

文章编号: 1000-0615(2019)04-0968-10

DOI: 10.11964/jfc.20180311201

利用生物絮团技术对克氏原螯虾的养殖效果初探

李京昊¹, 成永旭¹, 王海锋¹, 黄锦¹,
申浩然¹, 陈焕根², 李嘉尧^{1*}

(1. 上海海洋大学, 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室,
水产科学国家级实验教学示范中心, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;

2. 江苏省渔业技术推广中心, 江苏南京 210036)

摘要: 为探究将生物絮团技术应用到克氏原螯虾养殖的可能性, 本实验利用生物絮团技术和普通饲料投喂2种方式短期养殖体质量为(9.70±0.32) g的克氏原螯虾30 d。比较养殖期间2实验组的水化学指标以及实验结束时2实验组幼虾的生长情况, 肌肉及肝胰腺营养成分组成, 胃、肠和肝胰腺组织的消化酶活性, 肝胰腺和肌肉组织的抗氧化能力。结果显示, ①在养殖期间, 絮团组水体总氮(TN)、亚硝态氮(NO₂⁻-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)的质量浓度均维持在较低的水平。②本实验条件下2实验组虾的终末体质量、增重率(WG)、特定生长率(SGR)、存活率(SR)均无显著差异。③絮团的粗蛋白含量可以达到36.8%, 能够满足克氏原螯虾对于蛋白的需求。但絮团的粗脂肪含量较低, 这也影响了絮团组幼虾肌肉组织的粗脂肪沉积量。④絮团组幼虾肝胰腺中 α -淀粉酶(α -AL)、脂肪酶(LPS)、纤维素酶(CL)活性均显著高于饲料组幼虾, 而饲料组幼虾在胃、肠组织中的 α -AL活性较高, 2实验组幼虾的胃蛋白酶活性无明显差异。⑤絮团组幼虾的抗氧化能力与饲料组幼虾相比, 肝胰腺中超氧化物歧化酶(SOD)活性较高, 丙二醛(MDA)含量较低, 但总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)以及溶菌酶(LZM)无明显差异。研究表明, 生物絮团技术在克氏原螯虾的养殖中具有积极作用, 可以达到与饲料投喂相同甚至更好的养殖效果。

关键词: 克氏原螯虾; 生物絮团技术; 生化组成; 消化酶; 抗氧化性

中图分类号: S 966.12

文献标志码: A

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*), 俗称淡水小龙虾, 属于甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、螯虾亚目(Astacidea)、螯虾科(Cambaridae)、原螯虾属(*Procambarus*)^[1]。目前克氏原螯虾已成为一种在国内广泛养殖的重要淡水经济水生动物, 其养殖产量在2016年达到85.2万t, 首次超越中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 位居榜首^[2]。其养殖方式以稻虾综合种养和池塘养殖为主, 然而在实际养殖中, 鱼虾对于饲料营养物质的利用率很低^[3], 饲料不能得到充分的利用,

易造成水质恶化, 甚至发生疾病, 造成经济损失^[4]。

生物絮团技术是通过调节水体的C/N, 并在水体搅动、溶解氧充足的条件下, 刺激异养细菌生长, 利用水体中的氨氮等代谢废物, 产生生物蛋白形成生物絮团^[5]。这种先进水产养殖技术具有维持良好水质、降低饵料系数、增强养殖动物消化酶活性和抗氧化能力、提高产量及成活率等优点^[6]。目前国内外已将生物絮团技术应用到多种甲壳动物的养殖中, 包括凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、罗氏沼虾(*Macrobrachi-*

收稿日期: 2018-03-07 修回日期: 2018-04-25

资助项目: 上海市科委农业领域科技支撑项目(15391912100); 江苏省渔业科技类项目(D2017-1-1); 上海高校水产学高峰学科建设专项(2015-62-0908); 内江市科技孵化和成果转化专项(2018KJFH022)

通信作者: 李嘉尧, E-mail: jy-li@shou.edu.cn

um rosenbergii)、日本囊对虾(*Marsipenaeus japonicus*)、斑节对虾(*Penaeus monodon*)和中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)等^[7-10],但将生物絮团技术应用到克氏原螯虾的养殖中还未见报道。

本实验利用生物絮团技术和投喂商品饲料2种方式短期养殖克氏原螯虾幼虾,对2种养殖方式下幼虾的生长性能、营养成分、消化酶活性以及抗氧化能力等方面进行比较,探究将生物絮团技术应用于克氏原螯虾养殖的可能性,并为优化养殖水质、提高饲料利用率以及提升克氏原螯虾的养殖技术提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验对象

实验用虾均取自上海海洋大学崇明养殖基地,捕获之后放入循环水养殖桶(直径×高=1 080 mm×1 200 mm)中暂养备用。暂养期间,每天傍晚投喂颗粒饲料,投喂量为虾总重的3%~5%,次日上午及时清理残饵和粪便以保证水质的清洁。暂养1周后,选取健康、活力较好的幼虾(9.70±0.32) g/只用于正式实验,共计200只。

1.2 实验设计

实验分为生物絮团养殖组(絮团组)和饲料投喂组(饲料组),每组各5个重复,共用10个循环水养殖桶(直径×高=1 080 mm×1 200 mm),每桶随机放入20只附肢健全、活力较好的幼虾,雌雄比例1:1。絮团组每日按照葡萄糖(国药集团化学试剂有限公司)、磨碎的颗粒饲料(浙江欣欣饲料有限公司)、麸皮(崇明天成饲料有限公司)质量比5:4:6添加营养源(C/N>15),饲料组每天投喂颗粒饲料,投喂量为虾总重的3%~5%,2实验组日投喂总能相同。养殖共计30 d,期间絮团组不换水,每天补充因蒸发而损失掉的水分,饲料组每周换水1次,换水量为水体积的五分之一。

