

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2015.140354

生物絮凝系统构建过程对吉富罗非鱼免疫酶和生长的影响

王潮辉¹, 高启¹, 谭洪新^{1, 2, 3}, 刘刘畅^{1, 2}, 罗国芝^{1, 2, 3}

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;
2. 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;
3. 上海市协同创新中心, 水产动物遗传育种中心, 上海 201306

摘要: 以循环水养殖为对照组, 研究了生物絮凝系统构建过程对初始体质量为(24.17±2.49) g 吉富罗非鱼(*GIFT, Oreochromis niloticus*)免疫酶活性和生长的影响。试验时间 30 d。结果表明, 生物絮凝构建过程中养殖水体中氨氮、亚硝氮呈现先上升后快速下降的趋势, 氨氮质量浓度最高(60.98±7.23) mg/L, 亚硝氮质量浓度最高(117.34±15.50) mg/L; 实验组罗非鱼的肝胰脏、头肾、血液中碱性磷酸酶、溶菌酶以及总超氧化物歧化酶的活性与对照组均无显著差异; 实验组罗非鱼特定生长率、肝体比、丰满度、蛋白质效率显著高于对照组($P<0.05$), 饲料系数显著低于对照组($P<0.05$), 增重率比对照组要高 27.88% ($P<0.05$), 表明生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼没有产生明显的应激反应, 且生物絮凝养殖系统中罗非鱼的生长要优于循环水养殖系统。

关键词: 生物絮凝系统构建; 吉富罗非鱼; 生长性能; 免疫酶活性

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2015)04-0707-09

罗非鱼具有食性杂、生长快、抗病力与抗逆性强等优点, 是联合国粮农组织推广养殖的鱼类品种之一^[1]。近年来罗非鱼养殖成本越来越高, 主要原因是饲料中鱼粉成本持续高涨^[2-3]。由于鱼类的代谢吸收特性, 饲料中只有其中 20%~30%的营养被鱼体所吸收^[4-6], 其余的主要以无机氮的形式积累在水体中。目前中国罗非鱼养殖模式主要是精养池塘, 其常见的控制养殖水体无机氮的方法是换水, 这势必会污染环境和增加养殖对象接触养殖系统外部病原生物的机会。基于生物絮凝技术(biofloc technology, BFT)的水产养殖模式通过控制碳氮比(C/N)来控制无机氮含量, 能够有效提高饲料蛋白的利用率^[7-8]和原位净化养殖水体^[9]。研究表明生物絮凝-水产养殖系统能有效地控制养殖水体中氨氮和亚硝酸盐含量, 提高饵料蛋白的利用率, 促进养殖

对象生长^[10-13]。生物絮凝技术也仅适合养殖虾、罗非鱼等滤食性养殖对象。应用生物絮凝技术能有效降低罗非鱼越冬期的日换水率, 体重约 100 g 的罗非鱼成活率为 97%, 体质量约 50 g 的罗非鱼成活率为 80%^[14]。

生物絮凝系统是复杂的微生物生态系统, 需要经过一段时间的培养, 才能具有稳定的无机氮同化和优质的生物絮团形成的能力。在生物絮凝系统启动过程中常会出现氨氮或亚硝酸盐的明显积累。研究表明, 生物絮团-对虾养殖系统的启动过程氨氮上升明显^[15-16]。因此, 在实际生产中常采取先培养系统再放养鱼(虾)的方式以避免对养殖对象的应激, 但这样势必会耽误一些时间, 影响养殖综合效益。本文中作者研究了新建的生物絮凝-吉富罗非鱼养殖系统中罗非鱼的生长和免疫酶的变化情况, 以确定生物絮凝养殖系统稳定

收稿日期: 2014-09-04; 修订日期: 2014-11-20。

基金项目: 上海工程技术中心能力提升课题 (13DZ2280500); 上海市虾类产业技术体系建设项目[沪农科产字(2014)第 5 号]。

作者简介: 王潮辉(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 循环水养殖系统与工程及水产养殖水处理研究。E-mail: 15201912352@163.com

通信作者: 罗国芝, 女, 副教授, 博士, 主要从事循环水养殖系统与水产养殖水环境调控技术研究。E-mail: gzhuo@shou.edu.cn

过程对罗非鱼的影响程度,为生物絮凝技术在实际养殖过程中的优化应用提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

吉富品系罗非鱼由上海海洋大学鱼类种质研究实验站购买。实验鱼运回后先在一套循环水养殖系统(Recirculating Aquaculture System, RAS)中消毒,暂养 3 周。整个暂养和实验期间投喂的饲料为上海依好特种饲料股份有限公司生产的颗粒饲料,其成分含量为:粗蛋白质 44.00%;粗灰分 16.00%;粗纤维 5.00%;钙 4.50%;总磷 1.20%;食盐 4.00%;赖氨酸 1.80%;水分 11.00% (数据由厂家提供)。实验用水为曝气 24 h 以上的自来水,pH 为 7.5 以上。

