

添加不同碳源对零换水养殖系统中团头鲂鱼种生长、 肠道生化指标和水质的影响

江晓浚^{1,2}, 孙盛明², 戈贤平^{1,2*}, 朱 健²,
李 冰², 张成锋², 缪凌鸿², 董玉峰²

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为探究添加不同碳源物质所形成的生物絮团对团头鲂鱼种生长、消化酶以及抗氧化酶活性的影响,设计 5 个不同碳源物质的添加组[淀粉组、葡萄糖组、蔗糖组、甜蜜素组和复合碳源组(葡萄糖:淀粉=1:1)],其中淀粉组为对照组,每个碳源添加组设置 3 个重复。每个水泥池投放团头鲂鱼种 20 尾,初始体质量为(36.74±0.82) g,实验期为 8 周。结果发现:(1)形成的生物絮团可以有效地调节水质,降低水体中的氨氮和亚硝酸盐氮水平;(2)与对照组相比,葡萄糖组团头鲂鱼种的鱼体末质量显著提高 23.1%,增重率显著提高 39.4%,特定生长率也显著提高 23.6%,饲料系数显著降低 28.1%,但存活率并没有显著差异;(3)肠道组织光镜观察表明,团头鲂鱼种肠道单层柱状上皮附近存在未消化的生物絮团;(4)添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种体成分没有显著的影响;(5)复合碳源组的肠道总蛋白酶的活性(3.64±0.53) U/mg 显著高于对照组 275.3%,淀粉酶活性显著高于对照组(淀粉组)289.2%、葡萄糖组 166.7%和蔗糖组 860%;(6)葡萄糖组的团头鲂超氧化物歧化酶(SOD)活性为(238.67±13.63) U/mg,显著高于对照组的 SOD 活性 72.5%,葡萄糖组团头鲂的过氧化氢酶(CAT)酶活性为(192.31±17.06) U/mg,显著高于对照组的 CAT 活性 40.4%,与对照组的丙二醛(MDA)水平相比,葡萄糖组、蔗糖组、甜蜜素组和复合碳源组分别显著降低了 69.0%、59.7%、38.0 和 48.8%。研究表明,水体中添加葡萄糖为碳源能显著提高团头鲂鱼种的生长性能和抗氧化水平,并有效改善水质。

关键词: 团头鲂;碳源;生长;消化酶;抗氧化;生物絮团

中图分类号: S 963

文献标志码: A

中国水产养殖集约化程度不断提高,同时也伴随着一系列的水质问题和安全隐患^[1],生物絮团技术(BFT)首次由以色列学者 Avnimelech^[2]提出并应用到罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的养殖实验中,早期的相关研究显示生物絮团技术能促进水体中的氮循环和转化,有效改善水质^[3-4],絮团中的微生物能同化水体中的无机氮,吸收并利用氨氮转化为菌体成分^[5]。通过向水体中投放碳源物质,能使水体维持一定的 C/N,在一定条件(水温、溶解

氧等)的综合影响下,生物絮团中的微生物群落会有效吸收转化水中的氨氮和亚硝酸盐等无机氮。生物絮团技术在提高水产动物的抗病力^[6-8]及饵料替代^[9-10]等方面也取得良好的效果。目前,生物絮团技术普遍应用在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[2,11-13]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[14]等甲壳类动物的养殖中,近年来在罗非鱼^[8,15-16]、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[17]和鳙(*Aristichthys nobilis*)^[18]等鱼类养殖中也有

收稿日期:2013-12-22 修回日期:2014-05-08

资助项目:国家大宗淡水鱼类产业技术体系建设专项(CARS-46-14);“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD25B07);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2013JBFR06,2014A08XK01)

通信作者:戈贤平,E-mail:gexp@ffrc.cn

报道。

团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)、隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes)、鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)、鲃亚科 (Abramidinae)、鲃属 (*Megalobrama*)，其肉质鲜美、生长快、经济价值高，为中国目前主要养殖鱼类之一^[19-20]。随着集约化养殖模式的扩大和推广，水产养殖业得到了迅猛发展，截至2011年，中国团头鲂产量已超过70万t。然而高密度养殖、投饲频率的增加以及水体污染等问题使养殖环境不断恶化，从而导致疾病暴发流行和养殖动物的大规模死亡^[21]。长期以来，为了解决水产养殖中的水质和病害问题，传统的技术手段发挥了重要的作用，但也存在着一定的经济和环境局限性，通过较低成本的水质调控手段来改善动物健康状况已成为当前健康养殖领域的研究热点^[21]。已有研究表明，在罗非鱼实验中额外添加淀粉，利用生物絮团技术能有利于罗非鱼越冬，日换水量能从24%降为10%^[8]，因此，本研究以添加淀粉碳源组为对照组，探讨添加不同碳源物质形成生物絮团对团头鲂的生长、体成分、肠道消化酶及抗氧化酶活性等影响，为生物絮团技术在草食性鱼类团头鲂的应用推广提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验碳源与添加方法

本实验添加的碳源分别是葡萄糖、甜蜜素、蔗糖和淀粉，分别设置了葡萄糖组、甜蜜素组、蔗糖组、复合碳源组(葡萄糖:淀粉=1:1)和对照组(淀粉组)，共5个处理组，每个处理组设计3个平行实验。本实验的碳源添加量参考了相关的碳氮比计算方法^[2]，即 $\Delta\text{CH} = \text{feed} \times \% \text{N feed} \times \% \text{N excretion} / 0.05$ ， ΔCH ：所需要的碳水化合物的添加量；feed：每天投喂给团头鲂的饲料量；%N feed：饲料中的氮含量；%N excretion：团头鲂的排泄物所含氮的比例。根据上述计算方法推算，碳源的添加量约为饲料投喂量的55%，饲料和碳源的总碳氮比约为20。碳源的添加方式为每次投喂饲料后1h，把投喂的碳源与少量养殖水体混合搅拌，全池均匀泼洒。实验全程投喂通威公司的团头鲂专用配合饲料。

