

零换水条件下饲料蛋白水平对团头鲂幼鱼生长、 消化酶活力和血清生化指标的影响

孙盛明¹, 戈贤平¹, 朱健¹, 张武肖², 苏艳莉²

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081; 2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要:为探究零换水养殖水体中饲料蛋白水平对团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 幼鱼生长、消化酶活力和血清生化指标的影响, 实验设计投喂 4 个不同蛋白水平的生物絮团试验组 (BF-20%、BF-25%、BF-30%、BF-35%) 以及 1 个投喂 35% 蛋白的循环水对照组, 每个处理组设置 3 重复, 每个养殖桶放养初始体重为 (6.06 ± 0.01) g 团头鲂幼鱼 25 尾, 养殖周期为 6 周。结果表明: (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、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮水平; (2) BF-30% 和 BF-35% 组和对照组的终末体重、增重率和饲料系数差异不显著 ($P > 0.05$), 但其显著高于 BF-20% 组 ($P < 0.05$), 各处理组间的存活率没有显著性差异 ($P > 0.05$); (3) BF-25% 组、BF-30% 组和 BF-35% 组的肠道、肝脏超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性显著高于对照组和 BF-20% 组 ($P < 0.05$), 而 BF-20% 组的肝脏丙二醛含量显著高于其他处理组 ($P < 0.05$); BF-25% 组、BF-30% 组和 BF-35% 组的血清碱性磷酸酶和溶菌酶活性显著高于对照组和 BF-20% 组 ($P < 0.05$), 而其血清中总蛋白含量、白蛋白含量、谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力差异不显著 ($P > 0.05$)。研究表明, 零换水条件下饲料中 35% 蛋白水平减少至 25% 并不影响团头鲂幼鱼的生长和非特异性免疫力。

关键词:团头鲂; 生物絮团; 蛋白水平; 生长; 血液生化指标

中图分类号: Q592.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2017)01-0068-07

生物絮团技术是目前较为先进的水产养殖技术之一, 有效解决集约化养殖所产生的环境污染问题以及水产品质量安全问题; 其作用基础是絮团内密集的活性异养细菌可以通过增加水体的 C/N 比值来促进絮团形成, 在该过程中异养细菌通过吸收利用水体中的无机氮来合成自身的菌体蛋白, 把水体中的氨氮、亚硝酸盐氮等无机氮转化为养殖动物可利用的蛋白源, 从而控制了水体中氨氮、亚硝酸盐氮水平 (Avnimelech et al, 1994; Avnimelech, 1999; 罗亮等, 2011)。生物絮团由微生物和有机颗粒组成, 在养殖中作为补充食物来源, 可提供一部分重要的蛋白需求 (Ballester et al, 2010; Wu et al, 2014); 因

此推测生物絮团能补充水产养殖动物饲料中蛋白质摄入不足的部分, 从而使用低蛋白饲料来减少鱼粉使用量, 降低饲料成本, 提高生产效率。

目前, 生物絮团技术普遍应用在凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) (Stephen, 1995; Burford et al, 2004)、罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) (刘杜鹃等, 2013) 等甲壳类动物的养殖中; 近年来, 在罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) (Azim & Little, 2008)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) (卢炳国等, 2013)、鳙 (*Aristichthys nobilis*) (李朝兵等, 2012) 和团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) (江晓俊等, 2014) 等鱼类养殖中也有相关报道。团头鲂因其肉质鲜美、生长快、经济价值高, 为我国主要养殖淡水鱼类之一 (Ke, 1975)。鉴于生物絮团富含天然异养细菌和生物活性物质, 在增强水产动物的抗病力方面具有良好的养殖效果 (Crab et al, 2009)。在零交换养殖系统中适当投喂低蛋白饲料, 生物絮团能否维持团头鲂幼鱼的免疫机能尚不清楚, 尤其是生物絮团对饲料中蛋白质的潜在贡献有待探明。本研究旨在探究零交换养殖水体中饲料中不同蛋白水平对团头鲂生长、消化酶活性和血清生化指标的影响。

收稿日期: 2015-11-11

基金项目: 国家大宗淡水鱼类产业技术体系华东养殖岗位 (CARS-46-14); “十二五” 国家科技支撑计划 “长江下游池塘高效生态养殖技术集成与示范” (2012BAD25B07); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (2015C06XK01)。