1.2 实验设施

实验共采用两套室内闭合循环水养殖系统(图 1),每套系统由 3 个玻璃纤维养殖缸(底部为锥形;运行体积为 0.3 m³)、1 个过滤缸、3 个生物过滤器和一台温控装置组成;其日循环次数为 9.6。

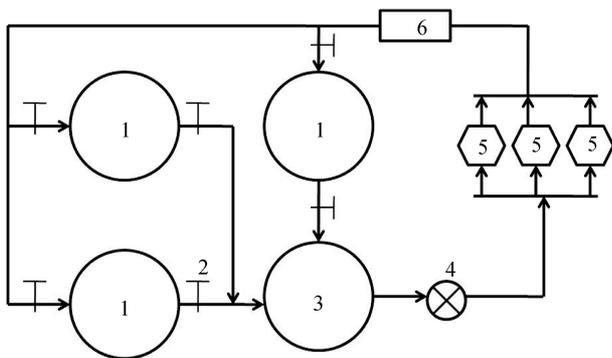


图 1 循环水养殖系统配置图

1: 养殖缸; 2: 阀门; 3: 砂滤缸; 4: 循环泵; 5: 生物过滤器;
6: 温控装置。

Fig. 1 Construction of recirculating aquaculture System
1: culture tanks; 2: valves; 3: sand filter; 4: pump; 5: biofilters;
6: temperature control device.

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。对照组在实验开始前系统生物膜已经成熟。实验组关闭循环水养殖系统及其养殖缸进出水阀。实验开始时,随机

挑选 600 尾健康、规格相近的吉富罗非鱼,每缸放养 100 尾,初始体重为(24.17±2.49) g,放养密度为 8.06 kg/m³。同时,实验组开始以饲料日投喂量的 75%添加醋酸钠^[17]。试验时间为 30 d。

1.4 饲养管理

在实验期间,日投饵率约为 2%,投喂时间为每天的 8:30、12:30 和 18:30。每天按饲料投喂量的 75%在 9:30、13:30、19:30 分 3 次添加醋酸钠,每 10 d 对鱼体进行称重,调整投喂量^[11]。实验过程中维持总悬浮固体颗粒物(total suspended solids, TSS)少于 500 mg/L。当实验组养殖水体中 TSS 超过 500 mg/L 时,排出一部分养殖水(含固体颗粒物),静置 1 h,上清液重新进入养殖缸中。

用电磁式空气泵(型号 ACO-008,浙江森森实业有限公司)维持对照组和实验组的溶解氧(DO)大于 6 mg/L。两组都用碳酸氢钠调节 pH 在 7.0~7.5。用水温控制装置使两组的水温维持在 24~26℃。每日补充由于蒸发损耗和生物絮体移出的水。实验期间控制光照(12L : 12D)。

1.5 实验指标测定

1.5.1 水质指标 每天 9:00 用 YSI-556 多参数水质测量仪(YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA)测定水温、DO、pH;取水样用标准法^[18]测定总氨氮(TAN)、亚硝酸氮(NO₂⁻-N)和硝酸盐氮(NO₃⁻-N)。纳氏试剂分光光度法测定 TAN(型号 752S06017,上海棱光技术有限公司生产,下同),盐酸萘乙二胺光度法测定 NO₂⁻-N,紫外分光光度法测定 NO₃⁻-N,称重法测定 TSS。

1.5.2 免疫酶活性的测定 养殖实验结束后,每个养殖缸取鱼 5 尾,用含有少量肝素钠的无菌注射器,鱼尾静脉抽血,4℃条件下,4 000 r/min 离心 10 min,取血清,-20℃保存待测;解剖取肝胰脏、头肾,用 0.86%的冷生理盐水制成组织匀浆,4℃条件下,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液去沉淀,-20℃保存待测。黄嘌呤氧化酶法测定总超氧化物歧化酶活力(T-SOD);自身比浊法测定溶菌酶(LZM);对硝基苯磷酸盐法测定碱性磷酸酶活力(AKP);相关试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.5.3 生长性能测定 实验结束,记录每个养殖缸罗非鱼剩余数,计算其存活率(survival rate, SR);每个养殖缸随机取10尾罗非鱼,测量其体长、体重及肝脏重量并根据公式计算增重率(weight gain rate, WGR)、特定生长率(specific growth rate, SGR)、肝体比(hepatosomatic somatic index, HSI)、摄食率(feeding rate, FR)、肥满度(condition factor, CF)。计算实验期间各缸投饵的总质量,然后根据鱼体重量计算饲料系数(feed coefficient rate, FCR)、蛋白质效率率(protein efficiency ratio, PER)。公式如下:

- 1) 增重率(WGR, %)= $100(W_2 - W_1)/W_1$
- 2) 特定生长率(SGR, %/d)= $[(\ln W_2 - \ln W_1)/(t_2 - t_1)] \times 100$
- 3) 饲料转化率(FCR)= $F/(W_2 - W_1) n$
- 4) 存活率(SR, %)= $100(N_f - N_i)/N_i$
- 5) 肥满度(CF, g/cm³)= $100(W/L^3)$
- 6) 摄食率(FR, %)= $100F/[(t_2 - t_1) \times (W_2 + W_1)/2]$
- 7) 肝体比(HSI, %)=(肝重/体重)×100
- 8) 蛋白质效率(PER, %)= $(W_2 - W_1)/(F \times 0.44) \times 100$

