

输入碳氮比对凡纳滨对虾生长和养殖水体水质的影响

王思鹏¹, 黄雷¹, 陈伟², 陈琛³, 黄晓林³, 陈和平⁴, 姚志远¹, 张德民^{1*}

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315832; 2. 宁波海微生态科技有限公司, 浙江 宁波 315141;

3. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005; 4. 宁波大学 土木与环境工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 调节碳氮比改善水质和促进对虾生长已有一些报道, 但不同实验室得出的结论经常相互矛盾。本研究通过建立规范一致的对虾养殖实验体系, 设置对照组(CN6 组, 碳氮比为 6)和处理组(CN10 组和 CN20 组, 碳氮比分别为 10 和 20), 每组设置 8 个重复, 研究输入碳氮比对凡纳滨对虾生长和养殖水体水质的影响。结果表明, 适当提高输入碳氮比可促进对虾生长和存活。与对照组相比, CN10 组的末均重、虾长、特定生长率、存活率和产量分别提高了 18.04%、7.45%、13.11%、46.73%和 73.03%, 而饲料转化率降低了 43.41%。此外, CN10 组的水体理化指标如 pH、溶解氧、氨氮、亚硝氮、磷酸盐、总磷的浓度也极显著低于 CN6 组。相关性分析表明影响对虾生长的主要环境因子是亚硝氮、磷酸盐、总磷和 pH。然而, 实验第 25 天, CN20 组对虾大量死亡, 产量和存活率都很低, CN20 和 CN10 组的对虾体重和体长均高于 CN6 组, 说明过高的输入碳氮比可以促进对虾生长但不利于对虾存活。

关键词: 输入碳氮比; 凡纳滨对虾; 实验重复; 生长; 水质

中图分类号: S967.9

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 02-0013-08

高密度对虾养殖常伴随着饵料残留和对虾排泄物的累积, 其分解产生的氨氮、亚硝氮等有毒物质可引起水质恶化^[1], 并直接影响对虾的健康^[2]。防止养殖水质恶化最常用的方法是经常性的排换水^[3], 但是大量换水会提高生产成本^[4], 增加病原传播的风险^[3-5]。因此, 建立一种低成本、轻污染、少疾病的新型对虾养殖模式是亟待实现的技术^[6]。碳氮比(C/N)调节技术, 又称生物絮团技术^[7], 是在养殖水体中投入有机含碳化合物, 改变水体中的碳氮比值, 提高异养微生物的丰度, 并利用异养微生物将水体中含氮化合物如氨氮和亚硝氮等转化成微生物自身的生物量, 同时异养微生物通过生物吸附作用结合养殖水体中的原生动物、藻类和剩余饲料等物质形成生物絮团^[8]。异养细菌的生长和繁殖可将养殖水体中的氨氮和亚硝氮等含氮化合物转变成自身的细菌蛋白, 从而改善养殖水体的水质^[8], 同时异养菌不断增殖成为水体优势菌, 抑

制病原菌的生长。此外, 生物絮团包含丰富的营养物质如氨基酸和脂肪酸等^[9-10], 以及生物有益物质如维生素 A、多糖、植物甾醇、牛磺酸和脂溶性的维生素等^[11], 可促进养殖动物健康生长。近年来, 该技术被广泛应用在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的养殖中。然而, 目前碳氮比对养殖水体水质和对虾生长影响的结论不一致。有研究表明: 在对虾养殖体系中添加碳源可以改善水质, 促进对虾生长, 提高对虾的存活率和降低饲料转化率^[12-16]。而 Samocha 等^[17]发现添加碳源对对虾生长无显著影响, Asaduzzaman 等^[18]发现将水体中碳氮比从 10 提高到 20 对罗氏沼虾混养系统的水质参数无显著影响。导致这些差异的原因可能是各研究实验重复数偏少。上述研究实验重复数(*n*)多是 3 个, 而对虾养殖影响因素多, 延续时间长, 导致组内各重复之间差异大。鉴于此, 本研究构建了人工可控规范一

收稿日期: 2019-04-17.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.lg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(31672658); 宁波市农业重大项目(2017C110001); 宁波市富民项目(2017C10045)。

第一作者: 王思鹏(1992-), 男, 江苏泰州人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 养殖环境微生物生态。E-mail: nbu_wsp@163.com

*通信作者: 张德民(1964-), 男, 河南范县人, 教授, 主要研究方向: 养殖环境微生物生态。E-mail: zhangdemin@nbu.edu.cn

致的对虾养殖系统,通过控制葡萄糖和饲料添加量的比例调节输入碳氮比,并设置 8 个重复,以期阐明碳氮比调节对对虾生长和养殖水体水质的影响提供更坚实可靠的统计学支撑。