作者简介: 孙盛明, 1983 年生, 男, 博士, 副研究员, 研究方向为水产动物健康养殖。E-mail: sunsm@ffrc.cn

通信作者: 戈贤平, 1963 年生, 男, 博士, 研究员。E-mail: gexp@ffrc.cn

1 材料与方法

1.1 饲料配方设计

本实验设计了生物絮团养殖系统中 4 种不同蛋白质水平(20%、25%、30% 和 35%)的饲料配方(表 1),分别设计为 BF-20%、BF-25%、BF-30%、BF-35%。将部分原料先进行粉碎,对粉碎后的原料在 60 目孔径的筛子过筛后,按表 1 的配比准确称量原料并均匀混合,饲料原料使用逐级混匀的方法,将充分混匀的原料在制粒机(SLP-45 型)中制成颗粒饲料,将制作好的颗粒饲料自然风干后在 4℃ 的冰箱中保存。

表 1 饲料组成及营养成分含量(干物质) %

Tab.1 Feed composition and nutrient content (dry mass basis)

饲料组成	BF-20%	BF-25%	BF-30%	BF-35%
鱼粉	5	5	5	5
棉粕	10	10	10	10
菜粕	10	10	10	10
豆粕	3.0	17.7	32.5	47.4
小麦粉	42.5	27.4	12.3	0.0
米糠	21.6	22.1	22.5	19.7
豆油	2.6	2.6	2.5	2.6
大豆磷脂	1	1	1	1
氯化胆碱	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素预混料 ^①	1	1	1	1
磷酸二氢钙	1.2	1.2	1.2	1.2
矿物质预混料 ^②	1	1	1	1
沸石粉	0.5	0.5	0.5	0.5
合计	100	100	100	100
饲料粗蛋白	19.9	24.9	29.8	34.8
饲料粗脂肪	7.12	7.09	7.12	7.11
饲料粗灰分	9.24	9.18	9.22	9.19
饲料能量/kJ·g ⁻¹	18.45	18.77	18.08	19.42

注:① 维生素预混料:维生素 A,900 000 IU;维生素 D,250 000 IU;维生素 C,5 000 mg;维生素 E,4 500 mg;维生素 B₂,1 090 mg;维生素 K₃,220 mg;维生素 B₁₂,0.02 mg;维生素 B₁,320 mg;维生素 B₆,5 000 mg;泛酸盐,1 000 mg;生物素,50 mg;叶酸,165 mg;烟酸,2 500 mg;胆碱,60 000 mg。②矿物质预混料:硫酸铜,2.5 g;硫酸铁,28 g;硫酸锌,22 g;硫酸锰,9 g;亚硒酸钠,0.045 g;碘化钾 0.026 g;氯化钴 0.1 g。3. 总能按蛋白质 23.64 kJ/g、脂肪 39.54 kJ/g、碳水化合物 17.15 kJ/g 计算,其他为实测值。

Note: ① Vitamin mix (IU or mg/kg of diet): Vitamin A, 900 000 IU; Vitamin D, 250 000 IU; Vitamin C, 5 000 mg; Vitamin E, 4 500 mg; Vitamin B₂, 1 090 mg; Vitamin K₃, 220 mg; Vitamin B₁₂, 0.02 mg; Vitamin B₁, 320 mg; Vitamin B₆, 5 000 mg; Pantothenate, 1 000 mg; Biotin, 50 mg; Folic acid, 165 mg; Niacin acid, 2 500 mg; Choline, 60 000 mg. ② Mineral mix (g/kg of diet): CuSO₄ · 5H₂O, 2.5 g; FeS₄ · 7H₂O, 28 g; ZnSO₄ · 7H₂O, 22 g; MnSO₄ · 4H₂O, 9 g; Na₂SeO₃, 0.045 g; KI, 0.026 g; CoCl₂ · 6H₂O, 0.1 g. 3. The dietary gross energy was calculated as protein: 23.64 kJ/g, lipid 39.54 kJ/g, carbohyd: 17.15 kJ/g. Other nutrient level are measured values.