式中: W_1 和 W_2 为时间 t_1 和 t_2 时的平均体重(g), 而 t_1 和 t_2 分别为实验第1天和最后一天; n 为实验鱼数量; F 为 $t_2 \sim t_1$ 天食物总摄入量(g); N_f 为最初鱼数量, 而 N_i 为最终鱼数量; L 为鱼的体长(cm)。

1.6 统计分析

实验结果用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析和统计, 显著性水

平为 $P < 0.05$ 。用单因素方差分析法(One-Way ANOVA)进行实验数据的分析比较。

2 结果与分析

2.1 生物絮凝系统构建过程中氨氮、亚硝酸氮和硝酸氮浓度变化

生物絮凝系统构建过程中氨氮、亚硝酸氮和硝酸氮浓度变化见图2所示, 实验期间实验组氨氮与亚硝氮均呈现先上升后快速下降的趋势, 氨氮质量浓度最高升至(60.98±7.23) mg/L; 亚硝氮质量浓度最高升至(117.34±15.50) mg/L; 硝氮质量浓度从第25天开始达到平稳状态, 并保持在1~15 mg/L的较低水平。对照组硝氮浓度出现明显持续升高, 质量浓度从(73.03±3.29) mg/L 上升至(152.44±1.79) mg/L; 氨氮质量浓度相对比较平稳, 保持在5 mg/L浓度上下波动; 亚硝氮比较稳定, 保持在0~3 mg/L的较低水平。

2.2 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼的生长

试验期间, 实验组特定生长率显著高于对照组($P < 0.05$), 实验组的肝体比显著高于对照组($P < 0.05$), 实验组与对照组存活率相同, 均为100%, 实验组的摄食率与对照组则无差异显著($P > 0.05$), 实验组的蛋白质效率显著高于对照组($P < 0.05$), 实验组的饲料系数显著低于对照组($P < 0.05$), 实验组的增重率比对照组显著提高了27.88%($P < 0.05$)(表1)。

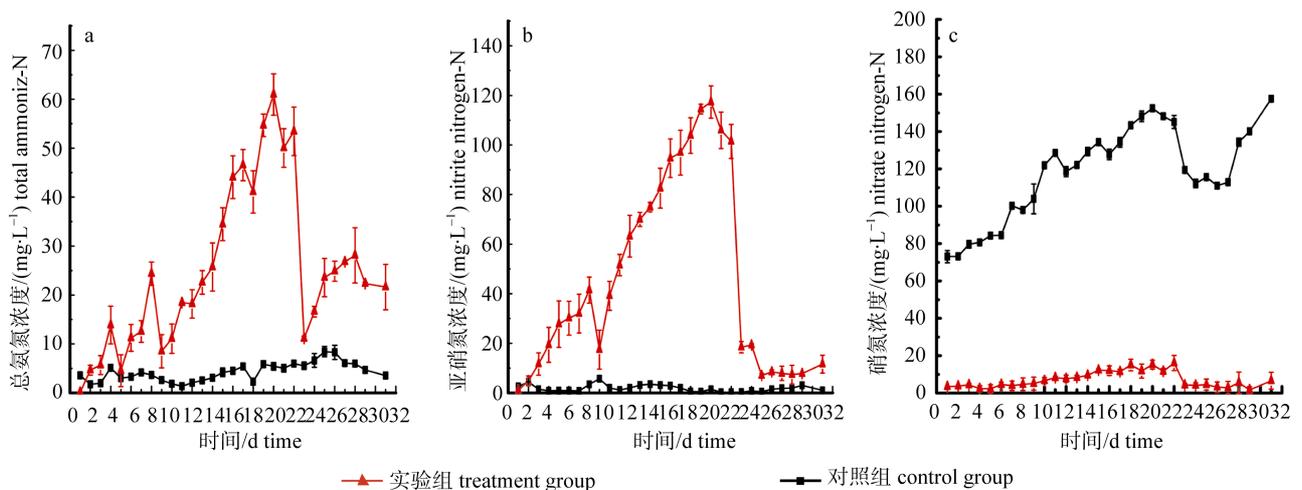


图2 生物絮凝系统构建过程中氨氮(a)、亚硝酸氮(b)和硝酸(c)浓度的变化

Fig. 2 Changes of ammonia (a), nitrite (b) and nitrate (c) at start-up of biofloc aquaculture system

表 1 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼生长的影响
Tab. 1 Growth performance of tilapia at start-up of biofloc aquaculture system

$n=100; \bar{x} \pm SD$

组别 trial	终末体重/g FW	特定增长率 /% SGR	增重率/% WGR	存活率/% SR	肝体比/% HSI	蛋白质效率/% PER	饵料系数/% FCR	摄食率/% FR
对照组 control group	55.98±3.65	2.74±0.64 ^b	131.60±43.5 ^b	100	1.17±0.27 ^b	3.51±1.15 ^b	0.74±0.32 ^a	1.74±0.23
实验组 treatment group	62.72±6.20	3.11±0.69 ^a	159.48±54.9 ^a	100	2.12±0.73 ^a	4.25±1.53 ^a	0.61±0.23 ^b	1.63±0.27

注: 各组实验鱼初始体重为(24.17±2.49) g, 同列数据上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Note: Original body weight of experimental fish is (24.17±2.49) g. Values in the same column with different letters mean significant differences ($P<0.05$).