1.2 实验鱼种与饲养管理

养殖实验在中国水产科学研究院淡水渔业研

究中心大浦实验基地进行，实验所用团头鲂鱼种由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南泉实验基地提供，驯化14d后，将300条体质健康，规格一致的团头鲂鱼种 $[(36.74 \pm 0.82) \text{g}]$ 随机分入15个室内水泥池(1m×4m×0.6m)，平均水深0.4m，共5个实验组，每组设置3个平行实验，每池放养为20尾。每个水泥池中设置微孔增氧管，置于水泥池的底部，微孔增氧管通过PPR管与池边一个5kW的鼓风机相连接，保持连续充气。

实验时间为2013年4月10日至6月8日，实验周期为56d，养殖期间每天定时投喂3次团头鲂商品饲料(8:00h, 12:00h和16:00h)，每天定量投食，日投饲量为团头鲂体质量的3%左右，每周根据摄食和生长情况作适当调整。实验期间不换水，只补充因渗漏、蒸发及采样而丢失的水量。实验期间24h不间断供氧，期间水温为18~24℃，pH为7.7~8.5，溶解氧>5.0mg/L。养殖水源为经过沉淀、过滤后的池塘水。实验过程中尽量减少人为干扰，防止对鱼产生额外应激，每日观察鱼摄食及死亡情况，发现死鱼及时捞出称重记数，并检查死亡原因。正式养殖周期为8周，实验结束后量取鱼体长、称体质量和采样，称体质量前24h停止喂食。

1.3 样品收集和测定方法

生长与形态学指标测定

增重率(weight gain rate, WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100$;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d) = $(\text{Ln } W_t - \text{Ln } W_0) / t \times 100$;

饵料系数(feed conversion ratio, FCR) = $FI / (W_t - W_0)$;

成活率(survival rate, SR, %) = $N_t / N \times 100$;

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %) = $W_h / W_b \times 100$;

内脏比(viscerosomatic ratio, VR, %) = $W_v / W_b \times 100$;

肥满度(condition factor, CF, %) = $W_b / L^3 \times 100$ 。

式中， W_0 (g)为鱼初体均质量； W_t (g)为鱼末体均质量； t (d)为饲喂天数； FI (g)每尾鱼平均摄食饲料总量； W_h (g)为每尾鱼末肝脏质量； W_v (g)为每尾鱼末内脏质量； W_b (g)为每尾鱼末体质量； L (cm)为每尾鱼末体长； N_t 为收获尾数， N 为放养尾数。

水质指标测定 养殖周期8周，每隔一周

采集水样 1 次。采样时,上午 9:00 用 1 L 柱状采水器在水泥池四角和中央采集水样 5 L,混合待用。取混合水样 550 mL,冷藏带回实验室用于检测相关水质指标。检测指标包括:氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$),硝酸盐氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$),亚硝酸盐氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$),总悬浮颗粒物(TPM)。另外现场采用 PHB-1 型便携式 pH 计测定 pH, Thermo Orion 型号 810 便携式溶氧仪测定 DO 和水温。

全鱼体成分测定 饲养实验结束后,每箱随机选取 2 尾鱼,每个处理组取 6 尾鱼,用于测定鱼体的粗蛋白、粗脂肪、灰分和水分含量等常规营养成分。通过常压干燥法在 105°C 的烘箱中烘至恒重来计算干物质含量;通过凯氏定氮法(GB/T 6432-1994)来检测样品的粗蛋白含量(AOAC, 1995);使用索氏抽提法(GB/T 6432-1994)即利用乙醚抽脂来检测粗脂肪含量;采用 560°C 灼烧法(GB/T 6438-1992)在马氟炉焚烧 5 h 后计算灰分含量。

生物絮团测定 用 1 L 柱状采水器,分别于每组 3 个平行中取水样 3 L 混合,再取混合水样 1 L 倒入英霍夫锥形管中,静止沉淀 30 min 后,根据英霍夫锥形管所标刻度读数。连续观察生物絮团形成的速度、颜色和状态,通过光学显微镜观察生物絮团形态结构并拍照。

团头鲂鱼种肠道消化酶活性和抗氧化能力测定 使用浓度为 100 mg/L 的 MS-222 快速深度麻醉团头鲂后,取出其肠道,使用电动匀浆机在冰浴下制成 20% 的组织匀浆液, $50\,000\text{ r/min}$ 4°C 离心 15 min,取上清液待测定。淀粉酶、脂肪酶、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(methane dicarboxylic aldehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)均使用南京建成生物工程所的试剂盒进行检测,测定按照试剂盒的说明书进行。蛋白酶采用福林-酚法测定。

团头鲂鱼种肠道组织学观察 添加不同碳源养殖周期结束后,处理组随机取 2 尾鱼解剖取出肠道,并从后肠部分切取组织块,用 Bouin 氏液固定,乙醇逐级脱水,石蜡包埋,切片厚度 $5.0\ \mu\text{m}$, H. E 染色,莱卡显微镜观察并拍照。