1.2 实验鱼和饲养管理

养殖实验地点为中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南泉基地,所用团头鲂由淡水渔业研究中心南泉基地提供,实验前将团头鲂幼鱼暂养于室内循环水养殖桶(直径 820 mm,高 700 mm)中暂养 1 周,待团头鲂幼鱼稳定后开始分组实验。挑选体质健康、重量和规格一致的团头鲂幼鱼 375 尾随机等量地放入 15 个养殖桶中,初始均体重为(6.06 ± 0.01) g/尾,驯化 1 周后开始正式实验。

养殖期间,含有 4 个不同蛋白含量的生物絮团试验组不进行水体交换(BF-20%、BF-25%、BF-30%、BF-35%),只补充因水样采集和蒸发损失的水分,而循环水对照组采用蛋白含量为 35% 的配合饲料(RAS)。每天的投饲时间为 08:00、12:00 和 16:00,根据团头鲂幼鱼质量的 3% 投喂。实验期间室温养殖,水温为 24 ~ 29℃,pH 7.4 ~ 8.4,溶解氧高于 5 mg/L。养殖 6 周后,对禁食 1 d 的团头鲂幼鱼进行采样,并记录其生长指标。

1.3 生物絮团培养和水质管理

为快速得到生物絮团,实验开始前向实验组的养殖桶内添加预先培养好的等量生物絮团样品。实验开始时,每天 11:00 投饲结束后 30 min,分别按照各组饲料投饲量的 48%、60%、72%、84% 添加葡萄糖,通过添加葡萄糖使水体的 C/N 比达到 15。每天称取所需的葡萄糖先用养殖水体溶解后进行泼洒,并定期根据团头鲂摄食情况进行调整。

每天对养殖水槽的水温、pH 值、溶解氧浓度进行测定,pH 值使用 PHB-1 型便携式 pH 计测定,溶解氧浓度(DO)和水温使用 Thermo Orion 型号 810 便携式溶氧仪测定。每天 08:00 采集养殖桶内 200 mL 的水样测定相关水质指标,包括氨氮和亚硝酸盐氮等。

1.4 样品采集和处理

使用浓度为 100 mg/L 的 MS-222 麻醉团头鲂幼鱼,随机取 3 尾快速进行尾静脉采血,采集的血液置于抗凝管中用于制备血清,将抗凝管中的血液于低温(4℃)差速离心机中 8 000 r/min 离心 10 min 得到血清,将血清分装于已灭菌的离心管,在 -20℃ 中保存。称重后解剖鱼体,立即将肝脏放于离心管中 -20℃ 保存,用于测定丙二醛(Malonaldehyde,MDA)的含量、超氧化歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)和过氧化氢酶(Catalase,CAT)的活性。分离出完整的肠道后置于已灭菌的离心管中,于 -20℃ 冻存备用,用于测定肠道消化酶活力。

1.5 测定指标和方法

1.5.1 生长及形体指标 试验初始和结束时分别对各池的团头鲂幼鱼进行记数、称重。各生长指标计算公式如下：

增重率(WGR) = (W_t - W₀)/W₀ × 100%

饵料系数(FCR) = FI/(W_t - W₀)

成活率(SR) = N_t/N × 100%

式中:W₀为鱼初体均重(g);W_t为鱼末体均重(g);FI每尾鱼平均摄食饲料总量(g);N_t为收获尾数,N为放养尾数。

1.5.2 肠道消化酶活力 去除肠道样品内容物和附着物,冰双蒸水清洗肠道后剪碎置于电动匀浆器中冰水浴匀浆,4℃高速低温冷冻离心机6 000 r/min离心15 min,取上清液待测,于24 h内分析完毕。胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

蛋白酶活性定义为每1 mg组织蛋白在37℃、每1 min酶液蛋白生成1 μg氨基酸相当于1个酶活力单位;淀粉酶活性定义为组织中每1 mg酶液蛋白在37℃与底物作用30 min、水解10 mg淀粉为1个酶活力单位;脂肪酶活性定义为组织中每1 mg酶液蛋白在37℃、1 min催化产生1 μg分子脂肪酸的酶量为1个脂肪酶活力单位(U)。肠道酶液蛋白含量以牛血清蛋白为标准,用南京建成生物工程研究所的试剂盒,考马斯亮蓝法测定。

