

不同 C/N 水平对草鱼池生物絮团的形成及其水质的影响

卢炳国^{1,2}, 王海英¹, 谢 骏^{1*}, 王广军¹,
余德光¹, 李志斐¹, 郁二蒙¹, 龚望宝¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所,农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室,广东 广州 510380;

2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要: 为了研究草鱼池生物絮团形成所需的适合 C/N,实验分析不同 C/N 水平对水泥池中生物絮团的形成、水质及草鱼生长的影响。对照组投喂基础饲料(C/N 为 10.8:1),实验组在基础饲料上添加葡萄糖,控制 C/N 分别为 15:1、20:1 和 25:1。结果显示,当 C/N $\geq$ 15 时,形成的生物絮团可以有效的调节水质,降低水体中的氨氮、亚硝酸盐氮水平;各组的生物絮团体积指数(FVI)随养殖时间逐步增加,在第 14 天趋于稳定;随着 C/N 增高,尽管实验组水体中形成的生物絮团粗蛋白含量显著高于对照组($P < 0.05$),但是草鱼生长却呈下降趋势。综合而言,生物絮团技术应用于草鱼养殖适宜的 C/N 为 15,该比值能促进生物絮团的形成,并能有效降低水中的氨氮、亚硝酸盐氮水平。

关键词: 草鱼;生物絮团;碳氮比(C/N);水质

中图分类号: S 965.1

文献标志码: A

水产养殖动物往往只能吸收投喂饲料中蛋白质的 20%~25%,剩余的以氨氮、残饵和粪便的形式排放到水环境当中,导致水质恶化^[1-2]。养殖水体中残留的氨氮、亚硝酸盐氮会引起水产养殖动物发病甚至死亡,常用的解决水质恶化的方法是大量换水^[3],而大量排水对自然环境造成一定的压力。生物絮团技术(biofloc technology, BFT)被认为是解决集约化养殖水质污染的有效技术^[4],利用这种养殖技术,可以实现水产养殖少换水甚至不换水,同时还维持了养殖水体生态的稳定。1999 年,Avnimelech^[5]提出了在养殖系统中维持一定的 C/N,能有效降低养殖水体中的氨氮和亚硝酸盐氮水平,显著提高了罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的成活率。2006 年,Hargreaves 等^[6]认为生物絮团对氨氮的异养转化速率高于水体中的硝化作用速率,生物絮团通过异养转化可以快速降低水体中的氨氮浓度。2012 年,Crab 等^[7]认为生物絮团技术可以

通过调节 C/N 改善水质,从而达到保护环境和节约资源的目的。生物絮团技术在提高水产动物的抑菌活性^[8-10]及饵料替代^[11-12]等方面也取得良好的效果。目前,生物絮团技术的研究主要针对凡纳滨对虾^[13](*Litopenaeus vannamei*)、罗氏沼虾^[14](*Macrobrachium rosenbergii*)、日本对虾^[15](*Marsupenaeus japonicus*)和罗非鱼^[16]等杂食性水产动物。

C/N 一直是 BFT 的主要研究热点之一,控制合适的 C/N 是形成絮团的必要条件。Avnimelech^[5]建立假设模型,计算得出当饲料中 C/N 为 15.75 时,可以促进微生物合成菌体蛋白,并有效去除养殖水体氨氮和亚硝酸盐氮。增加饲料中 C/N 一般通过 2 种方法:(1)在基础饲料基础上额外添加碳水化合物;(2)降低饲料中的粗蛋白含量^[17]。Asaduzzaman 等^[18]在虾的实验中额外添加木薯粉,发现当 C/N 为 20 时,淡水虾可以利用

收稿日期:2013-03-11 修回日期:2013-04-28

资助项目:“十二五”国家科技计划课题(2012BAD25B01);现代农业产业体系建设专项(CARS-46-17);中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2012A0802);广东省科技计划项目(2012A020602018);广东省海洋渔业科技推广专项(A201201E05);广东省海洋渔业科技推广专项(A201101G02)

通信作者:谢 骏,E-mail:xiejunhy@hotmail.com

浮游动物、固着生物和微生物团,从而提高蛋白利用率;Carb 等^[19]在罗非鱼实验中额外添加淀粉,发现生物絮团技术有利于罗非鱼过冬,日换水量从 24% 降为 10%。Azim 等^[20]利用不同粗蛋白含量(35% 和 22%)的饲料培养生物絮团,发现形成的生物絮团粗蛋白含量均超过 50%,实验期间总固体悬浮物平均值为 350 mg/L。Xu 等^[21]利用不同粗蛋白含量的饲料喂养凡纳滨对虾,发现在生物絮团系统中饲料粗蛋白含量从 35% 降低到 25% 不影响虾的生长性能,养殖实验期间不换水。

