

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16225

生物絮团技术对异育银鲫生长性能和抗性的影响

张明明¹, 徐晨^{1,2}, 赵志刚³, 王资生¹, 仇明¹, 李强¹, 乔帼¹

1. 盐城工学院, 江苏 盐城 224051;
2. 大连海洋大学, 辽宁 大连 116023;
3. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070

摘要: 为研究生物絮团技术(Biofloc Technology, BFT)在沿海滩涂鱼类养殖中的应用效果, 本实验以滩涂主要养殖种类——异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)为研究对象, 按照 BFT 养殖模式(BFT 组, 不换水, 只补存蒸发掉或取样部分的水分)和一般养殖模式(对照组, 每日换水 1 次, 每次换水 1/4~1/3)分别饲养, 测定各处理组异育银鲫的生长指标、消化酶活性和免疫相关酶活性, 应用实时荧光定量 PCR 法定量分析热休克蛋白 HSP70 的相对表达, 人工感染试验对比分析 BFT 养殖模式组和一般养殖模式组异育银鲫生长性能和抗性的变化。结果显示: (1)BFT 组异育银鲫增重率、特定生长率和存活率均高于对照组($P<0.01$), 肥满度、脏体比和肝体比与对照组间无显著差异($P>0.05$); (2)BFT 组异育银鲫肠道中淀粉酶、脂肪酶和胃蛋白酶活性显著高于对照组($P<0.05$), 分别提高了 53.10%、28.10% 和 17.99%; (3)BFT 组异育银鲫体表黏液中超氧化物歧化酶活性、血清中总抗氧化能力和溶菌酶活性高于对照组($P<0.01$); (4)BFT 组脾、肾、肝和鳃中热休克蛋白 HSP70 的表达量分别上调了 1.29 倍、1.34 倍、1.87 倍和 1.68 倍; (5)嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophilia*)人工感染试验证实, BFT 组异育银鲫抗细菌感染能力显著增强。研究表明, BFT 养殖模式适于异育银鲫养殖, 可促进鱼体生长, 增强其应激能力和抗病力。

关键词: 生物絮团; 异育银鲫; 生长; 消化酶; 免疫相关酶; HSP70; 嗜水气单胞菌

中图分类号: S969

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)03-0533-10

异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)是我国主要淡水养殖鱼类之一, 是江苏省沿海滩涂水域的特色和优势种类, 开发异育银鲫高效健康生态养殖技术对开发沿海滩涂养殖具有积极的促进作用。异育银鲫具有肉质细腻鲜美、食性广、易饲养等特点, 其生长速度比普通鲫鱼快 1 倍左右^[1]。但近年来, 随着放养密度加大、集约化程度提高和水产养殖污染日益严重, 异育银鲫暴发性病害频繁发生, 严重影响了该养殖业的可持续发展和养殖效益。特别是自 2009 年暴发性病毒性“大红鳃”后, 异育银鲫养殖产业基本处于停滞状态。研究证实, “大红鳃”的病原为鲤科疱疹病毒 II 型

(CyHV-2), 发病季节早在 4 月中下旬, 该病具有发病急、传染速度快、周期长、死亡率高(最高可达 100%)等特点^[2], 常与孢子虫病、指环虫病等疾病并发, 同时, 病鱼临床症状类似于淡水鱼类细菌性败血症, 常被误诊。目前为止, 尚未找到该病的有效防治方法^[3]。

生物絮团技术(Biofloc Technology, BFT)是一种新兴的零排放高效生态养殖技术, 对养殖鱼类的生长和免疫具有积极的促进作用^[4-10], 成为国际水产养殖学研究的新热点。BFT 通过向养殖水体中添加外源有机碳物质(红糖、糖蜜等), 调节水体中的碳氮比(C/N), 促进异氧细菌繁殖, 同化无

收稿日期: 2016-07-26; 修订日期: 2016-09-21.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31602179); 江苏省自然科学基金项目(BK20150426); 江苏省博士后基金项目(1501101C); 盐城工学院人才引进项目(xj201513, kjc2014018); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-46).

作者简介: 张明明(1982-), 男, 讲师, 博士, 主要从事水产养殖和海洋生物学方面的研究. E-mail: zhangmingm44ok@163.com

通信作者: 乔帼, 副教授. E-mail: qiaoguo44ok@163.com

机氮,将水体中细菌、原生动物、藻类和残饵粪便等经生物絮凝作用形成生物絮团。BFT 养殖模式是零水交换体系,通过增强养殖水域的生物修复,可减少养殖池和大环境的水交换,减少养殖废水、废物的排放;同时,还能切断流行病原的传播途径和减少环境胁迫,有效预防疾病的发生^[4-10],最终达到低投入、高产出、养殖废物和废水“零排放”的目的^[10-11]。生物絮团大小在 0.1~1.0 mm,可被杂食性和滤食性鱼类摄食。此外,生物絮团中含有大量的粗蛋白、粗脂肪和能量,其可在一定程度上代替传统饲料^[12-14]。BFT 已被成功用于尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[15]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[16]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[17]、鳙(*Aristichthys nobilis*)^[18]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[19]、鲫(*Carassius auratus*)^[20]和仿刺参(*Apostichopus japonicus*)^[21]等养殖生产。

本研究利用 BFT 养殖异育银鲫,探讨 BFT 对异育银鲫生长、消化酶、免疫相关酶、热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)表达以及对抗细菌感染力的影响,以期为 BFT 在沿海滩涂鱼类养殖中的进一步应用提供理论基础和技术支撑,为异育银鲫疾病防治提供新思路,同时为滩涂资源的开发利用和生态修复提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及暂养管理

异育银鲫购自江苏省盐城市射阳县海明丰公司苗种养殖基地,体表光滑无明显伤痕,活力好,体长为(9.5±0.5) cm,体重为(10.0±0.5) g。实验前暂养 2 周,养殖池使用高锰酸钾泼洒消毒,养殖用水过滤曝气后用于实验。水温(25.0±0.5)℃,pH 7.5~8.5,溶解氧 6.2~7.5 mg/L。每日投喂通威 1038 配合饲料(通威股份有限公司)3 次,投喂时间为 7:30、12:30 和 19:00,日投喂量为鱼体重的 2%~3%。每日换水 1 次,日换水量 1/3~1/2,每天清理 1 次残饵和粪便。