1.5.3 肝脏抗氧化酶活力 肝脏样品与生理盐水按1:9(W:V)的比例制成10%的肝脏匀浆液,把匀浆液于4℃、5 000 r/min离心15 min,取上清液置于-70℃超低温冰箱中冻存备用。匀浆液上清液的蛋白浓度使用考马斯亮蓝法进行测定,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(CAT)和丙二醛(MDA)的含量均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测

定,测定方法和步骤按照试剂盒的说明进行操作。

SOD活性单位定义为每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的量为1个酶活力单位;CAT酶活性单位定义为每毫克组织蛋白每秒分解1 μmol的H₂O₂的量为1个酶活力单位;肝脏酶液蛋白含量以牛血清蛋白为标准,用南京建成生物工程研究所的试剂盒,考马斯亮蓝法进行测定。

1.5.4 血清生化指标 血清生化指标测定采用Pronto-E全自动生化分析仪(意大利BPC公司)测定,测定指标包括总蛋白(Total protein, TP)、白蛋白(Albumin, ALB)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)、溶菌酶(Lysozyme, LZM)、谷草转氨酶(Aspartate transaminase, AST)和谷丙转氨酶(Alanine transaminase, ALT);总蛋白含量测定用双缩脲比色法,白蛋白含量测定用溴甲酚绿比色法,碱性磷酸酶含量测定采用金氏法(磷酸苯二钠为底物),溶菌酶测定采用比浊法,试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.6 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,再进行多重比较(Duncan's procedure);P<0.05表示差异显著,所有的结果均以平均值±标准误(Mean±S E)表示。

2 结果与分析

2.1 水质指标监测

实验期间生物絮团试验组和循环水对照组的水温和溶解氧维持在一定的水平,pH值呈下降趋势,各试验组的氨氮和硝酸盐氮含量呈现先上升、后下降的趋势(表2)。

表2 不同试验组对养殖水质指标的影响

Tab.2 Water quality parameters in the different treatment groups

测定指标		对照组 RAS	试验组1 BF-20%	试验组2 BF-25%	试验组3 BF-30%	试验组4 BF-35%
水温/℃	平均值	26.40±0.22	26.70±0.10	26.53±0.25	26.17±0.35	26.43±0.26
	范围	24.70~28.70	24.50~29.10	24.20~28.80	23.80~28.70	24.00~28.60
DO/mg·L ⁻¹	平均值	7.25±0.26	7.46±0.38	7.58±0.33	7.72±0.46	7.88±0.49
	范围	6.26~8.50	6.53~8.31	6.60~8.02	6.44~8.73	6.83~8.55
pH	平均值	8.12±0.12	8.01±0.14	7.92±0.11	7.72±0.15	7.64±0.18
	范围	7.42~8.49	7.36~8.51	7.38~8.47	7.25~8.50	7.21~8.33
TAN/mg·L ⁻¹	平均值	0.21±0.02	0.33±0.03	0.35±0.02	0.34±0.02	0.32±0.04
	范围	0.10~0.49	0.21~0.68	0.18~0.65	0.15~0.66	0.18~0.61
NO ₂ ⁻ -N/mg·L ⁻¹	平均值	0.06±0.01	0.12±0.04	0.15±0.03	0.16±0.05	0.18±0.04
	范围	0.02~0.09	0.05~0.33	0.08~0.34	0.09~0.38	0.06~0.41

2.2 生长情况与饲料利用

由表 3 可知,BF-30% 和 BF-35% 生物絮团试验组团头鲂幼鱼的终末体重和增重率与循环水对照组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$),但显著高于 BF-20% 试验组 ($P > 0.05$)。BF-30% 和 BF-35% 试验组的饲料系数与对照组之间没有显著性差异 ($P > 0.05$),但显著低于 BF-20% 试验组 ($P > 0.05$),各处理组的成活率没有显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 鱼体消化酶活性和抗氧化能力

由表 4 可知,BF-30% 和 BF-35% 生物絮团试验组的蛋白酶活性与对照组没有显著性差异 ($P > 0.05$),淀粉酶和脂肪酶活性在各处理组之间

没有显著性差异 ($P > 0.05$)。BF-25%、BF-30% 和 BF-35% 试验组的超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性显著高于 BF-20% 试验组和循环水对照组 ($P < 0.05$);BF-25%、BF-30% 和 BF-35% 试验组的丙二醛含量与循环水对照组没有显著性差异,但显著低于 BF-20% 试验组 ($P < 0.05$)。

