

发酵饲料对杂交鲂鮠“皖江 1 号”生长性能·生理生化指标及养殖水质的影响

王永杰¹, 甘小顺², 徐双贵³, 陈红莲¹, 张静¹, 鲍俊杰¹ (1.安徽省农业科学院水产研究所, 安徽合肥 230031; 2.安庆市皖宜季牛水产养殖有限责任公司, 安徽安庆 246000; 3.安徽省新康饲料有限公司, 安徽合肥 230011)

摘要 [目的]为发酵饲料在规模化水产健康养殖中的应用积累资料。[方法]研究发酵饲料对杂交鲂鮠“皖江 1 号”生长性能、消化酶活性、免疫指标及养殖水质的影响。[结果]发酵饲料能提高杂交鲂鮠的生长性能, 优化肠道中的微生物菌群, 提高消化酶活性, 从而使饵料的利用率得到提升。此外, 生物发酵饲料能提高杂交鲂鮠的非特异性免疫和抗病能力。[结论]发酵饲料是一种新型、安全的优质配合饲料, 可以促进水产养殖业的可持续发展。

关键词 杂交鲂鮠; 免疫酶; 消化酶; 氨基酸; 水质

中图分类号 S963.5 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)16-0110-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.16.032



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Fermented Feed on the Growth Performance, Physiological and Biochemical Indices and Aquaculture Water Quality of Black Bream×Culter Hybrid Cultivar “Wanjiang No. 1”

WANG Yong-jie¹, GAN Xiao-shun², XU Shuang-gui³ et al (1. Institute of Aquaculture, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031; 2. Anqing Anhui Yijiniu Aquaculture Co., Ltd., Anqing, Anhui 246000; 3. Anhui Xinkang Feed Co., Ltd., Hefei, Anhui 230011)

Abstract [Objective] To accumulate data for the application of fermented feed in large-scale healthy aquaculture. [Method] The effects of fermented feed on the growth performance, digestive enzyme activities, immune indices and culture water quality of black bream×culter hybrid cultivar “Wanjiang No. 1” were studied. [Result] Fermented feed could improve the growth performance, optimize the microbial flora in intestinal tract and increase the activities of digestive enzymes, so as to improve the efficiency of feed utilization. In addition, bio-fermented diet could improve the non-specific immunity and disease resistance of black bream×culter hybrid cultivar. [Conclusion] Fermented feed is a new safe and high quality compound feed, which can promote the sustainable development of aquaculture.

Key words Black bream×culter hybrid cultivar; Immune enzymes; Digestive enzymes; Amino acids; Water quality

杂交鲂鮠“皖江 1 号”是安庆市皖宜季牛水产养殖有限责任公司和安徽省农业科学院水产研究所等通过产学研结合, 应用传统育种(杂交、回交)手段, 突破种属界限, 扩大遗传变异, 将鲂、鮠的优良经济性性状结合起来, 通过多代选育后而育成的具有多种优良经济性性状(生长速度快、肉质鲜美、成活率高、抗病力强、饵料系数低等)水产养殖新品种, 深受广大养殖户的青睐。在杂交鲂鮠的养殖推广中, 高密度养殖中过量投饵引起大量残饵沉积, 造成养殖水体中氨氮、亚硝酸盐和硫化氢等有害物质严重超标, 从而导致病害的发生。目前在水产动物病害防治中抗生素和消毒剂仍然是主要手段, 这与人们对水产品追求绿色、健康、无抗观念之间的矛盾突出。因此, 应用免疫学原理实现无公害生态养殖, 提高水产动物的抗病力, 是确保水产品质量安全的重要手段。

生物发酵饲料是近年来研发的一种新型饲料, 饲料在发酵过程中产生大量活性益生菌、低聚糖、活性肽、有机酸等功能性成分, 具有提高水产动物免疫力和净化水质的作用^[1]。生物发酵饲料中这些功能性营养物质含有提高动物免疫力的关键因子, 当缺乏时会影响免疫系统的免疫保护功能, 从而导致降低肌体对细菌和病毒的抗感染能力。同时, 饲料发酵过程中产生特有的发酵酸香味, 诱导采食和有利于消化吸

收, 增加水产动物的采食量, 提高饲料利用率和促进动物生长。经过益生菌发酵后饲料原料, 饲料中的活菌进入水产动物肠胃内, 进一步繁殖并在肠道中定殖, 能刺激肠道免疫系统的免疫应答, 从而激活水产动物体内免疫因子, 增强机体抗病能力^[2]。长期使用发酵饲料, 饲料中的光合菌、芽孢杆菌等具有直接吸收水中的有机物质、或降解水体中有毒物质, 改善养殖水体的作用^[3]。