1.3 测量的指标及方法

水质指标的测定 养殖期间,每隔2天于中午在各重复中取水样500 mL进行水体总氮(TN)和总磷(TP)浓度的测定,水样经0.45 μm的微孔滤膜过滤之后用于测定氨氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、亚硝态氮(NO₂⁻-N)。其中TN采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法测定,TP采用钼

酸铵分光光度法测定,NH₄⁺-N采用纳氏试剂比色法测定,NO₃⁻-N采用酚二磺酸分光光度法测定,NO₂⁻-N采用分子吸收分光光度法测定。除此之外,pH、溶解氧和水温*T*直接使用哈希多参数水质测量仪测定。每3天用英霍夫管测量2实验组15 min的生物沉降体积(BFV)1次,每5天测量2实验组水体总悬浮颗粒物浓度(TSS)1次。实验中所用到的化学试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

生长性能的测定 在实验开始和结束时,幼虾停止投喂饥饿48 h,滤纸擦干幼虾体表水分后称量体质量,游标卡尺测量体长和头胸甲宽,并计算如下指标:

$$\text{成活率(survival rate, SR)} = N_t / N_0 \times 100\%$$

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

$$\text{特定生长率(special weight gain rate, SGR)} = (\ln W_t - \ln W_0) / D$$

式中,*N*₀和*N*_{*t*}分别为实验开始和实验结束时的克氏原螯虾存活数量(只);*W*₀和*W*_{*t*}分别代表实验开始和实验结束时的克氏原螯虾平均体质量(g),*D*表示养殖天数(d)。

在每个重复中随机取3只雄虾和3只雌虾的肝胰腺和性腺,吸取表面的水分,准确称其质量,计算肝胰腺指数。计算方法:

$$\text{肝胰腺指数(hepatopancreas index, HSI)} = W_h / W_t \times 100\%$$

式中,*W*_{*h*}代表虾体内肝胰腺质量(g)。

食物及动物组织常规营养测定 实验期间,用200目尼龙网收集生物絮团体,并将其与饲料105 °C烘干至恒重后,-20 °C保存待测。实验结束后,在每个重复中随机取4只幼虾,解剖取出肌肉和肝胰腺,经冷冻干燥测量其水分含量后,-20 °C保存待进行常规生化分析,其中粗蛋白用凯氏定氮仪测定^[11],参照Folch等^[12]的方法测定总脂含量,灰分含量为在550 °C马弗炉内灼烧至恒重测得。

消化酶活性的测定 实验结束后,在各重复中随机抽取3只虾,取出肝胰腺、胃、肠道样品,放入离心管中,-40 °C保存待测。各组织胃蛋白酶(pepsin)、脂肪酶(lipase, LPS)、α-淀粉酶(α-amylase, α-AL)和纤维素酶(cellulase, CL)均采用苏州科铭生物工程有限公司试剂盒测定。

非特异性免疫酶活性及抗氧化能力的测定 实验结束后,在各重复中随机取3只虾,解剖取出肝胰腺和腹部肌肉,放入离心管,−40℃保存待测。各组织的谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)均采用苏州科铭生物工程有限公司试剂盒测定,溶菌酶(lysozyme, LZM)采用南京建成生物工程有限公司试剂盒测定。

1.4 数据分析

实验数据用平均值±标准误(mean±SE)表示。利用SPSS 19.0软件和Excel软件进行数据分析和统计,采用独立样本*t*检验的方法进行比较分析,显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 絮团组和饲料组水质指标及絮团相关指标

对2实验组的水体理化指标进行测定,饲料组水体的TN、TP、 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N质量浓度均高于絮团组,其中2组的TN、 NO_2^- -N、 NH_4^+ -N质量浓度差异显著($P>0.05$),但2组的TP和 NH_4^+ -N质量浓度无明显差异($P>0.05$)(表1)。2组水体的 NH_4^+ -N质量浓度最大分别达到1.15 mg/L和2.69 mg/L, NO_2^- -N质量浓度最大分别达到0.69 mg/L和0.72 mg/L。2实验组的DO和*T*测定结果差异不

表1 在30 d养殖过程中絮团组和饲料组水体指标

Tab. 1 The water quality parameters of the biofloc group and diet group for 30 days breeding

项目 items	絮团组 biofloc group	饲料组 diet group
总氮/(mg/L) TN	5.42±0.63 ^a	12.80±0.73 ^b
总磷/(g/mL) TP	0.17±0.03	0.34±0.05
氨氮/(mg/L) NH_4^+ -N	0.75±0.08	1.22±0.26
亚硝态氮/(mg/L) NO_2^- -N	0.29±0.07 ^a	0.53±0.06 ^b
硝态氮/(mg/L) NO_3^- -N	2.31±0.43 ^a	8.43±0.52 ^b
温度/°C <i>T</i>	27.54±0.27	27.77±0.39
溶解氧/(mg/L) DO	7.74±1.02	8.36±1.51
pH	7.17±0.27 ^a	7.79±0.11 ^b

注:同组数据不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同
Notes: data in the same column with different letters indicate significantly different($P<0.05$), the same below