2.4 血液生化指标

由表 5 可知,BF-25%、BF-30% 和 BF-35% 生物絮团试验组的团头鲂血清碱性磷酸酶和溶菌酶活性显著高于循环水对照和 BF-20% 试验组 ($P < 0.05$),对于团头鲂血清中总蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力各处理组均无显著性影响 ($P > 0.05$)。

表 3 不同试验组对团头鲂幼鱼生长性能的影响

Tab.3 Growth rate of *M. amblycephala* in the different treatment groups

测定指标	对照组 RAS	试验组 1 BF-20%	试验组 2 BF-25%	试验组 3 BF-30%	试验组 4 BF-35%
初始体重/g	6.06 ± 0.17	6.06 ± 0.01	6.06 ± 0.01	6.07 ± 0.01	6.07 ± 0.01
终末体重/g	11.88 ± 0.93 ^a	10.74 ± 0.63 ^b	11.16 ± 0.52 ^{ab}	11.75 ± 0.24 ^a	11.92 ± 0.69 ^a
增重率/%	95.02 ± 17.15 ^a	76.28 ± 10.30 ^b	84.72 ± 8.62 ^{ab}	93.55 ± 3.89 ^a	96.48 ± 11.51 ^a
饵料系数	1.83 ± 0.29 ^a	2.27 ± 0.31 ^b	2.02 ± 0.22 ^{ab}	1.85 ± 0.14 ^a	1.78 ± 0.36 ^a
成活率/%	94.67 ± 1.53 ^a	93.33 ± 0.58 ^a	93.33 ± 0.58 ^a	94.67 ± 1.53 ^a	94.67 ± 1.53 ^a

注:同行数据不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Data with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

表 4 不同试验组对团头鲂幼鱼肠道消化酶活性和肝脏抗氧化能力的影响

Tab.4 Intestinal digestive enzyme activities and liver antioxidant status of *M. amblycephala* in the different treatment groups

测定指标	对照组 RAS	试验组 1 BF-20%	试验组 2 BF-25%	试验组 3 BF-30%	试验组 4 BF-35%
总蛋白酶/U · mg ⁻¹	0.68 ± 0.07 ^a	0.45 ± 0.07 ^b	0.58 ± 0.06 ^{ab}	0.64 ± 0.02 ^a	0.66 ± 0.10 ^a
淀粉酶/U · mg ⁻¹	2.52 ± 0.35	2.42 ± 0.42	2.38 ± 0.33	2.45 ± 0.52	2.65 ± 0.38
脂肪酶/U · g ⁻¹	15.24 ± 2.12	16.65 ± 3.01	14.13 ± 2.56	16.32 ± 2.96	15.28 ± 3.14
超氧化物歧化酶/U · mg ⁻¹	20.35 ± 3.02 ^b	18.22 ± 2.94 ^b	26.68 ± 2.52 ^a	30.45 ± 2.18 ^a	24.42 ± 3.36 ^a
过氧化物酶/U · mg ⁻¹	9.56 ± 1.42 ^b	10.13 ± 1.86 ^b	12.35 ± 1.10 ^a	14.29 ± 1.25 ^a	15.65 ± 1.08 ^a
丙二醛/mmol · mL ⁻¹	1.84 ± 0.42 ^a	2.25 ± 0.55 ^b	1.75 ± 0.78 ^a	1.72 ± 0.65 ^a	1.68 ± 0.82 ^a

注:同行数据不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Data with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

表 5 不同试验组对团头鲂幼鱼血清生化指标的影响

Tab.5 Serum biochemical indices of *M. amblycephala* in the different treatment groups