在人工高密度饲养模式下, 大量投饵产生残饵和排泄物等不断积累, 在缺氧和厌氧的条件下, 分解成氨氮、亚硝酸盐、硫化氢和甲烷等, 这些有害物质是导致水产动物病害频发的根本原因之一^[4]。因此, 如何控制好水质, 降低这些有害物质的浓度, 对于减少水产养殖疾病的发生至关重要。发酵饲料中含有大量的微生态制剂, 当微生态制剂进入水体后能消除水体中氨氮、硫化氢、有机酸等有害物质, 平衡酸碱度。用发酵饲料投喂水产动物有利于降低养殖饲料成本, 提高养殖产量和养殖效益^[5-6]。笔者开展投喂发酵饲料与常规饲料的养殖效果对比试验, 研究投喂发酵饲料对杂交鲂鮠生长性能、消化酶活性、血清免疫指标以及血清生化指标的影响, 通过对试验水体中氨氮、亚硝酸氮、硫化氢含量的定期检测与分析, 研究发酵饲料对养殖水质的影响, 旨在为发酵饲料在杂交鲂鮠“皖江 1 号”的无公害规模化健康养殖中的应用积累资料。

1 材料与方法

1.1 试验设计 选择面积约 0.16 hm² 的试验池塘 6 口, 每组

基金项目 安徽省科技攻关项目(1604a0702003); 安徽省农业科学院科技创新团队项目(18C0503); 安徽省水产产业技术体系项目(2016-84)。

作者简介 王永杰(1968—), 男, 安徽肥西人, 研究员, 博士, 从事水产动物养殖与病害防控研究。

收稿日期 2019-03-03

设 3 个平行。试验中使用的杂交鲂“皖江 1 号”健康鱼种, 初始平均体重 2.57 g, 规格大小基本相同, 来自安庆市皖宜季牛水产养殖有限责任公司养殖基地自繁, 分为对照组和试验组, 按放养密度 30 万尾/hm², 将试验鱼种随机分配。

试验发酵饲料购自安徽合肥新康饲料有限公司, 饲料配方由鱼粉、大豆浓缩蛋白、豆粕、花生麸和玉米等组成, 粗蛋白含量在 28% 以上。发酵活菌成分为乳酸菌、芽孢杆菌、光合菌等含量在 3.0×10⁸ CFU/g 以上的活菌, 各组分比分别为 12%、60% 和 28%。

发酵条件如下: 设定脂肪酶发酵温度 25~30 ℃, 盐度 5‰, pH 7.0~7.5; 设定蛋白酶发酵温度 28~32 ℃, 盐度 8‰, pH 8.0; 设定淀粉酶发酵温度 32~35 ℃, 盐度 5‰, pH 8.0~8.5。

试验时间从 2018 年 6 月 1 日开始至 8 月 31 日结束, 饲养周期为 92 d, 每天饲料投喂量占鱼总体重量的 2%~4%, 分别于 08:30 和 17:30 投喂。每周一 09:30 使用 MR 220A 水质分析仪检测试验塘水体中 pH 以及氨氮、硫化氢、亚硝酸盐的含量。

1.2 样品采集 92d 饲养试验周期结束后, 将试验鱼禁食 24 h 后, 用丁香酚麻醉, 随机挑选取样, 逐个称重、测量体长。记录测量完成后, 从每个试验组中随机抽取 10 尾, 用 2.5 mL 注射器(1% 的肝素钠润洗) 从心脏中取血, 注入 1.5 mL 的离心管中。将血样置于 4 ℃ 冰箱中静置 2 h, 然后 4 ℃、转速 3 500 r/min 下离心 5 min, 将上清液分装于 0.5 mL 的离心管中, -80 ℃ 冰箱中保存备用。采血完成后, 依次解剖称量试验鱼的胃、肠道和肝脏, 分装于 2 mL 离心管中, -80 ℃ 冰箱

