rodríguez-Fuentes G, *et al.* A vibriosis outbreak in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc and clear seawater[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2019, 167: 107246.

The growth performance of the larvae of GIFT *Oreochromis niloticus* cultivated by biofloc technology (BFT) and its relationship with intestinal microorganisms

XU Zhibing¹, LIU Wenchang^{1,2,3*}, TAN Hongxin^{1,2,3*}, LUO Guozhi^{1,2,3}, SUN Dachuan^{1,2}

1. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Shanghai Collaborative Innovation Center for Cultivating Elite Breeds and Green-culture of Aquaculture Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: This research used BFT to feed larvae with an initial weight of (15.35±10.62) mg for 37 days at a feeding density of 5 000 tail/m³ to investigate the effect of biofloc technology (BFT) on the growth of GIFT *Oreochromis niloticus* larvae and its relationship with gut microbiota. A survival rate of (65.08±13.55)% and a final density of (3 254±678) tail/m³ were obtained at the end of the experiment. The body weight of fry in class B (0.1-0.2 g) was the most, which was significantly higher than that of the other four classes (0<A≤0.1 g, 0.2 g<C≤0.3 g, 0.3 g<D≤0.4 g, 0.4 g<E). Proteobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes, Actinobacteria, and Firmicutes were the dominant phyla in the five grades of larvae. Among the dominant genera of intestinal flora, probiotics such as *Bacillus* (3.17%-5.32%), *Rhodibacter* (1.91%-3.26%), *Reyranella* (1.90%-2.62%) were detected. There were also some potential pathogens at the same time, such as *Flavobacterium* (4.98%-9.20%), *Enterovibrio* (0.21%-6.47%), *Mycobacterium* (2.16%-4.37%), *Aeromonas* (0.29%-1.10%). The relative abundance of *Aeromonas* and *Enterovibrio* was higher in the lower weight class. The health status and growth rate of larval tilapia were affected by intestinal probiotics and potential pathogenic bacteria. However, excessive pathogenic bacteria might break the balance of bacterial flora and further affect the growth rate of GIFT *O. niloticus*. The results of this study illustrated the possible relationship between the growth rate of GIFT *O. niloticus* larvae and the gut microbiota, and provided a reference for the cultivation of GIFT *O. niloticus* larvae by BFT.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; larvae; biofloc technology; growth rate; intestinal microorganisms

Corresponding authors: LIU Wenchang. E-mail: liuwenchang2012@126.com;

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

Funding projects: Sailing Project of Shanghai Science and Technology Commission (22YF1416400); Shanghai Aquaculture Engineering Technology Research Centre Capacity Enhancement Project (19DZ2284300)