草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)是我国的四大家鱼之一,在水产养殖中占有极为重要的地位。王武^[22]认为草鱼大量摄食的腐屑内含有附生细菌,原生动物、后生动物等,此腐屑的结构和成份与生物絮团类似。生物絮团技术应用于虾类和罗非鱼的养殖体现出饲料系数降低、水质环境改善和生长加快等综合效应,而该技术在中国广为养殖的鲤科鱼类的应用效果如何迄今未见报道。实验以草鱼为研究对象,探讨了不同 C/N 水平对水泥池中生物絮团的形成、水质及草鱼生长的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用草鱼购于广东省中山食品水产进出口集团有限公司养殖基地,选择体质健康,规格一致的个体用于实验。实验鱼初始体质量(191.4 ±

5.5) g,体长(21.8 ± 0.7) cm。实验开始之前用基础饲料驯养草鱼 14 d,以适应环境和实验饲料。基础饲料(C/N 为 10.8:1)为膨化饲料,营养成分:粗蛋白 30%、粗脂肪 12%、粗纤维 12%、粗灰分 15%。实验用葡萄糖为无水葡萄糖,有效成分 99.97%。对照组投喂基础饲料,实验组在饲料中分别添加葡萄糖,控制投入的 C/N 分别为 15:1(实验组 I)、20:1(实验组 II)、25:1(实验组 III)。

1.2 实验管理

养殖实验在珠江水产研究所养殖实验基地进行,培养池为水泥池,规格 3.0 m × 2.5 m × 1.2 m,平均水深 0.6 m。每组实验设置 3 个重复,每个重复 30 尾草鱼。实验时间内 2012 年 5 月 20 日至 7 月 16 日,共 56 d,每天投 2 次基础饲料(08:00 ~ 09:00、16:30 ~ 17:30),投喂量为体质量的 2.5% 左右,每 2 周称重 1 次,称重前饥饿 24 h,根据草鱼体质量变化调整投喂量。养殖期间连续 24 h 不间断充气,期间水温 28 ~ 31 ℃,pH 为 7.1 ~ 8.1,溶解氧为 5.0 ~ 8.0 mg/L。实验水源为沉淀、过滤后的池塘水,培养期间不换水。根据 Avnimelech^[5]总结的生物絮团养殖系统的 C/N 比公式计算得出不同 C/N 的添加量,根据饲料投喂量调整葡萄糖的添加量以保持各组的 C/N。实验中的 C/N 指添加物质(饲料和葡萄糖)的碳元素与氮元素的质量比。

表 1 不同 C/N 所需葡萄糖的添加量
Tab. 1 Different treatments added and the amount of glucose applied to the pond

组别 group	饲料粗蛋白/(% DW) feed crude protein	初始饲料投喂量/(g/d) initial feed added	初始葡萄糖添加量/(g/d) initial glucose added	C/N
对照组 control	30	150	0	10.8
实验组 I treatment I	30	150	74.1	15
实验组 II treatment II	30	150	161.3	20
实验组 III treatment III	30	150	248.4	25

1.3 测定指标与方法

营养成分指标测定 培养实验结束后,利用尼龙网(孔径 10 μm)过滤收集形成的生物絮团,风干,烘箱 105 ℃ 烘干至恒重, -20 ℃ 密封保存,进行营养成分测定。凯氏定氮法测定生物絮团粗蛋白含量(GB/T 6432 - 1994);过滤法测定生物絮团粗纤维含量(GB/T 6434 - 2006);索氏抽提法测定生物絮团粗脂肪(GB/T 6433 - 2006)。

水质指标的测定 实验期间,每天测定溶氧、温度;每 3 天测定 1 次氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸

盐氮、pH。溶氧、温度采用光学溶解氧测量仪(PRO-ODO)测定,pH 采用 pH 计(PSH-3C)测定;水体中的氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮含量的测定参照《水和废水监测分析法》(第四版)^[23]进行,采用 721 型可见分光光度计进行测量。其中,氨氮浓度的测定采用纳氏试剂分光光度法、亚硝酸盐氮浓度的测定采用萘乙二胺光度法、硝酸盐氮浓度的测定采用紫外分光光度法。