淀粉酶(amylase, AMS)、脂肪酶(lipase, LPS)、胃蛋白酶(protease)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)和总蛋白定量试剂盒均购自

南京建成生物工程研究所。实验用大肠杆菌 JM089(*Escherichia coli*, ATCC 29522)、溶壁微球菌(*Micrococcus lysodeikticus*, ATCC4698, Sigma, 美国)和嗜水气单胞菌(2SHD318)均由大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室惠赠。实验用溶菌酶购自美国 Sigma 公司。RNA 提取试剂、cDNA 合成、实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)试剂盒均购自 TaKaRa 生物工程有限公司(大连)。

1.2 实验设计

本实验于 2014 年 7 月 20 日至 2014 年 10 月 20 日在江苏省盐城市盐城工学院海洋技术专业养殖实验基地养殖棚进行。暂养 2 周后,将 1500 尾体质健康、规格一致的异育银鲫随机分入 6 个室内水泥池(3.0 m×1.0 m×0.8 m),平均水深 0.6 m,有效水体为 1.80 m³,放养密度为 250 尾/池;共设置 2 个实验组,即生物絮团技术养殖实验组(BFT)和对照组(control),BFT 组不换水,仅补充渗漏、蒸发及采样丢失的水量;每 3 天测定 1 次水体中总氮含量,通过外源添加糖蜜调控碳氮比(C/N)至 20,每日糖蜜总量分别于投饵后 2 h 时添加,实验初期需要每日添加糖蜜,实验后期则每隔 3~5 d 添加 1 次糖蜜;对照组每日换水 1 次,每次换水 1/4~1/3;养殖用水取自室外蓄水池,曝气过滤后用于实验。每组设置 3 个重复,每个养殖池均配备 24 h 不间断循环水泵和增氧机。

实验期间,水温维持在 25~30℃,pH 7.5~8.5,溶解氧>5.0 mg/L,与暂养时相同,每天定时投喂,每周根据摄食和生长情况适当调整投喂量。正式实验养殖周期为 45 d。养殖期间,每日观察鱼摄食及死亡情况,发现死鱼及时捞出称重计数,并检查死亡原因。实验结束时,停喂 24 h,每池随机取 10 尾鱼,称量体长、体重、肝脏质量和内脏质量,记录存活率。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生长指标测定 养殖期间,分别在 0 d、7 d、28 d 和 45 d 时各取样 1 次,每次每池随机采取 3 尾鱼,经 MS-222 快速麻醉后,测量其全长、体长和体重并记录,计算异育银鲫增重率、特定增长率、肥满度、肝体比、脏体比和存活率。计算公式如下:

增重率(Weight Gain Rate, WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100$

特定生长率(Specific Growth Rate, SGR, %) = $(\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100$

肥满度(Condition Factor, CF, %) = $W_t / L_t^3 \times 100$

脏体比(Viscerosomatic Ration, VR, %) = $W_v / W_t \times 100$

肝体比(Hepatosomatic Index, HSI, %) = $W_h / W_t \times 100$

存活率(Survival Rate, SR, %) = $N_f / N_i \times 100$

式中, W_t 为实验第 t 天时鱼体重(g); W_v 为实验第 t 天内脏重(g); W_h 为实验第 t 天肝脏重(g); W_0 为初始鱼体重(g); t 为养殖周期(d); L_t 为实验第 t 天时体长(cm); N_f 为实验结束时异育银鲫的尾数; N_i 为实验开始时异育银鲫的尾数。

1.3.2 消化指标测定 实验结束时, 每次每池随机采取3尾鱼, 经MS-222快速麻醉后, 同上麻醉后取其肠道, 用预冷的无菌生理盐水洗去肠中杂质物, 滤纸吸去组织样品表面水分后, -20°C 立即保存备用, 以测定LPS、AMS和胃蛋白酶活性。LPS、AMS、胃蛋白酶活性和总蛋白浓度均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定, 并按照试剂盒说明书进行。

1.3.3 免疫指标测定 取样和麻醉方法同1.3.1。麻醉后用载玻片轻轻刮取其体表黏液, 每管加入约200 μL 预冷的PBS(pH 6.2, 0.05 mol/L, 1:1)混匀, 3000 r/min 4°C 离心10 min, 取上清液待测。同时, 尾静脉采血, 血样于 4°C 斜面静置3 h后, 同体表黏液离心收集血清, 待测。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)和总蛋白浓度均使用购自南京建成生物工程研究所的试剂盒按照说明书进行测定。溶菌酶(lysozyme, LSZ)测定参照Qiao等^[22]的方法进行, 血清经PBS(pH6.2)作 2^n 梯度稀释后, 每孔加入100 μL 0.4 mg/mL溶壁微球菌菌悬液(ATCC4698, Sigma, 美国), 30°C 孵育, 每隔10 min测量1次 OD_{590} 值, OD_{590} 值每分钟每减少0.001时为1个溶菌酶活力单位(U/mL)。

1.3.4 热休克蛋白 HSP70 mRNA 表达水平的检测

养殖结束时, 每池随机取异育银鲫3尾, 同上麻醉后解剖取其鳃、肝、脾和肾各50~100 mg,

参照RNAiso Reagent说明书操作, 抽提总RNA。使用紫外分光光度计(BioPhotometer Plus, Eppendorf)测定RNA浓度和OD值, 并根据 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 值判断RNA的质量, 以该值达到1.8~2.0为标准。按SMART cDNA Synthesis Kit操作手册进行cDNA合成。为检测异育银鲫HSP70 mRNA在不同养殖模式下的表达水平, 以 β -actin为内参, 按照SYBR® Premix Ex Taq™ RT-PCR Kit(Code: DRR420A, TaKaRa)使用说明进行实时荧光定量PCR(qRT-PCR)。 β -actin荧光定量PCR的引物为: F1: 5'-TTGAGCAGGAGATGGG AACCG-3', R1: 5'-GAGCCTCAGGGCAACGGAAA-3'; HSP70荧光定量PCR的引物为: F2: 5'-TACACGTCCAT-CACCAGAGCGC-3', R2: 5'-CCCTGCCGTTGAGAAATCCT-3'^[23], 所有引物均由上海生物工程有限公司合成, 扩增的序列片段大小为100~150 bp。以 β -actin为内参, 对得到的各样品 C_t 值进行均一化处理, 并以对照组HSP70 mRNA的表达量为基准, 应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[24]确定BFT组异育银鲫不同组织中HSP70 mRNA的相对表达量。RT反应总体积为25 μL : 2×SYBR Premix Ex 12.5 μL , PCR Forward Primer (10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , PCR Reverse Primer (10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , 模板cDNA 1.25 μL , 加 ddH_2O 至25 μL ; 反应条件为: 95°C 30 s, 然后45个循环(95°C 5 s, 60°C 30 s)(Bio-Rad CFX96)。