中保存, 供下一步试验使用。

1.3 生长性能和形体指标测定 试验数据采用单因素方差分析法(ANOVA) 进行统计与分析, 并结合 Duncan' 法进行多重比较。试验结果均以“平均值±标准差”(x̄±SD) 来表示, 并使用 SPSS 17.0 统计软件对试验数据进行统计与处理。

$$\text{增重率(WGR)} = 100\% \times (m_i - m_o) / m_o \quad (1)$$

$$\text{成活率(SR)} = 100\% \times n_i / n_o \quad (2)$$

$$\text{脏体比(VSI)} = 100\% \times m_v / m_b \quad (3)$$

$$\text{肝体比(HSI)} = 100\% \times m_l / m_b \quad (4)$$

$$\text{饲料系数(FCR)} = m_f / m_i \quad (5)$$

$$\text{肥满度(CF)} = 100\% \times m_v / l^3 \quad (6)$$

式中, m_i 为平均末重, m_o 为平均始重, d 为天数; n_o 为开始时的数量, n_i 为结束时的数量; m_b 为体重, m_i 为鱼体增加体重, m_f 为投喂饲料重量, m_l 为肝脏质量, m_v 为内脏质量; l 为体长。

1.4 血清生理生化指标检测 血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白、白蛋白、球蛋白、葡萄糖、总胆固醇和甘油三酯的含量使用南京建成试剂盒进行检测。

1.5 肠道消化酶活性测定 酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、α-淀粉酶和脂肪酶活性按南京建成试剂盒的说明书进行测定。

2 结果与分析

2.1 生长性能和形体指标测定 由表 1、2 可知, 试验组杂交鲂苗种的末重、成活率和饲料系数均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而肥满度、脏体比和肝体比与对照组相比没有显著差异 ($P > 0.05$)。

表 1 各组杂交鲂生长性能的测定结果

Table 1 The determination results of the growth performance of black bream×culter hybrid cultivar in each group

组别 Group	始重 Initial body weight g/尾	末重 Final body weight g/尾	成活率 Survival rate %	增重率 Weight gain rate %	饲料系数 Feed coefficient	特定增长率 Specific growth rate %/d
对照组 Control group	2.57±0.04	25.32±0.59	92.19	885.21	2.1	9.83
试验组 Test group	2.58±0.04	30.27±0.54*	96.72*	1 078.19	1.9*	11.97

注: * 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)

Note: * indicated significant differences with control group ($P < 0.05$)

表 2 各组杂交鲂形体指标和内脏指数的测定结果

Table 2 The determination results of shape index and visceral index of black bream×culter hybrid cultivar in each group %

组别 Group	肥满度 Condition factor	脏体比 Visceral body ratio	肝体比 Liver body ratio
对照组 Control group	2.66±0.04	9.19±1.17	1.46±0.06
试验组 Test group	2.69±0.03	9.28±0.85	1.52±0.05

2.2 血清生理生化指标 由表 3 可知, 试验组谷丙转氨酶活性显著低于对照组 ($P < 0.05$); 试验组总蛋白含量高于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$); 试验组总胆固醇、谷草转氨酶活性低于对照组 ($P > 0.05$), 而甘油三酯、球蛋白、白蛋白、葡萄糖均高于对照组 ($P > 0.05$)。

2.3 肠道消化酶活性 由表 4 可知, 试验组碱性蛋白酶活性

显著高于对照组 ($P < 0.05$); 试验组酸性蛋白酶活性比对照组高, 但差异不显著 ($P > 0.05$); 试验组 α-淀粉酶和脂肪酶的活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

2.4 水体中 pH 及氨氮、亚硝酸盐和硫化氢浓度的变化 从图 1 可以看出, 试验组和对照组水体初始 pH 为在 7.2 左右, 15 d 后对照组 pH 为 8.0~8.2, 投喂发酵饲料的试验组 pH 略低于对照组。试验过程中试验组和对照组的氨氮浓度仍呈上升趋势(图 2), 试验组和对照组水体初始氨氮浓度为 0.05 mg/L, 第 1~13 天呈现逐渐增高的趋势, 在 13 d 时出现向下的拐点, 拐点值为 0.192 mg/L, 与对照组相比显著下降。

从图 3 可以看出, 1~7 d 各组亚硝酸盐浓度含量低于 0.1 mg/L, 7 d 后对照组亚硝酸盐浓度的上升斜率明显高于试验组。各组硫化氢浓度的变化曲线见图 4。从图 4 可以看出, 1~7 d 试验组和对照组硫化氢浓度上升较快, 7 d 后趋于平稳。

表3 微生态制剂对杂交鲂鮈血清生理生化指标的影响

Table 3 Effects of micro-ecological preparation on serum physiological and biochemical indices of black bream×culter hybrid cultivar