絮团指标的测定 通过生物显微镜(DH-2, Olympus)观察生物絮团的形态结构,并通过显

微视频成像装置拍照;每周测定 1 次生物絮团沉积量(FV)和总固体颗粒悬浮物(TSS)。FV 测定采用 Avnimelech 等^[24]提出的方法,使用沉淀漏斗(1000-0010, Nalgene)取 1 000 mL 水样经过半小时的沉积,测定生物絮团的沉积量;TSS 测定采用 CJ/T 52-1999《城市污水悬浮固体的测定》,取水样 1 000 mL,使用 TOYO 定量滤纸抽滤,在 105 ℃烘箱中烘干称量。

草鱼生长性能测定 培养实验结束后,先将实验鱼饥饿 24 h,对每个池子实验鱼进行称重,计算增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、肥满度(FR);统计各组的死亡情况,计算成活率(SR),计算公式如下:

$$\text{增重率 (WGR, \%)} = [W_t - W_0] / W_0 \times 100 \quad (1)$$

$$\text{特定生长率 (SGR, d/\%)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100 \quad (2)$$

$$\text{肥满度 (FR, \%)} = W_t / L_t^3 \times 100 \quad (3)$$

$$\text{成活率 (SR, \%)} = N_f / N_i \times 100 \quad (4)$$

式中, W_t 实验第 t 天时体质量(g); W_0 初始鱼体质量(g); t 实验时间(d); L_t 实验第 t 天时体长(cm); N_f 终末尾数; N_i 初始尾数。

1.4 数据处理

利用 Excel 数据处理软件进行数据处理,使用 SPASS 17.0 软件中的独立样本 t 检验对数据进行分析;实验数据用平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 不同 C/N 对草鱼池生物絮团形成的影响

沉降体积(FV)、总固体悬浮物(TSS)和体积指数(FVI)的变化 在生物絮团的形成过程中,起初阶段实验组和对照组 FV 均呈上升趋势,各实验组的 FV 第 14 天后均显著高于对照组($P < 0.05$),实验组 II 和实验组 III 的 FV 至第 28 天达到最高峰(75 mL/L、115 mL/L),以后逐渐降低(图 1-a)。实验组和对照组 TSS 均呈上升趋势,各实验组的 TSS 第 14 d 后均显著高于对照组

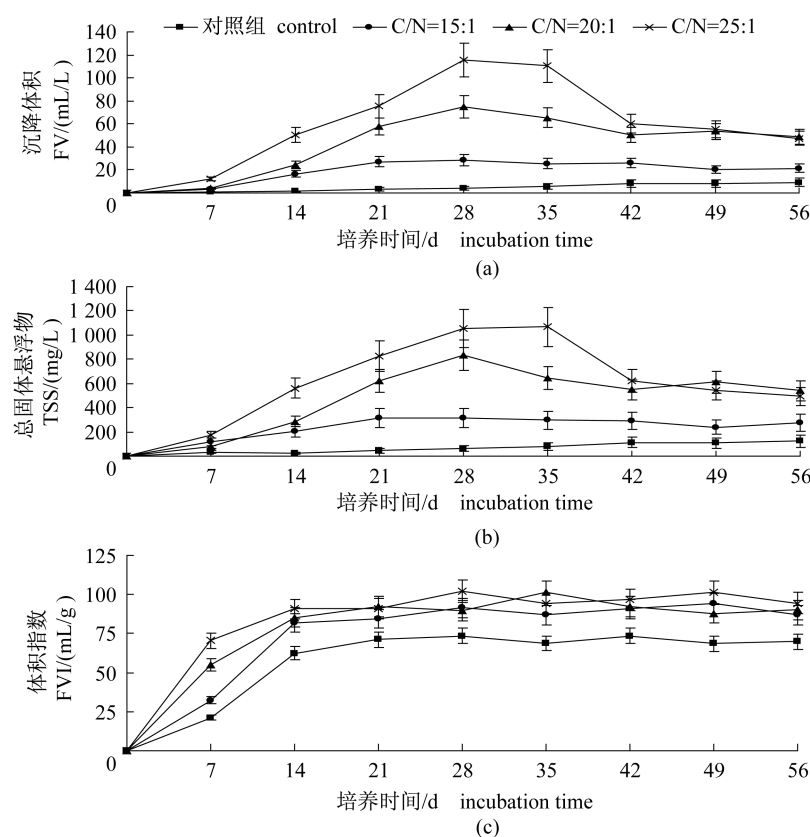


图 1 对照组与实验组生物絮团的体积(FV)、总固体悬浮物(TSS)和体积指数(FVI)的变化

Fig. 1 Changes in bioflocs volume (FV), total suspended solids (TSS) and bioflocs volume index (FVI) in the control and bioflocs groups throughout the experiment period