1.4 人工感染实验

养殖实验结束后, 分别从BFT组和对照组选择体重基本一致的鱼进行嗜水气单胞菌人工感染实验。实验用嗜水气单胞菌分离于自然发病的草鱼肝脏中^[25]。将在胰蛋白胨大豆琼脂培养基上活化两次的细菌用无菌生理盐水稀释成浓度梯度为 4.2×10^8 CFU/mL、 4.2×10^7 CFU/mL、 4.2×10^6 CFU/mL和 4.2×10^5 CFU/mL的菌悬液, 每尾鱼腹腔注射0.1 mL不同浓度菌悬液, 对照组鱼腹腔注射等剂量的灭菌生理盐水。每组设3个重复, 每个重复8尾异育银鲫。实验水温为 28°C , 24 h持续充氧, 每天换水1次, 每次换水1/3。观察记录7 d内鱼体死亡情况及临床症状, 并计算累积死亡率。

1.5 数据统计分析

实验结果均采用平均值±标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,

通过软件 SPSS 21.0 进行统计分析, 利用单因素方差分析(One-Way ANOVA)对同一组内不同采样时间的数据进行统计分析, 若差异显著, 用 Duncan 法进行多重比较。同时, 利用 *t*-test 进行组间差异分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 BFT 对异育银鲫生长性能的影响

由表 1 可知, 生物絮团技术适宜异育银鲫养殖, 可促进生长和提高存活率。生物絮团技术养殖试验组(BFT 组)异育银鲫个体增重率和特定生长率均显著高于对照组($P < 0.01$), 并且随养殖周期延长增重率呈上升趋势, 特定生长率呈下降趋势。异育银鲫肥满度、脏体比和肝体比总体变化规律大致表现为: 第 0 天、7 天、28 和 45 天时 BFT 组低于对照组($P > 0.05$); BFT 组存活率(90%)显著高于对照组(77.8 %)($P < 0.01$)。

2.2 BFT 对异育银鲫消化酶活性的影响

由表 2 可知, 实验结束时 BFT 组异育银鲫肠道 AMS、LPS 和胃蛋白酶活性显著高于对照组($P < 0.05$), BFT 组 AMS、LPS 和胃蛋白酶酶活分别是 177.51 U/mg、17.96 U/mg 和 36.41 U/mg(蛋白), 比对照组分别提高了 53.10%、28.10%和 17.99%。

2.3 BFT 对异育银鲫免疫相关酶活性的影响

BFT 可提高异育银鲫体表黏液中 SOD、血清中 T-AOC 和溶菌酶 LSZ 的活性。

2.3.1 BFT 对 SOD 活性的影响 血清中 SOD 活性在 BFT 组与对照组间无显著差异($P > 0.05$)。在养殖 7 d、28 d 和 45 d 时 BFT 组血清中 SOD 活性显著低于试验开始时的活性($P < 0.01$), 7 d、28 d 和 45 d 间无显著差异($P > 0.05$)。对照组血清中 SOD 活性不同养殖周期期间无显著差异(图 1)。体表黏液中 SOD 活性 BFT 组显著高于对照组($P < 0.05$)。第 0 天和 7 天时 BFT 组体表黏液中 SOD 活性显著高于第 28 天和 45 天时的活性($P < 0.01$), 但 0 d 与 7 d、

表 1 生物絮团技术对异育银鲫生长性能的影响

Tab. 1 Effects of biofloc technology on growth performance of *Carassius auratus gibelio*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

生长指标 growth performance	组别 group	养殖周期/d breeding duration			
		0	7	28	45
初始均重/g initial body weight	BFT	19.09±1.50			
	对照 control	20.65±1.78			
终末均重/g final body weight	BFT		28.02±0.52	38.48±2.18*	42.21±1.35*
	对照 control		27.54±21.18	33.94±1.64	39.05±1.36
增重率/% weight gain rate	BFT		46.73±2.71*	101.53±11.40*	121.06±7.07*
	对照 control		33.38±5.69	64.39±7.92	89.10±6.58
特定生长率/(%·d ⁻¹) special growth rate	BFT		5.48±0.27*	2.50±0.20*	1.72±0.07*
	对照 control		4.11±0.61	1.77±0.17	1.38±0.08
肥满度/% condition factor	BFT	2.13±0.38	2.38±0.17	2.59±0.27	2.37±0.47
	对照 control	2.07±0.34	2.58±1.00	2.66±0.31	2.45±0.23
脏体比/% viscerosomatic ration	BFT	7.68±1.40	11.45±2.32 ^a	11.36±0.65*	14.56±2.54 ^a
	对照 control	9.55±2.03	13.12±4.81 ^a	13.97±0.17 ^a	14.94±3.56 ^a
肝体比/% hepatosomatic index	BFT	0.91±0.42	2.14±0.39	2.49±0.21	3.40±0.77
	对照 control	1.06±1.00	3.30±2.14	2.89±0.76	2.90±0.47
存活率/% survival rate	BFT				90.0±3.8*
	对照 control				77.8±2.0

注: BFT 为生物絮团技术养殖实验组, 不换水, 只补存蒸发掉、渗漏或取样丢失的水量; 对照组, 每日换水 1 次, 每次换水 1/4~1/3。
* 表示同一测定指标 BFT 组与对照组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: BFT denotes biofloc technology system without any water exchange; control denotes common aquaculture system with 1/4~1/3 water exchange each day. * denotes significant difference between BFT and control group for the same item ($P < 0.05$).