组别 Group	谷丙转氨酶 Glutamic- pyruvic transaminase U/L	谷草转氨酶 Glutamic- oxalacetic transaminase U/L	总蛋白 Total protein g/L	白蛋白 Albumin g/L	球蛋白 Globin g/L	葡萄糖 Glucose mmol/L	总胆固醇 Total cholesterol mmol/L	甘油三酯 Glycerin trilaurate mmol/L
对照组 Control group	68.53±14.67	546.12±71.45	27.85±2.67	12.67±1.79	14.12±1.15	13.71±1.16	3.11±0.84	2.75±0.49
试验组 Test group	47.19±14.65*	450.42±69.27	32.95±3.79*	14.12±1.67	16.46±3.45	13.92±0.36	2.85±0.78	2.91±0.72

注: *表示与对照组差异显著($P<0.05$)Note: * indicated significant differences with control group($P<0.05$)

表4 微生态制剂对杂交鲂鮈肠道消化酶活性的影响

Table 4 Effects of micro-ecological preparation on the activities of intestinal digestive enzymes in black bream×culter hybrid cultivar U/mg

组别 Group	酸性蛋白酶活性 Acid protease activity	碱性蛋白酶活性 Alkaline protease activity	α -淀粉酶活性 α -amylase activity	脂肪酶活性 Lipase activity
对照组 Control group	0.054 2±0.013 1	0.599 2±0.058 1	0.041 5±0.087 0	0.044 7±0.006 9
试验组 Test group	0.086 8±0.007 9	0.796 7±0.037 3*	0.452 1±0.007 9*	0.085 1±0.005 3*

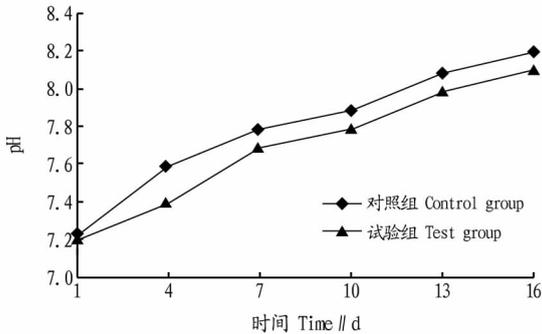
注: *表示与对照组差异显著($P<0.05$)Note: * indicated significant differences with control group($P<0.05$)

