

接种两株有益菌的生物絮团净水性能及饲料化潜力

张波 刘泳宏 张倩倩 虞舟 王强 肖恩荣 邱东茹 吴振斌

WATER PURIFICATION PERFORMANCE AND FEED POTENTIAL OF BIOFLOCS INOCULATED WITH TWO BENEFICIAL BACTERIA

ZHANG Bo, LIU Yong-Hong, ZHANG Qian-Qian, YU Zhou, WANG Qiang, XIAO En-Rong, QIU Dong-Ru, WU Zhen-Bin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2023.0074>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同C/N生物絮团对洛氏急性铜暴露保护作用

PROTECTIVE EFFECTS OF DIFFERENT C/N RATIOS FORMED BIOFLOCS ON ACUTE COPPER EXPOSURE OF *RHYNCHOCYPRIS LAGOWSKII* DYBOWSKI

水生生物学报. 2021, 45(3): 601–608 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.046>

不同碳氮比对生物絮团形成及对日本沼虾生长、抗氧化酶和消化酶的影响

EFFECTS OF BIOFLOCS ON GROWTH, DIGESTIVE ENZYMES AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF *MACROBRACHIUM NIOONENSE*

水生生物学报. 2020, 44(6): 1239–1246 <https://doi.org/10.7541/2020.144>

凡纳滨对虾育苗水体中三种生物絮团的菌群多样性及Tax4Fun基因功能预测分析

IMPACTS OF *LITOPENAEUS VANNAMEI* ON MICROBIAL DIVERSITY OF THREE BIOFLOC AND PREDICTIVE ANALYSIS OF TAX4FUN GENE FUNCTION DURING HATCHERY PERIOD IN WATER

水生生物学报. 2019, 43(4): 786–796 <https://doi.org/10.7541/2019.093>

活性污泥菌胶团/生物絮团形成菌的分离鉴定及基因组分析

ISOLATION, IDENTIFICATION AND GENOMICS ANALYSIS OF ACTIVATED SLUDGE FLOC/BIOFLOC FORMING *PSEUDODUGANELLA EBURNEA* STRAINS

水生生物学报. 2020, 44(3): 655–662 <https://doi.org/10.7541/2020.080>

蔗糖输入对凡纳滨对虾养殖系统真核微生物群落的影响

THE EFFECTS OF SUCROSE ON MICROEUKARYOTIC COMMUNITY IN THE SHRIMP AQUACULTURE SYSTEM

水生生物学报. 2021, 45(1): 172–181 <https://doi.org/10.7541/2021.2019.142>

好氧反硝化细菌的鉴定及其脱氮特性研究

IDENTIFICATION AND DENITRIFICATION CHARACTERISTICS OF THE AEROBIC DENITRIFYING BACTERIA *PSEUDOMONAS FURUKAWAI* ZS1

水生生物学报. 2020, 44(4): 895–903 <https://doi.org/10.7541/2020.106>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2023.0074

接种两株有益菌的生物絮团净水性能及饲料化潜力

张波^{1,2} 刘泳宏³ 张倩倩^{1,2} 虞舟⁴ 王强⁴ 肖恩荣^{1*} 邱东茹¹ 吴振斌^{1*}

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 101400;
3. 东华理工大学水资源与环境工程学院, 南昌 330013; 4. 中国地质大学(武汉), 武汉 430072)

摘要: 为强化新的絮团形成菌伪杜拉氏菌YN12(*Pseudoduganella eburnea* YN12, YN)利用养殖尾水生成生物絮团效果, 并将絮团制成饲料, 探讨在胡子鲶(*Claris fuscus*)饲养上的可行性。在生物絮团系统中, 接种活性污泥(Activated sludge, AS)、伪杜拉氏菌YN12和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)并配制成7组(AS、YN、BS、AS+YN、AS+BS、YN+BS和AS+YN+BS), 分析絮团形态结构差异, 评估出对模拟养殖尾水氮去除效果及微生物群落结构优势的最佳组合, 最终收集最佳组合絮团烘干研磨成粉末添加到商业饲料制粒, 分成对照组和絮团组两组, 探讨对胡子鲶的生长性能、饲料利用率、肌肉营养成分及肝脏的消化酶和免疫酶活性的影响。结果表明: YN+BS组水质净化效果稳定, 总氮去除效果(89.6%)良好, 氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐积累低, 具有良好的絮团生成量(9.0 ml/L)及占据优势(47.5%)的反硝化菌群(包括*Hydrogenophaga*、*Flavobacterium*、*Pseudoxanthomonas*、*Burkholderiaceae*、*Comamonas*、*Acinetobacter*等)。该组絮团粉以5%比例与商业饲料混合、研磨加工制粒后用于胡子鲶养殖, 发现胡子鲶生长性能[包括存活率: $(100\pm0.00)\% > (95\pm0.00)\%$; 增重: $(2.81\pm0.35) \text{ g} > (2.52\pm0.52) \text{ g}$; 体长增加 $(1.68\pm0.36) \text{ cm} > (1.51\pm0.34) \text{ cm}$]和饲料系数 $55\pm0.03 > 46\pm0.12$ 均优于纯商业饲料的对照组, 然而在淀粉酶等消化酶、免疫酶包括过氧化氢酶、总超氧化物歧化酶、谷胱氨酸过氧化物酶等及肌肉营养成分包括谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸和甘氨酸等鲜味氨基酸上均低于对照组。YN+BS组絮团饲料在生长性能占据优势, 然而在消化能力、免疫活性及肌肉营养成分上并未表现出明显优势, 需要进一步调整水平絮团添加水平以优化胡子鲶饲养效果。

关键词: 有益菌; 水产养殖尾水; 生物絮团; 反硝化菌; 絮团饲料; 胡子鲶

中图分类号: X714; S963.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2024)02-0242-11



20世纪70年代以来, 高密度集约化养殖模式加大了饵料的投入, 该模式下饵料中仅有11%—36%的氮被鱼类利用^[1], 冗余饵料会残留在养殖水体和底泥中, 影响水产品的品质, 甚至影响了渔民的利益^[2, 3]。生物絮团由藻类、细菌、原生动物和真菌等组成, 生物技术(Biofloc technology, BFT)可将水体中的无机有害氮源转化为滤食性鱼类摄食利用的菌体蛋白, 通过原位或异位的方式与池塘养殖结合, 是目前较为有效的适合高密度养殖模式的水体处理技术之一^[4]。当养殖水体的有机碳和总氮的比例(C/N)达到(10—20):1, 异养菌快速生长并大量分泌胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances,

EPS), 形成具有絮凝作用的生物团聚体^[5], 并能充分吸收转化养殖水体中的氮来改善水质质量^[6, 7], 同时异养菌在很大程度上决定着絮团的结构、粒径及蛋白质和脂类等营养组分的差异^[8]。利用生物絮团絮凝技术转化养殖尾水中的氮, 以改善养殖水环境, 并将回收絮团饲料化, 降低饲料系数、促进鱼类生长, 是一项值得尝试的高效、健康、节水养殖模式及生物修复工艺。枯草芽孢杆菌^[9, 10]作为目前生物絮团培养常见的益生菌, 能有效降低生物絮凝系统构建过程中氨氮浓度、缩短生物絮凝系统启动时间、提高絮团粗蛋白含量, 更加有利于为养殖对象提供蛋白源^[11]; 活性污泥中富含大量生物絮团

收稿日期: 2023-05-09; 修订日期: 2023-05-26

基金项目: 国家自然科学基金(U20A2010)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (U20A2010)]

作者简介: 张波(1994—), 男, 硕士研究生; 研究方向为生物絮团及水生态修复研究。E-mail: 752221858@qq.com

通信作者: 肖恩荣, 副研究员; E-mail: erxiao@ihb.ac.cn 吴振斌, 研究员; E-mail: wuzb@ihb.ac.cn *为共同通信作者