2.3 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼免疫酶活性

2.3.1 碱性磷酸酶(ALP)活性 实验组鱼体肝胰脏、头肾、血清碱性磷酸酶(ALP)的活性均与对照组无显著性差异($P>0.05$)(表 2)。

2.3.2 溶菌酶(LSZ)活性 实验组鱼体肝胰脏溶菌酶(LSZ)活性显著低于对照组($P<0.05$), 而实验组鱼体头肾溶菌酶活性小于对照组, 实验组鱼体

血清溶菌酶活性大于对照组, 但均与对照组无显著性差异($P>0.05$)(表 3)。

2.3.3 超氧化物歧化酶(T-SOD)活性 实验组鱼体肝胰脏总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性显著低于对照组($P<0.05$); 而实验组鱼体头肾总超氧化物歧化酶活性小于对照组, 血清总超氧化物歧化酶活性大于对照组但均与对照组无显著性差异($P>0.05$)(表 4)。

表 2 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼碱性磷酸酶(ALP)活性
Tab. 2 ALP activity of tilapia at start-up of biofloc aquaculture system

$n=100; \bar{x} \pm SD; U \cdot g^{-1}$

组别 trial	组织 tissue		
	肝胰脏 hepatopancreas	头肾 head kidney	血清 blood
对照组 control group	12.16±3.67	29.68±8.15	24.96±5.19
实验组 treatment group	10.26±3.12	35.25±8.30	21.09±1.64

表 3 生物絮凝系统构建过程吉富罗非鱼溶菌酶(LSZ)活性
Tab. 3 LSZ activity of tilapia at start-up of biofloc aquaculture system

$n=100; \bar{x} \pm SD; U \cdot g^{-1}$

组别 trial	组织 tissue		
	肝胰脏 hepatopancreas	头肾 head kidney	血清 blood
对照组 control group	9.16±3.93 ^a	5.86±2.12	23.62±5.11
实验组 treatment group	4.84±0.70 ^b	4.62±1.41	27.02±6.59

注: 各组实验鱼初始体重为(24.17±2.49) g, 同列数据上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Note: Original body weight of experimental fish is (24.17±2.49) g. Values in the same row with different letters mean significant differences ($P<0.05$).

表 4 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼超氧化物歧化酶(T-SOD)活性
Tab. 4 T-SOD activity of tilapia at start-up of biofloc aquaculture system

$n=100; \bar{x} \pm SD; U \cdot g^{-1}$

组别 trial	组织 tissue		
	肝胰脏 hepatopancreas	头肾 head kidney	血清 blood
对照组 control group	88.36±31.32 ^a	5.51±2.21	20.88±17.87
实验组 treatment group	63.02±30.53 ^b	5.19±0.95	29.89±12.11

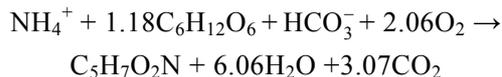
注: 各组实验鱼初始体重为(24.17±2.49) g, 同列数据上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Note: Original body weight of experimental fish is (24.17±2.49) g. Values in the same column with different letters mean significant differences ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 生物絮凝系统构建过程中氨氮、亚硝氮、硝氮浓度变化的影响

生物絮凝是通过添加有机碳源, 控制养殖水体中 C/N, 形成以异养微生物为主, 与有机质、无机质、原生动植物和藻类等相结合的絮状物的过程, 这些微生物在消耗大量有机碳源的同时, 固定水体中的氨氮和亚硝酸氮以生长繁殖, 从而起到净化水质的作用^[17]。其理论方程式^[19]为:



从以上公式可知, 1 g 氨氮转化为 8.07 g 的细菌生物体(4.29 g 有机碳)需要 15.17 g 碳水化合物(6.07 g 有机碳)、3.57 g 碱度(0.86 g 无机碳)和 4.71 g 的溶解氧。有研究表明^[16], 生物絮团形成过程中主要产絮菌群落是变形菌纲(Proteobacteria)、放线菌纲(Actinobacteria)、芽孢杆菌纲(Bacilli)和拟杆菌纲(Bacteroidetes)。其中放线菌、芽孢杆菌和拟杆菌属于益生菌^[20]。同时研究发现, 生物絮团产生的最佳 C/N 大于 10:1^[17, 21]。生物絮凝系统构建过程中, 本实验添加醋酸钠来控制水体中的 C/N 为 15; 开始时, 絮团中的产絮菌生长缓慢, 对无机氮的利用速率小于残饵和排泄物降解无机氮的速率, 造成氨氮和有机碳的不断升高, 所以氨氮、亚硝氮在养殖初期增长到很高的水平; 由于絮团中产絮菌对无机氮的利用速率与残饵和排泄物降解无机氮的速率相等, 造成氨氮和亚硝氮在水中残留达到最大值, 分别达到(60.98±7.23) mg/L 和(117.34±15.50) mg/L, 两者对鱼的毒性较大, 可能会造成鱼的死亡。但养殖到 23 d 后, 絮团中产絮菌对无机氮的利用速率大于残饵和排泄物降解无机氮的速率, 造成氨氮和有机碳降低, 并氨氮、亚硝氮则保持在一个相对稳定的浓度, 氨氮和亚硝氮变化与潘云峰等^[22]研究成果相一致。而整个养殖过程中硝氮一直保持在一个很低的浓度, 这结果跟 Avnimelech^[17]研究相一致, 可能是絮团中的产絮菌可以利用水体中的硝氮和有机碳源形成自身的蛋白质造成的。

3.2 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼生长的影响

生物絮团在改善水体水质的同时, 其营养丰富, 几乎可以符合水产养殖饵料的全部营养需求, 解决部分饵料来源问题^[8, 11]。Avnimelech^[8]研究发现, 利用 N 稳定性同位素证实生物絮团能被罗非鱼所摄取。本实验结果表明生物絮凝系统构建过程中鱼体的增重率、特定生长率、肝体比、丰满度、蛋白质效率均明显高于循环水养殖系统, 生物絮凝系统中鱼体的增重率比循环水养殖要高 27.88%, 同时摄食率没有显著性差异, 但是生物絮凝系统中鱼体饲料系数要低于循环水养殖, 这说明, 生物絮凝系统构建过程中鱼体生长得更快, 与 Hargreaves^[10]研究结果一致, 产絮菌利用水体中的无机氮和有机碳源“升级”自身的蛋白质, 结合水体中的颗粒有机物、胶体颗粒等悬浮物质形成生物絮凝饵料, 可被滤食性鱼类所摄食, 从而促进了鱼类的生长。

3.3 生物絮凝系统构建过程中吉富罗非鱼免疫酶活性的影响

当病原生物侵入鱼体或生存环境改变时, 鱼类的非特异性免疫要比发育不完善的特异性免疫发挥着更重要的作用^[23], 溶菌酶、超氧化物歧化酶和碱性磷酸酶是鱼类非特异性免疫中重要的免疫因子^[23-24], 这些免疫相关因子的活性可反映鱼体对所生存环境的应激反应。

碱性磷酸酶是一种在钙磷代谢及磷酸基团的转移过程中具有关键作用的调控酶, 广泛存于鱼体的各组织中, 其活性的高低能反映生存环境的改变或摄食情况下鱼体非特异性免疫水平^[24-27]。罗非鱼在低质量氨氮、亚硝氮胁迫下能够主动调节 ALP 活性。当氨氮超过 3 mg/L, 亚硝氮浓度超过 3 mg/L 时, 超过了机体的调节范围, 对罗非鱼 ALP 活性造成显著影响, 活性降低^[26, 28]。微生物制剂作为饲料的添加剂, 被鱼类摄食, 可显著提高鱼类的溶菌酶活力^[30]。生物絮团能促进幼参 ALP 活性增加, 刺激机体免疫功能的提高^[29]。本实验生物絮凝系统构建过程中水体氨氮浓度和亚硝氮浓度一直在上升, 到实验 22 天达到最大值,

分别为(60.98±7.23) mg/L 和(117.34±15.50) mg/L, 均远远大于 3 mg/L 的阈值, 随后到 23 天才下降, 在实验过程中罗非鱼长期处于总氨氮和亚硝氮水质因子环境胁迫中, 而罗非鱼碱性磷酸酶活性与循环水养殖系统无显著性差异, 这个生物絮团构建过程对罗非鱼碱性磷酸酶活性没有显著性影响。可能的原因是生物絮团中含有一些益生菌、生物活性的多糖类物质等, 被滤食性鱼类所摄食后导致机体碱性磷酸酶活性升高, 抵御环境胁迫^[40]。