1 材料与方法

1.1 凡纳滨对虾养殖实验

本实验于 2015 年 5 月 19 日至 6 月 17 日在浙江省海洋水产养殖研究所永兴基地进行,实验周期为 30 d。采用 600 L 圆形养殖桶($\Phi 88\text{ cm} \times 100\text{ cm}$),实际水体为 400 L,每组设置 8 个重复,对虾养殖密度为每桶 180 尾。幼虾(凡纳滨对虾)初始体长为 $(4.6 \pm 1.1)\text{ cm}$,初始体重为 $(1.22 \pm 0.35)\text{ g}$ 。幼虾分苗前先统一暂养 3 d,筛选健康幼虾进行实验。实验饲料为澳华饲料,碳氮比约为 6,实验用葡萄糖为一水合葡萄糖,碳含量为 36.36%,购于西王药业有限公司。对照组(CN6 组)只投喂饲料,实验组在饲料中添加葡萄糖,根据公式 $(45.90\% \text{ Feed} + 36.36\% \Delta\text{CH}) / (6.95\% \text{ Feed}) = 10$ (其中 45.90% 和 36.36% 分别为饲料和葡萄糖的含碳量,6.95% 为饲料中氮含量,“Feed”表示饲料添加量, ΔCH 表示碳源添加量),计算出 CN10 组($C/N=10$)添加的葡萄糖量约为饲料投喂量的 65%,CN20 组($C/N=20$)添加的葡萄糖量约为饲料投喂量的 256%。实验期间,每天 7:00、11:00 和 16:00 投喂饲料和葡萄糖,饲料日投喂量约为对虾总重的 5%。养殖过程中视对虾吃料情况调整饲料添加量。桶底配备增氧曝气装置,实验期间 24 h 不间断充气。实验前、中期每 7 d 排换水一次,后期增加 1 次换水,换水率为 5%。

1.2 凡纳滨对虾生长指标测定

实验第 25 天,CN20 组对虾大量死亡,该组提前结束实验。同时随机取 CN6 组和 CN10 组每个桶 30 只对虾,用于比较各实验组的对虾体长和体重。实验结束后(实验第 30 天),每桶取 40 只对虾,测量对虾体长、体重,同时记录对虾数量和产量,计算对虾存活率、饲料转化率(FCR)和特定生长率(SGR),其计算公式^[19]分别为:存活率=对虾单位面积收获数量/对虾单位面积放苗量 $\times 100\%$;饲料转化率=对虾收获个体增重/饲料利用干重 $\times 100\%$;特定生长率= $(\ln(\text{对虾收获个体重量}) - \ln(\text{对虾初始个体重量})) / \text{养殖天数} \times 100\%$ 。

1.3 养殖水体理化指标测定

实验期间,每天早晨 6:30 使用日常水质检测仪(YSI 550A, USA)测量养殖水体的温度、pH、盐度和溶解氧。实验每 7 d (第 0、7、14、21、28 天)测定 1 次氨氮、亚硝氮、磷酸盐、总磷和叶绿素 a 的质量浓度,具体测定方法参照海水分析国家标准(GB 17378.4-2007)。其中测氨氮采用靛酚蓝分光光度法;测亚硝氮采用重氮-偶氮法;测磷酸盐采用抗坏血酸还原磷钼蓝法;测总磷采用过硫酸钾氧化法;测叶绿素 a 采用丙酮法。由于第 25 天 CN20 组提前结束实验,CN20 组第 28 天的水质理化指标无法呈现。

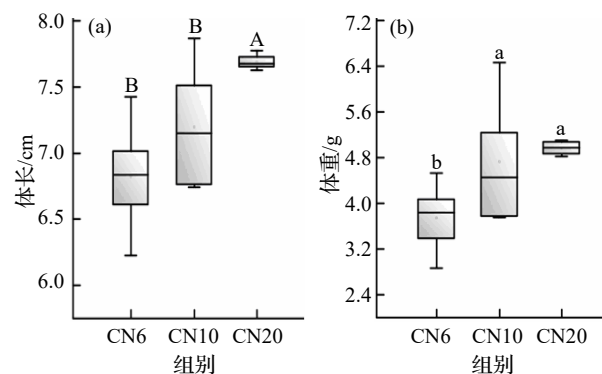
1.4 数据处理

使用 SPSS 13.0 软件的 one-way ANOVA(单因素方差分析)方法对对虾生长指标、水体理化参数进行分析,利用其中的 Correlate 方法分析对虾生长指标与环境因子的关系。实验数据用平均值 $\pm$ 标准差表示,利用 Duncan 检验进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。使用 R 软件计算不同重复值下有显著差异组合所占的比例。使用 OriginPro 8.5 软件(OriginLab)和 R 软件进行图表处理。