图1 水体中pH的变化

Fig.1 Changes of pH in water body

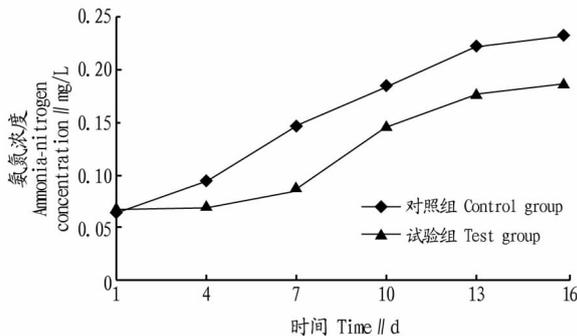


图2 水体中氨氮浓度的变化

Fig.2 Changes of ammonia-nitrogen concentration in water body

水体中直接使用微生态制剂(光合细菌、芽孢杆菌、EM菌),而关于生物发酵饲料对水质环境影响的研究较少。

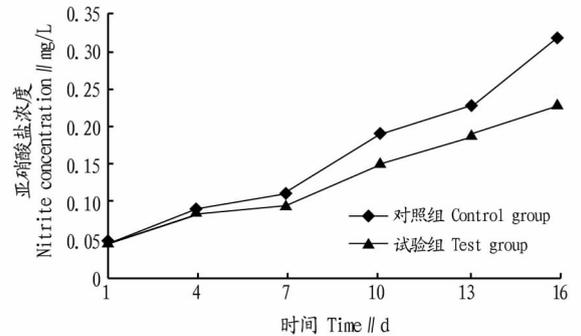


图3 水体中亚硝酸盐浓度的变化

Fig.3 Changes of nitrite concentration in water body

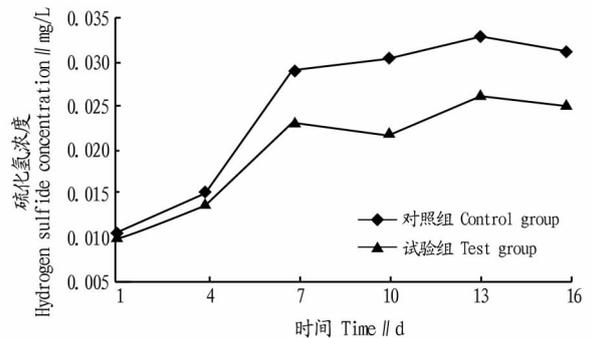


图4 水体中硫化氢浓度的变化

Fig.4 Changes of hydrogen sulfide concentration in water body

3 讨论

良好的水质是水产养殖成功的关键,在高密度的养殖环境下如何保障水质是广大养殖户共同关注的问题。高密度和大量投饲的养殖模式不可避免地出现大量残饵和排泄物的累积,在缺氧的条件下容易转化为氨氮、亚硝酸盐和硫化氢等有毒有害物质^[7-8]。杂交鲂鮈长期处于该环境中会引起生理代谢失调和抗病力下降,诱发疾病的发生。使用微生态制剂是当前水质调控的主要措施之一,这些报道大多集中在

该试验中用微生态制剂发酵饲料投喂杂交鲂鮈后,试验组水体中pH、氨氮、亚硝酸盐和硫化氢的浓度递增速度显著低于对照组。与对照组相比,试验组中氨氮、亚硝酸盐和硫化氢浓度在第14天出现向下的拐点。氨氮浓度下降可能与

(下转第118页)

HB2018、IA2、S12 和 MEX-GTO。这表明 5 株安徽地方流行毒株(AH-FD、AH-SX、AH-GD、AH-SD 和 AH-SH)与经典

毒株(CV777)、疫苗株(attenuated DR13)和 2011 年前我国分离株(LZC 和 CHS)的亲缘关系较远。

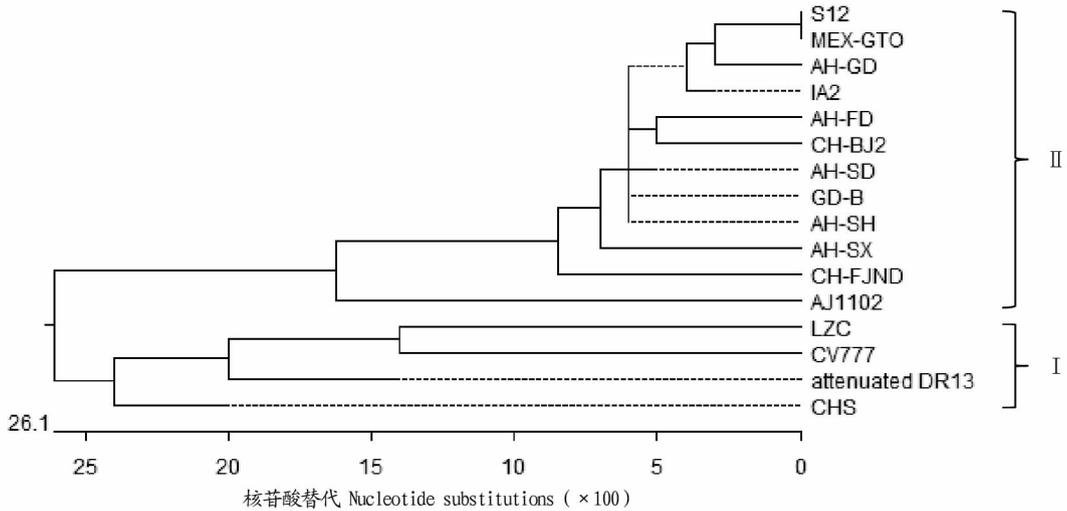


图3 PEDV M基因的核苷酸序列进化树分析

Fig.3 Phylogenetic tree analysis of M gene of PEDV

3 讨论

该研究对 2013—2017 年安徽省境内经胶体金试纸条确认为 PEDV 感染的 7 个猪场病料进行 PCR 扩增,均扩增出序列全长为 681 个核苷酸 PEDV M 基因,将其中核苷酸序列不同的 5 株安徽地方流行毒株(AH-FD、AH-SX、AH-GD、AH-SD 和 AH-SH)与参考毒株进行核苷酸序列同源性和遗传进化分析。结果表明,5 株安徽地方流行毒株间以及它们与 2011 年后的国内外分离株(GD-B、CH-FJND、CH-BJ2、CH-GDGZ、V7-HB2018、IA2、S12、MEX-GTO)的核苷酸序列同源性均较高,分别为 99.1%~99.9%和 99.0%~100%;它们与经典毒株(CV777)、疫苗株(attenuated DR13)和 2011 年前我国分离株(LZC 和 CHS)的序列同源性较低,为 96.9%~98.2%,亲缘关系也较远。这说明一方面 2011 年前后的 PEDV 分离株存在相对较大的差异,且 2011 年后 PEDV 的国内外主要分离株 M 基因差异不大,这与卢冰霞等^[8]、张红垒等^[9]、王隆柏等^[10] 研究结果基本一致,另一方面 PEDV M 基因具有高度保守性(核苷酸序列同源性为 96.9%~100%),2011 年后分离株虽然与此前毒株的基因序列存在相对较大差异,但这