所需的丝状菌和菌胶团,可用作生物絮团系统的接种物^[12];而伪杜拉氏菌YN12是新发现的菌胶团形成菌,该菌可以吸收多种单糖、二糖和多糖,利用养殖水体中高浓度的铵离子合成氨基酸和蛋白质,进而形成生物絮团被鱼类滤食利用^[13]。为探讨伪杜拉氏菌YN12作为新的絮团形成菌在水产养殖的实用性,本研究采用枯草芽孢杆菌、伪杜拉氏菌YN12以及活性污泥分成7个组合,利用模拟养殖尾水产出生物絮团,并监测评估出水水质质量、絮团产出量及微生物群落优势的最佳组合,并将回收的絮团以5%的添加水平和商业混合制成鱼饲料颗粒^[14],探讨其对胡子鲶的生长表现、肌肉营养成分及肝脏酶活性的影响,为该新菌属在生物絮团养殖的应用提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 试验接种菌

(1)伪杜拉氏菌YN12为实验室前期培养^[13],挑选合适的菌落于LB液体培养基(10 g/L氯化钠,5 g/L酵母提取物和10 g/L蛋白胨)上培养。(2)BS分离自商业菌粉,以表面粗糙不透明、污白色或者微黄色的单个菌在R2A液体培养基^[15](胰蛋白胨0.25 g/L,酸水解酪蛋白0.5 g/L,酵母浸粉0.5 g/L,可溶性淀粉0.5 g/L,磷酸氢二钾0.3 g/L,硫酸镁0.1 g/L,丙酮酸钠0.3 g/L,蛋白胨0.25 g/L,葡萄糖0.5 g/L)上作为培养对象。(3)活性污泥采集于武汉江夏污水处理厂好氧池。

1.2 生物絮团培养

实验采用6 L的透明玻璃缸(14 cm×19 cm×30 cm)模拟养殖水体中的絮团反应器,共14个,有效体积4 L,随机分为7组,依次为:活性污泥组(AS)、伪杜拉氏菌YN12组(YN)、枯草芽孢杆菌组(BS)、活性污泥+伪杜拉氏菌YN12组(AS+YN)、活性污泥+枯草芽孢杆菌组(AS+BS),伪杜拉氏菌YN12+枯草芽孢杆菌组(YN+BS)、活性污泥+伪杜拉氏菌YN12+枯草芽孢杆菌组(AS+YN+BS),每组两个平行。模拟养殖废水配制每升溶液中含有513 mg CH₃COONa、76 mg NH₄Cl、17 mg KH₂PO₄、10 mg MgSO₄·7H₂O、10 mg CaCl₂及微量元素:640 mg C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈(EDTA)、50 mg FeSO₄·7H₂O、130 mg ZnSO₄·399 mg MnCl₂·4H₂O、75 mg CuSO₄·5H₂O和38 mg CoCl₂·6H₂O组成^[16]。整个试验过程分为两个阶段,第一阶段为1—7d,每隔3d添加1次上述配方,共计3次;第二阶段为8—19d停止添加配方。同时全程不换水,用蒸馏水补充损失的水分。YN和BS分别在LB液体培养基、R2A液体培养基中扩大培养,单

菌组每次添加100 μL,混合组按1:1比例配制共计100 μL,试验1—10d每隔3d添加1次,11—19d停止添加。pH维持在7.5—9.5,进水C/N比在(15—20):1,24h连续曝气维持溶解氧(DO)>5 mg/L,环境温度控制在15—28℃。每3d测下水中各形态氮:氨氮(Ammonium nitrogen, AN)、亚硝酸盐(Nitrite-N, NO₂⁻-N)、硝酸盐(Nitrate-N, NO₃⁻-N)和总氮(Total nitrogen, TN)。

1.3 生物絮团添加饲料的制备

选取水质净化、絮团产出效果最佳处理组的生物絮团,60℃烘箱烘干24h,然后研磨成粉末,与商业饲料以5%添加量均匀混合并使用1 mm模具造粒,然后将颗粒放在60℃烘箱干燥至水分低于10%,将饲料放在干燥箱备用。

1.4 鱼生长实验

将初始平均体长和体重分别为(5.4±0.1) cm、(1.4±0.3) g的胡子鲶(*Claris fuscus*)随机分成4组,每个玻璃缸的放养密度为1000条/m²,玻璃缸有效体积20 L,放养2d前自来水消毒曝气,随机分成两组:絮团组 and 对照组。在15d的实验期间,絮团组前3d用通用饲料喂养,后12d用絮团饲料喂食,对照组全程喂养商业饲料(表1)。每天喂食2次(9:00/17:00),投喂饲料重量为体重的3%—5%饱食投喂。每次喂完后换1/3的水并清除玻璃缸中粪便和未摄食的饲料,每3d测基本的水质参数以保持所需水质稳定。在整个试验过程中,水温、pH和溶解氧分别保持在(25.0±1.0)℃、7.2±0.2和(6.5±0.5) mg/L, AN、NO₃⁻-N和NO₂⁻-N浓度维持在(3.82±0.59)、(1.41±0.35)和(0.06±0.05) mg/L。

1.5 测定方法

絮团指标表征 絮团形态:生物絮团先经冷

表1 商业饲料主要营养成分

Tab. 1 Chemical composition of commercial feed

指标 Index	近似成分 Approximate composition (%)	指标 Index	近似成分 Approximate composition (%)
水分	≥12	脯氨酸	2.36
粗蛋白	≥40	甘氨酸	2.56
粗脂肪	≥4	丙氨酸	2.24
粗纤维	≥12	缬氨酸	1.99
粗灰分	≥18	异亮氨酸	1.56
氯化钠	≥0.4—5.0	亮氨酸	3.09
赖氨酸	2.44	酪氨酸	1.42
天门冬氨酸	3.83	苯丙氨酸	1.83
苏氨酸	1.92	组氨酸	1.11
丝氨酸	1.90	精氨酸	2.76
谷氨酸	7.03		

冻干燥机(SCIENTZ-10N)干燥24h后,置于5 mL离心管中,再加入2.5%戊二醛,恒温固定1h;继续置于4℃冰箱固定12h;随后用0.2 mol/L磷酸缓冲液冲洗3次,每次10min;然后依次用30%、50%、75%、90%、95%、100%乙醇脱水,每次10min;最后将样品放在干燥器中干燥12h,置于场发射扫描电子显微镜(Hitachi S-4800)下观察并拍照。

絮团粒径: 取适量生物絮团样品,以激光粒度分布仪(BT-9300ST)为基础,测得生物絮团的颗粒粒径分布。

絮团量(ml/L): 在试验结束时,使用英霍夫锥形管取装置中1 L水样静置30min记录絮团体积。

水质指标测试方法 水质指标测试方法: 温度(T)、溶解氧(Dissolved oxygen, DO)和pH等指标用多参数水质测定仪(YSI556MPS)测定,每天2次;每隔3d测定模拟反应器出水各形态的氨氮(AN)、亚硝酸盐氮(NO_2^- -N)、硝酸盐氮(NO_3^- -N)、总氮(TN)及COD参照国标(GB 17378.4-2007)中相应方法测量^[17]。

微生物群落分析 在系统运行结束后,取各组系统中的生物絮团样品,-80℃储存,DNA提取和测序委托北京百迈客生物科技有限公司完成。生物絮团中微生物使用的引物序列为F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'^[18]。首先提取絮团DNA后,设计引物并在末端加上测序接头,接着利用PCR扩增并对其产物进行定量、纯化和均一化形成测序文库,然后通过高通量测序Illumina Novaseq 6000进行测序。碱基识别分析将上述测序所得的原始图像数据文件转化为原始测序序列。OTU(Operational Taxonomic Unit)信息以97.0%的相似度通过Usearch软件进行聚类,每个样本的群落组成均在各个水平进行统计分析。其中数据预处理: 主要有如下3个步骤: (1)质量过滤: 首先使用 Trimmomatic v0.33软件,对测序得到的原始序列进行过滤;然后使用cutadapt 1.9.1软件进行引物序列的识别与筛选,得到不包含引物序列的待分析数据; (2)双端序列拼接: 使用Usearch v10软件,通过overlap对每个样品的待分析数据进行拼接,接着根据不同区域的长度范围对拼接后数据进行长度过滤; (3)去噪: 使用QIIME软件进行去噪并去除嵌合体序列,得到最终有效数据。

鱼成长表现 在鱼饲养阶段1d和15d,对鱼进行计数,并饥饿24h后随机取8条测量体长和体重,根据以下等式计算生长和营养相关指数:

存活率(Survival rate, SR, %)= $[\text{最终鱼数}/\text{初始鱼数}]\times 100$

增重(Weight gain, WG, g)= $[\text{平均最终体重(g)}-\text{平均初始体重(g)}]$

增重率(Weight gain rate, WGR, %)= $[\text{平均最终体重(g)}-\text{平均初始体重(g)}]/\text{平均初始体重}\times 100$