2 结果

2.1 输入碳氮比对凡纳滨对虾生长的影响

实验第 25 天,CN20 组对虾体长极显著高于 CN10 和 CN6 组($P < 0.01$),CN10 组对虾体长高于 CN6 组,但差异不显著($P > 0.05$)(图 1(a))。CN20 和 CN10 组的对虾体重显著高于 CN6 组($P < 0.05$),CN20 组的对虾体重高于 CN10 组,但差异不显著($P > 0.05$)(图 1(b))。



注:不同小、大写字母分别表示差异显著($P < 0.05$)、极显著($P < 0.01$)。

图1 第25天各实验组对虾体长和体重($n=8$)

实验第30天, CN10组的末均重、虾长、特定生长率、存活率和产量均显著高于CN6组($P<0.05$), 分别提高了18.04%、7.45%、13.11%、46.73%和73.03%, CN10组的饲料转化率极显著低于CN6组($P<0.01$), 降低了43.41%(表1).

表1 实验第30天各实验组对虾生长指标($n=6$)

参数	CN6组	CN10组
初均重/g	1.21±0.23 ^a	1.21±0.27 ^a
末均重/g	4.38±0.45 ^B	5.17±0.29 ^A
虾长/cm	7.25±0.14 ^b	7.79±0.11 ^a
特定生长率/(%·d ⁻¹)	4.27±0.35 ^B	4.83±0.19 ^A
存活率/%	53.93±11.62 ^B	79.13±11.62 ^A
产量/g	425.71±106.56 ^B	736.61±126.03 ^A
饲料转化率/%	1.82±0.45 ^A	1.03±0.17 ^B

注: 行内不同小写、大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$).

2.2 输入碳氮比调节对养殖水体水质的影响

2.2.1 养殖水体中溶解氧及pH的变化

不同实验组间养殖水体温度在19~29℃内波动且差异不显著($P>0.05$). CN6、CN10组溶解氧浓度显著高于CN20组($P<0.05$), 但CN6和CN10组间差异不显著($P>0.05$). CN6组pH显著高于CN10组($P<0.05$), 而CN10组又显著高于CN20组($P<0.05$)(图2), 但后期对照组pH下降显著.

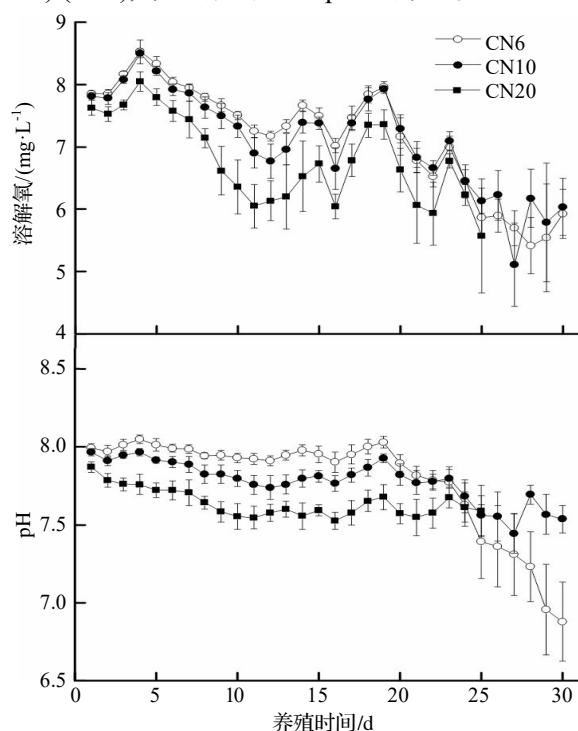


图2 对虾养殖水体溶解氧及pH的变化($n=8$)

2.2.2 养殖水体中氨氮和亚硝氮的变化

实验第7、14和21天, 各实验组间养殖水体氨氮质量浓度呈现极显著差异($P<0.01$): CN6组>CN10组>CN20组. 实验第28天, CN6组和CN10组的氨氮均有明显降低(图3). 实验第0、7和14天各实验组的亚硝氮质量浓度都趋近于0且差异不显著($P>0.05$); 14d后, CN6组和CN10组亚硝氮质量浓度急剧上升, 而CN20组亚硝氮质量浓度保持平缓(图3). 实验第21天, 各实验组间养殖水体的亚硝氮质量浓度呈现极显著差异($P<0.01$): CN6组>CN10组>CN20组; 实验第28天, CN10组亚硝氮质量浓度极显著低于CN6组($P<0.01$).