测定指标	对照组 RAS	试验组 1 BF-20%	试验组 2 BF-25%	试验组 3 BF-30%	试验组 4 BF-35%
总蛋白/g · L ⁻¹	54.61 ± 4.91	55.84 ± 6.68	54.22 ± 7.98	56.68 ± 8.06	58.98 ± 9.43
白蛋白/g · L ⁻¹	12.78 ± 0.78	12.25 ± 0.81	12.42 ± 0.69	12.42 ± 0.93 ^{ab}	12.98 ± 0.91
碱性磷酸酶/U · L ⁻¹	18.50 ± 5.12 ^b	16.33 ± 4.23 ^b	28.67 ± 4.55 ^a	24.51 ± 4.16 ^a	20.89 ± 5.02 ^a
溶菌酶/μg · mL ⁻¹	1.85 ± 0.25 ^b	1.76 ± 0.33 ^b	2.45 ± 0.38 ^a	2.86 ± 0.29 ^a	2.42 ± 0.42 ^a
谷草转氨酶/U · L ⁻¹	175.25 ± 17.27	171.69 ± 18.51	168.25 ± 17.46	174.47 ± 18.72	172.12 ± 17.02
谷丙转氨酶/U · L ⁻¹	9.43 ± 0.52	8.82 ± 0.48	8.61 ± 0.71	8.55 ± 0.67	8.44 ± 0.69

注:同行数据不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Data with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 饲料蛋白水平对团头鲂生长和水质的影响

异养细菌与水体中的浮游动植物、有机碎屑及残饵等形成可供水生动物摄食利用的生物絮团。有研究表明,生物絮团技术能使饲料蛋白得到二次循环利用,罗非鱼在生长过程中近 50% 的蛋白质需求均来源于生物絮团 (Avnimelech et al, 2008); 因此可以尝试在生物絮团养殖系统中适当降低饲料蛋白含量,利用生物絮团的营养组成补充鱼体所需的部分蛋白质需求。本研究在饲料蛋白含量降低至 25% 时,其增重率与循环水对照组没有显著性差异,表明饲料中粗蛋白的适当降低对生物絮团养殖系统中团头鲂幼鱼的生长性能没有影响,这与凡纳滨对虾的研究结果一致 (徐武杰, 2014)。一个合理的解释是生物絮团中含有鱼虾生长所需的蛋白质、必需氨基酸和维生素等营养成 (Decamp et al, 2004)。本研究结果表明,与对照组相比, BF-30% 和 BF-35% 生物絮团试验组显著降低了团头鲂的饲料系数,说明生物絮团能为养殖动物补充其营养需求的蛋白源,从而提高饲料的利用率。本实验结果还显示,生物絮团组与循环水对照组水质指标相似,生物絮团组能够有效降低水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 这也证实生物絮团中的细菌能通过利用碳源物质吸收并利用水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (Hari et al, 2006; 江晓浚等, 2014)。

3.2 蛋白水平对团头鲂消化酶和抗氧化力的影响

本研究表明,生物絮团试验组鱼体肠道中蛋白酶活性显著高于循环水对照组,而其肠道中淀粉酶活性和脂肪酶活性无显著性差异,这与斑节对虾的研究结果相似 (Anand et al, 2014); 这是因为絮团中的益生菌可改进团头鲂肠道菌群结构、提高饲料消化利用 (孙盛明等, 2015)。夏耘等 (2012) 研究发现,生物絮团包含单胞藻、浮游生物、细菌和颗粒有机体等,其内部微生物群落结构较为复杂且含多种有益微生物,因此零换水养殖系统中团头鲂摄食生物絮团可促进蛋白酶活性,进而提高饲料利用率。本研究表明,生物絮团养殖系统中投喂含有 25% ~ 35% 的蛋白饲料,团头鲂幼鱼抗氧化酶活性显著高于循环水对照组,这是因为生物絮团含有的活性物质如氨基酸等能够促进水生动物的抗氧化系统 (Ju et al, 2008)。