1.4 数据统计与分析

实验数据用 SPSS 16.0 统计软件包中的单因素方差分析(One-Way ANOVA),若差异显著时,再进行 Duncan 多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著,所有的结果均以平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)

表示。

2 结果与分析

2.1 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种生产性能的影响

与对照组(淀粉组)相比,葡萄糖组的终末体质量(112.34 ± 5.71) g、增重率($197.57\% \pm 15.13\%$)以及特定生长率(0.844 ± 0.039)%/d 分别显著提高 23.1%、39.4% 和 23.6% ($P < 0.05$);葡萄糖组的终末体质量、增重率以及特定生长率也分别显著高于甜蜜素组的 19.4%、32.4% 以及 19.5% ($P < 0.05$);葡萄糖组的饲料系数(0.92 ± 0.07)显著低于对照组 28.1% ($P < 0.05$),但与其他组相比并无显著性差异($P > 0.05$);葡萄糖组的脏体比($9.07\% \pm 0.30\%$)分别显著高于对照组 12.2%、蔗糖组 13.5% 以及甜蜜素组 13.9% ($P < 0.05$),与复合碳源组无显著性差异($P > 0.05$);复合碳源组的脏体比($8.87\% \pm 0.35\%$)显著高于甜蜜素组 11.4% ($P < 0.05$);与对照组相比,葡萄糖组的肥满度并无显著性差异($P > 0.05$),但显著高于蔗糖组 4.9%、甜蜜素组 5.9% 和复合碳源组 5.4% ($P < 0.05$) (表 1)。添加不同碳源的各实验组间肝体比和存活率没有显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种体成分的影响

添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种粗蛋白、粗脂肪、粗灰分和水分没有显著性影响($P > 0.05$) (表 2)。

2.3 不同碳源添加对团头鲂鱼种水质指标的影响

与对照组(淀粉组)相比,各处理组的养殖水体理化因子并无显著性差异($P > 0.05$)。与对照组 [$(5.72 \pm 0.78)\text{ mL/L}$] 相比,葡萄糖组 [$(13.09 \pm 1.26)\text{ mL/L}$]、蔗糖组 [$(22.83 \pm 0.61)\text{ mL/L}$] 以及复合碳源组 [$(8.29 \pm 0.65)\text{ mL/L}$] 对絮团形成体积均有显著性的提高($P < 0.05$) (表 3)。葡萄糖的添加显著提高了 56.3% 的絮团体积,蔗糖添加组显著提高了 74.9% 的絮团体积,复合碳源添加组显著提高了 31.0% 的絮团体积。

2.4 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肠道消化酶活性的影响

复合碳源组团头鲂鱼种肠道的蛋白酶活性为 (3.64 ± 0.53) U/mg, 甜蜜素组的蛋白酶活性

表1 添加不同碳源的生物絮团对团头鲂鱼种生产性能的影响

Tab.1 Effect of different carbohydrate sources addition on growth performance of juvenile *M. amblycephala*

	淀粉组 starch	葡萄糖组 glucose	蔗糖组 sucrose	甜蜜素组 sodium cyclamate	复合碳源组 compound carbon source
初始体重/g initial weight	38.38 ± 0.95	36.74 ± 0.82	38.33 ± 0.84	38.31 ± 0.37	37.02 ± 0.75
终末体重/g final weight	91.23 ± 4.26 ^b	112.34 ± 5.71 ^a	102.49 ± 5.53 ^{ab}	94.09 ± 5.28 ^b	101.03 ± 4.89 ^{ab}
增重率/% WGR	141.64 ± 11.28 ^b	197.57 ± 15.13 ^a	171.46 ± 14.64 ^{ab}	149.22 ± 14.00 ^b	167.60 ± 12.95 ^{ab}
特定生长率/(%/d) SGR	0.683 ± 0.036 ^b	0.844 ± 0.039 ^a	0.772 ± 0.043 ^{ab}	0.706 ± 0.042 ^b	0.762 ± 0.037 ^{ab}
饲料系数 FCR	1.28 ± 0.10 ^b	0.92 ± 0.07 ^a	1.06 ± 0.10 ^{ab}	1.22 ± 0.10 ^{ab}	1.08 ± 0.08 ^{ab}
存活率/% SR	100.00 ± 0.00	93.33 ± 3.33	98.33 ± 1.67	98.33 ± 1.67	95.00 ± 2.89
肝体比/% HSI	1.37 ± 0.08	1.35 ± 0.07	1.27 ± 0.07	1.27 ± 0.06	1.44 ± 0.05
脏体比/% VSI	8.08 ± 0.29 ^{bc}	9.07 ± 0.30 ^a	7.99 ± 0.20 ^{bc}	7.96 ± 0.31 ^c	8.87 ± 0.35 ^{ab}
肥满度/% CF	2.06 ± 0.02 ^{ab}	2.16 ± 0.04 ^a	2.04 ± 0.03 ^b	2.04 ± 0.03 ^b	2.05 ± 0.04 ^b

注:表格中同一行相同肩标字母表示没有显著差异($P > 0.05$),不同字母表示有显著差异($P < 0.05$),下表同

Notes: In the same row, means with the same letters mean no significant differences ($P > 0.05$). Means with different letters in the same row have significant differences ($P < 0.05$). The same as the following

表2 添加不同碳源的生物絮团对团头鲂鱼种体成分的影响(干物质)

Tab.2 Effect of different carbohydrate sources on body composition of juvenile *M. amblycephala* (dry matter)