体长增加(Lenght gain, LG, cm)= $[\text{平均最终体长(cm)}-\text{平均初始体长(cm)}]$

饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)= $[(\text{投入饲料干重}-\text{未摄食饲料干重})/(\text{g}/\text{鱼净增重(g)})]\times 100$

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)= $[\ln \text{平均最终体重(g)}-\ln \text{平均初始体重(g)}]\times 100/\text{培养天数}$

肌肉营养成分分析 为了确定饲料对于胡子鲶的生理影响,随机取8条采集肝脏和肌肉于-80℃冰箱保存。为确定肌肉的近似成分,样品在烘箱中60℃干燥至恒重,氨基酸参照(GB/T 18246-2019)饲料中氨基酸的测定。

肝脏生化分析 肝脏指标检测交于武汉赛维尔生物科技有限公司,其中α-淀粉酶(α-Amylase)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)、总胆红素(Total Bilirubin, TBIL)、总蛋白(Total protein, TP)和丙氨酸氨基转移酶(Alanine transaminase, ALT)由全自动生化仪检测;总超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活力、丙二醛(Malonaldehyde, MDA)、谷胱氨酸过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)用相应的商业试剂盒(南京建成试剂盒)。

数据分析 利用Excel和DPS数据分析系统进行数据统计和分析,PowerPoint 2021和Origin 2021进行绘图。实验数据用平均值±标准差(mean±SD)表示, $P<0.05$ 为差异性显著。

2 结果与讨论

2.1 生物絮团的形成及特征

生物絮团表观形态 取各组生物絮团在显微镜下(图 1a—g)观察形态: 其均为褐色,外形不规则且表面多孔隙,聚集了丝状菌、原生动物等。原生动物不仅丰富了生物絮团微生物的多样性,还能形成较长的食物链,增强了絮团的稳定性。在AS、YN、AS+YN和AS+YN+BS组中发现大量的线虫和轮虫等,可提供优质蛋白作为鱼类食物的来源^[19],提高了生物絮团作为饲料的营养价值。由于枯草芽孢杆菌对线虫等有很强的抑制作用^[20],在BS和AS+BS组几乎没有此类生物,而在AS+YN+BS组又出现了大量此类生物,可能在接种的活性污泥中带有大量的线虫,枯草芽孢杆菌在该组中并未展现出很好的抑制效果^[21]。取YN+BS组于扫描电镜SEM下观察,絮团(图 1h和图 1i)表观结构较为复

絮, 出现大量的不规则孔状结构, 同时存在大量的丝状物和微生物。

絮团大小及生成量 絮团粒径大小是影响絮团成分的重要因素之一, 絮团粒径($<48\ \mu\text{m}$)越小富含越多必需氨基酸, 粒径越大($>100\ \mu\text{m}$)则含有更高质量的蛋白质和脂质^[22]。此外生物絮团的大小还可能会影响生物絮团技术(BFT)的硝化过程, 低粒径的絮凝物在氨氮和亚硝态氮氧化方面效率较低^[23], 高粒径絮团可提供更大的表面积以供微生物附着, 其菌群拥有更高的丰度及多样性^[24]。在试验结束时, AS组絮团粒径低于 $100\ \mu\text{m}$ 的占比高于其余6组, 可能会导致硝化作用效率下降, 在Stage II出现明显的AN和TN积累(图4)。粒径($>100\ \mu\text{m}$)占比变化不明显。混合菌组(AS+YN、YN+BS和AS+YN+BS)在絮团量均高于单菌组(AS和YN), 表明混合菌能更好地利用养殖尾水中的氮产出更多的生物絮团^[25], 从而能有效的将模拟养殖水体中的有害氮转化菌体蛋白改善水质。

絮团微生物群落结构 在门水平上, 变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Acteroideria)、疣微

菌门(Verrucomicrobia)和厚壁菌门(Firmicutes)作为优势菌门, 它们的相对丰度占总细菌的比例依次为85.8%、93.1%、93.4%、88.3%、89.1%、97.0%和85.8%。变形菌门是水产养殖领域的常见菌^[26], 在生物絮团的组成细菌种类中占主导地位, 它可去除有机物, 在反硝化处理中也起着重要作用^[27], 在AS和YN+BS组的最高相对丰度分别为79.7%和77.8%。拟杆菌门也是常见的益生菌^[28], 可以分解蛋白质和淀粉等大分子物质^[29], 在生物絮团的形成过程也不可或缺。拟杆菌门通常能在生物絮团系统中观察到^[30], 它是异养菌的主要成员并且在生物絮团中比例较大^[31], 在AS组分布最低为5.4%, 而在其他6组分布为 $(21.6\pm4.6)\%$ 。异养菌的比例和氮去除效率、絮团量有着一定的联系, AS组拟杆菌分布少, 在Stage II出现 NO_2^- -N和 NO_3^- -N积累(图4), 絮团量较低(图2)。厚壁菌门在YN组最高为13.9%, 而在其他几组较低为0.8%—2.3%。厚壁菌门在地表淡水丰度较低^[32], 而在废水中检测到的丰度较高^[33]。在本研究中观察到的YN组厚壁菌门较高的丰度暗示该系统中水体的净化效能较低, 这与氨氮去除效

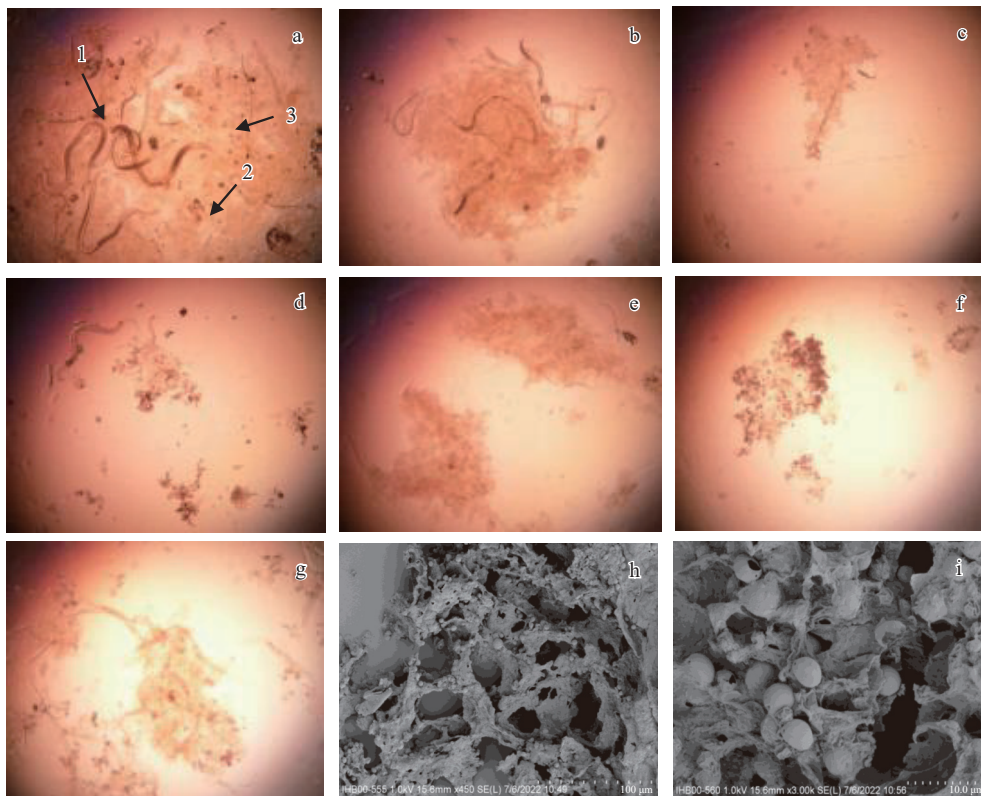


图1 显微镜观察($\times 10$)生物絮团的形态

Fig. 1 Microscopic observation ($\times 10$) morphology of bioflocs

a、b、c、d、e、f和g分别为AS、YN、BS、AS+YN、AS+BS、YN+BS和AS+YN+BS组; h和i为YN组絮团SEM($\times 500$)和($\times 3.00\ \text{k}$)形态; 1. 原生动物; 2. 有机碎屑; 3. 藻类

a, b, c, d, e, f, and g indicate AS, YN, BS, AS+YN, AS+BS, YN+BS, and AS+YN+BS group respectively; h and i are the SEM ($\times 500$) and ($\times 3.00\ \text{k}$) morphologies of the YN group flocs; 1. protozoa; 2. organic debris; 3. algae