显著($P>0.05$)。但测定2组的pH发现,饲料组的pH明显高于絮团组($P<0.05$),在实验后期絮团组的pH有下降的趋势,通过向水体中加入碳酸氢钠溶液,保持pH在7.0以上。

实验过程中对水体生物沉降体积(BFV)和总悬浮颗粒物浓度(TSS)进行定期测定,并根据这2个指标判定生物絮团的生成情况。絮团组水体BFV呈现先上升后稳定的趋势,在13 d后维持在30~35 mL/L,而饲料组水体的BFV含量始终较低,未超过0.5 mL/L,没有形成稳定的生物絮团(图1)。2实验组TSS指标变化趋势差异显著($P<0.05$),其中絮团组随时间变化TSS逐渐增加,并在25 d时达到200 mg/L左右,随后上升的速率减慢,最终达到213 mg/L;而饲料组在养殖期间TSS质量浓度较低,最大时只达到22.6 mg/L。

2.2 絮团组和饲料组克氏原螯虾的生长性能

克氏原螯虾养殖的生长性能是通过终末体质量、WG、SGR、HSI以及存活率来进行评定的。絮团组和饲料组中的雌虾和雄虾在WG和SGR以及存活率上均无明显差异($P>0.05$),而2组雌虾的HSI指数均显著高于雄虾($P<0.05$),2组组间差异不显著($P>0.05$)(表2)。在实验结束后对存活率进行统计发现,絮团组和饲料组的存活率都在70%左右,且差异不显著($P>0.05$)。

2.3 絮团组和饲料组絮团、饲料及幼虾组织营养成分

实验首先对收集的絮团和投喂饲料(干重)的营养成分进行分析,发现絮团的粗蛋白含量为33%~38%,显著高于投喂的颗粒饲料($P<0.05$)(表3)。除此之外,饲料的水分和粗灰分低于絮团,差异较为明显($P<0.05$),而饲料中粗脂肪的含量优于产生的生物絮团($P<0.05$)。通过比较养殖30 d之后絮团组和饲料组幼虾的体组织(湿重)营养成分发现,幼虾的肝胰腺营养成分组成差异不显著($P>0.05$),2实验组幼虾的肌肉营养成分组成略有差异,絮团组仅肌肉粗脂肪的含量低于饲料组肌肉($P<0.05$),粗蛋白、水分和粗灰分含量差异不显著($P>0.05$)(表4)。

2.4 絮团组幼虾和饲料组幼虾的胃、肠及肝胰腺的消化酶活性

综合比较不同组织中各消化酶的活性,发

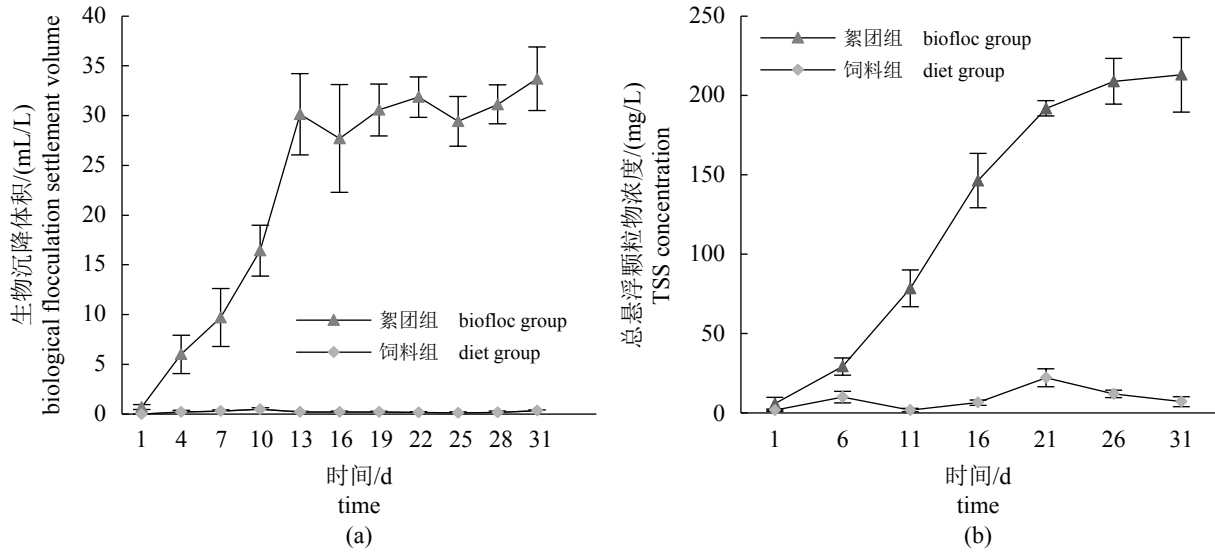


图 1 在养殖30 d的过程中絮团组和饲料组水体BFV(a)和TSS浓度(b)

Fig. 1 BFV (a) and TSS (b) concentration of biofloc group and diet group for 30 days breeding

表 2 絮团组和饲料组克氏原螯虾幼虾的生长性能

Tab. 2 The growth performance of *P. clarkii* juveniles from the biofloc group and the diet group