($P < 0.05$),实验组Ⅱ和实验组Ⅲ的 TSS 至第 28 天达到最高峰(837 mg/L、1 052 mg/L),以后逐渐降低(图 1-b)。各组 FVI 指数呈现先上升再趋于稳定,各实验组第 14 天后 FVI 指数均显著高于对照组($P < 0.05$),并分别稳定在 69、88、91、95 mL/g 左右。各实验组 TSS 浓度 14 d 以后显著高于对照组($P < 0.05$),各组 FVI 指数 14 d 以后均趋于稳定(图 1-c)。

不同 C/N 形成的生物絮团的组成成分 实

验组形成的生物絮团粗蛋白含量显著高于对照组($P < 0.05$),实验组各组之间差异不显著($P > 0.05$)。对照组粗蛋白含量为 $24.74\% \pm 1.23\%$,低于配合饲料(表 2)。实验组Ⅱ粗蛋白含量最高,达到 $31.38\% \pm 0.96\%$,略高于配合饲料。实验组生物絮团粗纤维含量显著低于对照组($P < 0.05$),对照组粗纤维含量高于配合饲料,实验组各组粗纤维含量低于配合饲料。各组的粗脂肪含量差异不显著($P > 0.05$),均低于配合饲料。

表 2 对照组与实验组的生物絮团成分分析

Tab. 2 Changes in crude protein, crude fat and crude fibre in the control and bioflocs groups

项目 items	对照组 control	C/N = 15:1	C/N = 20:1	C/N = 25:1
粗蛋白 crude protein	24.74 ± 1.23 ^a	30.10 ± 1.02 ^b	31.38 ± 0.96 ^b	30.83 ± 1.17 ^b
粗纤维 crude fibre	19.93 ± 2.34 ^c	8.67 ± 2.11 ^b	9.77 ± 2.17 ^b	5.40 ± 1.36 ^a
粗脂肪 crude lipid	0.48 ± 0.12	0.40 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.61 ± 0.14

注:表中同一行不同字母表示有显著差异($P < 0.05$)。
Notes: Means with different letters in the same row have significant differences($P < 0.05$).

2.2 不同 C/N 对养殖水质的影响

实验组氨氮浓度第 18 天降到最低点(0.05 mg/L 左右),之后比较稳定,而对照组氨氮浓度呈上升

各组氨氮的浓度在前期都出现了一个高峰。

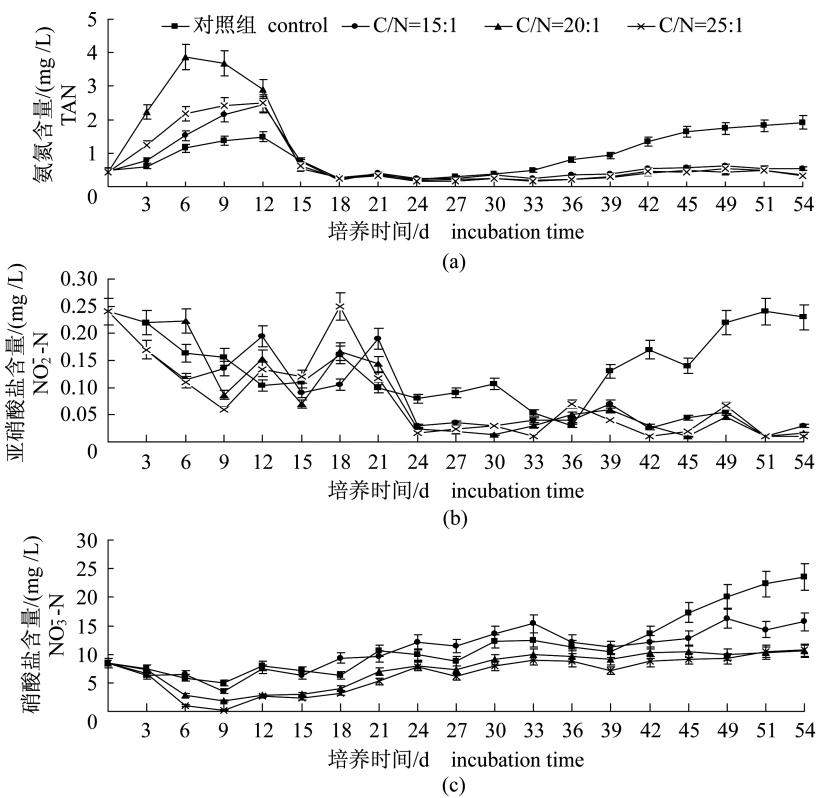


图 2 对照组与实验组的氨氮(TAN)、亚硝酸盐氮(NO₂⁻-N)、硝酸盐氮(NO₃⁻-N)的变化

(a)表示氨氮的变化;(b)表示亚硝酸盐氮的变化;(c)表示硝酸盐氮的变化。

Fig. 2 Changes in dissolved inorganic nitrogen concentrations in the control and bioflocs groups throughout the experiment period

(a) Total ammonia nitrogen (TAN), (b) Nitrite nitrogen (NO₂⁻-N) and (c) Nitrate nitrogen (NO₃⁻-N).