溶菌酶能参与机体免疫活动, 主要来源于吞噬细胞, 广泛分布于鱼体的黏液、血清和某些淋巴组织, 在维持机体免疫防御的过程中有着重要的作用^[24], 可作为一种重要的非特异性免疫指标^[31]。研究表明, 低浓度的氨氮、亚硝氮胁迫不会显著的抑制罗非鱼溶菌酶的活性, 但总氨氮浓度、亚硝氮浓度均超过 3 mg/L 时, 高浓度的氨氮、亚硝氮胁迫就能显著抑制溶菌酶的活性, 从而降低其活性^[26, 28, 32]。而生物絮团有助于养殖对象提高免疫酶活性^[34-35]。研究发现, 生物絮团含有芽孢杆菌等益生菌, 其为絮团形成过程中的主要细菌类群^[33], 芽孢杆菌还能产生抗菌活性物质, 抵抗病原生物的危害, 从而提高了免疫酶的活性^[34-35]。而本实验生物絮团构建过程中水体中氨氮浓度和亚硝酸浓度一直在上升, 到实验 22 天达到最大值, 分别为(60.98±7.23) mg/L 和(117.34±15.50) mg/L, 均超过了 3 mg/L 的阈值, 随后到 23 天才下降, 罗非鱼溶菌酶活性与循环水养殖系统无显著性差异, 这说明生物絮团构建过程对罗非鱼溶菌酶活性没有显著影响, 其可能的原因是这个过程中所产生的生物絮团含有一些益生菌、生物活性的多糖类物质等, 被滤食性鱼类所摄食后提高机体溶菌酶的活力, 增强了吞噬细胞吞噬活性, 从而增强了其抵御环境胁迫的能力^[40]。罗非鱼肝胰脏溶菌酶活性显著低于循环水养殖系统, 可能的原因是系统构建过程中需要不断加入糖类, 引起肝胰脏肿大, 从而影响吉富罗非鱼溶菌酶的活性。

超氧化物歧化酶是一种抗氧化酶系的重要酶, 能有效清除自由基, 提高机体的自身免疫^[24], 可

作为机体非特异性免疫的指示剂, 其活性高低可以反映鱼体抗氧化能力和鱼类非特异性免疫应对生存环境变化的应变能力^[36]。鱼体受到外界刺激或者生存环境的改变会产生应激反应, 超氧化物歧化酶活性也会在一定范围内升高, 但鱼体持续处于应激状态或应激强度过大, 机体的免疫功能会受到明显的抑制, 超氧化物歧化酶活性会有所降低^[37-38]。生物絮团含有芽孢杆菌等益生菌为絮团形成过程中存在的主要细菌类群^[35]。芽孢杆菌被鱼体摄入后主要通过自身分泌的抗氧化酶促进机体抗氧化酶分泌, 从而降低鱼类在养殖过程中的应激反应^[34, 39]。研究表明, 高浓度的氨氮、亚硝氮浓度(两者均超过 3 mg/L)胁迫能抑制罗非鱼 T-SOD 活性^[26, 28]。本实验生物絮团构建过程中水体中氨氮浓度和亚硝酸浓度一直在上升, 到实验 22 天达到最大值, 分别为(60.98±7.23) mg/L 和(117.34±15.50) mg/L, 两者均超过 3 mg/L 阈值, 23 天后下降, 而罗非鱼 T-SOD 活性与循环水养殖系统无显著性差异, 可能的原因是生物絮团中含有一些益生菌、生物活性的多糖类物质等, 被滤食性鱼类所摄食后提高了机体的抗氧化能力, 从而增强其机体免疫力来抵御环境胁迫^[40]。

本次实验发现, 在生物絮团构建过程中鱼体的肝胰脏、头肾、血液中上述几种酶的活性与循环水养殖系统均无显著差异, 说明罗非鱼对生物絮团构建过程有适应能力。

4 结论

本实验条件下, 生物絮团-吉富罗非鱼系统构建过程中, 水体中氨氮和亚硝氮浓度出现明显积累, 但随后降至较低浓度, 试验结束时, 与循环水养殖系统中氨氮和亚硝酸浓度无明显差异; 吉富罗非鱼的肝胰脏、头肾、血液中碱性磷酸酶(ALP)、溶菌酶(LSZ)以及总超氧化物歧化酶(T-SOD)的活性与循环水养殖系统养殖的罗非鱼相关指标均无显著差异。生物絮团-吉富罗非鱼系统构建过程中吉富罗非鱼能适应水体环境, 同时能降低饵料系数, 提高罗非鱼蛋白质效率, 促进鱼体的生长。

参考文献:

- [1] Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2012. [农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012.]
- [2] Yuan Y M, Yuan Y, Dai Y Y, et al. Production status and development trend analysis on tilapia industry in 2013[J]. Chinese Fisheries Economics, 2014, 32(1): 149–156. [袁永明, 袁媛, 代云云, 等. 2013年罗非鱼产业生产现状及发展趋势分析[J]. 中国渔业经济, 2014, 32(1): 149–156.]
- [3] Wang Y M, Cao J M, Chu X L, et al. Development situation and countermeasures of Guangdong tilapia industry in 2013[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014(8): 12–17. [王玉梅, 曹俊明, 储霞玲, 等. 2013年广东罗非鱼产业发展形势与对策建议[J]. 广东农业科学, 2014(8): 12–17.]
- [4] Avnimelech Y, Lacher M. Tentative nutrient balance for intensive fish ponds[J]. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 1979, 31: 3–8.
- [5] Avnimelech Y, Ritvo G. Shrimp and fish pond soils: processes and management[J]. Aquaculture, 2003, 220: 549–567.
- [6] Boyd C E. Chemical budgets for channel catfish ponds[J]. Trans Am Fish Soc, 1985, 114: 291–298.
- [7] Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P, et al. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system[J]. Aquaculture, 2004, 232(1–4): 525–537.
- [8] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds[J]. Aquaculture, 2007, 264(1–4): 140–147.
- [9] Samocha T M, Patnaik S, Speed M, et al. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*[J]. Aqu Eng, 2007, 36(2): 184–191.
- [10] Hargreaves J A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture[J]. Aqu Eng, 2006, 34(3): 344–363.
- [11] 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: 29–35.
- [12] 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.
- [13] Zhang X Z, Li B, Bai Y Y, et al. Effect of bioflocs on enzyme activities and growth performance of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(4): 509–517. [张秀珍, 李斌, 白艳艳, 等. 生物絮团对仿刺参幼参生长与酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(4): 509–517.]
- [14] Crab R, Kochva M, Verstraete W, et al. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia[J]. Aquac Eng, 2009, 40: 105–112.
- [15] Deng J P, Huang J H, Jiang S G, et al. Conditions for bio-floc formation and its effects on *Penaeus monodon* culture system[J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(3): 29–38. [邓吉朋, 黄建华, 江世贵, 等. 生物絮团在斑节对虾养殖系统中的形成条件及作用效果[J]. 南方水产科学, 2014, 10(3): 29–38.]
- [16] Xia Y, Qiu L J, Yu E M, et al. Dynamic changes of water quality factors and composition of prokaryotic and eukaryotic microorganisms during culturing of bio-floc[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(1): 75–83. [夏耘, 邱立疆, 郁二蒙, 等. 生物絮团培养过程中养殖水体水质因子及原核与真核微生物的动态变化[J]. 中国水产科学, 2014, 21(1): 75–83.]
- [17] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 1999, 176: 227–235.
- [18] 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[M]. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.]
- [19] Ebeling J M, Michael B T, Bisogni J J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 2006, 257: 346–358.
- [20] Fu D Y, Yu X T, Wang F. The effects of compound microorganisms on the growth and water quality in carps[J]. Feed Res, 2005(8): 43–45.
- [21] Goldman J C, Caron D A, Dennett M R. Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C: N ratio[J]. Limnol Oceanogr, 1987, 32 (6): 1239–1252.
- [22] Pan Y F, Luo G Z, Tan H X, et al. The comparison of different carbon sources impact on the bioflocs formation of solid waste of aquaculture[J]. Technology of Water Treatment, 2011, 37(11): 20–24. [潘云峰, 罗国芝, 谭洪新, 等. 不同碳源对水产养殖固体颗粒物生物絮凝效果的比较[J]. 水处理技术, 2011, 37(11): 20–24.]
- [23] Sakai D K. The non-specific activation of rainbow trout, *Salmon gardener* Richardson, complement by *Aeromonas salmonicida* extracellular products and the correlation of complement activity with the inactivation of lethal toxicity

- products[J]. *J Fish Dis*, 1984, 7(5): 329–333.
- [24] Xiao K Y. Aquatic animal immunity and Application[M]. Beijing: Science Press, 2007. [肖克宇. 水产动物免疫与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2007.]
- [25] Cheng T C. The role of lysosomal hydrolases in moluscan cellular response to immunologic challenge[J]. *Curr Top Comp Pathol*, 1978, 23(1): 59–71.
- [26] 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 Environmet*, 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[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4): 629–634.]
- [27] Hong M L, Chen L Q, Sun X J, et al. Effects of acute nitrite exposure on immunity indicators and HSP70 expression in Chinese mitten-hand crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2011, 17(5): 688–693. [洪美玲, 陈立侨, 孙新谨, 等. 亚硝酸盐急性胁迫对中华绒螯蟹幼体相关免疫指标和应激蛋白(HSP70)表达的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 688–693.]
- [28] 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. 亚硝酸盐胁迫对罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)血清非特异性免疫酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(5): 897–901.]
- [29] Ma Y Q, Li B, Zhang X Z, et al. The effect of bio-floc on digestive and immune enzymes activity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2013, 34(6): 91–96. [马元庆, 李斌, 张秀珍, 等. 生物絮团对仿刺参幼参消化与免疫酶活性的影响[J]. 水生态学杂志, 2013, 34(6): 91–96.]
- [30] Guo W T, Li J, Wang Q, et al. Study on effect of probiotic on nonspecial immune factors of *Paralichthys olivaceus*[J]. *Advances in Marine Science*, 2006, 24(1): 51–59. [郭文婷, 李健, 王群, 等. 微生态制剂对牙鲆非特异性免疫因子影响的研究[J]. 海洋科学进展, 2006, 24(1): 51–59.]
- [31] Dunier M, Siwicki A K, Demael. Effects of organophosphorus insecticides: Effects of trichlorfon and dichlorvos on the immune response of carp (*Cyprinus carpio*): In vitro effects on lymphocyte proliferation and phagocytosis and in vivo effects on humoral response[J]. *Ecotox Environ Safe*, 1991, 22(1): 79–87.
- [32] Meng S L, Zang X L, Qu J H, et al. Susceptibility to *Streptococcus iniae* and response of serum SODs of tilapia (*Oreochromis niloticus*) under nitrite nitrogen stress[J]. *Rural Eco-Environment*, 2013, 29(1): 106–109. [孟顺龙, 臧学磊, 瞿建宏, 等. 亚硝态氮胁迫下罗非鱼对海豚链球菌的易感性及血清超氧化物歧化酶的响应[J]. 生态与农村环境学报, 2013, 29(1): 106–109.]
- [33] Xia Y, Yu E M, Xie J, et al. Analysis of bacterial community structure of Bio-Floc by PCR-DGGE[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(10): 1563–1571. [夏耘, 郁二蒙, 谢骏, 等. 基于 PCR-DGGE 技术分析生物絮团的细菌群落结构[J]. 水产学报, 2012, 36(10): 1563–1571.]
- [34] Li W F, Zhang X P, Song W H, et al. Effects of *Bacillus* preparation added to culture water on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(6): 1027–1032. [李卫芬, 张小平, 宋文辉, 等. 养殖水体中添加芽孢杆菌对草鱼免疫和抗氧化功能的影响[J]. 中国水产科学, 2012, 19(6): 1027–1032.]
- [35] 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.
- [36] St Dimitrova M, Tishinova V, Velcheva V. Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Comp Biochem Physiol Part C-Pharmacol, Toxicol Endocrinol*, 1994, 108(1): 43–46.
- [37] Montero D, Tort L, Robaina L, et al. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11(6): 473–490.
- [38] Wang W B, Li A H. The effect of environmental stress to fish immune system[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(4): 368–374. [王文博, 李爱华. 环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究概括[J]. 水产学报, 2002, 26(4): 368–374.]
- [39] Li W F, Deng B, Chen N N, et al. Effects of *Bacillus* on water quality, growth and antioxidant activity of intestinal mucosa of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2012, 33(1): 65–70. [李卫芬, 邓斌, 陈南南, 等. 芽孢杆菌对草鱼生长和肠粘膜抗氧化功能及养殖水质的影响[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(1): 65–70.]
- [40] 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[J]. 水产学报, 2013, 37(3): 473–480.]