项目 items	絮团组 biofloc group		饲料组 diet group	
	雌 female	雄 male	雌 female	雄 male
初始体质量/g initial weight	9.71±0.34	9.66±0.35	9.71±0.29	9.73±0.31
初始体长/cm initial length	68.98±0.77	68.33±0.75	69.38±0.65	68.81±0.67
终末体质量/g final weight	14.32±0.48	14.46±0.39	14.44±0.50	14.45±0.58
终末体长/cm final length	75.09±0.75	73.54±0.70	76.11±0.96	74.67±1.11
肝胰腺指数/% HSI	7.55±1.00 ^a	6.04±0.41 ^b	7.72±1.14 ^a	6.41±0.84 ^b
增重率/% WG	44.94±2.57	52.39±9.37	45.77±8.21	49.35±5.54
特定生长率/(%/d) SGR	1.12±0.14	1.47±0.51	1.24±0.41	1.33±0.27
成活率/% SR	68.00±5.70		70.00±5.00	

现不同组织的消化酶活性存在差异, 肝胰腺中的胃蛋白酶和LPS活性大于肠道和胃; 肠道中 α -AL和CL活性最高, 其次是肝胰腺, 最后是胃(图2)。絮团组幼虾肝胰腺的LPS和CL含量均显著高于饲料组($P<0.05$)。饲料组幼虾胃和肠道的 α -AL显著

表 3 絮团和饲料营养成分组成(干重)

Tab. 3 The proximate composition of

biofloc and diet(dry weight) %				
项目 items	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude fat	粗灰分 crude ash	水分 moisture
絮团 biofloc	36.84±0.69 ^b	1.78±0.10 ^a	15.27±0.78 ^b	37.76±3.52 ^b
饲料 diet	34.43±0.22 ^a	7.24±0.16 ^b	9.89±0.02 ^a	14.68±0.34 ^a

表 4 絮团组和饲料组幼虾肌肉、肝胰腺营养成分组成(湿重)

Tab. 4 The proximate composition of muscle and hepatopancreas of *P. clarkii* juveniles from the biofloc group and the diet group (wet weight) %

项目 items	肌肉 muscle		肝胰腺 hepatopancreas	
	絮团组 biofloc group	饲料组 diet group	絮团组 biofloc group	饲料组 diet group
粗蛋白 crude protein	17.49±0.15	17.86±0.13	7.39±0.35	7.79±0.38
粗脂肪 crude fat	0.84±0.02 ^a	0.89±0.04 ^b	41.53±2.92	41.23±2.48
粗灰分 crude ash	1.17±0.02	1.23±0.01	0.93±0.12	0.98±0.16
水分 moisture	77.21±0.18	76.09±0.22	49.08±1.81	46.22±1.44