趋势,第 36 天后实验组氨氮浓度显著低于对照组 ($P < 0.05$),各实验组之间差异不显著 ($P > 0.05$) (图 2-a)。实验组亚硝酸盐氮浓度第 24 天降到最低点 (0.05 mg/L 左右),之后趋于稳定,第 36 天后各实验组亚硝酸盐氮浓度均显著低于对照组 ($P < 0.05$),各实验组之间差异不显著

($P > 0.05$) (图 2-b)。各组硝酸盐氮浓度均呈上升趋势。从图 3 可见,pH 呈现先升高后降低再升高的变化趋势,各组的变化趋势趋于一致,pH 值均高于 7 (图 2-c)。结果显示:当 $C/N \geq 15$ 时,生物絮团有效去除了水体中的氨氮、亚硝酸盐氮,改善了水质。

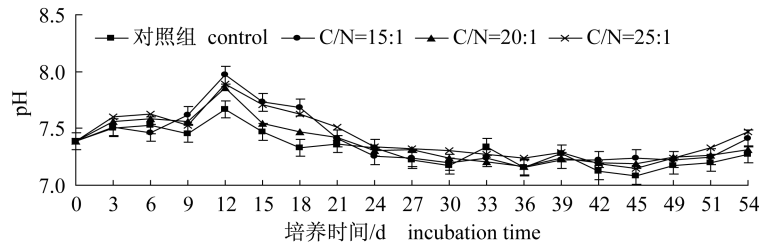


图 3 对照组与实验组水体的 pH 的变化

Fig.3 Changes of pH in the control and bioflocs groups throughout the experiment period

2.3 不同 C/N 形成的生物絮团对草鱼生长的影响

随着 C/N 的增加,草鱼的增重率呈现下降趋势,实验组 I、II 和 III 的增重率、特定生长率显著低于

对照组 ($P < 0.05$),而实验组 II 与 III 之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。添加碳源对草鱼的肥满度没有显著影响 ($P > 0.05$),但以实验组 II 的肥满度最高 (1.89%)。各组的成活率均为 100% (表 3)。

表 3 不同 C/N 对草鱼生长的影响
Tab.3 Effect of C/N on growth of grass carp in the experiments

项目 items	对照组 control	C/N = 15:1	C/N = 20:1	C/N = 25:1
初均重/g initial weight	192.13 ± 6.78	191.42 ± 6.34	191.34 ± 4.45	192.31 ± 2.22
末均重/g final weight	303.93 ± 3.05 ^c	295.63 ± 9.04 ^b	288.59 ± 1.86 ^b	284.08 ± 2.41 ^a
增重率/% WGR	58.19 ± 3.98 ^c	54.44 ± 1.30 ^b	50.05 ± 3.20 ^a	48.68 ± 1.78 ^a
特定增长率/(%/d) SGR	0.36 ± 0.09 ^c	0.34 ± 0.11 ^b	0.32 ± 0.10 ^a	0.31 ± 0.07 ^a
肥满度/(%/d) FR	1.86 ± 0.02	1.85 ± 0.01	1.89 ± 0.03	1.87 ± 0.05
成活率/% SR	100	100	100	100

注:表中同一行不同字母的表示有显著差异 ($P < 0.05$)。

Notes: Means with different letters in the same row have significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论

通过观察生物絮团形成的形态(图版),发现生物絮团由细菌、丝状菌,以及藻类、原生动物等组成,且具有不规则的形状。生物絮团是养殖水体中,以异养微生物为主,经生物絮凝作用,结合水体中有机质、原生动物、藻类、丝状菌等形成的絮状物^[24],其中异养微生物会消耗养殖水体的氨氮和亚硝酸盐氮作为其生长繁殖所需氮源^[25],与此同时,也需消耗大量有机碳源,合理的 C/N 是形成生物絮团的必要条件^[26]。