28 d 与 45 d 间体表黏液中 SOD 活性不显著 ($P>0.05$)。养殖期间, 对照组异育银鲫体表黏液中 SOD 活性下降趋势并显著低于试验开始时的活性 ($P<0.01$, 图 2)。

表 2 生物絮团技术对异育银鲫肠道消化酶活性的影响
Tab. 2 Effects of biofloc technology on the digestive enzyme activities in intestine of *Carassius auratus gibelio*
 $n=3; \bar{x} \pm SD; U \cdot mg^{-1}(\text{protein})$

组别 group	淀粉酶 AMS	脂肪酶 LPS	胃蛋白酶 protease
BFT	177.51±66.30*	17.96±5.15*	36.14±6.18
对照 control	115.98±33.27	14.02±5.79	30.63±5.12

注: BFT 为生物絮团技术养殖实验组, 不换水, 只补存蒸发掉、渗漏或取样丢失的水量; 对照组, 每日换水 1 次, 每次换水 1/4~1/3。*表示同一测定指标 BFT 组与对照组间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: BFT denotes biofloc technology system without any water exchange; control denotes common aquaculture system with 1/4~1/3 water exchange each day. * denotes significant difference between BFT and control group for the same item ($P<0.05$).

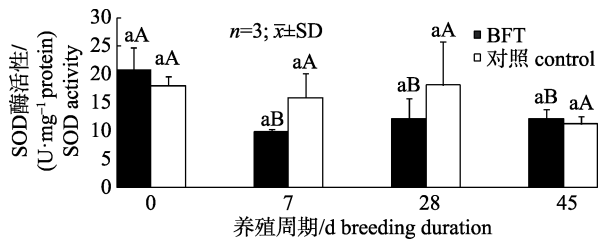


图 1 生物絮团技术对异育银鲫血清中超氧化物歧化酶 (SOD)活性的影响

小写英文字母表示实验组间差异显著 ($P<0.05$), 大写英文字母表示养殖周期期间差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 1 Effects of biofloc technology on superoxide dismutase (SOD) activity in the serum of *Carassius auratus gibelio* Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P<0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P<0.05$).

2.3.2 BFT 对 T-AOC 活力的影响 血清中 T-AOC 活力在 BFT 组和对照组间、以及不同养殖周期期间均无显著差异 ($P>0.05$, 图 3)。体表黏液中 T-AOC 活力在第 0 天和 45 天时 BFT 组与对照组差异显著 ($P<0.01$), 7 d 和 28 d 时差异不显著 ($P>0.05$); 第 0 天、7 天和 28 天时 BFT 组体表黏液中 T-AOC 活力差异不显著 ($P>0.05$), 但均显著高于 45 d 时 T-AOC 活力 ($P<0.01$); 第 0 天、7 天和 28 天时对照组体表黏液中 T-AOC 活力差异不显著 ($P>0.05$), 但均显著低于 45 d 时 T-AOC 活力 ($P>0.05$, 图 4)。

2.3.3 BFT 对 LSZ 活性的影响 血清中 LSZ 活性 BFT 组显著高于对照组 ($P<0.05$)。BFT 组第 7 天、

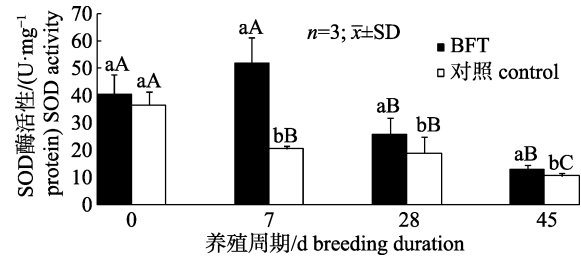


图 2 生物絮团技术对异育银鲫体表黏液超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

小写英文字母表示实验组间差异显著 ($P<0.05$), 大写英文字母表示养殖周期期间差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 2 Effects of biofloc technology on superoxide dismutase (SOD) activity in the skin mucus of *Carassius auratus gibelio* Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P<0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P<0.05$).

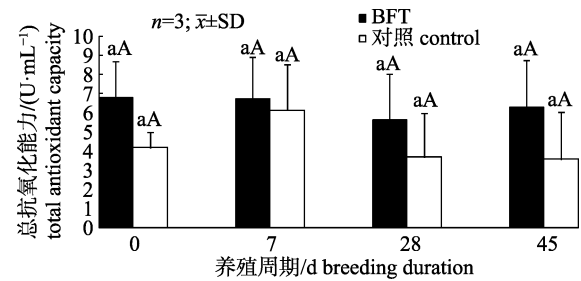


图 3 生物絮团技术对异育银鲫血清总抗氧化能力 (T-AOC 活力)的影响

小写英文字母表示试验组间差异显著 ($P<0.05$); 大写英文字母表示养殖周期期间差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 3 Effects of biofloc technology on total antioxidant capacity (T-AOC activity) in the serum of *Carassius auratus gibelio* Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P<0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P<0.05$).

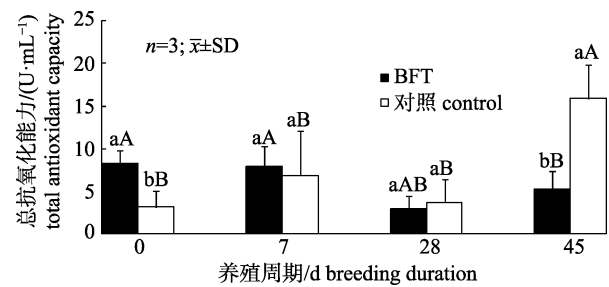


图 4 生物絮团技术对异育银鲫体表黏液中总抗氧化能力(T-AOC 活力)的影响

小写英文字母表示试验组间差异显著 ($P<0.05$), 大写英文字母表示养殖周期期间差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 4 Effects of biofloc technology on total antioxidant capacity (T-AOC activity) in the skin mucus of *Carassius auratus gibelio* Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P<0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P<0.05$).