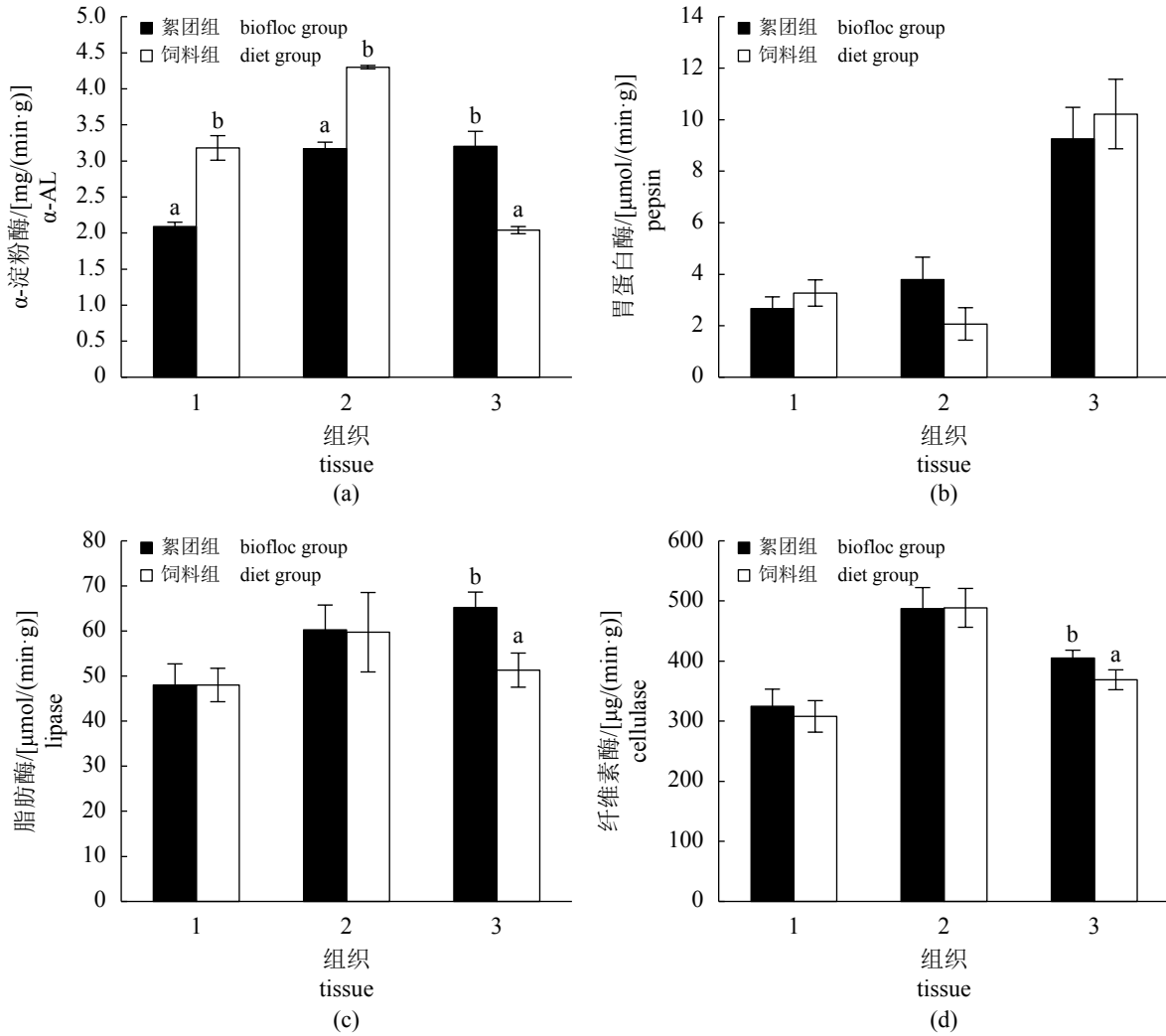


图 2 絮团组和饲料组克氏原螯虾幼虾胃、肠、肝胰腺消化酶活性

1.胃, 2.肠, 3.肝胰腺。图中所用字母不同者表示存在显著性差异, $P<0.05$

Fig. 2 Specific activities of stomachs, intestine, hepatopancreas of *P. clarkii* juveniles from the biofloc group and the diet group

1. stomach, 2. intestine, 3. hepatopancreas. Values with different small letters are significantly different, $P<0.05$

高于絮团组($P<0.05$),但在肝胰腺中,饲料组显著低于絮团组($P<0.05$)。其他消化酶含量在2实验组幼虾不同组织中无明显差异($P>0.05$)。

2.5 絮团组和饲料组幼虾免疫及抗氧化能力

将2种养殖方式下幼虾肝胰腺和肌肉的非特异性免疫酶活性以及抗氧化能力进行对比,肝胰腺中的非特异性免疫酶含量均高于肌肉组织。絮团组和饲料组肌肉中CAT、SOD、GR、LZM含量无明显差异($P>0.05$),2实验组肌肉的T-AOC和MDA含量差异也并不显著($P>0.05$)。除絮团组幼虾肝胰腺中SOD显著高于饲料组($P<0.05$),MDA含量显著低于饲料组($P<0.05$)外,其余指标的差

异均不显著($P>0.05$)(表5)。

3 讨论

3.1 生物絮团技术对于养殖水体的影响

有研究表明,向水体中加入额外碳源,调节好水体的碳氮比,可促使养殖水体中的异养细菌大量生长,形成稳定的生物絮团^[6],在此过程中,水体中的代谢废物氨和有机氮等物质质量浓度降低,消耗大量碱度的同时逐渐转化为细菌有机体^[5, 13-14]。在整个养殖期间,2实验组的pH变化趋势差异明显,饲料组的pH始终呈现弱碱性(pH 7.5~8.1),而絮团组在养殖后期pH

表 5 絮团组和饲料组幼虾肝胰腺和肌肉组织的抗氧化指标

Tab. 5 Antioxidant indices in hepatopancreas and muscle of *P. clarkii* juveniles from the biofloc group and the diet group

项目 items	肝胰腺 hepatopancreas		肌肉 muscle	
	絮团组 biofloc group	饲料组 diet group	絮团组 biofloc group	饲料组 diet group
	过氧化氢酶/[$\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{mg})$] CAT	0.18 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02
超氧化物歧化酶/(U/g) SOD	46.67 \pm 3.25 ^b	24.18 \pm 2.55 ^a	19.81 \pm 2.79	17.13 \pm 2.61
谷胱甘肽还原酶/[$\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{mL})$] GR	0.18 \pm 0.03	0.23 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01
溶菌酶/($\mu\text{g}/\text{mL}$) LZM	2.11 \pm 0.50	1.44 \pm 0.43	4.06 \pm 0.97	2.53 \pm 0.70
丙二醛/(nmol/g) MDA	11.01 \pm 1.69 ^a	16.05 \pm 0.95 ^b	4.07 \pm 0.87	5.92 \pm 1.19
总抗氧化能力/(U/g) T-AOC	68.37 \pm 4.72	76.28 \pm 5.07	29.23 \pm 1.93	30.36 \pm 1.53

有所下降, 需向水体中添加 HCO_3^- 才能使pH稳定在7.0以上。此外, 絮团组水体中的TN和 NO_2^- -N的质量浓度均显著低于饲料组, 并在实验后期浓度处于较低的水平, 与Wang等^[15]的实验结果相似。综合比较2实验组的水质指标, 认为将生物絮团技术应用到克氏原螯虾的养殖中, 可以发挥其改善并维持良好水质的作用。

3.2 絮团的营养成分以及对克氏原螯虾生化组成和生长性能的影响

目前关于克氏原螯虾对于饲料蛋白的需求量有很多研究, 其研究结果也具有较大的差异(24%~40%)^[16]。本实验对收集的絮团粗蛋白、粗脂肪、灰分以及水分含量进行了测定, 结果显示絮团的粗蛋白含量为33%~38%, 可以满足克氏原螯虾对于蛋白质的需求。然而絮团的粗脂肪含量偏低, 仅1.78%左右, 与Emerenciano等^[17]和Yao等^[18]发现絮团的粗脂肪含量较低的结果相似。对于克氏原螯虾来说, 最适宜的脂肪水平为4%~7%^[19]。本实验絮团组幼虾虽然在生长性能上与饲料组幼虾差别不大, 但其肌肉组织的粗脂肪沉积量却相对降低, 这也暗示了絮团可能无法满足克氏原螯虾对于脂肪的需求。但长期摄食这种脂肪含量较低的絮团是否会影响克氏原螯虾的生长还有待进一步研究。