3.3 饲料蛋白水平对团头鲂血液生化指标的影响

动物的血液指标显示其机体的代谢和营养状况

以及生理健康状态,当环境胁迫因子对养殖动物产生应激或养殖动物体内发生病理性变化时,血清生化指标可反映鱼类的代谢、营养状况及免疫水平 (Holland et al, 2002; Affonso et al, 2007)。碱性磷酸酶是动物体内重要的代谢调控酶,直接参与磷酸基团的转移和钙磷代谢,在动物吸收营养物质的过程中发挥着重要作用。相关研究报道表明,碱性磷酸酶能通过改变病原体的表面结构,从而提高被机体识别和吞噬的能力 (Poelstra et al, 1997),溶菌酶是一种细胞非特异性免疫蛋白,在免疫防御过程中发挥重要作用,上述免疫酶活性作为评价水产养殖动物非特异性免疫力的主要指标 (马元庆等, 2013; 张秀珍等, 2014)。本研究表明,当生物絮团养殖系统中饲料蛋白含量由 35% 减少至 25% 时,团头鲂幼鱼碱性磷酸酶和溶菌酶活性无显著性差异,但高于循环水对照组。研究结果提示,生物絮团不仅节约饲料中蛋白添加量,而且能增强其非特异性免疫力,这可能是由于絮体内含有一些例如芽孢杆菌的益生菌 (孙盛明等, 2015)、多糖 (孙振等, 2013) 和生物活性物质等 (Ju et al, 2008); 此外,血清中总蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶和谷草转氨酶等指标差异不显著,这可能是由于恒定的试验环境适宜团头鲂生长、没有病害感染所致。

综上所述,当零换水条件下生物絮团养殖系统中饲料蛋白水平从 35% 减少至 25% 时,团头鲂幼鱼的生长、消化酶活力和非特异性免疫力并无显著性差异;表明生物絮团中营养物质可有效作为团头鲂摄食的蛋白源,其营养物质组成有待于进一步研究。

参考文献

- 江晓浚,孙盛明,戈贤平,等,2014. 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[J]. 水产学报, 38(8): 1113 - 1122.
- 李朝兵,2012. 生物絮团作为鲮饵料的研究与应用[D]. 上海:上海海洋大学.
- 刘杜鹃,潘晓艺,尹文林,等,2013. 生物絮团在罗氏沼虾育苗中的应用[J]. 上海海洋大学学报, 22(1): 47 - 52.
- 卢炳国,王海英,谢骏,等,2013. 不同 C/N 水平对草鱼池生物絮团的形成及其水质的影响[J]. 水产学报, 37(8): 1220 - 1228.
- 罗亮,张家松,李卓佳,2011. 生物絮团技术特点及其在对虾养殖中的应用[J]. 水生生态学杂志, 32(5): 129 - 133.
- 孙盛明,朱健,戈贤平,等,2015. 零换水条件下养殖水体中

- 碳氮比对生物絮团形成及团头鲂肠道菌群结构的影响[J]. 动物营养学报, 27(3): 948–955.
- 孙振, 王秀华, 黄捷, 2013. 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, 37(3): 473–480.
- 夏耘, 郁二蒙, 谢骏, 等, 2012. 基于 PCR-DGGE 技术分析生物絮团的细菌群落结构[J]. 水产学报, 36(10): 1563–1571.
- 徐武杰, 2014. 生物絮团在对虾零水交换养殖系统中功能效应的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学.
- Affonso E G, Silva E D C, Tavares-Dias M, et al, 2007. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology A, 147(2): 383–388.
- Anand P S S, Kohli M P S, Kumar S, et al, 2014. Effect of dietary supplementation of biofloc on growth performance and digestive enzyme activities in *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 418/419: 108–115.
- Avnimelech Y, 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems [J]. Aquaculture, 176(3/4): 227–235.
- Avnimelech Y, Kochba M, 2009. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing [J]. Aquaculture, 287(1/2): 163–168.
- Avnimelech Y, Kochva M, Diab S, 1994. Development of controlled intensive aquaculture systems with a limited water exchange and adjusted carbon to nitrogen ratio [J]. Israeli Journal of Aquaculture/Bamidgeh, 46(3): 119–131.
- Azim M E, Little D C, 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 283(1/4): 29–35.
- Ballester E L C, Abreu P C, Caballi R O, et al, 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system [J]. Aquaculture Nutrition, 16(2): 163–172.
- Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P, 2004. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system [J]. Aquaculture, 232(1/4): 525–537.
- Crab R, Kochva M, Verstraete W, et al, 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia [J]. Aquaculture Engineering, 40(2): 105–112.
- Decamp O, Cody J, Conquest L, et al, 2003. Effect of salinity on natural community and production of *Litopenaeus vannamei* (Boone), within experimental zero-water exchange culture systems [J]. Aquaculture Research, 34(4): 345–355.
- Hari B, Kurup B M, Varghese J T, et al, 2006. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems [J]. Aquaculture, 252(2/4): 248–263.
- Holland M C H, Lambiris J D, 2002. The complement system in teleosts [J]. Fish & Shellfish Immunology, 12(5): 399–420.
- Ju Z Y, Forster I, Conquest L, et al, 2008. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles [J]. Aquaculture Research, 39(2): 118–133.
- Ju Z Y, Forster I, Conquest L, et al, 2008. Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusion of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet [J]. Aquaculture nutrition, 14(6): 533–543.
- Ke H W, 1975. An excellent freshwater food fish, *Megalobrama amblycephala*, and its propagating and culturing [J]. Acta Hydrobiologica Sinica of China, 5: 293–314.
- Poelstra K, Bakker W W, Pieter A K, et al, 1997. Dephosphorylation of endotoxin by alkaline phosphatase in vivo [J]. The American journal of pathology, (4): 1163–1169.
- Stephen H J, Sandier P A, Browdy C L. 1995. 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, 26(1): 93–97.
- Wu J X, Lu Q P, 2014. 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, 426/427: 181–188.