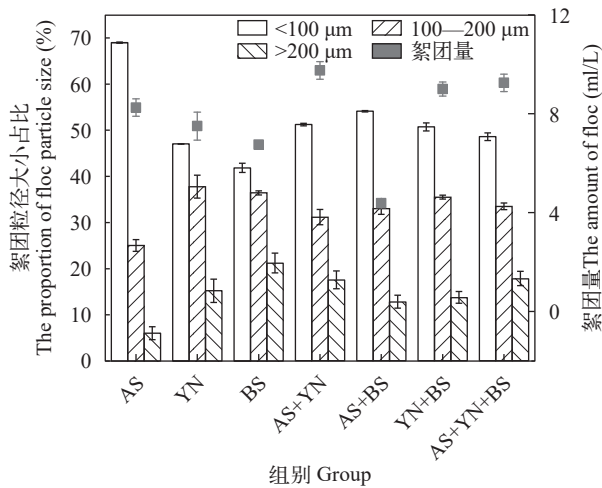


图2 不同组别絮团粒径大小占比及絮团量

Fig. 2 The proportion of floc particle size and the amount of floc in different groups

率较低(图4)存在一定联系。

在属水平上, *Hydrogenophaga*、*Flavobacterium*、*Pseudoxanthomonas*、*Burkholderiaceae*、*Comamonas*、*Acinetobacter*、*Thauera*、*Paracoccus*、*Gemmatimonas*、*Pseudomonas*和*Blastocatellaceae*是常见的反硝化菌属, 在AS(41.3%)和YN+BS(47.5%)组占据主要的优势, 其余五组为17.5%—22.6%。噬氢菌属(*Hydrogenophaga*)是水径流系统中的主要的反硝化细菌^[34, 35], 在AS组相对丰度最高有17.4%, 是活性污泥处理废水中的优势菌群之一^[36]; *Flavobacterium*是一种典型的异养硝化-好氧反硝化菌属^[37], 在混合菌组(AS+YN、AS+BS、YN+BS和AS+YN+BS)相对丰度4.5%—6.4%明显高于单菌组1.2%—2.7%。*Pseudoxanthomonas*和*Acinetobacter*作为反硝化菌属^[38, 39], 在YN+BS组分布最高为7.9%和9.2%,

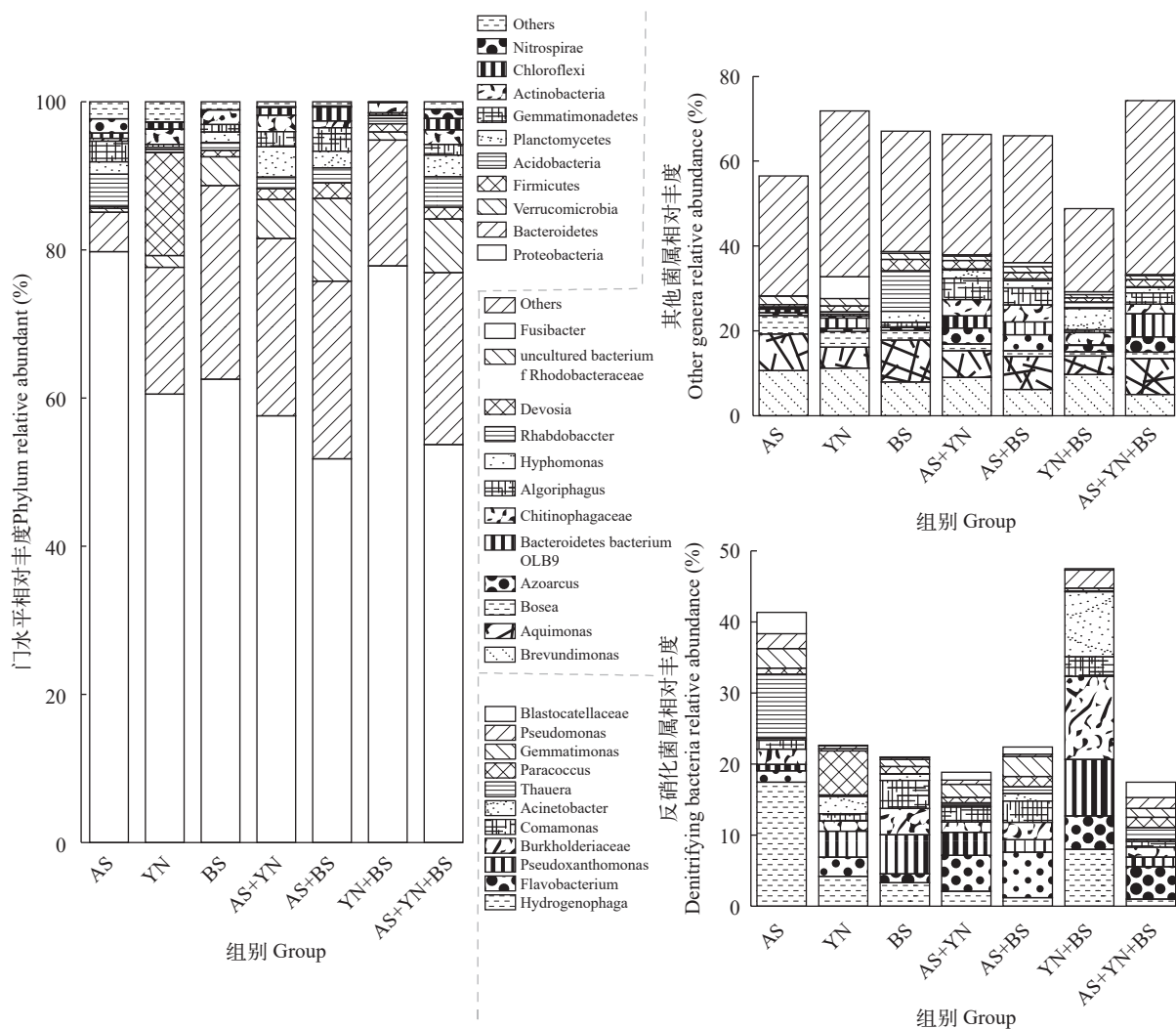


图3 不同组别生物絮团在门水平和属水平(反硝化菌属和其他菌属)上的菌群结构

Fig. 3 The bacterial community structure of different groups of bioflocs at the phylum level and the genus level (Denitrifying bacteria and other genera)

应该与该组较好的氮去除率(图 4)和较高的絮团量(图 2)有关。Burkholderiaceae科具有典型的异养反硝化^[40]和絮凝^[41]功能。伪杜榭氏菌YN12(*Pseudoduganella eburnea* YN12)隶属于该菌科,在混合菌YN+BS组达11.7%,而在单菌YN组仅有1.4%,可能YN+BS组更适合该菌属的稳定生长。*Comamonas*和*Gemmatimonas*是分别能通过异养硝化-好氧反硝化^[42]和增强生物膜形成进行高级脱氮的反硝化菌属^[43],两种菌属在各组中相对丰度占比不明显。*Thauera*作为传统的反硝化菌属,能在异养和自养条件下生活^[44],在AS组相对丰度9.0%显著高于其他6组(0.03%—1.6%);*Paracoccus*和*Pseudomonas*在高溶解氧条件下能有效去除有机酸的好氧反硝化菌属^[45—47],在YN组分布6.6%高于其他6组(1.3%—3.0%);*Blastocatellaceae*属是一种重要的产絮菌^[20],具备良好的絮凝能力,在各组相对丰度占比不均匀,可能致使各组中絮团量分布存在一定差异。

絮团净水性能 试验每次进水COD浓度300—500 mg/L、TN浓度20—25 mg/L、碳氮比(C/N)15-20,以AN为主。试验分为两个阶段,3次添加模拟养殖尾水(Stage I: 1—7d)和停止添加模拟尾水(Stage II: 8—19d; 图 4)。AN和TN从Stage I 最高浓度(28.32±1.48)和(33.28±3.19) mg/L逐渐下降到Stage II 的最低浓度(2.22±1.54)和(4.20±

