

生物絮团技术在对虾养殖中的应用及展望

Review of the application and perspective of biofloc technology in shrimp culture

陈亮亮^{1,2}, 董宏标¹, 李卓佳¹, 徐武杰¹, 张家松¹, 段亚飞¹, 文国樑¹, 陈健光¹, 冯震华¹

(1. 中国水产科学研究院 南海水产研究所 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

中图分类号: S967.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)08-0103-06
doi: 10.11759/hyxx20130816001

对虾海水养殖业是中国乃至世界水产养殖业中的重要组成部分, 来自世界粮农组织的统计数据显示, 对虾海水养殖业在未来数年中仍将保持一个较高的增长速度^[1]。随着人们对对虾产品需求量的进一步增加, 中国作为世界上最大的对虾生产国以及出口国, 对虾海水养殖规模在近年来也稳步扩大, 这就使得对虾海水养殖与土地资源、水资源以及周围环境之间的矛盾日益突出。此外, 自 20 世纪 90 年代暴发的对虾白斑病开始, 多种病原和病因引起的虾病一直困扰着广大水产从业者, 因此寻找一种新的对虾海水养殖技术已迫在眉睫。近些年来国内外一些学者转换思路, 积极寻找新的突破口, 从养殖池塘的整个生物链入手, 研究菌、藻及水环境之间关系, 采用生物调控方式, 使水质调控与生态平衡二者有机统一, 提高对虾养殖成功率, 降低水产药物, 尤其是抗生素药物的滥用, 增强了水产品的食品安全性^[2-3]。文章介绍了近年来国内外学者广泛研究的一种新型原位水质调控技术-生物絮团技术(Biofloc technology, BFT), 浅析了生物絮团形成条件及其在对虾养殖中的作用机理。

1 生物絮团技术的发展历程

生物絮团是养殖水体中以好氧微生物为主体, 结合水体中各种有机物、无机物、微藻和浮游动物等, 经过生物絮凝作用而形成的团聚物^[4]。Steve Surfing 是生物絮团技术的开创者之一, 20 世纪 80 年代初其在加利福尼亚州成立了一个名为阳光水产的水产养殖公司, 开发活性微生物悬浮系统(简称“微

生物汤”, “Microbial soup”)。随后, 法国及以色列的科学家们提出了“异养性食物网”概念等, 这些都是生物絮团系统理论概念的雏形^[5]。

20 世纪 90 年代, 生物絮团系统取得了突破性的研究进展。Hopkins^[6]、Avnimelech 等^[7]学者分别做了养殖水体中肉眼可见悬浮颗粒物的相关研究, 并对此形成了初步的认识, 所有这些研究作为以后生物絮团技术的发展奠定了基础。尤其值得一提的是: 1999 年, Avnimelech^[7]发表了题为“C/N 比作为养殖系统的可控要素”的文章, 文中详细介绍了对虾养殖系统中无机氮的代谢途径, 并介绍了降低无机氮的几种常用方法。基于养殖系统中异养细菌从胞外吸收无机氮作为其氮源合成自身蛋白物质的理念, 其随后通过实验提出了一种新的方法和思路, 即向养殖水体中添加有机碳化合物, 刺激异养细菌生长, 从而达到降低水体中无机氮浓度的目的。通过一系列实验数据分析, Avnimelech 发现在不考虑养殖水体原有少量有机碳的情况下, 要完全去除养殖过程中新产生的氨氮, 所需要的碳源添加量和饲料投喂量二者之间的关系式为:

收稿日期: 2013-08-16; 修回日期: 2014-03-10

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2011BAD13B10); 国家现代农业(虾)产业技术体系建设专项(CARS-47); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103034); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2012YD02, 2012TS26); 广东省海洋渔业科技推广专项(A201101E02, A201201B04)

作者简介: 陈亮亮(1988-), 男, 河南省洛阳人, 硕士研究生, 主要从事对虾生物絮团养殖技术研究, E-mail: chenliangbj@163.com; 张家松, 通信作者, 电话: 020-84451349, E-mail: jiasongzhang@hotmail.com

碳源添加量=饲料投喂量×饲料蛋白含氮量×50%/0.05
(1)

2 生物絮团结构组成及其主要影响因素

2.1 生物絮团结构

研究报道表明,生物絮团是以菌胶团细菌、丝状细菌为核心,依靠其分泌的胞外和胞内产物等“细胞黏合剂”,将异养菌、硝化菌、脱氮细菌、藻类、真菌和原生动物等“黏合”在一起,形成肉眼可见的微小絮状物^[7-12]。这些“细胞黏合剂”包括胞外产物如胞外聚合物,胞内产物如聚-β-羟基丁酸酯、多聚磷酸盐和多糖类等。絮团粒径大小一般从几个微米到数千个微米不等,其比表面积较大,通常可以达到(20~100)cm²/mL,极大的促进了絮团颗粒内部与养殖水体间不间断的物质和能量交换,如图1所示。