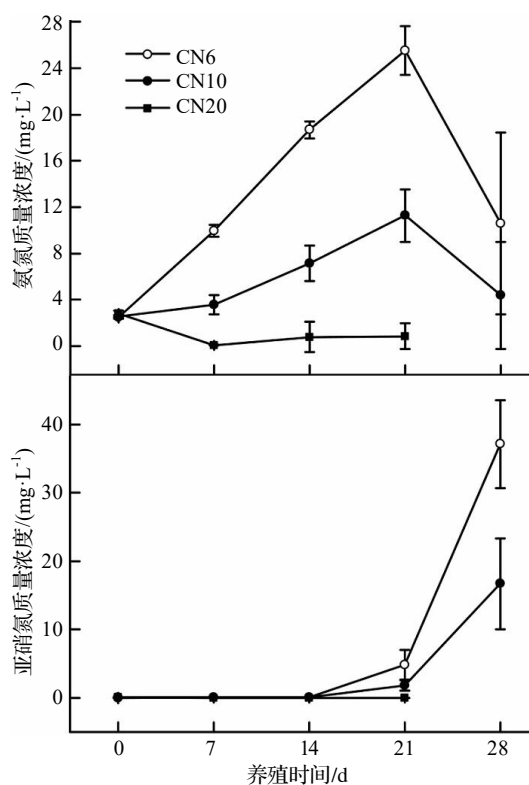


图3 养殖水体氨氮和亚硝氮的变化($n=8$)

2.2.3 养殖水体中磷酸盐和总磷的变化

实验期间CN6、CN10组磷酸盐质量浓度随养殖时间呈上升趋势, CN20组磷酸盐质量浓度维持在较低水平(图4). 实验第7、14和21天, 各组间养殖水体磷酸盐质量浓度呈现极显著差异($P<0.01$): CN6组>CN10组>CN20组; 实验第28天, CN10组磷酸盐质量浓度极显著低于CN6组($P<0.01$). CN6组、CN10组和CN20组总磷质量浓度均随养殖时间呈上升趋势(图4). 实验第7、14和21天, CN20

组、CN10 组总磷质量浓度极显著低于 CN6 组 ($P<0.01$); 实验第 7 和 14 天, CN20 组总磷质量浓度极显著低于 CN10 组 ($P<0.01$); 实验第 28 天, CN10 组总磷质量浓度极显著低于 CN6 组 ($P<0.01$).

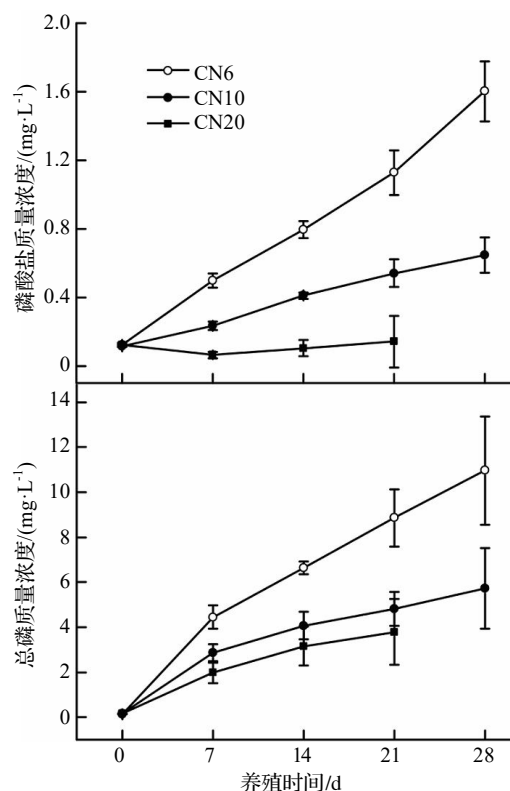


图 4 养殖水体磷酸盐和总磷的变化($n=8$)

2.2.4 养殖水体中叶绿素 a 的变化

实验前 21 d, CN6、CN10 和 CN20 组叶绿素 a 质量浓度呈上升趋势, 21 d 后 CN6、CN10 组出现下降(图 5). 实验第 14 天, CN20 组的叶绿素 a 质量浓度极显著低于 CN10 组 ($P<0.01$), 而 CN10 组的叶绿素 a 质量浓度极显著低于 CN6 组 ($P<0.01$).