2.87) mg/L, YN组对AN去除效率(79.9%)明显低于其他6组(95.9%—98.1%); AS、AS+YN、AS+BS和AS+YN+BS组在Stage II 出现NO₂⁻-N积累[(3.98±0.15)、(4.04±0.04)、(3.45±0.11)和(7.64±0.01) mg/L]; NO₃⁻-N在整试验过程波动相对平稳。

该7组试验生物絮团利用养殖尾水脱氮效率高,达91.2%—99.1%,相对常见益生菌(产朊假丝酵母固体菌^[48]AN去除率69.52%、巨大芽孢杆菌^[49]TN去除率63.61%等)处理养殖尾水氮去除率效果更佳。生物絮团系统通常具有明显的消除亚硝酸盐氮的能力^[50],与AS相关的组(AS、AS+YN、AS+BS和AS+YN+BS)在Stage II 均出现了明显的NO₂⁻-N积累,表明接种活性污泥的生物絮团体系中反硝化过程可能具有不稳定性。YN组AN去除效率明显低于其他几组,可能由于单菌下的絮团反硝化菌属丰度(22.6%)较低,厚壁菌门丰度(13.9%)较高导致水质受污染^[31](图 3),氨氮同化成菌体蛋白受阻,絮团量也相对低于其他6组(图 2)。整个试验过程BS和YN+BS对养殖尾水氮控制效果较明显,未出现明显的氮积累滞后,絮团形成菌能充分利用氮转化成自身菌体蛋白,其中YN+BS相对BS絮团量产出更加明显(图 2)。

从水质参数、絮团量和微生物群落结构分析表明YN+BS组在水质质量、絮团产出及反硝化菌

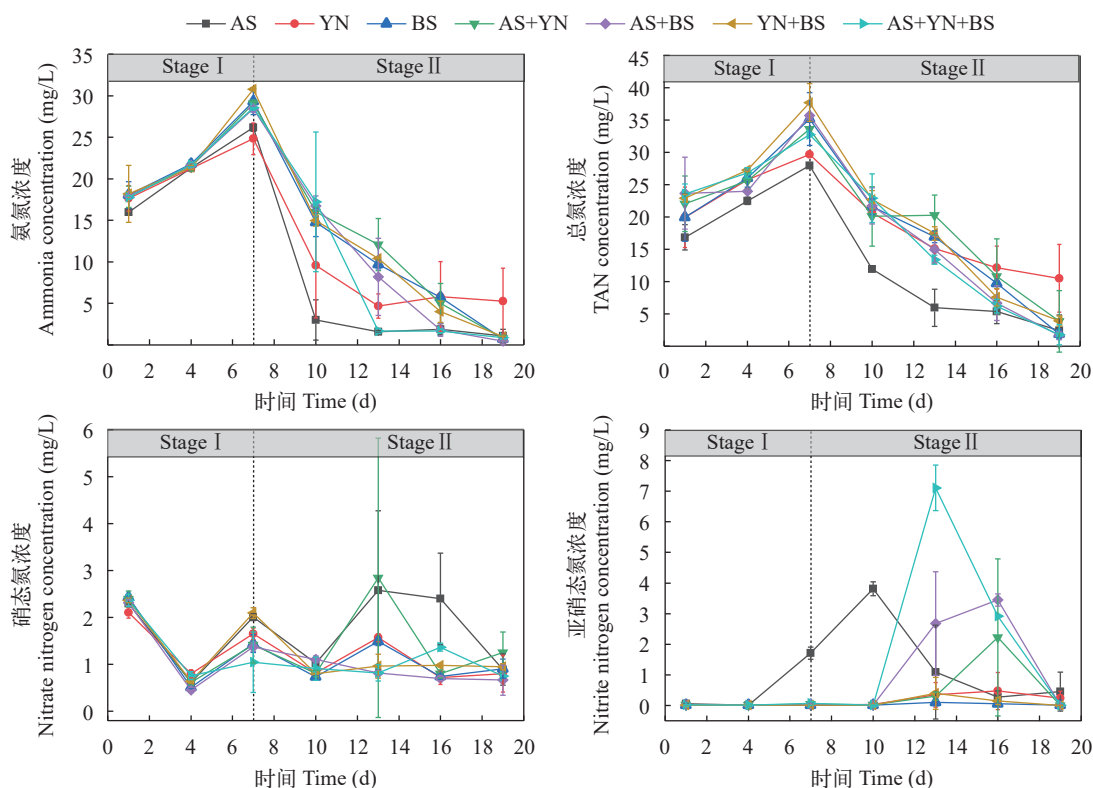


图 4 生物絮团培养过程中各形态氮的变化

Fig. 4 Changes of four nitrogen in groups of bioflocs culture

属占比上优于其他6组,可作为接下来絮团饲料养殖胡子鲶的试验。

2.2 絮团饲料化养殖鲶鱼综合评价

生长性能 生长性能和饲料利用率的提高是水产养殖实践的主要目的^[51]。在整个实验过程中观察到对照组1条鱼死亡,其生存存活率为 $(95 \pm 0.00)\%$ 低于絮团组 $(100 \pm 0.00)\%$ 。试验结果表明(表2),絮团组比对照组具有更好的生长性能和饲料利用率,具体表现絮团组在增重、体长增加、饲料系数及特定生长率均高于对照组。生物絮团作为微生物的集合体,絮团的粗蛋白含量高,在添加到饲料中能够满足水产养殖动物的营养需求,而鱼类能够很好地吸收生物絮团中的营养物质,从而促进动物生长,降低饲料成本^[52]。

生化评价 通过了解肝脏中消化酶的活性可以了解胡子鲶对饲料的消化作用能力,消化酶的活性也与摄食饲料中营养物质的种类和含量密切相关^[53]。 α -Amylase是参与营养物质消化和吸收的主要消化酶,是评估消化吸收能力及功能的重要指标^[54], α -Amylase可将淀粉催化分解成单糖以便吸收利用,测定消化酶活性可有效反映其不同个体之间生理生化及所需营养的变化。有研究发现饲料中添加生物絮团可以提高养殖对象肝胰腺中蛋白类消化酶的活性^[55],然而在本试验中对照组 α -Amylase高于絮团组(图5),说明絮团组饲料并未提高酶活性,这可能与絮团饲料烘干制作过程中破坏了酶的活性有关。碱性磷酸酶(AKP)是动物体内重要的磷代谢酶,具有促进含磷(P)物质消化吸收、代谢、转化、转运、再利用等的功能,同样是机体免疫反应酶和解毒酶^[56],本试验中两组酶活性差异较小。谷草转氨酶(ALT)活性和总胆红素(TBIL)是反映肝脏受损的主要敏感指标^[57,58],ALT通过在氨基酸代谢和糖异生中发挥关键作用的氨基酸转氨酶,在机

表2 对照组和絮团组鱼的生长性能和饲料利用率

Tab. 2 Growth performance and feed utilization rate of fish in control group and floc group

指标 Index	对照组 Control group	絮团组 Biofloc group	相关性P Correlation P
终末重量Final weight (g)	3.96 $\pm$ 0.52	4.25 $\pm$ 0.35	0.26
增重WG (g)	2.52 $\pm$ 0.52	2.81 $\pm$ 0.35	0.27
增重率WGR (%)	174.4 $\pm$ 0.36	194.6 $\pm$ 0.24	0.21
最终体长Final length (cm)	6.91 $\pm$ 0.34	7.08 $\pm$ 0.36	0.58
体长增加LG (cm)	1.51 $\pm$ 0.34	1.68 $\pm$ 0.36	0.84
特定生长率SGR (%/d)	8.43 $\pm$ 1.00	9.02 $\pm$ 0.77	0.28
存活率SR (%)	95 $\pm$ 0.00	100 $\pm$ 0.00	0.02
饲料系数FCR	46 $\pm$ 0.12	55 $\pm$ 0.03	0.00