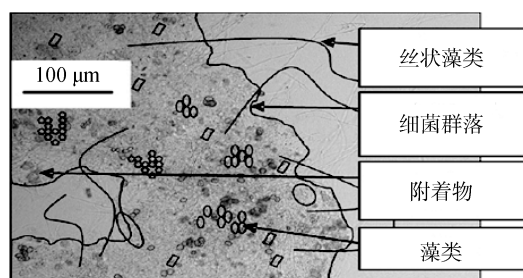


图1 生物絮团系统中絮团结构组成^[10]

2.2 影响生物絮团形成的主要因素

2.2.1 水温

温度是诸多环境因子中最为重要的因素之一,它直接影响水生动物机体的代谢、生长和存活,对毒害物质的敏感性及耐受性,寄生和疾病等^[13-15]。温度还可通过影响盐度、溶解氧等其他环境参数对水生动物间接产生影响^[16]。由于生物絮团是一个活的微生物集群,因此大多数微生物的正常代谢活动也须在一定的适宜温度范围内进行。Krishna等^[17]发现,当水温处于30~35℃时,菌胶团细菌产生过多的胞外多糖产物,导致絮团膨胀散裂开来;同样Wilén等^[18]发现,与18~20℃相比,4℃的低温更容易使絮团之间彼此解离开来而非聚合在一起。在有关温度对对虾生长影响的研究中,田相利等^[19]对中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)做了有关温度与对虾生长相关性的研究,发现在18~31℃温度范围内,对虾摄食量随着温度的升高迅速增加,超过31℃之后

其摄食量显著减少,生长速度也受到抑制;杨章武等^[20]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)做了有关温度对其幼体生长、变态和存活率的影响的研究,发现31℃温度组的幼体活力状态最佳、最为稳定。据此有理由认为,在25~31℃这个适宜温度范围内,不仅有助于生物絮团的形成和稳定,也有利于对虾的摄食和生长,同时还会对水体中的溶解氧含量产生影响。因此,适宜的养殖水体温度是形成良好生物絮团的一个必要条件。

2.2.2 pH

不管是对虾所处的养殖大环境水体,还是生物絮团内部的微生物群落所处的微环境水体,均需要一个合适的pH范围。通常对虾在呈弱碱性(pH值通常为7.8~9.2(麦贤杰等^[21]))的环境中生长较为适宜。pH的波动对于生物絮团的形成也会有一定的影响,碳源添加以后会刺激异养细菌的大量繁殖,加之集约化养殖通常为高密度养殖,异养细菌和养殖生物的呼吸代谢产生大量二氧化碳溶于水体中,从而引起pH下降,最终影响对虾的生长^[22]。

2.2.3 曝气增氧

养殖水体中溶解氧的含量高低,直接影响生物絮团中异养微生物的群落的组成结构。由于生物絮团中的异养细菌属于好氧细菌,其生长繁殖需要在氧气充裕的环境中进行,任何厌氧状态的出现都会对其正常生长繁殖产生重要的影响,因此被认为是影响生物絮团形成的一个主要因素。另外,Wilén等^[23]发现在较高的溶氧条件下,絮团结构趋向更加紧凑、紧密和稳定,但是并没有证据证明溶解氧高低与絮团粒径大小之间存在直接的相关性。除此之外,曝气还可以促进底层水体和表层水体间的充分混合,达到养殖水体各个区域溶氧的均一性,而且设计合理的曝气装置同时也可以达到控制絮团老化、絮团沉积速度以及向特定区域沉积的目的,方便对多余絮团进行集中处理^[24]。

2.2.4 混合强度

混合强度亦称作搅拌强度,其与絮团的形成和分散密切相关,但是其数值的测量方法较为繁杂,难以测得,而且测量方法也不尽相同,现仅以Parker等^[25]的电力法为例做一简单介绍:

$$d=CG^{-x} \quad (2)$$

其中 d 为最大絮团稳定规格, G 为平均速度梯度, C 为絮凝强度, x 为稳定的絮团块大小,通常在0.35~0.71波动。

此后,Spicer^[26]、Biggs^[27]发现,在一定范围内伴

随着剪切力的增加会引起絮团结构变的更加紧凑、结实。

2.2.5 适宜碳源的筛选和最佳添加量

在生物絮团中发挥关键性作用的是异养细菌,其生长、繁殖需要一个良好的内部和外部环境。除了前面所提到的温度、pH、溶氧等外部影响因素之外,适宜碳源的筛选和最佳添加量也是重要问题之一。

第一类碳源,如葡萄糖、果糖等单糖,或蔗糖、糖蜜极易被分解为单糖的含糖化合物。葡萄糖等单糖直接参与异养细菌体内的能量代谢活动,可以直接被异养细菌吸收利用,促进其生长和繁殖。

第二类碳源,如木薯粉、玉米粉、小麦粉^[8](主要成分均为淀粉)以及稻壳、竹子^[12](主要成分为纤维素和半纤维素)等。这一类碳源难以或者不能直接被大多数异养细菌吸收利用,但是其会随着时间推移而被特定的异养微生物缓慢降解、吸收。