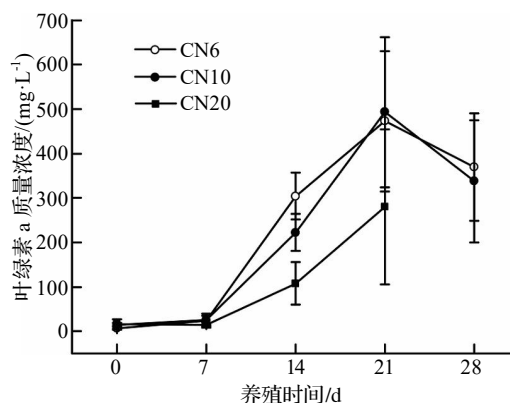
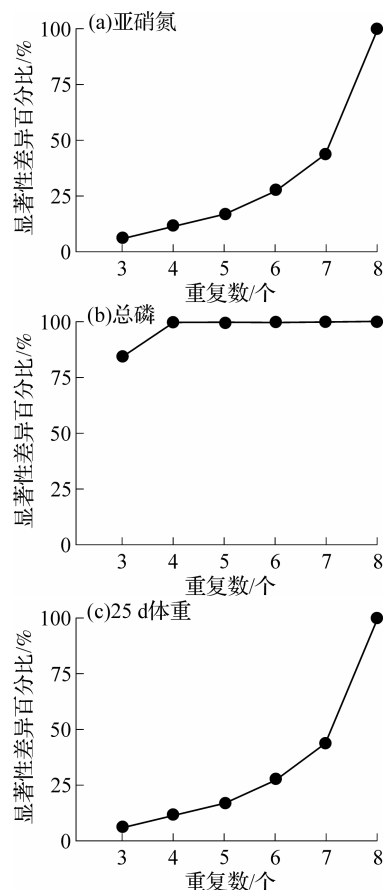
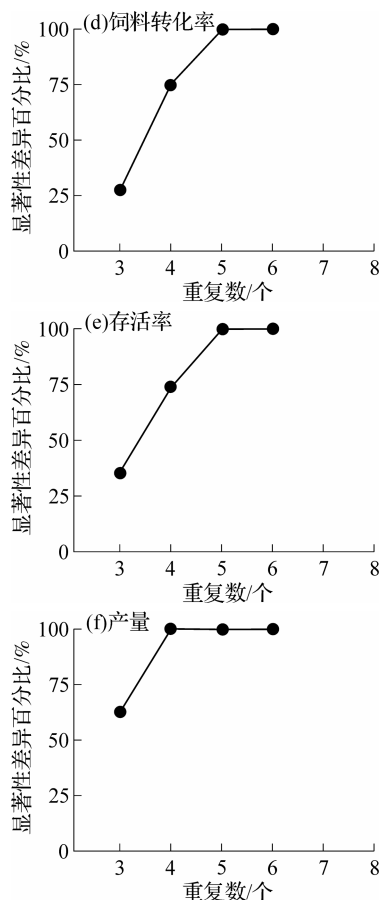


图 5 养殖水体叶绿素 a 的变化($n=8$)

2.3 增加实验重复数对实验方差分析的影响

为了分析组内重复数对 CN6 和 CN10 两组结果差异显著性结论的影响, 选取两组第 21 天亚硝氮数据, 从每组 8 个重复中分别随机抽取 3 个重复值, 共有 56 个组合, 再计算每个 CN6 组合跟每个 CN10 组合亚硝氮含量差异的显著性, 统计出显著性差异的组合配对占有所有组合配对数量(3 136 个)的百分比. 同理, 计算随机抽取 4、5、6 和 7 个重复值的显著性差异百分比, 最后得出图 6(a). 图 6(b)和图 6(c)分别是 21 d 总磷和 25 d 体重显著性差异百分比与组内重复数($n=3\sim 8$)关系图; 图 6(d)、图 6(e)和图 6(f)分别是 30 d 饲料转化率、存活率和对虾产量的显著性差异百分比与组内重复数($n=3\sim 6$)的关系图. 当取 3 个重复数时, 25 d 体重、亚硝氮、饲料转化率、存活率达到显著的比例分别只有 6%、18%、28%、36%; 对虾成活率需要 5 个重复, 显著性才能达到 100%, 而亚硝氮和 25 d 体重的显著差异率则分别需要 7 和 8 个重复才能达到 100%; 总磷的差异显著性最好, 3 个重复时, 即达到 85%, 重复数为 4 时, 即达到 100% 的显著性.





注: 实验后期部分桶的虾大量死亡, 饲料转化率、存活率和产量的指标重复数为 6 个。

图 6 重复数对指标差异显著性的影响

2.4 对虾生长指标与环境因子之间的相关性

CN6 和 CN10 组中对虾生长指标与环境因子的 Pearson 相关性分析结果如图 7 所示。

		Pearson 相关系数(<i>r</i>)							
		-0.5	0	0.5					
*		**			*				末均重
*		*			*				特定增长率
**		**	**		**				存活率
**		**	*		**				产量
**		**	**		**				饲料转化率
亚硝氮	氨氮	磷酸盐	总磷	叶绿素 a	pH	温度	溶解氧		

*—有显著差异($P<0.05$); **—有极显著差异($P<0.01$)。

图 7 对虾生长指标与环境因子的相关性

由图 7 可发现: 末均重与亚硝氮呈显著负相关($P<0.05$), 与磷酸盐呈极显著负相关($P<0.01$), 而与 pH 呈显著正相关($P<0.05$); 特定生长率与亚硝