体蛋白质代谢中起重要作用,而TBIL是血红蛋白降解的主要产物,当肝脏发生病变或受到损伤时,ALT和TBIL活性升高^[59];本试验中絮团组鱼肝脏ALT(500.5 $>$ 403.9 U/L)和TBIL(10.7 $>$ 8.9 μ mol/L)均高于对照组,表明絮团组鱼的肝脏可能存在轻微的损伤。此外肝脏是鱼体合成蛋白质的重要场所,肝细胞受损意味着蛋白质生产量下降^[60],在对照组和絮团组TP差异不明显,两组的蛋白合成并未受影响。试验一般用丙二醛(MDA)含量、过氧化氢酶(CAT)活力、总超氧化物歧化物(SOD)活力和谷胱氨酸过氧化物酶(GSH-Px)活力的过度积累来指示氧化应激的变化^[61],总超氧化物歧化酶SOD是机体特异性清除活性氧自由基的重要抗氧化酶,CAT是重要的细胞抗氧化酶,GSH-Px是一种保护细胞膜的结构和功能免受过氧化物的干扰和破坏的过氧化物降解酶,MDA是脂质过氧化最主要的标志物^[62]。本试验中对照组CAT、GSH-Px和SOD活力明显高于絮团组,MDA含量略低于絮团组但差异不明显,意味着絮团组并未提高肝脏的抗氧化和自由基清除及抑制脂质过氧化能力。

鱼肌肉营养成分分析 肌肉组织是鱼类的主要食用部位,是水产养殖和鱼类生长研究的首要目的。衡量鱼的肌肉营养价值不仅要看蛋白质含量,更要看组成蛋白质的氨基酸种类及其含量的高低^[63]。实验结果显示絮团组饲养的胡子鲶肌肉常见的15种氨基酸(图6)均低于对照组,这可能与絮

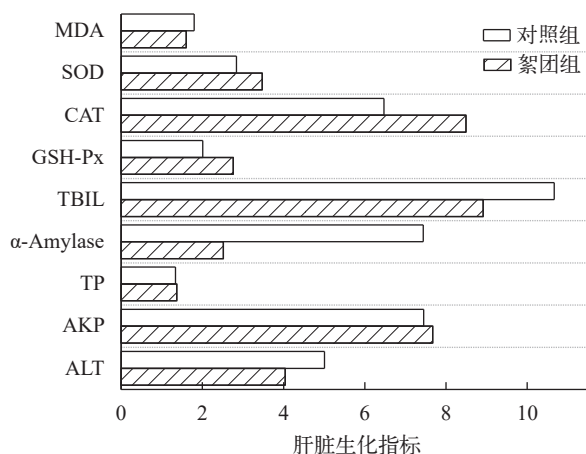


图5 对照组和絮团组肝脏生化指标比较

Fig. 5 Comparison of liver biochemical indexes between control group and floc group

ALT、 α -Amylase、AKP 单位为 $\times 10^2$ U/L, TP单位为 $\times 10$ g/L, TBIL单位为 μ mol/L, GSH-Px单位为U/mg prot, SOD单位为 $\times 10^2$ U/mg prot, MDA单位为 $\times 10^{-1}$ nmol/mg prot

ALT, α -Amylase, AKP unit is $\times 10^2$ U/L, TP unit is $\times 10$ g/L, TBIL unit is μ mol/L, GSH-Px unit is U/mg prot, SOD unit is $\times 10^2$ U/mg prot, MDA unit is $\times 10^{-1}$ nmol/mg prot)

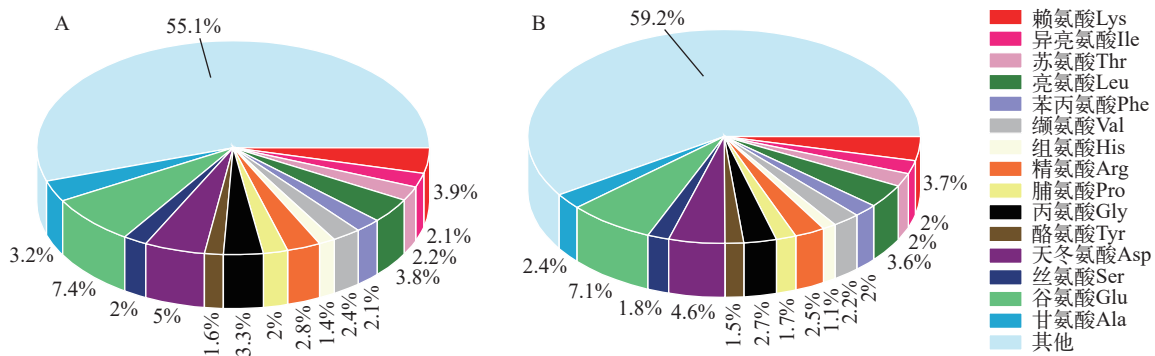


图6 对照组(左A)和絮团组(右B)肌肉氨基酸营养成分比较

Fig. 6 Comparison of amino acid nutritional composition of muscle between control group (left A) and floc group (right B)

团饲料造成胡子鲶氨基酸代谢和肝功能受损,不利于鱼类生长发育有关。鲜味氨基酸的含量在一定程度上决定着动物蛋白质的鲜美,而其中谷氨酸Glu、天冬氨酸Asp、丙氨酸Gly和甘氨酸是呈鲜味的特征性氨基酸,对鲜味的形成有明显的促进作用^[64],而絮团组各氨基酸含量均略低于对照组,说明絮团在鱼肌肉营养成分及口感上并未取得优势。

3 结论

研究结果发现,YN+BS絮团组合具有稳定的水质净化效果、良好的絮团产出能力及反硝化菌属优势,该组絮团粉加工成饲料,促进了胡子鲶的生长性能,然而在消化酶、免疫酶及肌肉营养成分上并未表现出明显优势,可以尝试进一步调整生物絮团粉添加水平,优化生物絮团饲料效果,更好地促进胡子鲶的生长。

参考文献:

- [1] Hargreaves J A. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds 1 Approved for publication as Journal Article No. J-9356 of the Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Mississippi State University [J]. *Aquaculture*, 1998, **166**(3): 181-212.
- [2] Cao L, Wang W, Yang Y, *et al.* Environmental impact of aquaculture and countermeasures to aquaculture pollution in China [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2007, **14**(7): 452-462.
- [3] Gross A, Boyd C E, Wood C W. Ammonia volatilization from freshwater fish ponds [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1999, **28**(3): 793-797.
- [4] Zhao P. The study and application of bioflocs technology in seawater aquaculture [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011: 1-88. [赵培. 生物絮团技术在海水养殖中的应用 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011: 1-88.]
- [5] De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, *et al.* The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture [J]. *Aquaculture*, 2008, **277**(3/4): 125-137.
- [6] McIntosh D, Samocha T M, Jones E R, *et al.* The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange [J]. *Aquacultural Engineering*, 2000, **21**(3): 215-227.
- [7] Ray A J, Seaborn G, Leffler J W, *et al.* Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management [J]. *Aquaculture*, 2010, **310**(1/2): 130-138.
- [8] Tatsuo K, Jun K, Esaki N. Biosynthesis and function of long-chain polyunsaturated fatty acids in cold-adapted bacteria [J]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso. Protein, Nucleic Acid, Enzyme*, 2010, **55**(1): 94-99.
- [9] Ninawe A S, Selvin J. Probiotics in shrimp aquaculture: avenues and challenges [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2009, **35**(1): 43-66.
- [10] Sapcharoen P, Rengpipat S. Effects of the probiotic *Bacillus subtilis* (BP11 and BS11) on the growth and survival of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, **19**(6): 946-954.
- [11] He X, Luo G Z, Tan H X. Effect of adding *Bacillus subtilis* on the microbial community structure and nutrition of bioflocs [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, **31**(4): 873-882. [贺希, 罗国芝, 谭洪新. 枯草芽孢杆菌添加剂对生物絮团菌群结构和营养成分的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2022, **31**(4): 873-882.]
- [12] Santaella S T, do Socorro Vale M, Almeida C C, *et al.* Biofloc production in activated sludge system treating shrimp farming effluent [J]. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 2018, **23**(6): 1143-1152.
- [13] Liu Y Q, Liu S Y, Gao N, *et al.* Isolation, identification and genomics analysis of activated sludge floc/biofloc forming pseudoduganella eburnea strains [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, **44**(3): 655-662. [刘亚琦, 刘双元, 高娜, 等. 活性污泥菌胶团/生物絮团形成菌的分离鉴定及基因组分析 [J]. 水生生物学报, 2020, **44**(3): 655-662.]
- [14] Kheti B, Kamilya D, Choudhury J, *et al.* Dietary microbial floc potentiates immune response, immune relevant gene expression and disease resistance in rohu, *Labeo ro-*