Effects of initial establishment of a biofloc technology system on the growth and immune enzyme activity of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)

WANG Chaohui¹, GAO Qi¹, TAN Hongxin^{1,2,3}, LIU Wenchang^{1,2}, LUO Guozhi^{1,2,3}

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Aquaculture Engineering Technology Research Center, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Collaborative Innovation Center for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai 201306, China

Abstract: A biofloc technology system is a complicated microbial ecosystem that requires some time in culture to stabilize inorganic nitrogen assimilation and the quality biofloc formation. The establishment of a biofloc technology system generally results in the accumulation of ammonia or nitrite. The growth and immune enzymes of the Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT) strain of *Oreochromis niloticus* were examined during the initial establishment of a biofloc technology system. A total of 600 tilapia with an average weight of (24.17 ± 2.49) g ($\bar{x} \pm \text{SD}$) were raised for 30 days, half in an indoor recirculating aquaculture system (control group) and half in a biofloc technology system (treatment group). Sodium acetate was added to the biofloc technology system at rate of 75% feed to maintain an optimum C : N ratio of heterotrophic bacteria. The two groups were fed commercial feed at a daily rate of 2% of total fish body weight. The daily feeding rate was adjusted every 10 days based on the weight of a fish sample. Total suspended solids were maintained at roughly 500 mg/L in the control group. Both systems were maintained at a water temperature of 24–26 °C with dissolved oxygen (DO) concentrations over 6 mg/L and a pH of 7.0–7.5, which was adjusted using NaHCO₃. A simulated natural photoperiod (12L : 12D) was used. During establishment of the biofloc technology system, concentrations of ammonia and nitrite rapidly spiked and then decreased, reaching peak concentrations of (60.98 ± 7.23) mg/L and (117.34 ± 15.50) mg/L ($\bar{x} \pm \text{SD}$), respectively. Nitrate concentrations stayed at relatively low levels of 1–15 mg/L. In contrast, nitrate levels rose markedly in the control group, ranging from (73.03 ± 3.29) mg/L to (152.44 ± 1.79) mg/L. Concentrations of ammonia and nitrite, however, were relatively stable and maintained relatively low levels of 5 and 0–3 mg/L, respectively. There was no significant difference between treatments in the activities of alkaline phosphatase, lysozyme, or total superoxide dismutase of the hepatopancreas, head kidneys, and serum; however, total superoxide dismutase and lysozyme activity in the hepatopancreas were significantly lower in the treatment group than in the control. In contrast, the specific growth rate, hepatosomatic somatic index, fullness, and protein efficiency ratio of the treatment group were significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$), while the feeding rate in the treatment group was lower than the control ($P > 0.05$). Relative to the control, the feed conversion ratio in the experimental group was significantly lower ($P < 0.05$), while weight gain was 27.88% higher ($P < 0.05$). Survival was 100% for both groups, indicating no significant stress reaction to biofloc establishment. Moreover, tilapia grew at faster rates in the biofloc system than the recirculating system.

Key words: biofloc technology system; GIFT tilapia; growth; immune enzyme activity

Corresponding author: LUO Guozhi. E-mail: gzhluo@shou.edu.cn