	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	粗灰分 ash	水分 moisture
淀粉组 starch	18.20 ± 0.09	7.24 ± 0.10	3.22 ± 0.05	70.89 ± 0.53
葡萄糖组 glucose	18.09 ± 0.08	7.28 ± 0.09	3.27 ± 0.07	70.41 ± 0.69
蔗糖组 sucrose	18.14 ± 0.07	7.29 ± 0.17	3.32 ± 0.04	71.58 ± 0.78
甜蜜素组 sodium cyclamate	18.15 ± 0.14	7.39 ± 0.15	3.27 ± 0.04	71.22 ± 0.24
复合碳源组 compound carbon source	18.12 ± 0.19	7.32 ± 0.08	3.19 ± 0.12	70.40 ± 0.54

表3 添加不同碳源的生物絮团对实验期间养殖水质指标的影响

Tab.3 Effect of different carbohydrate sources on water quality in zero water exchanged system during the 56-day experimental period

	淀粉组 starch	葡萄糖组 glucose	蔗糖组 sucrose	甜蜜素组 sodium cyclamate	复合碳源组 compound carbon source
水温/°C	20.40 ± 0.00 (13.7, 23.7)	20.70 ± 0.10 (14.5, 24.7)	20.53 ± 0.25 (14.2, 23.8)	20.17 ± 0.35 (13.8, 23.7)	20.43 ± 0.06 (14.0, 23.6)
DO ^a / (mg/L)	8.02 ± 0.26 (7.26, 9.50)	7.39 ± 0.43 (4.53, 9.31)	7.41 ± 0.32 (4.60, 10.02)	7.72 ± 0.41 (5.44, 9.73)	7.93 ± 0.21 (6.83, 9.55)
pH	8.27 ± 0.07 (8.22, 8.49)	8.19 ± 0.14 (7.66, 8.51)	8.16 ± 0.11 (7.68, 8.47)	8.16 ± 0.16 (7.83, 8.50)	8.24 ± 0.08 (8.21, 8.47)
TAN ^b / (mg/L)	0.249 ± 0.02 (0.10, 0.59)	0.329 ± 0.03 (0.206, 0.955)	0.265 ± 0.01 (0.08, 0.55)	0.303 ± 0.01 (0.148, 0.614)	0.297 ± 0.06 (0.11, 0.81)
NO ₂ ⁻ -N/ (mg/L)	0.097 ± 0.021 (0.003, 0.25)	0.082 ± 0.043 (0.01, 0.33)	0.103 ± 0.027 (0.02, 0.34)	0.167 ± 0.093 (0.01, 0.50)	0.092 ± 0.039 (0.01, 0.28)
NO ₃ ⁻ -N/ (mg/L)	3.32 ± 0.26 (0.05, 13.7)	2.65 ± 0.86 (0.05, 9.88)	3.07 ± 0.51 (0.10, 8.31)	4.00 ± 0.37 (0.001, 9.73)	3.58 ± 0.40 (0.10, 10.72)
Biofloc ^c / (mL/L)	5.72 ± 0.78 ^d (1.23, 7.67)	13.09 ± 1.26 ^b (8.20, 16.43)	22.83 ± 0.61 ^a (21.33, 24.67)	2.71 ± 0.60 ^d (0.60, 5.17)	8.29 ± 0.65 ^c (6.03, 10.67)
TPM ^d / (mg/L)	99.14 ± 21.82 (24.94, 147.56)	103.08 ± 25.89 (34, 219.78)	125.63 ± 35.23 (40, 301.33)	85.76 ± 20.27 (22.89, 184.44)	117.78 ± 16.38 (42.67, 152.44)

注:a.溶解氧,b.总氨氮,c.生物絮团,d.总悬浮颗粒物。表格中同一行不同字母表示有显著差异($P < 0.05$),括号内数值为极小值和极大值

Notes: a. dissolved oxygen; b. total ammonia nitrogen; c. the biological floccules; d. total suspended particles. Means with different letters in the same row mean significant differences ($P < 0.05$). Range values (minimum, maximum)

(3.98 ± 0.97) U/mg, 两组的蛋白酶活性均显著高于对照组(淀粉组)310.3%、葡萄糖组 215.9% 和蔗糖组 139.8% ($P < 0.05$); 复合碳源组的团头鲂鱼种肠道的淀粉酶活性为(1.44 ± 0.25) U/mg, 显著高于对照组(淀粉组)289.2%、葡萄糖组 166.7% 和蔗糖组 860% ($P < 0.05$); 而淀粉组、葡萄糖组和蔗糖组蛋白酶和淀粉酶活性无显著性差异 ($P > 0.05$) (图 1-a, b)。添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肠道脂肪酶活性没有显著影响 ($P > 0.05$) (图 1-c)。