3.1 不同 C/N 对生物絮团形成的影响

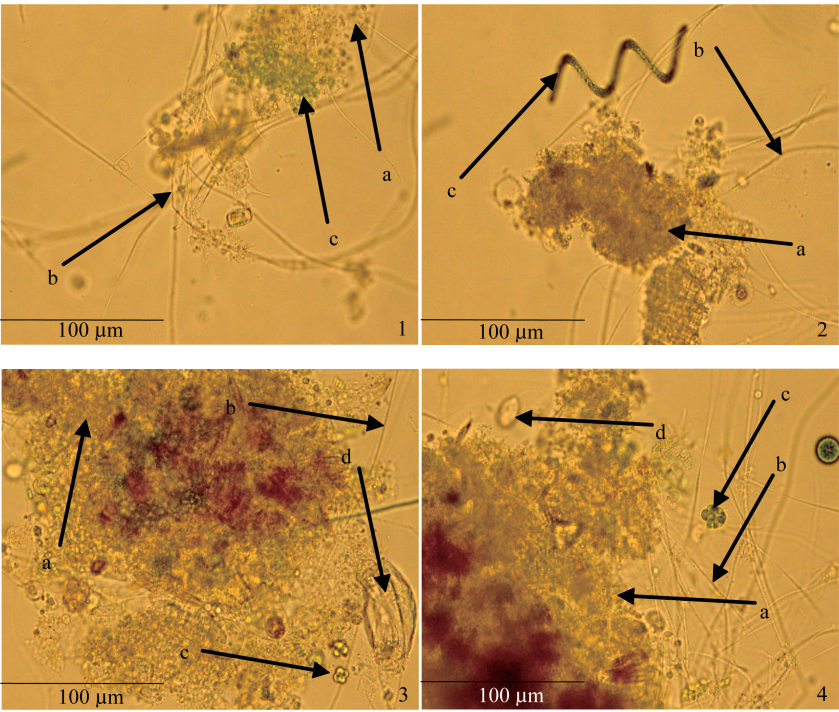
C/N 是影响生物絮团形成的一个重要因

素^[5]。实验中当 C/N 高于 15 时,水体中形成的生物絮团浓度较高,其原因是随着 C/N 的增加,异养细菌充分吸收水体中的氨氮转化成自身蛋白,生物絮团浓度也随之升高。Xu 等^[27]研究表明 FVI 指数在 15 d 之后趋于稳定,本实验第 14 天后 FVI 指数比较稳定,结果与其类似。实验组 II 和 III 的 TSS 和 FV 曲线先升后降,先升后降的曲线与细菌的生长曲线类似^[28]。

Wilén 等^[29]研究表明添加碳源繁殖的异养细菌含有较高的菌体蛋白。Carb 等^[30]在罗氏沼虾实验中,添加葡萄糖形成的生物絮团粗蛋白含量为 28% ± 3%。Ballester 等^[31]利用不同粗蛋白饲料喂养圣保罗对虾 (*Farfantepenaeus paulensis*),

形成的生物絮团平均粗蛋白含量为 30.4%。Azim 等^[16]在罗非鱼实验中,投喂粗蛋白含量为 24% 的饲料(C/N 约为 11)时,形成的生物絮团粗蛋白为 38.41%。Xu 等^[21]等在凡纳滨对虾的实验中,投喂粗蛋白含量为 20% 的饲料(C/N 约为 16.1)时,形成的生物絮团粗蛋白含量为 31.14%。本实验通过对生物絮团营养成分的测

定,当 C/N 为 15 时,生物絮团粗蛋白含量为 30.10%,这个结果略高于 Carb 等^[30]在罗氏沼虾中形成的生物絮团粗蛋白含量,略低于 Xu 等^[21]在 C/N 为 16.1 条件下形成的生物絮团粗蛋白含量。推测造成生物絮团中粗蛋白含量差异的原因可能与养殖对象的代谢特点及生物絮团的群落结构等因素有关。



图版 生物絮团的形态显微镜观察

1~4. 生物絮团形成过程中的变化,示生物絮团形态; a. 示细菌菌落; b. 示丝状细菌; c. 示藻类; d. 示浮游动物。

Plate The morphology of bioflocs microscope observation

1-4. Changes in the process of bioflocs formation, The morphology of bioflocsform(×400); a. bacterial colony; b. filamentous bacteria; c. algae; d. zooplankter.