28天和45天时LSZ活性显著高于0d时酶活;对照组第7天、28天和45天时LSZ活性高于0d时酶活(图5)($P < 0.01$)。体表黏液中LSZ活性BFT组显著低于对照组($P < 0.01$)。BFT组LSZ活性随着养殖周期延续而呈下降趋势;对照组LSZ活性在0d、7d和28d间无显著差异,但均显著高于45d时的酶活(图6)。

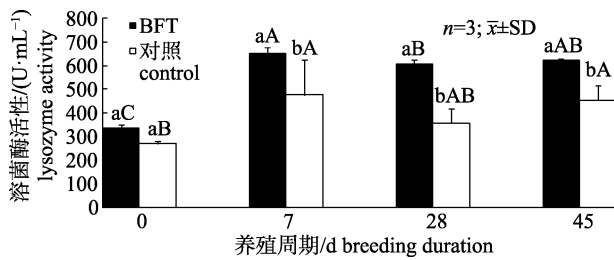


图5 生物絮团技术对异育银鲫血清中溶菌酶活性的影响
小写英文字母表示实验组间差异显著($P < 0.05$), 大写英文字母表示养殖周期间差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 5 Effects of biofloc technology on lysozyme activity in the serum of *Carassius auratus gibelio*
Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P < 0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P < 0.05$).

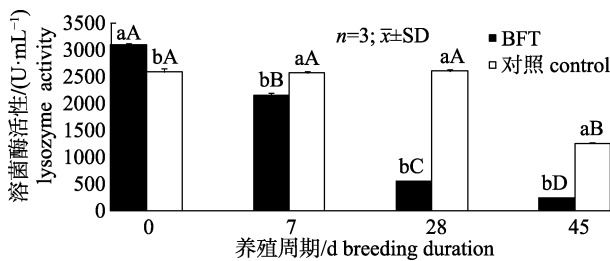


图6 生物絮团技术对异育银鲫体表黏液中溶菌酶活性的影响

小写英文字母表示实验组间差异显著($P < 0.05$), 大写英文字母表示养殖周期间差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 6 Effects of biofloc technology on lysozyme activity in the skin mucus of *Carassius auratus gibelio*
Lowercase means significant difference between the experimental groups ($P < 0.05$). Uppercase means significant difference among different breeding periods ($P < 0.05$).

2.4 BFT对异育银鲫HSP70表达的影响

养殖45d后,与对照组相比,BFT组HSP70在脾、肾、肝和鳃中的表达量分别上调了1.29倍、1.34倍、1.87倍和1.68倍,HSP70在异育银鲫肝和鳃中的表达量均高于其在脾和肾中的表达。

2.5 BFT对异育银鲫抗病力的影响

由图7可知,异育银鲫经不同浓度嗜水气单

胞菌感染后,BFT组累积死亡率显著低于对照组。在高浓度(4.2×10^8 CFU/mL)细菌感染的BFT组和对照组累积死亡率均为100%,而在中浓度(4.2×10^7 CFU/mL、 4.2×10^6 CFU/mL)和低浓度(4.2×10^5 CFU/mL)细菌感染的BFT组累积死亡率均低于对照组,BFT组的累积死亡率分别为62.5%、25%和0,而对照组分别为75%、37.5%和12.5%。对照组和BFT养殖试验组异育银鲫经灭菌生理盐水注射后7d内均无死亡情况。

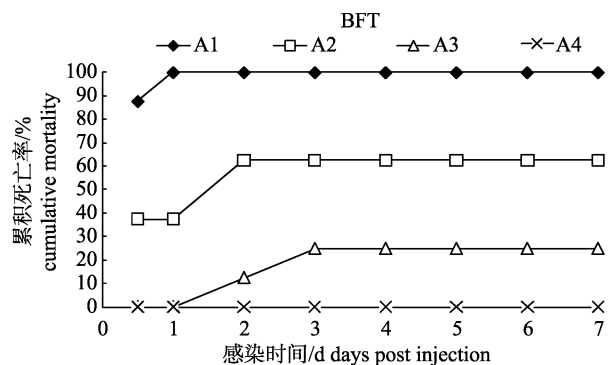
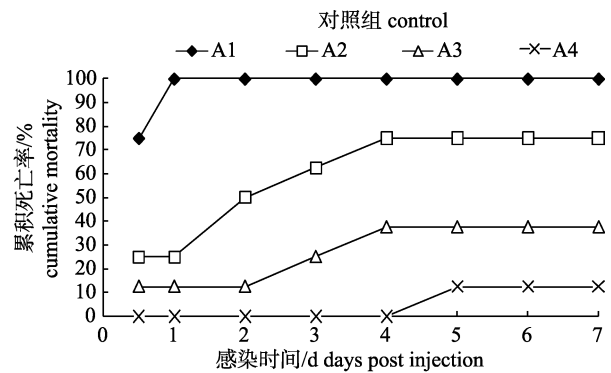


图7 生物絮团技术对异育银鲫抗细菌感染能力的影响
BFT: 生物絮团技术养殖实验组,不换水,只补存蒸发掉、渗漏或取样丢失的水量; control: 对照组,每日换水1次,每次换水1/4~1/3。A1、A2、A3和A4:不同细菌浓度感染组,菌悬液浓度分别为 4.2×10^8 CFU/mL、 4.2×10^7 CFU/mL、 4.2×10^6 CFU/mL和 4.2×10^5 CFU/mL。

Fig. 7 Effects of biofloc technology on disease resistance of gibel carp against bacterial infection

BFT: biofloc technology system without any water exchange; control: common aquaculture system with 1/4~1/3 water exchange each day. A1, A2, A3 and A4 stand for different bacterial concentration of 4.2×10^8 CFU/mL, 4.2×10^7 CFU/mL, 4.2×10^6 CFU/mL and 4.2×10^5 CFU/mL, respectively.