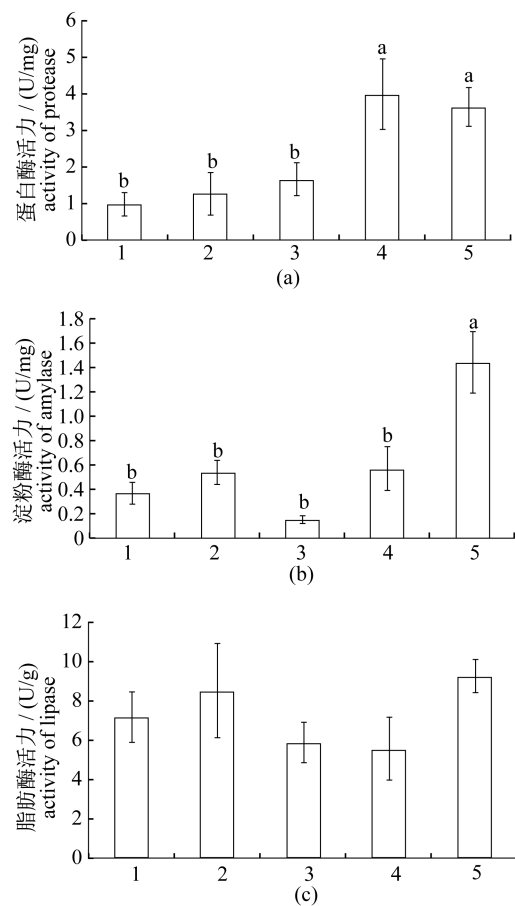


图 1 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肠道消化酶活力的影响

1. 淀粉组, 2. 葡萄糖组, 3. 蔗糖组, 4. 甜蜜素组, 5. 复合碳源组
(a) 表示蛋白酶活力; (b) 表示淀粉酶活力; (c) 表示脂肪酶活力

Fig. 1 Effect of different carbohydrate sources addition on intestine protease, amylase and lipase activities of juvenile *M. amblycephala*

1. starch, 2. gulucose, 3. sucrose, 4. sodium cyclamate, 5. compound carbon source
(a) Intestine protease activities, (b) Intestine amylase activities, (c) Intestine lipase activities

All values were presented as the mean \pm SE ($n = 9$). Bars with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

2.5 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肝脏抗氧化指标的影响

与对照组(淀粉组)的 SOD 活性 [(138.32 ± 5.55) U/mg] 以及 CAT 活性 [(137.02 ± 7.40) U/mg] 相比, 葡萄糖组显著提高了团头鲂鱼种中 SOD 活性 [(238.67 ± 13.63) U/mg] 和 CAT 活性 [(192.31 ± 17.06) U/mg] ($P < 0.05$), 其余处理组的 SOD 和 CAT 活性并无显著性差异 ($P > 0.05$) (图 2-a, b); 与对照组的丙二醛 (MDA) 水平相比, 葡萄糖组、蔗糖组、甜蜜素组和复合碳源组分别显著降低 69%、59.7%、38%、48.8% 的 MDA 含量 ($P < 0.05$) (图 2-c)。

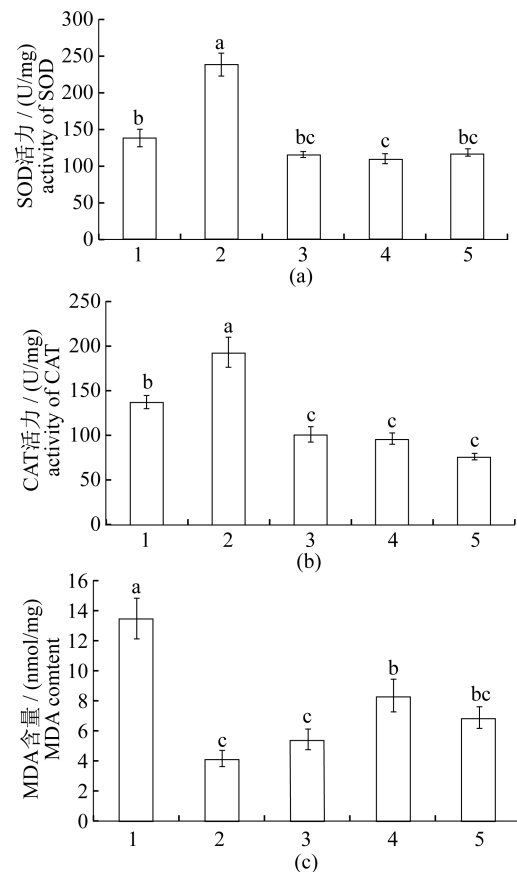


图 2 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肝脏抗氧化酶活力的影响

1. 淀粉组, 2. 葡萄糖组, 3. 蔗糖组, 4. 甜蜜素组, 5. 复合碳源组
(a) 表示 SOD 活力; (b) 表示 CAT 活力; (c) 表示 MDA 含量

Fig. 2 Effect of different carbohydrate sources addition on superoxide dismutase activities, catalase activities and malondialdehyde in liver of juvenile *M. amblycephala*

1. starch, 2. gulucose, 3. sucrose, 4. sodium cyclamate, 5. compound carbon source

(a) SOD activities; (b) CAT activities; (c) MDA content
All values were presented as the mean \pm SE ($n = 9$). Bars with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种生长性能的影响

相关研究表明,在水体中添加淀粉等碳源物质能促进生物絮团的形成^[22],生物絮团中含有35%~50%的粗蛋白、2.5%~9%的粗脂肪、7%~10%的粗灰分、18~22 kJ/g的能量^[23],被认为是鱼类潜在可利用的蛋白质资源。生物絮团的营养成分不仅符合罗非鱼等杂食性鱼类的营养需求,而且同样符合植食性鱼类的营养需求^[23],可作为鱼类潜在的天然饵料,以降低鱼类的饲料系数并提高蛋白质利用效率^[22]。Uchida等^[24]在养殖水体中添加葡萄糖能显著促进菲律宾蛤仔稚贝的生长,而本研究以葡萄糖作为添加碳源,团头鲂鱼种的增重率和特定生长率得到显著提高($P < 0.05$),饲料系数得到显著降低($P < 0.05$),对团头鲂鱼种的生长差异性符合Uchida等^[24]和Avnimelech^[25]的相关研究结果。本研究还发现团头鲂鱼种肠道上皮褶皱中存在少量未消化吸收的生物絮团(图版-1,2)。故推测造成团头鲂鱼种生长差异性的主要原因是团头鲂鱼种摄食利用水体中的生物絮团,降低了饲料系数。研究结果提示,不同类型的碳源物质所形成生物絮团的量有着显著的差异,草食性的团头鲂能够有效摄食利用生物絮团,添加葡萄糖所形成的生物絮团可显著提高团头鲂鱼种的生长性能。