- hita* (Hamilton, 1822) fingerlings [J]. *Aquaculture*, 2017, **468**: 501-507.
- [15] Fu S W, Chu C Q, Li N, *et al.* Isolation of endophytic bacteria from cadmium contaminated rice seeds and their cadmium tolerance and plant growth-promoting traits [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, **62**(4): 1536-1548. [付少委, 楚超群, 黎妮, 等. 镉污染水稻种子内生细菌的分离及其耐镉性和植物促生性研究 [J]. 微生物学报, 2022, **62**(4): 1536-1548.]
- [16] Dai Z L. Performance and mechanism of separated biofloc reactor for treating aquaculture wastewater [D]. Hefei: Anhui Jianzhu University, 2020: 1-75. [戴志立. 分离式生物絮团反应器处理养殖尾水性能及机制研究 [D]. 合肥: 安徽建筑大学, 2020: 1-75.]
- [17] State Bureau of Quality and Technical Supervision of China. The Specification for Marine Monitoring Part 4: Seawater Analysis (GB 17378.4-2007) [S]. Beijing: China Standards Press. 2007.
- [18] Chen X, Luo G, Tan H, *et al.* Effect of floc size on nitrification in biological floc system [J]. *Aquatic Science*, 2021, **40**(6): 860-869.
- [19] Focken U, Schlechtriem C, von Wuthenau M, *et al.* *Panagrellus redivivus* mass produced on solid media as live food for *Litopenaeus vannamei* larvae [J]. *Aquaculture Research*, 2006, **37**(14): 1429-1436.
- [20] Cao H Y, Jiao Y, Yin N, *et al.* Analysis of the activity and biological control efficacy of the *Bacillus subtilis* strain Bs-1 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Crop Protection*, 2019(122): 125-135.
- [21] Schwartzbrod J, Banas S. Parasite contamination of liquid sludge from urban wastewater treatment plants [J]. *Water Science and Technology*, 2003, **47**(3): 163-166.
- [22] Ekasari J, Angela D, Waluyo S H, *et al.* The size of biofloc determines the nutritional composition and the nitrogen recovery by aquaculture animals [J]. *Aquaculture*, 2014(426/427): 105-111.
- [23] Chen X, Luo G, Meng H, *et al.* Effect of the particle size on the ammonia removal rate and the bacterial community composition of bioflocs [J]. *Aquacultural Engineering*, 2019(86): 102001.
- [24] Souza J, Cardozo A, Wasielesky W, *et al.* Does the biofloc size matter to the nitrification process in Biofloc Technology (BFT) systems [J]? *Aquaculture*, 2019(500): 443-450.
- [25] Wang Z J. The application of two strains probiotics in *Litopenaeus vannamei* biological floccules breeding [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014: 1-62. [王志杰. 两株益生菌在凡纳滨对虾生物絮团养殖中的应用 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 1-62.]
- [26] 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.
- [27] Hou L, Zhou Q, Wu Q, *et al.* Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant [J]. *Science of the Total Environment*, 2018(625): 449-459.
- [28] Deng Y, Yan Y, Wu Y, *et al.* Response of aquatic plant decomposition to invasive algal organic matter mediated by the co-metabolism effect in eutrophic lakes [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023(329): 117037.
- [29] Kosinkiewicz B, Stankiewicz M. The effect of microorganisms on phytotoxicity of herbicides. II. Increase of phytotoxicity of Venzar in the presence of phenolic compounds by *Pseudomonas* sp. 22 [J]. *Acta Microbiologica Polonica. Series B: Microbiologia Applicata*, 1975, **7**(1): 15-23.
- [30] Guo F, Zhang S H, Yu X, *et al.* Variations of both bacterial community and extracellular polymers: The inducements of increase of cell hydrophobicity from biofloc to aerobic granule sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(11): 6421-6428.
- [31] 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**(1): 1-9.
- [32] Crump B C, Hobbie J E. Synchrony and seasonality in bacterioplankton communities of two temperate rivers [J]. *Limnology and Oceanography*, 2005, **50**(6): 1718-1729.
- [33] Mondol M A M, Shin H J, Islam M T. Diversity of secondary metabolites from marine bacillus species: chemistry and biological activity [J]. *Marine Drugs*, 2013, **11**(8): 2846-2872.
- [34] Deng S, Li D, Yang X, *et al.* Biological denitrification process based on the Fe(0)-carbon micro-electrolysis for simultaneous ammonia and nitrate removal from low organic carbon water under a microaerobic condition [J]. *Bioresource Technology*, 2016(219): 677-686.
- [35] Ji B, Chen W, Zhu L, *et al.* Isolation of aluminum-tolerant bacteria capable of nitrogen removal in activated sludge [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, **106**(1/2): 31-34.
- [36] Fang H, Zhang H, Han L, *et al.* Exploring bacterial communities and biodegradation genes in activated sludge from pesticide wastewater treatment plants via metagenomic analysis [J]. *Environmental Pollution*, 2018(243): 1206-1216.
- [37] Chen J, Han Y, Wang Y, *et al.* Start-up and microbial communities of a simultaneous nitrogen removal system for high salinity and high nitrogen organic wastewater via heterotrophic nitrification [J]. *Bioresource Technology*, 2016(216): 196-202.
- [38] Wang H, Zhang W, Ye Y, *et al.* Isolation and characterization of *Pseudoxanthomonas* sp. strain YP1 capable of denitrifying phosphorus removal (DPR) [J]. *Geomicrobiology Journal*, 2018, **35**(6): 537-543.
- [39] Ke X, Liu C, Tang S Q, *et al.* Characterization of *Acinetobacter indicus* ZJB20129 for heterotrophic nitrification