3 讨论

3.1 BFT对异育银鲫生长和存活的影响

生物絮团不但可以改善水质,还可作为一种

高效的饵料,促进养殖动物生长和提高存活率。Avnimelech等^[5]、Azim等^[6]和朱学宝^[26]研究发现,使用BFT养殖罗非鱼,其个体增重量和净产量显著增加,证明生物絮团具有良好的饵料效果。Kuhn等^[27]和Emerenciano等^[28]发现在对虾养殖中应用BFT也可显著提高养殖对虾的增重率。生物絮团对仿刺参幼参的生长具有积极的促进作用^[21]。本研究表明,随养殖周期延长,异育银鲫个体增重率、脏体比和肝体比呈上升趋势;BFT组异育银鲫个体增重率和特定生长率高于对照组,存活率显著高于对照组;另外,BFT组异育银鲫肠道中消化酶活性提高,这表明异育银鲫对饲料的消化吸收能力有所提高,这在一定程度上与BFT促生长作用相关。因此,BFT适宜滩涂主要养殖鱼类——异育银鲫养殖,可有效地促进生长和提高存活率。

3.2 BFT对异育银鲫消化酶活性的影响

消化酶是反应机体营养生理的重要指标,与其生长发育密切相关。徐武杰^[29]和Moss等^[30]研究指出,BFT可以提高凡纳滨对虾AMS、LPS和蛋白酶活性;龚全等^[31]在奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)饵料中添加云芝多糖,1.0 g/kg添加组中其胃、前肠和中肠蛋白酶活性均显著高于对照组。本研究结果表明,向水体中添加糖蜜培养生物絮团可显著提高异育银鲫肠道中AMS、LPS和胃蛋白酶活性。在饵料中添加能量物质、微生物制剂等对水生动物消化酶活性有较大的影响^[32-35]。同时已有研究表明,类似生物絮团的活性污泥中含有许多种类的胞外酶,如蛋白酶、淀粉酶^[36-37]。因此,我们可以推测BFT可能通过如下3种方式促进养殖动物生长:(1)生物絮团中的多糖类物质可以对肠道消化酶活性产生积极影响;(2)生物絮团含有多种胞外酶,这些胞外酶会释放到消化道中,对养殖动物消化酶活性产生积极影响;(3)生物絮团中含有大量产聚β-羟基丁酸酯的细菌,这些絮团被养殖动物摄食后,聚β-羟基丁酸酯被水解为羟基丁酸,降低肠道pH,从而增强肠道蠕动和消化酶活力,促进对营养物质的消化吸收。生物絮团的营养组成、活性物质、胞外酶特性等如何影响养殖动物消化酶活性还有待深入研究。

3.3 BFT对异育银鲫非特异性免疫的影响

鱼类免疫分为特异性免疫和非特异性免疫,其中,非特异性免疫和抗氧化防御系统是维持水生动物健康、应对环境胁迫的主要生理机制,同时,非特异性免疫又分为细胞防御和体液防御。其中,体表黏液是体液防御的第一道防线,能最有效阻止病原入侵或中和病原。本研究主要通过测定异育银鲫体表黏液和血清中总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)和溶菌酶(LSZ)活性,研究BFT对异育银鲫非特异性免疫的影响。

T-AOC可反映机体抗氧化防御系统的总体水平,SOD是抗氧化防御系统中最重要抗氧化酶,SOD活性降低时,生物体内自由基含量会增加,从而破坏生理平衡,影响机体免疫^[19]。LSZ是水生动物体液防御因子之一,破坏致病菌细胞壁,具有直接杀菌作用^[38]。已有研究表明,BFT可提高草鱼^[19]、鲫^[20]、仿刺参幼参^[21]、凡纳滨对虾^[39]、吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[40]等的T-AOC、LSZ、SOD酶活。本研究中BFT组体表黏液中SOD、血清中T-AOC活力和LSZ活性均显著高于对照组,表明BFT对异育银鲫的抗氧化防御系统起到一定的积极作用。同时,笔者进一步研究表明,当总悬浮物浓度为300~800 mg/L时,BFT可显著上调免疫相关基因——过氧化物酶(myeloid-specific-peroxidase)、角蛋白-8(keratin 8)、双特异性磷酸酶1(dual specificity phosphatase 1)、白细胞介素-11(interleukin-11)、内凝集素(intelectin)、嘌呤核苷磷酸化酶-5(purine nucleoside phosphorylase 5)和c-型溶菌酶(c-type lysozyme)等基因的表达(数据尚未发表),这些基因在异育银鲫抗病病毒感染中发挥着重要的作用^[41]。并且,随着养殖周期的延续,BFT和对照组中免疫相关酶活性均有所降低,这可能是与动物不同生长发育阶段的生理特点有关。

热休克蛋白HSP70是进化上高度保守、广泛研究和功能上至关重要的一类热休克蛋白家族,广泛存在于从低等生物到高等哺乳动物的整个生物界。HSP70具有多种生物学功能,包括分子伴侣、参与免疫反应、抗细胞凋亡功能、抗氧化功能、提高细胞的应激耐受性等^[42]。通过诱导HSP70

的表达可提高生物体对不良刺激的应激能力,如病原入侵、低氧、高温等,从而达到维持细胞生存和内环境稳定^[43]。本研究发现,BFT 组异育银鲫肝、肾、脾和鳃组织中 HSP70 表达均高于对照组,说明 BFT 可提高异育银鲫应急能力和免疫力。同时,进一步嗜水气单胞菌人工感染实验证实,BFT 组异育银鲫获得了一定的免疫相对保护力,增强了抗细菌感染的能力。

异育银鲫是滩涂主要鱼类养殖品种之一,但近年来“大红鳃”流行致使该养殖业几近“停养”状态。本研究结果表明,BFT 适于异育银鲫养殖,对其生长、存活和抗性具有积极的促进作用,这将为异育银鲫疾病预防和 BFT 在沿海或浅海滩涂鱼类养殖中的应用奠定了理论基础,具有重要的现实指导意义。同时,滩涂鱼类 BFT 养殖中,基于养殖池塘和水体耐盐碱等特性,絮团营养价值、水体或絮团微生物区系特点、特定益生菌开发以及絮团中有效成分分析及高效利用,以及 BFT 对养殖对象免疫力的调控机制亟待深入研究。

参考文献:

- [1] Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, et al. Biological effects of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1983, 8(1): 1-13. [蒋一珪, 梁绍昌, 陈本德, 等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应[J]. 水生生物学报, 1983, 8(1): 1-13.]
- [2] Wu T, Ding Z F, Zhu C Y. Epidemiological investigation and survey of gill hemorrhagic disease in silver prussian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Fisheries Science, 2014, 33(5): 283-287. [吴霆, 丁正峰, 朱春艳. 异育银鲫鳃出血病流行病学调查和研究[J]. 水产科学, 2014, 33(5): 283-287.]
- [3] Wu T, Zhu C Y, Wang Y, et al. Prevention and control technology of gill hemorrhagic disease in silver prussian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. China Fisheries, 2016(1): 15-16. [吴霆, 朱春艳, 王瑶, 等. 异育银鲫病毒性鳃出血病预防与控制技术[J]. 中国水产, 2016(1): 15-16.]
- [4] Mo W Y, Chen Z T, Leung H M, et al. Application of veterinary antibiotics in China's aquaculture industry and their potential human health risks[J]. Environ Sci Poll Res, 2017, 24(10): 8978-8989.
- [5] Avnimelech Y, Kochba M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using ¹⁵N tracing[J]. Aquaculture, 2009, 287(1-2): 163-168.
- [6] Azim M E, Little D C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2008, 83(1-4): 29-35.
- [7] 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, 426-427: 181-188.
- [8] Kim S K, Jang I K, Seo H C, et al. Effect of bioflocs on growth and immune activity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae[J]. Aquac Res, 2014, 45: 362-371.
- [9] Zhao P, Huang J, Wang X H, et al. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*[J]. Aquaculture, 2012, 354-355: 97-106.
- [10] Zhao Z G, Xu Q Y, Luo L, et al. Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system[J]. Aquaculture, 2014, 434: 442-448.
- [11] Ekasari J L, Hanif A M, Surawidjaja E H, et al. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources[J]. Fish Shellfish Immunol, 2014, 41: 332-339.
- [12] Luo G Z, Zhu Z W, Pan Y F, et al. The application of bio-flocs technology in aquaculture[J]. China Fisheries, 2010(2): 62-63. [罗国芝, 朱泽闻, 潘云峰, 等. 生物絮凝技术在水产养殖中的应用[J]. 中国水产, 2010(2): 62-63.]
- [13] Schryver P D, Crab R, Defoirdt T, et al. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture[J]. Aquaculture, 2008, 277: 125-137.
- [14] Azim M E, Verdegem M C J, Singh M, et al. The effects of periphyton substrate and fish stocking density on water quality, phytoplankton, periphyton and fish growth[J]. Aquac Res, 2003, 34(9): 685-695.
- [15] Crab R, Kochva M, Verstraete W. Bioflocs technology application in over-wintering of tilapia[J]. Aquac Eng, 2009, 40(2): 105-112.
- [16] Zhang X G, Zhao P, Wang G C, et al. The environmental and production effect of bio-floc aquaculture of *Litopenaeus vannamei* at different stocking densities[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(3): 111-119. [张许光, 赵培, 王国成, 等. 不同放苗密度凡纳滨对虾生物絮团养殖的环境和产出效应[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 111-119.]
- [17] 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]. Aquac Res, 2010, 41(4): 559-567.
- [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[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.]
- [19] Lu B G. Studies on application of biofloc technology in the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) aquaculture[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013. [卢炳国. 生物絮团技术在草鱼养殖中的应用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.]

- [20] Luo W. The application of bioflocs technology for crucian carp (*Carassius auratus*) aquaculture[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013. [罗文. 生物絮团技术在鲫养殖中的应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.]
- [21] 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): 793–799. [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): 793–799.]
- [22] Qiao G, Xu D H, Park S I. Clinical, hematological, and biochemical alterations in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* following experimental infection by *Vibrio scophthalmi*[J]. Fish Aquat Sci, 2012, 15: 233–239.
- [23] Xu L, Liu B, Xie J, et al. Effect on mannose oligosaccharides on growth performance, immunity and HSP70 expression of juvenile crucian carps (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(4): 656–664. [徐磊, 刘波, 谢骏, 等. 甘露寡糖对异育银鲫生长性能、免疫及 HSP70 基因表达的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(4): 656–664.]
- [24] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25: 402–408.
- [25] Wang Y J, Li R F, Li H, et al. Molecular epidemiology studies on *Aeromonas hydrophila* strains isolated from fresh water fish in Liaoning Province[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2012, 14(4): 128–134. [王友娟, 李荣峰, 李华, 等. 辽宁地区养殖淡水鱼感染嗜水气单胞菌的流行病学调查[J]. 中国农业科技导报, 2012, 14(4): 128–134.]
- [26] Zhu X B. Bacteria floccule as diet of filter-feeding fishes[J]. Journal of Fisheries of China, 1989, 13(4): 339–345. [朱学宝. 细菌絮凝体对滤食性鱼类饵料效果的研究[J]. 水产学报, 1989, 13(4): 339–345.]
- [27] Kuhn D D, Boardman G D, Lawrence A L, et al. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fish meal and soybean protein in shrimp feed[J]. Aquaculture, 2009, 296(1–2): 51–57.
- [28] Emerenciano M, Ballester E L C, Cavalli R O, et al. Effect of biofloc technology (BFT) on the early postlarval stage of pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*): growth performance, floc composition and salinity stress tolerance[J]. Aquac Int, 2011, 19(5): 891–901.
- [29] Xu W J. Research and application of biofloc technology in zero-water exchange shrimp culture system[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014. [徐武杰. 生物絮团在对虾零水交换养殖系统中功能效应的研究与应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.]
- [30] 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]. Aquac Res, 2001, 32(2): 125–131.
- [31] Gong Q, Xu G H, Fu T X. Effect of Coriolus versicolor polysaccharides on digestive function of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. Feed Industry, 2007, 28(20): 21–23. [龚全, 许国焕, 付天玺. 云芝多糖对奥尼罗非鱼消化机能的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(20): 21–23.]
- [32] Ye Y T, Zhang Y, Zhang Y, et al. The effect of multi-enzyme premix EA-II and aspergillus BA-I on activities of protease and amylase in intestine and hepatopancreas of carp[J]. Journal of Dalian Fisheries College, 1993, 8(1): 79–82. [叶元土, 张勇, 张宇, 等. 酶制剂 EA-II 和生物制剂 BA-I 对鲤肠道、肝脏的蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. 大连水产学院学报, 1993, 8(1): 79–82.]
- [33] Shiau S Y, Yu Y P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. Aquaculture, 1999, 179: 439–446.
- [34] Ziaei-Nejad S, Rezaei M H, Takami G A, et al. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*[J]. Aquaculture, 2006, 252(2–4): 516–524.
- [35] Ding X, Li Z J, Chen Y Q, et al. Effect of Chinese traditional medicines on growth and digestive activity of *Litopenaeus vannamei* (Boone)[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(1): 22–26. [丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 复合中草药对凡纳滨对虾生长和消化酶活力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(1): 22–26.]
- [36] Yu G H, He P J, Shao L M, et al. Enzyme activities in activated sludge flocs[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 77: 605–612.
- [37] Yu G H, He P J, Shao L M, et al. Enzyme extraction by ultrasound from sludge flocs[J]. J Environ Sci, 2009, 21: 204–210.
- [38] Zhan W B. Aquatic Animal Diseases[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004. [战文斌. 水产动物病害学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.]
- [39] Xu W J, Pan L Q, Sun X H, et al. Effects of bioflocs on water quality and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in zero-water exchange culture tanks[J]. Aquac Res, 2013, 44(7): 1093–1102.
- [40] Wang C H, Gao Q, Tan H X, et al. Effects of initial establishment of a biofloc technology system on the growth and immune enzyme activity of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(4): 707–715. [王潮辉, 高启, 谭洪新, 等. 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[J]. 中国水产科学, 2015, 22(4): 707–715.]
- [41] Xu L J, Podok P, Xie J, et al. Comparative analysis of differential gene expression in kidney tissues of moribund and surviving crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) in response to cyprinid herpesvirus 2 infection[J]. Arch Virol, 2014, 159: 1961–1974.
- [42] Hightower L E. Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity[J]. Cell, 1991, 66: 191–197.
- [43] Gabai V L, Meriin A B, Mosser D D, et al. HSP70 prevents activation of stress kinase: A novel pathway of cellular thermo tolerance[J]. J Biol Chem, 1997, 272: 18033–18037.