3.2 添加不同碳源形成的生物絮团对团头鲂鱼种肠道消化酶活性的影响

组成生物絮团的微生物能参与水生动物肠道固有微生物的代谢活动,通过影响消化酶的活性,影响水生动物的消化能力^[26],已有的研究表明,生物絮团技术能在一定程度上提高凡纳滨对虾的消化酶活性^[27]。本研究结果显示,复合碳源组能显著提高团头鲂鱼种肠道的淀粉酶和蛋白酶的活性。由于生物絮团中的微生物对水生动物的肠道消化有辅助作用^[26-27],推测添加以一定比例搭配的两种或以上的碳源或单一的碳源对于鱼类肠道菌群的多样性构成一定的影响,从而导致本研究结果中消化酶活力的差异性。但多种碳源的搭配或单一的碳源添加对絮团微生物或团头鲂肠道菌群的影响有待进一步的研究。本研究结果表明,葡萄糖和淀粉以1:1组合的碳源添加能有效提高团头鲂肠道消化酶的活性。此外,鱼类体内存在着一系列可

利用糖的酶以及代谢途径^[28],鱼类对低分子糖的消化率要远远高于高分子糖类^[29-34],本研究中葡萄糖组的淀粉酶和蛋白酶活性虽然高于对照组,但并无显著性差异。由于葡萄糖等单分子糖类可直接被鱼类肠道较好地吸收,淀粉等大分子糖类需要消化酶催化分解才可以被吸收^[35],故推测在生长性能上葡萄糖组要相对突出。

3.3 添加不同碳源对生物絮团形成和养殖水体水质的影响

本实验关于水质方面的结果显示,葡萄糖组、蔗糖组和复合碳源组的絮团体积均显著高于对照组,说明葡萄糖、蔗糖和复合碳源组更有利于生物絮团的形成。研究表明,添加淀粉、葡萄糖等碳源物质能有效去除水体中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ ^[8],组成生物絮团中的细菌能通过利用淀粉、葡萄糖等碳源物质吸收并利用水体中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,通过抑制 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化为 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 来降低 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 水平,本研究显示,尽管不同的碳源物质对水质的影响差异不显著,但是葡萄糖组的生物絮团形成效果显著高于淀粉对照组,结合生长指标提示,葡萄糖作为添加碳源不仅有利于生物絮团的形成,而且更有利于团头鲂对生物絮团的消化吸收,同时对于水质的维持发挥了重要的作用。

3.4 添加不同碳源形成生物絮团对团头鲂鱼种肠道抗氧化能力的影响

团头鲂体内抗氧化酶系统能有助于清除鱼体内过多的超氧阴离子自由基,自由基含量的增加会导致脂质的过氧化反应,丙二醛等氧化自由基也会随之形成,丙二醛的积累会对鱼体造成损伤,因此抗氧化酶活性和丙二醛的含量能反映机体自由基的水平及其毒性作用^[36]。Sun等^[37-38]研究指出,氨氮和亚硝酸盐氮等的污染已成为制约团头鲂高密度养殖的主要胁迫因子,而团头鲂抗氧化系统对于亚硝酸盐胁迫较为敏感。本研究表明,以葡萄糖为添加碳源不仅能降低养殖水体中亚硝酸盐等有毒无机氮水平,而且显著提高了团头鲂鱼种抗氧化防御能力的水平,这与罗非鱼的研究结果相吻合^[22]。本研究证实生物絮团由原生动物、藻类、益生菌等组成(图版-3,4),莫照兰等^[39]研究指出,微生物絮团内部含有一定的多糖及氨基酸,推测该类物质可能以糖蛋白的形式由絮团中的细菌分泌到胞外,细菌胞外蛋白对对虾具有良好的免疫促进活性。结合团头鲂肠道组织消化酶活性和抗氧化能