氮和磷酸盐呈显著负相关($P<0.05$), 而与 pH 呈显著正相关($P<0.05$); 存活率与亚硝氮、磷酸盐和总磷呈极显著负相关($P<0.01$), 而与 pH 呈极显著正相关($P<0.01$); 产量与亚硝氮和磷酸盐呈极显著负相关($P<0.01$), 与总磷呈显著负相关($P<0.05$), 而与 pH 呈极显著正相关($P<0.01$); 饲料转化率与亚硝氮、磷酸盐和总磷呈极显著正相关($P<0.01$), 而与 pH 呈极显著负相关($P<0.01$)。CN6 和 CN10 组中亚硝氮、磷酸盐、总磷和 pH 对对虾的生长性能影响较显著。

3 讨论

高密度养殖水体中, 氨氮和亚硝氮是引起养殖水体水质恶化的主要因素^[20-21]。添加碳源可以降低氨氮和亚硝氮的浓度, 进而改善水质^[22-23], 促进对虾生长^[24-26]。本研究用设置 8 个组内重复的实验设计为增加碳氮比输入改善亚硝氮、氨氮等水质指标的共识提供了更加坚实的统计学基础。碳氮比调节技术的核心是调节养殖环境的微生物群落结构。增加碳氮比输入促进了异养微生物的生长, 异养微生物的主要功能是吸收和利用含氮化合物, 从而改善水质^[8]。增加碳氮比输入可改变对虾肠道的菌群结构^[27]; 肠道的细菌菌群越稳定, 菌群功能发挥越强, 对虾的免疫力也会进一步增强^[28-30], 这也为增加碳氮比输入提高对虾的存活率和促进对虾的生长提供了一个有利的证据。

3.1 增加碳氮比输入改善养殖水体水质

实验前 21 d, 养殖水体的氨氮和亚硝氮质量浓度大致呈上升趋势(图 3), 这可能与饲料持续投入和代谢废物积累有关, 而实验 21 d 后氨氮质量浓度骤降, 可能是加大换水频次导致的。实验结果表明: 碳氮比值越高的实验组, 氨氮和亚硝氮的浓度越低。对虾养殖水体一般是属于氮源过剩而碳源缺乏的环境, 且氨氮和亚硝氮的去除主要是通过细菌固定和转化, 而添加碳源有助于异养细菌的生长, 碳源添加量越多, 异养细菌生长繁殖速度越快, 氨氮和亚硝氮的利用率越高^[31]。Magondu 等^[22]研究也表明提高碳氮比能降低水体中无机氮含量。

海水养殖体系中, 磷是促进细菌繁殖重要生长因子, 是影响养殖水体环境的重要因素^[20], 但磷元素含量过高会引起水体的富营养化。实验过程

中各实验组磷酸盐、总磷质量浓度呈上升趋势(图4),这可能与饲料持续投入和低换水率有关。碳氮比值越高的实验组,养殖水体磷酸盐、总磷的质量浓度越低(图4)。Silva等^[32]在研究对虾生物絮团养殖系统时发现,实验3d后水体中磷浓度降低了35.0%,说明提高碳氮比值可以降低养殖水体中磷元素的含量,缓解养殖水体富营养化状态,可能原因是增加碳氮比输入促进了异养细菌的生长繁殖,磷元素是其生长和繁殖不可或缺的元素之一,从而降低磷酸盐的积累。此外,CN20组的叶绿素a含量显著低于CN10和CN6组(图5),可能是因为CN20组中丰富的养殖水体微生物在竞争生存空间和营养物质时抑制了其中藻类的生长^[33],也有可能是水体浑浊度升高阻碍了藻类的光合作用^[34],进而影响藻类生长繁殖。

3.2 增加碳氮比输入促进对虾生长

实验第25天,CN20组的对虾体长、体重分别比CN6组提高了12.76%和32.62%,CN10组较CN6组分别提高了5.43%和26.47%(图1)。实验第30天,CN10组的末均重、虾长、特定生长率、存活率和产量均显著高于CN6组($P<0.05$)(表1)。结果证实了增加碳氮比输入可促进对虾生长,提高对虾的存活率。其原因可能有以下4种:(1)生物絮团可净化养殖水体的水质,故而改善了对虾的生存环境;(2)生物絮团可以提高对虾的抑菌活性,降低对虾感染致病菌的风险^[35-36];(3)Xu等^[37]研究表明,生物絮团的形成可增强对虾的免疫和抗氧化功能,从而提高对虾的存活率并促进对虾的健康生长;(4)生物絮团营养丰富^[38],同时富含各种生物活性物质^[1],不仅为对虾提供了丰富的营养,而且还可以抑制病原菌的生长。

3.3 水体理化因子与对虾生长之间的关系

本研究中对虾末均重、特定生长率、存活率和产量与亚硝氮和磷酸盐呈极显著负相关(图7),进一步证实了过高的亚硝氮和磷酸盐能抑制对虾的生长。而对虾末均重、特定生长率、存活率和产量与养殖水体pH呈正相关(图7)。一般适合对虾生长的养殖环境pH是7.5~8.5,而当养殖水体的pH低于7时,会威胁对虾的健康生长^[39]。