- and aerobic denitrification isolated from an urban sewage treatment plant [J]. *Bioresource Technology*, 2022(347): 126423.
- [40] Hetz S A, Horn M A. Burkholderiaceae are key acetate assimilators during complete denitrification in acidic cryoturbated peat circles of the arctic tundra [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021(12): 628269.
- [41] Matsuzaka E, Nomura N, Maseda H, *et al.* Participation of nitrite reductase in conversion of NO_2^- to NO_3^- in a heterotrophic nitrifier, *Burkholderia cepacia* NH-17, with denitrification activity [J]. *Microbes and Environments*, 2003, **18**(4): 203-209.
- [42] Mupindu P, Zhao Y G, Wang X, *et al.* Effect of sulfamethoxazole on nitrate removal by simultaneous heterotrophic aerobic denitrification [J]. *Water Environment Research*, 2022, **94**(4): 10716.
- [43] Peng C, Gao Y, Fan X, *et al.* Enhanced biofilm formation and denitrification in biofilters for advanced nitrogen removal by rhamnolipid addition [J]. *Bioresource Technology*, 2019(287): 121387.
- [44] Wang J, Gong B, Wang Y, *et al.* The potential multiple mechanisms and microbial communities in simultaneous nitrification and denitrification process treating high carbon and nitrogen concentration saline wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2017(243): 708-715.
- [45] Gates A, Luque-Almagro V, Goddard A, *et al.* A composite biochemical system for bacterial nitrate and nitrite assimilation as exemplified by *Paracoccus denitrificans* [J]. *Biochemical Journal*, 2011, **435**(3): 743-753.
- [46] Hosono T, Alvarez K, Lin I T, *et al.* Nitrogen, carbon, and sulfur isotopic change during heterotrophic (*Pseudomonas aureofaciens*) and autotrophic (*Thiobacillus denitrificans*) denitrification reactions [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2015(183): 72-81.
- [47] Shi Z, Zhang Y, Zhou J, *et al.* Biological removal of nitrate and ammonium under aerobic atmosphere by *Paracoccus versutus* LYM [J]. *Bioresource Technology*, 2013(148): 144-148.
- [48] Zhou F M, Miao L H, Liu P L, *et al.* Influences of *Candida utilis* solid inoculum on bio-floc formation and removal of nitrogen and phosphorous [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, **47**(14): 295-300. [周凤鸣, 缪礼鸿, 刘蒲临, 等. 产朊假丝酵母固体菌剂对水体生物絮团形成和氮磷去除率的影响 [J]. 江苏农业科学, 2019, **47**(14): 295-300.]
- [49] Lei K K, Shan H W, Zuo X W, *et al.* Studies on effects of bagasse and rice hull powder on suspended biological flocs development in *Litopenaeus vannamei* industrial culture system [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2020, **50**(S1): 30-40. [雷柯柯, 单洪伟, 左孝文, 等. 甘蔗渣和稻壳粉对凡纳滨对虾工厂化养殖系统悬浮生物絮团培育效果的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, **50**(S1): 30-40.]
- [50] Qin H P, Wang B, Liao X Z, *et al.* Changes of microbial diversity in biofloc system during nitrogen transformation [J]. *Fishery Modernization*, 2020, **47**(3): 22-28. [秦海鹏, 王博, 廖栩峥, 等. 生物絮团系统在氮转化过程中的微生物多样性变化 [J]. 渔业现代化, 2020, **47**(3): 22-28.]
- [51] Vijayaram S, Sun Y Z, Zuorro A, *et al.* Bioactive immunostimulants as health-promoting feed additives in aquaculture: a review [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022(130): 294-308.
- [52] Pires D C, Bezerra G A, Watanabe A L, *et al.* Optimal dietary protein level for pacu *Piaractus mesopotamicus* juveniles reared in biofloc system [J]. *Aquaculture*, 2022(556): 738274.
- [53] Jiang A L, Wang X H, Jin Q, *et al.* Effects of different benthos baits on growth, activities of digestive enzyme, serum biochemical indicators and muscle compositions of *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2020, **32**(1): 97-101. [姜爱兰, 王信海, 金倩, 等. 不同底栖饵料对克氏原螯虾生长、消化酶活性、血清生化指标及肌肉营养成分的影响 [J]. 江西农业学报, 2020, **32**(1): 97-101.]
- [54] Mei J L, Ma Y M, Zhang H X, *et al.* Comparison between digestive enzyme activities of *Sparus macrocephalus* in summer and winter and study on the effects of reactive temperature and pH on these activities [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2006, **28**(4): 167-171. [梅景良, 马燕梅, 张红星, 等. 夏、冬两季黑鲷消化酶活力的比较及反应温度和pH对酶活力的影响 [J]. 海洋学报, 2006, **28**(4): 167-171.]
- [55] Panigrahi A, Esakkiraj P, Jayashree S, *et al.* Colonization of enzymatic bacterial flora in biofloc grown shrimp *Penaeus vannamei* and evaluation of their beneficial effect [J]. *Aquaculture International*, 2019, **27**(6): 1835-1846.
- [56] Tian H J, Chen J G, Long Y, *et al.* Effects of Chinese herbal compounds on transaminase activity in hepatopancreas in common carp [J]. *Fisheries Science*, 2007, **26**(11): 625-627. [田海军, 陈建国, 龙勇, 等. 复方中草药对鲤肝脏转氨酶的影响 [J]. 水产科学, 2007, **26**(11): 625-627.]
- [57] Chen Y C, Gu X F, Liu M. Effects of Chinese herbs on activities of glutamic-pyruvic transaminase, glutamic-oxaloacetic transaminase in serum and catalase activities in erythrocyte of *Cyprinus carpio* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2007, **37**(5): 11-13. [陈玉春, 顾雪飞, 刘敏. 5种中草药对鲤血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶及红细胞过氧化氢酶活性的影响 [J]. 淡水渔业, 2007, **37**(5): 11-13.]
- [58] Zhu M, Lin K F, Yeung R Y, *et al.* Evaluation of the protective effects of *Schisandra chinensis* on Phase I drug metabolism using a CCl_4 intoxication model [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, **67**(1): 61-68.
- [59] Paulino M G, Rossi P A, Venturini F P, *et al.* Liver dysfunction and energy storage mobilization in traíra, *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae) induced by subchronic exposure to toxic cyanobacterial crude extract

- [J]. *Environmental toxicology*, 2022, **37**(11): 2683-2691.
- [60] Zheng Y P, Liu J, Chen J H, *et al.* Study on the blood biochemistry indices of juvenile Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* suffered from “mad swimming symptom” [J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, **43**(5): 85-88. [郑跃平, 刘健, 陈锦辉, 等. “狂游症”中华鲟幼鱼血液生化指标初步研究 [J]. 淡水渔业, 2013, **43**(5): 85-88.]
- [61] Jia K, Cheng B, Huang L, *et al.* Thiophanate-methyl induces severe hepatotoxicity in zebrafish [J]. *Chemosphere*, 2020(248): 125941.
- [62] Lei Y, Sun Y, Wang X, *et al.* Effect of dietary phosphorus on growth performance, body composition, antioxidant activities and lipid metabolism of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Aquaculture*, 2021(531): 735856.
- [63] Gao C S, Fan G L. Analysis of nutritional composition and evaluation of nutritional quality in muscle of Qi-river crucian carp [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **36**(5): 33-36. [高春生, 范光丽. 淇河鲫鱼肌肉营养成分分析及营养价值评定 [J]. 淡水渔业, 2006, **36**(5): 33-36.]
- [64] Bi X M, Yu E M, Wang G J, *et al.* Comparison and analysis of nutrition composition of grass carp raised with grass and artificial feed [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, **38**(1): 132-134. [毕香梅, 郁二蒙, 王广军, 等. 摄食青草和人工配合饲料的草鱼肌肉营养成分分析及比较 [J]. 广东农业科学, 2011, **38**(1): 132-134.]

WATER PURIFICATION PERFORMANCE AND FEED POTENTIAL OF BIOFLOCS INOCULATED WITH TWO BENEFICIAL BACTERIA

ZHANG Bo^{1,2}, LIU Yong-Hong³, ZHANG Qian-Qian^{1,2}, YU Zhou⁴, WANG Qiang⁴,
XIAO En-Rong¹, QIU Dong-Ru¹ and WU Zhen-Bin¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. East China University of Technology, Nanchang 330013, China;
4. China University of Geosciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of utilizing the new flocculent forming bacterium *Pseudoduganella eburnea* YN12 (YN) in the production of bioflocs from aquaculture wastewater, and to utilize the flocs as feed, the feasibility of feeding the *Claris fuscus* was explored. The study focused on bioflocs systems, and involved the inoculation and formulation of activated sludge (AS), *Pseudomonas eburnea* YN12, and *Bacillus subtilis* (BS) into 7 groups (AS, YN, BS, AS+YN, AS+BS, YN+BS, and AS+YN+BS). The purpose of this experiment was to analyze the differences in floc morphology and structure, as well as to evaluate the most effective combination in terms of nitrogen removal efficiency and microbial community structure advantages in simulated aquaculture tail water. Finally, the optimal combination of bioflocs was collected, dried and ground into powder and added to commercial feed granulation. They were divided into two groups: the control group and the biofloc group, to explore the effects on the growth performance, feed utilization rate, muscle nutrient composition, and liver digestive and immune enzyme activities of catfish. The results showed that the water purification effect of YN+BS group was stable, the total nitrogen removal effect was good (89.6%), and the accumulation of ammonia nitrogen, nitrite and nitrate was low. The group exhibited favorable floc formation (9.0 ml/L) and had dominant denitrification bacteria (47.5%) (including *Hydrogenophaga*, *Flavobacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Burkholderiae*, *Comamonas*, *Acinetobacter*, etc.). The biofloc powder was mixed with commercial feed at a 5% ratio and used for *Claris fuscus* breeding after grinding and granulation. It was found that the growth performance of *Claris fuscus* [including survival rate: (100±0.00)%>(95±0.00)%; weight gain: (2.81±0.35) g>(2.52±0.52) g; length gain: (1.68±0.36) cm>(1.51±0.34) cm] and feed conversion rate (55±0.03>46±0.12) were better than those of the control group of pure commercial feed. However, amylase, immune enzymes, including catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and other delicious amino acids in muscle nutrition, including glutamic acid, aspartic acid, alanine and glycine, were lower than those in the control group. The bioflocs feed from YN+BS group had a good advantage in growth performance of catfish, but not in digestion ability, immune activity, and muscle nutrient composition. Therefore, it is necessary to further adjust the level of biofloc addition to optimize the feeding effect of *Claris fuscus*.

Key words: Beneficial bacteria; Aquaculture tail water; Bioflocs; Denitrifying bacteria; Floc feed; *Claris fuscus*