在本实验中, 为保证每天2实验组的投喂总能量相同且絮团组水体C/N>15, 絮团组磨碎饲料的日投喂量较饲料组减少了约30%, 但这并没有对絮团组幼虾的生长造成影响, 这也体现了生物絮团技术能够节约养殖成本的一大特点。产生这种现象的原因可能有以下三种, 一是存

在于絮团中的某些具有生物活性的物质发挥了促进生长的积极作用^[20-22]; 二是在形成絮团的过程中, 异养细菌生长产生了额外的生物蛋白^[15], 可被幼虾摄食的同时, 实现了蛋白的多级利用, 在整个养殖过程中, 可以观察到幼虾刮食附着在假水草上面生物絮团的现象; 三是生物絮团在刺激消化酶活性方面发挥作用, 加快了幼虾对于营养物质的消化吸收^[23], 比较2实验组的消化酶活性的结果也可以证实这一点。

3.3 生物絮团对克氏原螯虾消化酶活性的影响

消化酶活性是评价甲壳动物饲料的营养价值与可利用性的重要指标之一, 它反映了动物机体的消化和代谢能力^[24]。有研究发现生物絮团对甲壳动物消化酶活性有一定的促进作用^[25-27], 这可能与生物絮团中营养物质组成以及自身产生的胞外酶活性有关。已有研究证明, 絮团中也含有胃蛋白酶、淀粉酶、LPS和CL, 可有助于蛋白、碳水化合物以及其他营养物质的分解, 并促进养殖动物对于营养的吸收和利用^[28-29], 也有研究认为生物絮团的存在会以某种方式刺激动物分泌更多的内源性消化酶^[23]。对于克氏原螯虾来说, 肝胰腺是内源性消化酶主要的分泌器官^[24], 通过比较2实验组肝胰腺的消化酶活性, 发现絮团组幼虾 α -AL和CL活性显著高于饲料组, 与Wang等^[7]的实验结果相似。比较胃、肠组织中的消化酶活性, 发现饲料组幼虾的 α -AL活性显著高于絮团组, 这可能与饲料和絮团的营养组成有关。有研究认为饲料的营养组成可以影响甲壳动物的消化酶活性, 并且AL的活性与饲料中的淀粉等碳水化合物的含量呈正相关^[30], 饲料

进入胃肠组织刺激了 α -AL的分泌,并将淀粉等多糖水解成低聚糖、麦芽糖、葡萄糖等产物^[31]。实验除此之外还发现,虽然絮团中的粗脂肪含量仅有1.63%~2.16%,但在絮团组幼虾肝胰腺中的LPS活性反而显著高于饲料组。推测原因可能是絮团组幼虾会以大量分泌LPS的方式,来对获取的食物中的脂肪进行充分的分解,并为机体更加高效的吸收利用,但具体的原因还有待进一步研究。

3.4 生物絮团对克氏原螯虾免疫及抗氧化能力的影响

将生物絮团技术应用到甲壳动物的养殖中,不但可以维持良好的水质,促进养殖动物的生长,提高养殖动物的消化酶活性,还对养殖动物的免疫反应和抗氧化能力有积极作用^[32-33]。本研究发现,2实验组幼虾仅在肝胰腺中的SOD活性和MDA含量上有所差异,具体表现为絮团组幼虾肝胰腺的SOD活性相对更高,MDA含量更低,Zhao等^[34]也得到了相似的实验结果。已有研究表明SOD是反映甲壳动物机体免疫能力的重要抗氧化酶之一,其在清除超氧自由基、氧自由基,防止生物分子损伤方面发挥重要的生理作用^[35-36],而MDA是动物机体抗氧化系统失衡,即脂质过氧化的最终产物,对细胞具有毒性作用,对机体会造成损伤^[37]。在本研究中,絮团组幼虾肝胰腺的SOD活性相对更高,MDA含量更低,这就意味着利用生物絮团技术养殖克氏原螯虾,相对降低了幼虾脂质过氧化水平并促使幼虾拥有更强的对抗氧自由基的能力,进而对养殖动物的健康,抵抗环境压力的能力以及保证成活率有着积极的影响^[38]。这可能是由于,存在于生物絮团中的大量天然微生物以及具有生物活性的“促生长因子”发挥作用,包括胡萝卜素、叶绿素、植物甾醇、多酚、多糖、牛磺酸和维生素等,其中类胡萝卜素就具有提高养殖动物免疫力的能力,增加动物承受应激反应并具有抗氧化的功能^[21, 36, 38],因而对养殖动物的健康产生积极作用;也有观点认为生物絮团中含有丰富的有益细菌,如芽孢杆菌属(*Bacillus*)、拟杆菌属(*Bacteroidetes*),这些微生物及其细胞壁成分和代谢产物可作为一种潜在的免疫刺激源而发挥提高疾病抵抗力的作用^[35, 39-40];此外,通过向水体中添加了额外碳源的生物絮团养殖系统,水体

微生物会逐渐达到微生态平衡的状态并能有效保持水质环境的良好,在控制 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N在较低水平的同时,降低了条件致病微生物引发疾病的可能性,为养殖动物的健康提供保障^[41]。