Effects of biofloc technology on growth performance and disease resistance of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*

ZHANG Mingming¹, XU Chen^{1,2}, ZHAO Zhigang³, WANG Zisheng¹, QIU Ming¹, LI Qiang¹, QIAO Guo¹

1. Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China;

2. Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

3. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China

Abstract: Biofloc technology (BFT) is a zero-water exchange, environmentally friendly aquaculture system that is now widely used since it is proven to enhance the growth and immunity of farmed fish. Gibel carp *Carassius auratus gibelio* (also known as Prussian carp) is a major aquaculture species in China, especially around Yancheng in Jiangsu Province, and it is also grown in mudflats. Developing an effective aquaculture system for gibel carp is also helpful for exploring mudflats usage in fish aquaculture. However, sudden outbreaks of disease have become a great and common threat to carp-farming operations, as this causes huge economic losses. Since 2009, an epizootic with severe mortality rates caused by cyprinid herpes virus 2 (CyHV-2) has emerged among cultured gibel carp in China, especially in the northern part of Jiangsu Province. The disease develops fast, spreads widely to almost all main areas of gibel carp, and mortalities may reach 90%–100%. Thus, disease becomes a limiting factor for aquaculture, yet effective methods to prevent or control CyHV-2 are lacking. In order to discuss the practical usage of BFT in mudflat fish culture in terms of disease prevention, this study subjected the representative species (gibel carp) to the disease, using fish cultured in two different systems: in a BFT system without any water exchange, and in a common recirculating system with 1/4–1/3 water exchange daily (as control), to analyze the effect of BFT on growth performance and disease resistance in this carp. Growth factors, digestive enzymes, and immune-related enzyme activities were detected by common methods using commercial kits; heat-shock protein 70 (HSP70) mRNA relative expression was analyzed with qRT-PCR; and disease resistance against bacterial infection was evaluated by challenge tests. The results demonstrated the following: (1) The rates of weight gain, specific growth, and survival of the gibel carp in the BFT group were significantly higher than occurred for fish in the control group ($P < 0.01$); however, the condition factor and viserosomatic ration did not significantly differ between the two groups ($P > 0.05$). (2) The activity of digestive enzymes (i.e., amylase, lipase and protease) in the BFT group was significantly enhanced (by 53.10%, 28.10% and 17.99%, respectively) in comparison with the control group ($P < 0.05$). (3) The super oxide dismutase activity in skin mucus, total antioxidant capacity in liver, and lysozyme in serum were significantly induced in the BFT group ($P < 0.01$). (4) HSP70 mRNA relative expression in the BFT group was up-regulated 1.29-, 1.34-, 1.87- and 1.68-fold in the spleen, kidney, liver and gill, respectively. (5) Disease resistance against bacterial infection was improved in the gibel carp eventually challenged by *Aeromonas hydrophila*. The cumulative mortalities of gibel carp cultured in the BFT system after experimental injection with bacterial concentrations of 4.2×10^7 CFU/mL, 4.2×10^6 CFU/mL and 4.2×10^5 CFU/mL, were 62.5%, 25%, and 0 within 7 days, respectively. These values were much higher than those detected among fish in the control system (i.e., 75%, 37.5% and 12.5%). This study demonstrated that BFT can improve growth performance, digestive enzyme activity, and disease resistance of gibel carp, and that BFT could be successfully more often used in mudflat fish aquaculture. We suggest that future studies with gibel carp cultured in BFT systems should investigate the optimum concentrations of total suspended solids, prebiotics specialized for mudflat fishes, and relevant molecular immune mechanisms.

Key words: bioflocs; *Carassius auratus gibelio*; growth performance; digestive enzyme; immune-related enzyme; heat-shock protein 70; *Aeromonas hydrophila*

Corresponding author: QIAO Guo. E-mail: qiaoguo44ok@163.com