(责任编辑 万月华)

Effects of Dietary Protein Level on Growth Rate, Digestive Enzyme Activity and Blood Biochemistry of Juvenile *Megalobrama amblycephala* Reared in Biofloc-based Culture Tanks

SUN Sheng-ming¹, GE Xian-ping¹, ZHU Jian¹, ZHANG Wu-xiao², SU Yan-li²

(1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, P. R. China;

(2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, P. R. China)

Abstract: Biofloc technology (BFT) presents a sustainable solution for aquaculture that does not threaten water quality control because of negligible water exchange. The technology also allows healthy culturing of fish and can use a low protein feed that decreases cost. This study was conducted to evaluate the growth, digestive enzyme activity and serum parameters of juvenile *Megalobrama amblycephala* reared in a biofloc-based aquaculture system with four dietary protein levels (BF-20%, BF-25%, BF-30% and BF-35%) and a control group. The aim of the study was to explore the influence of biofloc on the immune function of juvenile *M. amblycephala* and to determine the potential contribution of biofloc to dietary protein. *M. amblycephala*, initial body weight of (6.06 ± 0.01) g, were randomly assigned to 15 aquaculture tanks, with 25 individuals in each tank and three repetitions per treatment. During the experiment, *M. amblycephala* were fed on a formulated diet with no water exchange and *M. amblycephala* in the circulating water control group was fed on the formulated diet with 35% protein. The water temperature, pH, dissolved oxygen, ammonia nitrogen and nitrite nitrogen of each aquaculture tank were measured daily. After 6 weeks, water quality in the biofloc-based treatments was good, maintained by the biofloc that formed as a result of adding glucose to the tank. The biofloc maintains good water quality by removing ammonia, nitrate and nitrite nitrogen from the water. At the end of the experiment, the growth parameters (final weight, weight gain and specific growth rate) and feed conversion rate (FCR) in the control group were not significantly different ($P > 0.05$) from the BF-25%, BF-30% or BF-35% treatments, but were significantly different from the BF-20% group. There was no significant difference ($P > 0.05$) in survival rate among treatment groups. The activity of intestine protease in the BF-25%, BF-30%, BF-35% groups had no significant difference with the control group but was significantly higher than the BF-20% group, while no significant difference was observed in the activity of amylase or lipase among treatment groups ($P > 0.05$). Superoxide dismutase and catalase activities in the livers of the BF-25%, BF-30%, BF-35% groups were significantly higher than that of control group and the BF-20% treatment group. However, the malondialdehyde content in the BF-25%, BF-30% and BF-35% groups was not significantly different than the control group, but was significantly lower than BF-20% treatment group ($P < 0.05$). The fish in the BF-20% group had the lowest serum levels of alkaline phosphatase (ALK) and lysozyme (LZM), but no significant differences were found in the non-specific immunity (ALK and LZM) of fish fed the 25%, 30% and 35% protein diet ($P > 0.05$). No significant differences were observed among groups for total protein and albumin or the activities of aspartate transaminase and alanine transaminase ($P > 0.05$). The results of this study show that when juvenile *M. amblycephala* are reared in a biofloc-based tank, the dietary protein level can be reduced from 35% to 25% without affecting growth rate, physiological response or antioxidant level due to protein contributed by the growing biofloc.

Key words: *Megalobrama amblycephala*; biofloc technology; protein level; growth performance; blood biochemical index