本实验第25天CN20组对虾出现大量死亡,对虾存活率极低,说明碳氮比值太高反而不利于对

虾存活。卢炳国等^[40]研究表明草鱼的增长率随碳氮比增加呈下降趋势。可能是碳源的不断加入促进了异养细菌大量生长和繁殖,异养细菌生长和繁殖以及利用养殖水体中的有机物转变成自身的生物量的过程都需要不断地消耗氧气,溶解氧的降低破坏了养殖生态系统的稳定性。对虾正常生长也需要溶解氧,异养细菌与对虾争夺溶解氧,从而导致对虾缺氧而出现死亡。因此以输入碳氮比为主体的养殖模式中,溶解氧成为影响该技术的关键因素之一。

通过研究输入碳氮比对凡纳滨对虾生长和养殖水体水质的影响,得出以下结论:(1)提高输入碳氮比能显著降低养殖水体中氨氮、亚硝氮、磷酸盐和总磷的质量浓度,从而改善养殖水质;(2)提高输入碳氮比能促进对虾生长,但是高碳氮比不利于对虾的存活,影响对虾生长的主要环境因子是亚硝氮、磷酸盐、总磷和pH。

参考文献:

- [1] 张华军,李卓佳,张家松,等.凡纳滨对虾免疫指标变化与其养殖环境理化因子的关系[J].大连海洋大学学报,2011,26(4):356-361.
- [2] Bachere E. Shrimp immunity and disease control[J]. Aquaculture, 2000, 191(1):3-11.
- [3] 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.
- [4] Thompson F L, Abreu P C, Wasielesky W. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture[J]. Aquaculture, 2002, 203(3/4):263-278.
- [5] Chun S J, Cui Y S, Ahn C Y, et al. Improving water quality using settleable microalga *Ettlia sp.* and the bacterial community in freshwater recirculating aquaculture system of *Danio rerio*[J]. Water Research, 2018, 135:112-121.
- [6] Piedrahita R H. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation[J]. Aquaculture, 2003, 226(1/4):35-44.
- [7] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 1999, 17:227-235.
- [8] Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P, et al. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system[J]. Aquaculture, 2004, 232(1/4):525-537.

- [9] Zhi Y J, Forster I, Conquest L, et al. Determination of microbial community structures of shrimp floc cultures by biomarkers and analysis of floc amino acid profiles[J]. Aquaculture Research, 2010, 39(2):118-133.
- [10] Ekasari J, Crab R, Verstraete W. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity[J]. HAYATI Journal of Biosciences, 2010, 17(3):125-130.
- [11] Jiang I K J, Pang Z, Yu J, et al. Selectively enhanced expression of prophenoloxidase activating enzyme 1 (PPAE1) at a bacteria clearance site in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. BMC Immunology, 2011, 12(1): 70.
- [12] Kumar V S, Pandey P K, Anand T, et al. Biofloc improves water, effluent quality and growth parameters of *Penaeus vannamei* in an intensive culture system[J]. Journal of Environmental Management, 2018, 215:206-215.
- [13] Furtado P S, Poersch L H, Wasielesky W. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in bio-flocs technology (BFT) systems[J]. Aquaculture, 2011, 321(1/2):130-135.
- [14] Perez-Fuentes J A, Perez-Rostro C I, Hernandez-Vergara M P. Pond-reared Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* with the biofloc system[J]. Aquaculture, 2013, 400:105-110.
- [15] Shang Q, Tang H F, Wang Y H, et al. Application of enzyme-hydrolyzed cassava dregs as a carbon source in aquaculture[J]. Science of the Total Environment, 2018, 615:681-690.
- [16] Gao L, Shan H W, Zhang T W, et al. Effects of carbohydrate addition on *Litopenaeus vannamei* intensive culture in a zero-water exchange system[J]. Aquaculture, 2012, 342:89-96.
- [17] Samocha T M, Patnaik S, Speed M, et al. Use of molasses as carbon source in limited discharge nursery and grow-out systems for *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquacultural Engineering, 2007, 36(2):184-191.
- [18] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, et al. Effects of carbohydrate source for maintaining a high C:N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems[J]. Aquaculture, 2010, 301(1):37-46.
- [19] 赵培. 生物絮团技术在海水养殖中的研究与应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- [20] 乔顺风, 刘恒义, 靳秀云, 等. 养殖水体氨氮积累危害与生物利用[J]. 河北渔业, 2006(1):20-22.
- [21] 张健, 赵方圆, 章文军, 等. 一株氨氧化菌的分离鉴定及其活性影响因子分析[J]. 宁波大学学报(理工版), 2011, 24(3):11-14.
- [22] Magondu E W, Charo-Karisa H, Verdegem M C J. Effect of C/N ratio levels and stocking density of *Labeo victorinus* on pond environmental quality using maize flour as a carbon source[J]. Aquaculture, 2013, 410:157-163.
- [23] Deng M, Chen J Y, Gou J W, et al. The effect of different carbon sources on water quality, microbial community and structure of biofloc systems[J]. Aquaculture, 2018, 482:103-110.
- [24] Emerenciano M, Ballester E L C, Cavalli R O, et al. Effect of biofloc technology (BFT) on the early post-larval stage of pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: Growth performance, floc composition and salinity stress tolerance [J]. Aquaculture International, 2011, 19(9):891-901.
- [25] Wang G J, Yu E M, Xie J, et al. Effect of C/N ratio on water quality in zero-water exchange tanks and the biofloc supplementation in feed on the growth performance of crucian carp, *Carassius auratus*[J]. Aquaculture, 2015, 443:98-104.
- [26] Wang C, Pan L Q, Zhang K Q, et al. Effects of different carbon sources addition on nutrition composition and extracellular enzymes activity of bioflocs, and digestive enzymes activity and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in zero-exchange culture tanks[J]. Aquaculture Research, 2017, 47:3307-3318.
- [27] 黄雷. 碳氮比调节对对虾养殖生态系统的影响[D]. 宁波: 宁波大学, 2016.
- [28] Karol M. High-throughput process development of chromatography steps: Advantages and limitations of different formats used[J]. Biotechnology Journal, 2012, 7(10):1192-1202.
- [29] Cani P D, Delzenne N M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease[J]. Current Pharmaceutical Design, 2009, 15(13):1546-1558.
- [30] Ni J, Yan Q, Yu Y, et al. Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(3):704-714.
- [31] 徐武杰. 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, 2014.
- [32] Silva K R, Wasielesky W, Abreu P C. Nitrogen and phosphorus dynamics in the biofloc production of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2013, 44(1):30-41.
- [33] 郑天凌, 徐美珠, 俞志明, 等. 菌-藻相互作用下胞外酶活性变化研究[J]. 海洋科学, 2002, 26(12):41-45.