4 结论

本实验发现生物絮团技术对于养殖水体水质有很好的改善作用,对于养殖动物的消化酶活性以及抗氧化能力也有较为积极的作用。除此之外,絮团形成的过程中产生的生物蛋白也可以满足克氏原螯虾的需求,并能够实现蛋白的多级高效利用。研究表明,生物絮团技术在短期养殖克氏原螯虾中相比于饲料投喂具有更好的养殖效果。同时实验还发现絮团的粗脂肪含量较低,这对于克氏原螯虾的长期养殖效果是否会造成影响还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 田娟,许巧情,田罗,等.洞庭湖克氏原螯虾肌肉成分分析及品质特性分析[J].水生生物学报,2017,41(4): 870-877.
Tian J, Xu X Q, Tian L, et al. The muscle composition analysis and flesh quality of *Procambarus clarkia* in the Dongting lake[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(4): 870-877(in Chinese).
- [2] 农业部渔业渔政管理局.中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2017: 24-25.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 24-25 (in Chinese).
- [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] 刘文斌.克氏螯虾的营养需求研究及饲料应用展望[J].经济动物学报,2013,17(1): 1-4, 11.
Liu W B. Nutritional requirement and compound feed application for red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)[J]. Journal of Economic Animal, 2013, 17(1): 1-4, 11(in Chinese).
- [5] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 1999, 176(3-4): 227-235.
- [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] Wang C, Pan L Q, Zhang K Q, *et al.* Effects of different carbon sources addition on nutrition composition and extracellular enzymes activity of bioflocs, and digestive enzymes activity and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-exchange culture tanks[J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(10): 3307-3318.
- [8] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, *et al.* C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds[J]. *Aquaculture*, 2008, 280(1-4): 117-123.
- [9] Hari B, Kurup B M, Varghese J T, *et al.* Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems[J]. *Aquaculture*, 2004, 241(1-4): 179-194.
- [10] 邓应能. 不同养殖系统生物絮团调控模式研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
Deng Y N. Study on the controlling model of bio-floc in different culture systems[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011 (in Chinese).
- [11] AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists[M]. 16th ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- [12] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [13] Schneider O, Sereti V, Eding E H, *et al.* Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems[J]. *Aquacultural Engineering*, 2005, 32(3-4): 379-401.
- [14] Browdy C L, Ray A J, Leffler J W, *et al.* Biofloc-based Aquaculture Systems[M]//Tidwell J H. *Aquaculture Production Systems*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012: 278-307.
- [15] Wang G J, Yu E M, Xie J, *et al.* Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*[J]. *Aquaculture*, 2015, 443: 98-104.
- [16] 于宁, 朱站英, 冯文和, 等. 克氏原螯虾饲料最适能量蛋白质比[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(4): 1111-1119.
Yu N, Zhu Z Y, Feng H W, *et al.* Optimum energy-protein ratios in diets of *Procambrus clarkii*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(4): 1111-1119(in Chinese).
- [17] Emerenciano M, Ballester E L C, Cavalli R O, *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.
- [18] Yao C, Tan H X, Luo G Z, *et al.* Effects of temperature on inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2013, 75(4): 463-467.
- [19] 徐维娜, 刘文斌, 沈美芳, 等. 饲料中不同蛋白质和脂肪水平对克氏螯虾(*Procambarus clarkii*)生长性能、体组成和消化酶活性的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(4): 521-529.
Xu W N, Liu W B, Shen M F, *et al.* Effect of different dietary protein and lipid level on growth performance, body composition and digestive enzymes activities of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(4): 521-529(in Chinese).
- [20] 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.
- [21] De Souza D M, Borges V D, Furtado P, *et al.* Antioxidant enzyme activities and immunological system analysis of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology (BFT) at different water temperatures[J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 436-443.
- [22] Crab R, Defoirdt T, Bossier P, *et al.* Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges[J]. *Aquaculture*, 2012, 356: 351-356.
- [23] Moss S M, Divakaran S, Kim B G. Stimulating effects of pond water on digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone)[J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32(2): 125-131.
- [24] 李强. 克氏原螯虾对饲料中蛋白质与磷适宜需求量的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
Li Q. Dietary protein and phosphorus requirement of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [25] Zhang N, Luo G Z, Tan H X, *et al.* Growth, digestive enzyme activity and welfare of tilapia (*Oreochromis*