力测定,本研究表明添加葡萄糖形成的生物絮团对团头鲂鱼种肠道生理功能具有促进作用,具体作用机制有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Piedrahita R H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation [J]. Aquaculture, 2003, 226(1-4):35-41.
- [2] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems [J]. Aquaculture, 1999, 176(3-4):227-235.
- [3] Avnimelech Y, Kochva M, Diab S. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio [J]. Israeli Journal of Aquaculture/Bamidgeh, 1994, 46(3):119-131.
- [4] McIntosh PR. Changing paradigms in shrimp farming: IV. Low protein feeds and feeding strategies [J]. Global Aquaculture Advocate, 2000, 3(2):44-50.
- [5] Luo L, Zhang J S, Li Z J. Characteristics of bio-flocs technology and its further application in shrimp culture [J]. Journal of Hydroecology, 2011, 32(5):129-133. [罗亮, 张家松, 李卓佳. 生物絮团技术特点及其在对虾养殖中的应用. 水生态学杂志, 2011, 32(5):129-133.]
- [6] Schryver P D, Sinha A K, Kunwar P S, et al. Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(5):1535-1541.
- [7] Defoirdt T, Halet D, Vervaeren H, et al. The bacterial storage compound poly- β -hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii*. Environmental Microbiology [J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(2):445-452.
- [8] Crab R, Kochva M, Verstraete W, et al. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia [J]. Aquaculture Engineering, 2009, 40(2):105-112.
- [9] Emerenciano M, Eduardo L C, Ballester, Ronaldo O C, et al. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) [J]. Aquaculture Research, 2012, 43(3):447-457.
- [10] David D K, Addison L L, Gregory D B, et al. Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2010, 303(1):28-33.
- [11] Stephen H J, Sandier P A, Browdy C L. Effect of two feed protein levels and feed rate combinations on water quality and production of intensive shrimp ponds operated without water exchange [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1995, 26(1):93-97.
- [12] Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system [J]. Aquaculture, 2004, 232(1):525-537.
- [13] Li Z J, Yang Y Y, Yang K. The high efficient pollution-free control technology of aquatic environment on *Penaeus japonicus* [J]. China Fisheries, 2008(9):55-57. [李卓佳, 杨莺莺, 杨铿. 对虾养殖水环境无公害高效调控技术之四. 中国水产, 2008(9):55-57.]
- [14] Liu D J, Pan X Y, Yin W L, et al. Bio-flocs technology application in breeding of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(1):47-52. [刘杜鹃, 潘晓艺, 尹文林, 等. 生物絮团在罗氏沼虾育苗中的应用. 上海海洋大学学报, 2013, 22(1):47-52.]
- [15] 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.
- [16] Schneider O, Sereti V, Eding E H, et al. Molasses as C source for heterotrophic bacteria production on solid fish waste [J]. Aquaculture, 2006, 261(4):1239-1248.
- [17] Lu B G, Wang H Y, Xie J, et al. Effect of C/N ratio on bioflocs formation and water quality in zero-water exchange grass carp tanks [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.]
- [18] Li C B. The study and application of bioflocs as *Aristichthys nobilis* Richardson bait [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012. [李朝兵. 生物絮团作为鳊饵料的研究与应用. 上海:上海海洋大学, 2012.]
- [19] Ke H W. An excellent freshwater food fish, *Megalobrama amblycephala*, and its propagating and culturing [J]. Acta Hydrobiologica Sinica of China, 1975, 5(3):293-314.

- [20] Jiang Y Y, Li X F, Liu W B, *et al.* Effects of different protein and lipid levels on the growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) yearlings [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, 36(5): 826 – 836. [蒋阳阳, 李向飞, 刘文斌, 等. 不同蛋白质和脂肪水平对1龄团头鲂生长性能和体组成的影响. *水生生物学报*, 2012, 36(5): 826 – 836.]
- [21] Schryver P D, Crab R, Defoirdt T, *et al.* The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture [J]. *Aquaculture*, 2008, 277(1 – 2): 125 – 137.
- [22] Li Y, Liu L P, Zhao G X, *et al.* The effects of wheat starch addition on water quality and growth in tilapia [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, 28(1): 55 – 60. [李彦, 刘利平, 赵广学, 等. 养殖水体中添加碳源对水质及罗非鱼生长的影响. *大连海洋大学学报*, 2013, 28(1): 55 – 60.]
- [23] Azim M E, Little D C, Bron J E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C: N ratio in feed and the implications for fish culture [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(9): 3590 – 3599.
- [24] Uchida M, Kanematsu M, Miyoshi T. Growth promotion of the juvenile clam, *Ruditapes philippinarum*, on sugars supplemented to the rearing water [J]. *Aquaculture*, 2010, 302(3 – 4): 243 – 247.
- [25] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia minimal discharge bio-flocs technology ponds [J]. *Aquaculture*, 2006, 264(1 – 2): 140 – 147.
- [26] Moss S M, Leamaster B R, Sweeney J N. Relative abundance and species composition of gram-negative, aerobic bacteria associated with the gut of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in oligotrophic well water and eutrophic pond water [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2000, 31(2): 255 – 263.
- [27] 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.
- [28] Guderley H, Dabrowski K. Intermediary metabolism [C]. *Intermediary metabolism: Fish Nutrition*, 3rd edn. Academic Press, London, 2002: 309 – 365.
- [29] Lee S M, Kim K D, *et al.* Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 2003, 221(1 – 4): 427 – 438.
- [30] Shiau S Y, Peng C Y. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. *Aquaculture*, 1993, 117(3 – 4): 327 – 334.
- [31] Shikata T, Iwanaga S, Shimeno S. Effects of dietary glucose, fructose, and galactose on hepatopancreatic enzyme activities and body composition in carp [J]. *Fisheries Science*, 1994, 60(5): 613 – 617.
- [32] Tan Q, Xie S, Zhu X, *et al.* Effect of dietary carbohydrate sources on growth performance and utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris Gunther*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2006, 12(1): 61 – 70.
- [33] Lin J H, Shiau S Y. Hepatic enzyme adaptation to different dietary carbohydrates in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1995, 14(2): 165 – 170.
- [34] Shiau S Y, Lin Y H. Utilization of glucose and starch by the grouper *Epinephelus malabaricus* at 23 °C [J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(5): 991 – 995.
- [35] Cai C F, Chen L Q. Comment on the utilization of dietary carbohydrates in fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(5): 608 – 613. [蔡春芳, 陈立侨. 鱼类对糖的利用评述. *水生生物学报*, 2006, 30(5): 608 – 613.]
- [36] Sies H. *Oxidative stress II: Oxidants and Antioxidants* [M]. New York: Academic Press, 1991: 58 – 73.
- [37] Sun S M, Ge X P, Xuan F J, *et al.* Nitrite-induced hepatotoxicity in Blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*): The mechanistic insight from transcriptome to physiology analysis [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2014, 37(1): 55 – 65.
- [38] Sun S M, Ge X P, Zhu J, *et al.* Identification and mRNA expression of antioxidant enzyme genes associated with the oxidative stress response in the Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) in response to acute nitrite exposure [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C*, 2014, 159(1): 69 – 77.
- [39] Mo Z L, Li H R, Yu Y, *et al.* Effect of bacterial glycoprotein on immune factors in *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, 7(3): 28 – 32. [莫照兰, 李会荣, 俞勇, 等. 细菌糖蛋白对螯虾免疫因子的影响. *中国水产科学*, 2000, 7(3): 28 – 32.]