- [34] Browdy C L, Ray A J, Leffler J W, et al. Biofloc-based Aquaculture Systems[M]//Tidwell J H. Aquaculture Production Systems. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2012.
- [35] 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.
- [36] De S P, Sinha A K, Kunwar P S, et al. Poly-beta-hydroxybutyrate (PHB) increases growth performance and intestinal bacterial range weighted richness in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(5): 1535-1541.
- [37] Xu W J, Pan L Q. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input[J]. Aquaculture, 2013, 412(6):117-124.
- [38] Ebeling J M, Timmons M B, Bisogni J J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 2006, 257(1/4):346-358.
- [39] 王兴强, 马牲, 董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学进展[J]. 海洋湖沼通报, 2004(4):94-100.
- [40] 卢炳国, 王海英, 谢骏, 等. 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, 2013, 37(8):1220-1228.

Effect of input C/N ratio on *Litopenaeus vannamei* growth and culture water quality

WANG Sipeng¹, HUANG Lei¹, CHEN Wei², CHEN Chen³, HUANG Xiaolin³,
CHEN Heping⁴, YAO Zhiyuan¹, ZHANG Demin^{1*}

(1.School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China;

2.Ningbo Haiwei Ecological Technology Co., Ltd., Ningbo 315141, China;

3.Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

4.School of Civil and Environmental Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The effects of C/N ratio on water quality and shrimp growth have been reported in the literature, despite of the inconsistent evidence. It might be due to the insufficient number of replicates within group, which fails to reach statistical significance. Here, eight replicates were used in the current study, in order to identify the effect of carbon supplementation on shrimp growth and water quality. Organic carbon in the form of glucose was added daily to provide calculated carbon to nitrogen (C/N) ratios of 10:1 (CN10) and 20:1 (CN20) respectively, based on the carbon-nitrogen content of the feed. No glucose was added in the control group which had a C/N ratio of 6 (CN6). The results showed that carbon supplement significantly improved shrimp growth and water quality. Compared with the CN6 group, the weight and length special growth rate, survival rate, and yield of individual shrimp were 18.04%, 7.45%, 13.11%, 46.73% and 73.03% higher, respectively. In contrast, the feed conversion rate was 43.41% lower in the CN10 group than that in the CN6 group. In addition, the water quality parameters (pH, dissolved oxygen, ammonium, nitrite, phosphate and total phosphate) concentration of the CN10 group was significantly lower than that of the group CN6. Water pH, ammonium, nitrite, and total phosphate concentration were the main factors regulating the shrimp survival in group CN6 and CN10. However, mass shrimp mortality was observed in the CN20 group at day 25. These results suggested that excessive carbon supplement may be beneficial to shrimp growth, but result in higher mortality. Further studies are needed to indentify the impact of C/N ratio on shrimp culture systems.

Key words: C/N ratio; *Litopenaeus vannamei*; replicates; growth; water quality

(责任编辑 韩 超)