- niloticus*) reared in a biofloc-based system with poly- β -hydroxybutyric as a carbon source[J]. *Aquaculture*, 2016, 464: 710-717.
- [26] Shao J C, Liu M, Wang B J, *et al.* Evaluation of biofloc meal as an ingredient in diets for white shrimp *Litopenaeus vannamei* under practical conditions: Effect on growth performance, digestive enzymes and TOR signaling pathway[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 516-521.
- [27] Cardona E, Lorgeoux B, Geffroy C, *et al.* Relative contribution of natural productivity and compound feed to tissue growth in blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) reared in biofloc: assessment by C and N stable isotope ratios and effect on key digestive enzymes[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 288-297.
- [28] Wasielesky W J, Atwood H, Stokes A, *et al.* Effect of natural production in a zero exchange suspended microbial floc based super-intensive culture system for white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1-4): 396-403.
- [29] 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: 147-152.
- [30] Jones D A, Kumlu M, Vay L L, *et al.* The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review[J]. *Aquaculture*, 1997, 155 (1-4): 285-295.
- [31] 杨其彬, 李运东, 江世贵, 等. 斑节对虾 α -淀粉酶基因的克隆及其表达分析[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(6): 1186-1192.
- Yang Q B, Li Y D, Jiang S G, *et al.* Cloning and expression analysis of alpha amylase cDNA of *Penaeus monodon*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(6): 1186-1192(in Chinese).
- [32] Krummenauer D, Poersch L, Romano L A, *et al.* The effect of probiotics in a *Litopenaeus vannamei* biofloc culture system infected with *Vibrio parahaemolyticus*[J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2014, 26(4): 370-379.
- [33] Ekasari J, Suprayudi M A, Wiyoto W, *et al.* Biofloc technology application in African catfish fingerling production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae[J]. *Aquaculture*, 2016, 464: 349-356.
- [34] Zhao D H, Pan L Q, Huang F, *et al.* Effects of different carbon sources on bioactive compound production of biofloc, immune response, antioxidant level, and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange culture tanks[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2016, 47(4): 566-576.
- [35] Anand P S S, Kumar S, Kohli M P S, *et al.* Dietary biofloc supplementation in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*: effects on immunity, antioxidant and metabolic enzyme activities[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(8): 4512-4523.
- [36] Liu G, Zhu S M, Liu D Z, *et al.* Effects of stocking density of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against *Vibrio harveyi* in a biofloc system[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 19-26.
- [37] 孔纯, 华雪铭, 杨璐, 等. 暗纹东方鲀饲料中豆粕替代鱼粉的营养生理效应及其与大豆抗原蛋白的相关性[J]. *水产学报*, 2017, 41(5): 734-745.
- Kong C, Hua X M, Yang L, *et al.* Nutritional physiological effects of soybean meal substituting for fish meal in the feed of obscure puffer (*Takifugu fasciatus*) and its relationship with soybean antigenic proteins[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(5): 734-745(in Chinese).
- [38] Xu W J, Pan L Q. Evaluation of dietary protein level on selected parameters of immune and antioxidant systems, and growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* reared in zero-water exchange biofloc-based culture tanks[J]. *Aquaculture*, 2014, 426: 181-188.
- [39] Ninawe A S, Selvin J. Probiotics in shrimp aquaculture: avenues and challenges[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2009, 35(1): 43-66.
- [40] Cardona E, Gueguen Y, Magré K, *et al.* Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system[J]. *BMC Microbiology*, 2016, 16: 157.
- [41] Hu X J, Cao Y C, Wen G L, *et al.* Effect of combined use of *Bacillus* and molasses on microbial communities in shrimp cultural enclosure systems[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(6): 2691-2705.

A preliminary study on the feeding effect of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) using biofloc technology

LI Jinghao¹, CHENG Yongxu¹, WANG Haifeng¹, HUANG Jin¹,
SHEN Haoran¹, CHEN Huangen², LI Jiayao^{1*}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs,

National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,

Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Fisheries Technology Extension Center of Jiangsu Province, Nanjing 210036, China)

Abstract: To investigate the possibility of feeding the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) with biofloc technology, a 30-day short-term experiment was conducted to farm juveniles (9.70±0.32) g using biofloc technology and feeding normal diet. This experiment compared the hydrochemical indexes of two experimental groups during experimental period and compared the growth performance, muscle and hepatopancreas nutrient composition, the digestive enzyme activities in stomach, intestine, hepatopancreas tissues, the antioxidant capacity in hepatopancreas and muscle tissues of two groups' juveniles at the end of the experiment. The results showed that the concentration of total nitrogen (TN), nitrite nitrogen (NO₂⁻-N), nitrate nitrogen (NO₃⁻-N) of the biofloc group were all kept at a low level during experimental period. The final weight of the juvenile shrimps, the weight gain rate (WG), the specific growth rate (SGR) and survive rate (SR) showed no significant difference in the two experimental groups under this experiment condition. The content of crude protein of the biofloc was 36.8% which could meet the protein requirement of *P. clarkii*. However, the crude lipid content of biofloc was significantly lower and affected the crude lipid content of muscle from biofloc group juveniles. The α -amylase (α -AL), lipase (LPS) and cellulase (CL) activities in hepatopancreas of the biofloc group juveniles were significantly higher than that of the diet group juveniles, respectively, while α -AL activity in stomach and intestine was higher in the diet group. No significant difference was found in the pepsin activity between the two experimental groups. Comparing the antioxidant capacity of crayfish juveniles from the two experimental groups, the activity of superoxide dismutase (SOD) in hepatopancreas of juveniles from the biofloc group was significantly higher, and the content of malondialdehyde (MDA) was much lower than that from the diet group. No differences were found in the activities of total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and lysozyme (LZM) in hepatopancreas of juveniles from two experimental groups. In conclusion, the biofloc technology had a positive effect on farming of the red swamp crayfish. And this technology could achieve the same or even better affect than the normal diet feeding.

Key words: *Procambarus clarkia*; biofloc technology; biochemical composition; digestive enzyme; antioxidative ability

Corresponding author: LI Jiayao. E-mail: jy-li@shou.edu.cn

Funding projects: Science and Technology Support Projects of Agriculture from Shanghai Municipal Science and Technology Commission (15391912100); Fishery Science and Technology Project of Jiangsu Province (D2017-1-1); Shanghai Universities Top Disciplines Project of Fisheries from Shanghai Municipal Education Committee and the Technology Commission (2015-62-0908); Neijiang City S & T Incubation and Achievements Transformation Special Fund (2018KJFH022)