Effects of different carbon sources on growth, intestinal biochemical parameters and water quality in the juvenile *Megalobrama amblycephala* cultured in zero water exchange system

JIANG Xiaojun^{1,2}, SUN Shengming², GE Xianping^{1,2*}, ZHU Jian², LI Bing²,
ZHANG Chengfeng², MIAO Linghong², DONG Yufeng²

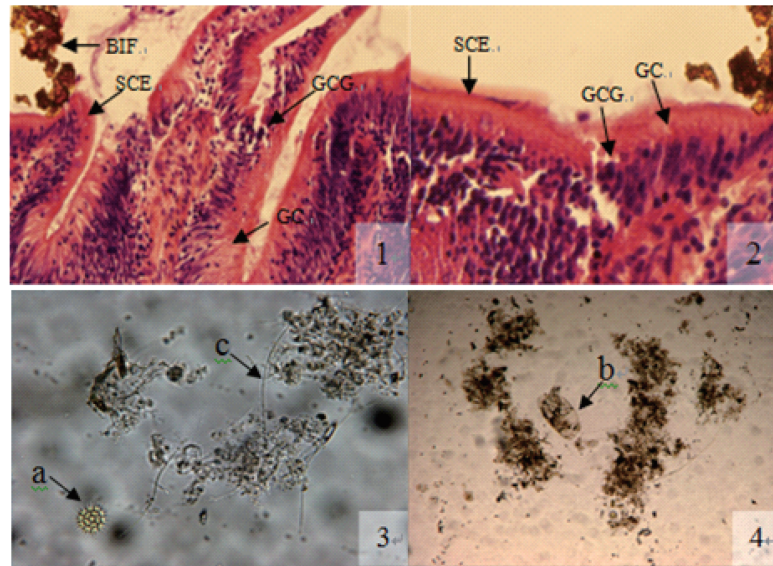
(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: An 8-week trial was conducted to investigate the effects of five carbon sources on the growth performance, intestinal biochemical parameters and water quality in the juvenile *Megalobrama amblycephala* by the principle of bio-floc technology (BFT). The carbon sources include starch (control), glucose, sucrose, sodium cyclamate, composite carbon (mixture of starch and glucose in proportion of 1:1). The juvenile *M. amblycephala* with initial body weight of (36.74 ± 0.82) g were stocked into 15 indoor cement tanks ($1 \text{ m} \times 4 \text{ m} \times 0.6 \text{ m}$) and fed commercial feed with daily normal feeding. At the initiation of the experiment, the fish were randomly chosen and sorted into 15 indoor cement tanks with 20 individuals per tank. Each experimental group was randomly assigned to triplicate tanks for a completely randomized design. The results of this study showed that bioflocs could effectively regulate water quality, as well as reduce ammonia and nitrite concentration. Final body weight, weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) of glucose group were significantly higher than the other groups ($P < 0.05$), while feed conversion ratio was significantly lower than the other groups ($P < 0.05$). Furthermore, no significant differences ($P > 0.05$) were observed for the survival rate and the body composition among all treatment groups. Intestine microstructure observation showed that there were some bioflocs in the brush border of intestine in juvenile *M. amblycephala*. The activities of protease and amylase of fish in the composite carbon group were significantly higher than control group, glucose group and sucrose group ($P < 0.05$). The activities of superoxide dismutase and catalase of fish in the composite carbon group were 72.5% and 40.4%, which were significantly higher than those of control group, however, the malondialdehyde content was lower than that of control group ($P < 0.05$).

Key words: *Megalobrama amblycephala*; carbon sources; growth; digestive enzymes; antioxidant enzymes; biofloc

Corresponding author: GE Xianping. E-mail: gexp@ffrc.cn



图版

零换水养殖团头鲂鱼种肠道纵切组织结构图,图1($\times 100$),图2($\times 200$);生物絮团的形态图,图3($\times 400$)和图4($\times 100$)。a:盘星藻; b:枝角类; c:丝状菌; GC:杯状细胞; GCG:带有颗粒物质的杯状细胞; SCE:单层柱状上皮; BIF:生物絮团

Plate

Structure of biofloc, figure 1 ($\times 400$) and figure 2 ($\times 100$); a sagittal section of intestine structure of juvenile *M. amblycephala* were cultured using biofloc technology, figure 3 ($\times 100$); a sagittal section of intestine structure of juvenile *M. amblycephala* obtained in Yixing Fish Farm; figure 4 ($\times 100$). a: bacterial colony; b: filamentous bacteria; c: algae; d: zooplanker; GC: goblet cell; GCG: goblet cell with visible granule; SCE: simple columnar epithelium; BIF: biofloc