种差异是否导致了 M 蛋白功能仍需进一步研究。

参考文献

- [1] PENSERT M B, DE BOUCK P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine[J]. Arch Virol, 1978, 58(3): 243-247.
- [2] 蔡宝祥. 介绍几种新近发现的猪传染病[J]. 畜牧与兽医, 1982(5): 218-221.
- [3] 芮聪杰, 潘孝成, 沈学怀, 等. 猪流行性腹泻病毒检测技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(25): 22-25.
- [4] 刘孝珍, 陈建飞, 时洪艳, 等. 2011 年猪流行性腹泻病毒的遗传变异分析[J]. 中国预防兽医学报, 2012, 34(3): 180-183.
- [5] LI W T, LI H, LIU Y B, et al. New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011[J]. Emerging infectious diseases, 2012, 18(8): 1350-1353.
- [6] DE HAAN C A M, KUO L, MASTERS P S, et al. Coronavirus particle assembly: Primary structure requirements of the membrane protein [J]. J Virol, 1998, 72(8): 6838-6850.
- [7] LAUDE H, GELFI J, LAVENANT L, et al. Single amino acid changes in the viral glycoprotein M affect induction of alpha interferon by the coronavirus transmissible gastroenteritis virus [J]. J Virol, 1992, 66(2): 743-749.
- [8] 卢冰霞, 秦毅斌, 何颖, 等. 2011 年-2014 年广西猪流行性腹泻病毒检测及其 M 基因的序列分析[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(3): 549-557.
- [9] 张红垒, 董洁, 梁亚冰, 等. 猪流行性腹泻病毒的 RT-PCR 鉴定及其 M、N 和 E 基因的序列分析[J]. 西北农业学报, 2012, 21(9): 24-28.
- [10] 王隆柏, 吴学敏, 车勇良, 等. 猪流行性腹泻病毒 ORF3 和 M 基因的克隆与序列分析[J]. 中国动物传染病学报, 2012, 20(3): 67-72.

(上接第 112 页)

生物发酵饲料诱食性好、饲料利用率高有关。氨氮浓度的下降减少了向亚硝酸盐和硫化氢的转化。使用生物发酵饲料投喂后,水体中藻类的生物量显著增加,促使水体的自我净能力增强。由此可见,发酵饲料是一种新型安全的优质配合饲料,可以减少抗生素和其他化学药物的使用,提高各类水产品的品质,促进水产养殖业的可持续发展。

参考文献

- [1] 吴小兰, 李巍, 马小能. 微生态制剂在水产健康养殖中的应用[J]. 水产科技情报, 2006, 33(3): 130-133.

- [2] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 35.
- [3] 丛国顺. 绿色生物饲料的种类及作用[J]. 养殖技术顾问, 2009(6): 47.
- [4] 丁丽, 章世元, 周维仁, 等. 微生态制剂对异育银鲫生长性能及免疫机能的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5689-5691, 5779.
- [5] 王安利. 营养素对水产动物免疫功能的影响(一)[J]. 水产科技, 2009(4): 5-11.
- [6] 陈萱, 梁运祥, 陈昌福. 发酵豆粕饲料对异育银鲫非特异性免疫功能的影响[J]. 淡水渔业, 2005, 35(2): 6-8.
- [7] 陈宇航, 韩冬, 朱晓鸣, 等. 发酵豆粕替代红鱼粉对异育银鲫(Carassius auratus gibelio)的生长、氮磷利用及免疫应答的影响[C]//2009 年中国水产学会学术年会论文集摘要集. 北京: 中国水产学会, 2009.
- [8] 李慧, 黄峰, 胡兵, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对斑点叉尾鲴生长和饲料表观消化率的影响[J]. 淡水渔业, 2007, 37(5): 41-44.