3.2 不同 C/N 对养殖水质的影响

一般情况下,养殖水域中氨氮浓度超过 5 mg/L、亚硝酸盐氮浓度达到 0.1 mg/L,就会对养殖动物产生危害,而水体中硝酸盐氮只用在浓度较高(60 mg/L)时间较长时,才会产生一定的危害^[32]。就集约化养殖水体而言,氨氮和亚硝酸盐氮等的污染已成为制约水产养殖环境的主要胁迫因子^[33]。Hari 等^[26]指出额外添加碳水化合物可以降低水体里的氨氮和亚硝酸盐氮浓度,同时减少排放到环境中的氮。Azim 等^[34]认为当养殖水体中的 C/N 为 10 时,附着在生物絮团上的微生物每天每平方米可以同化吸收 0.2 g 氮。在 C/N 充足的条件下,10 mg/L 氨氮能够在 5 h 内,在微

生物自身内部循环完全被转化,不产生亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的积累^[35]。本实验中当 C/N 为 15,能有效降低水中的氨氮、亚硝酸盐氮水平。

生物絮团对于水产养殖的重要意义之一在于其对氨氮的快速异养转化^[36]。Hargreaves 等^[6]认为异养细菌的生长速度是硝化细菌的 10 倍,生物絮团对氨氮的异养转化速率明显高于硝化作用。第 9 天之后,各组硝酸盐氮浓度缓慢持续升高,推测生物絮团形成过程中可能发生了硝化作用。Azim 等^[16]在使用室内水箱培养生物絮凝体的研究中也发现了硝化作用的存在。在本实验中可能还存在着硝化反应,如何减少硝化作用、促进对氨氮的快速异养转化,还需要进一步研究。

3.3 不同 C/N 形成的生物絮团对草鱼生长的影响

Avnimelech^[37] 认为生物絮团可以满足罗非鱼对蛋白质等营养物质的需求,而本实验显示,随着生物絮团浓度的增加,草鱼的增重率和特定生长率却呈下降趋势。推测造成草鱼生长差异的原因可能与草鱼的食性有关,草鱼是草食性,而虾类和罗非鱼都是杂食性,草鱼不能像虾类和罗非鱼那样有效地利用生物絮团;还可能是草鱼摄食了水体中的生物絮团,对饲料的摄食量相对减少,而草鱼对生物絮团中氮的利用率低于饲料,从而影响其生长性能,影响草鱼生长的具体原因有待于进一步分析。李朝兵等^[38] 认为鳙等杂食性鱼类能够有效地利用生物絮团,草鱼池形成的生物絮团是否可以作为其它鱼类或虾类的饵料还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Crab R, Avnimelech Y, Defoirdt T, *et al.* Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production [J]. *Aquaculture*, 2007, 270 (1 - 4) : 1 - 14.
- [2] Piedrahita R H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation [J]. *Aquaculture*, 2003, 226 (1 - 4) : 35 - 44.
- [3] 鲁璐, 罗国芝, 谭洪新, 等. 生物絮凝技术处理水产养殖用水效果的初步研究 [J]. *渔业现代化*, 2010, 37 (6) : 6 - 10.
- [4] De Schryver P, Verstraete W. Nitrogen removal from aquaculture pond water by heterotrophic nitrogen assimilation in lab-scale sequencing batch reactors [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (3) : 1162 - 1167.
- [5] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems [J]. *Aquaculture*, 1999, 176 (3 - 4) : 227 - 235.
- [6] Hargreaves J A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture [J]. *Aquacultural Engineering*, 2006, 34 (3) : 344 - 363.
- [7] Crab R, Defoirdt T, Bossier P, *et al.* Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges [J]. *Aquaculture*, 2012, 356 - 357 : 351 - 356.
- [8] Crab R, Lambert A, Defoirdt T, *et al.* The application of bioflocs technology to protect brine shrimp (*Artemia franciscana*) from pathogenic *Vibrio harveyi* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109 (5) : 1643 - 1649.
- [9] De Schryver P, Sinha A K, Kunwar P S, *et al.* Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range-weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 86 (5) : 1535 - 1541.
- [10] Defoirdt T, Halet D, Vervaeren H, *et al.* The bacterial storage compound poly-hydroxybutyrate protects *Artemia franciscana* from pathogenic *Vibrio campbellii* [J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9 (2) : 445 - 452.
- [11] Emerenciano M, Ballester E L C, Cavalli R O, *et al.* Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1917) [J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43 (3) : 447 - 457.
- [12] Kuhn D D, Lawrence A L, Boardman G D, *et al.* Evaluation of two types of bioflocs derived from biological treatment of fish effluent as feed ingredients for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2010, 303 (1 - 4) : 28 - 33.
- [13] Bauer W, Prentice-Hernandez C, Tesser M B, *et al.* Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2012, 342 - 343 : 112 - 116.
- [14] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, *et al.* Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems [J]. *Aquaculture*, 2009, 287 (3 - 4) : 371 - 380.
- [15] 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.
- [16] Azim M E, Little D C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture*, 2008, 283 (1 - 4) : 29 - 35.
- [17] Hari B, Madhusoodana Kurup B, Varghese J T, *et al.*

- Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems [J]. *Aquaculture*, 2004, 241 (1-4): 179-194.
- [18] Asaduzzaman M, Rahman M M, Azim M E, *et al.* Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds [J]. *Aquaculture*, 2010, 306 (1-4): 127-136.
- [19] Crab R, Kochva M, Verstraete W. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia [J]. *Aquacultural Engineering*, 2009, 40 (3): 105-112.
- [20] Azim M E, Little D C, Bron J E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C: N ratio in feed and the implications for fish culture [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99 (9): 3590-3599.
- [21] Xu W J, Pan L Q, Zhao D H, *et al.* Preliminary investigation into the contribution of bioflocs on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks [J]. *Aquaculture*, 2012, 350-353: 147-153.
- [22] 王武. 鱼类增殖学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 17-18.
- [23] 国家环保局制《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [24] Avnimelech Y, Kochba M. Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in bio floc tanks, using ^{15}N tracing [J]. *Aquaculture*, 2009, 287 (1-2): 163-168.
- [25] 夏耘, 郁二蒙, 谢骏, 等. 基于 PCR-DGGE 技术分析生物絮团的细菌群落结构[J]. *水产学报*, 2012, 36 (10): 1563-1571.
- [26] Hari B, Madhusoodana Kurup B, Varghese J T, *et al.* The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems [J]. *Aquaculture*, 2006, 252 (2-4): 248-263.
- [27] 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]. *Aquaculture Research*, 2013, 44 (7): 1093-1102.
- [28] 沈萍. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 129-134.
- [29] Wilén B M, Jin B, Lant P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties [J]. *Water Research*, 2003, 37 (9): 2127-2139.
- [30] 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]. *Aquaculture Research*, 2010, 41 (4): 559-567.
- [31] Ballester E L C, Abreu P C, Cavalli R O, *et al.* 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*, 2010, 16 (2): 163-172.
- [32] Miranda-Filho K C, Pinho G L L, Wasielesky W Jr, *et al.* Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 150 (3): 377-382.
- [33] Tovar A, Moreno C, Manuel-Vez M P, *et al.* Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters [J]. *Water Research*, 2000, 34 (1): 334-342.
- [34] Azim M E, Asaeda T. Periphyton structure, diversity and colonization [M]. Azim M E, Verdegem M C J, van Dam A A, *et al.* *Periphyton: Ecology, Exploitation and Management*. Wallingford: CABI publishing, 2005: 15-33.
- [35] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, *et al.* C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds [J]. *Aquaculture*, 2008, 280 (1-4): 117-123.
- [36] Schneider O, Sereti V, Eding E H, *et al.* Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems [J]. *Aquacultural Engineering*, 2005, 32 (3-4): 379-401.
- [37] Avnimelech Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds [J]. *Aquaculture*, 2007, 264 (1-4): 140-147.
- [38] 李朝兵, 王广军, 余德光, 等. 生物絮团对鳙生长、肌肉氨基酸成分及营养评价的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2012, 40 (11): 242-245.

Effect of C/N ratio on bioflocs formation and water quality in zero-water exchange grass carp tanks

LU Bingguo^{1,2}, WANG Haiying¹, XIE Jun^{1*}, WANG Guangjun¹,
YU Deguang¹, LI Zhifei¹, YU Ermeng¹, GONG Wangbao¹

(1. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture,
Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Biofloc technology (BFT) was recently proposed as a new approach towards more sustainable practices that lower environmental impacts and prevent diseases incidence. In order to explore required adaptive C/N of bioflocs formation, the effects of C/N on bioflocs formation, water quality and growth performance of grass carp in zero-water exchange tanks were investigated. A locally formulated and prepared feed containing 30% crude protein with C/N ratio 10.8 was applied to all ponds. In order to raise the C/N ratio of the feed input to 15, 20 and 25, glucose was applied separately as a source of carbohydrate in addition to artificial feed. The results showed that when the C/N was over 15, the bioflocs could effectively regulate water quality, reduce ammonia and nitrite concentration; the bioflocs volume index (FVI) was increasing with gradual increase in breeding time and stabilized on 14 d in each group; With the C/N increased, the crude protein content of bioflocs groups was significantly higher ($P < 0.05$) than that of control groups, but there was a decreasing trend in the growth of grass carp. Overall, when C/N was 15 in the biofloc technology used in the breeding of grass carp, this ratio could effectively promote the bioflocs formation and reduce ammonia nitrogen and nitrite nitrogen levels.

Key words: *Ctenopharyngodon idellus*; bioflocs; carbon and nitrogen ratio (C/N); water quality

Corresponding author: XIE Jun. E-mail: xiejunhy@hotmail.com