第三类碳源,可以称作发酵碳源,即把若干种农业副产品例如小麦秸秆、麦麸、花生粕、豆粕、稻壳和玉米粉等按照适当的比例投加到发酵罐中,接上特定菌种进行发酵,最后再把发酵结束后的发酵液用作碳源,按适当的比例添加到养殖水体中来强化培养生物絮团^[4]。

除了选择合适的碳源之外,最佳碳源量的添加研究也一直未曾间断过。高磊^[28]在凡纳滨对虾养殖密度为 150 尾/m²,初始体长为(1.3 ± 0.1)cm,以蔗糖为碳源时,发现碳源添加量为日饲料投喂量的 75%为最宜。同样,邓应能^[29]所做生物絮团在凡纳滨对虾封闭养殖试验中的形成条件及作用效果中得出,适宜的蔗糖添加量为日饲料投喂量的 77%为最好,两者结果较为吻合。学者 Hari^[12]则以碳源添加量和饲料投喂量二者之间的关系式(1)作为最适碳源量的添加标准。因此最适碳源以及最佳碳源添加量都不可一概而论,需要根据具体的养殖环境而做出最优的组合。

3 生物絮团系统在对虾养殖中的应用

3.1 调控水质,减少换水

向养殖水体中补充碳源,刺激异养细菌的生长,吸收对虾养殖过程中产生的有害代谢产物如氨氮,合成细菌自身蛋白质,从而达到少换水或者说零换水的目的。避免了传统上大量、频繁换水,向池塘外排出养殖废水的做法,极大减少了水资源的浪费。在传统换水的养殖模式下,每生产 1 kg 的斑节对虾

(*Penaeus monodon*)平均要消耗水 20 m³^[30];那么对于一个 5 ha 的池塘,年产 5 000 kg 对虾,则每天的耗水量就达 270 m³,换水量之大,对于人力、物力和财力都是不小的开支。使用生物絮团技术,采取有限换水甚至零换水模式之后,不仅节省了大量宝贵的水资源,而且打破了水产养殖的地域及区域局限性,对于内陆水产业的发展提供了新的思路 and 方向。

3.2 减少疾病暴发,提高养殖成功率

生物絮团养殖系统减少了池塘和外界水体的交互,在最大程度上降低了外界病原菌通过换水途径进入到养殖池塘中的可能性。但是不管采取哪种防护或隔离手段,都难以避免各种致病菌通过底泥、池壁、投喂工具、虾体等途径进入养殖水体中去。因此,如何消除进入到养殖水体中的这些致病菌就显得尤为重要。在生物絮团系统中,添加有机碳可以有效促进异养细菌的生长,细菌数目通常可达到 10⁷~10⁸ 个/mL,甚至可以达到 10¹² 个/mL^[31-32]。有了这些高密度的有益菌群之后,其不仅可以有效抑制有害病原菌的生长繁殖,而且有的有益菌甚至可以分泌一些抑菌因子如细菌素、铁载体、溶菌酶以及蛋白酶等物质来抑制致病类微生物的生长繁殖^[33]。在对这些抑菌因子分泌机制的研究中,Defoirdt 等^[34-35]发现了一种基于细胞对细胞的交流机制,这种交流机制可以通过小的信号分子来控制有益菌体细胞表达、分泌毒力因子,从而降低了被致病细菌感染的几率,减少了水产药物尤其是抗生素类在水产养殖中的滥用,大大提高了水产品的食品安全性和可靠性。

3.3 提高饲料蛋白利用率,降低养殖成本

投加到养殖水体中的饲料蛋白质,除小部分被对虾利用之外,大部分沉积池底,或者随换水排出池塘,造成了饲料蛋白的浪费,增加了养殖成本。在生物絮团养殖系统中,异养细菌利用碳水化合物和养殖水体中未被对虾摄食利用的有机氮和无机氮(主要为氨氮)合成自身蛋白质,而这种单细胞蛋白是能够被对虾所摄食利用的。学者 Abreu 等^[36]与 Epp 等^[37]分别利用 N¹⁵ 及 C¹³ 标记絮团物,结果在对虾体内均检测到这些同位素的出现,有力地证明了这些微生物絮团物的确可以被对虾摄食利用。另有研究发现,在生物絮团对虾养殖系统中蛋白利用率可以高达 65%之多,远远超过传统非集约化对虾养殖池塘的 25%^[38]。因此,对于集约化对虾养殖系统来说,投喂低蛋白含量饲料,同时投加适宜比例的

碳源,便可达到与投喂高蛋白饲料同样的养殖效果。目前在以色列、比利时、印度尼西亚等国家的对虾和罗非鱼养殖池塘中,已经有成功应用的相关报道^[5]。

3.4 增强对虾消化和免疫力

Xu 等^[39]发现,在以蔗糖作为调控碳源的生物絮团系统中,凡纳滨对虾肝胰腺和胃中蛋白酶及淀粉酶活性都高于非絮团组,推断认为生物絮团可能会以某种方式刺激对虾消化酶的分泌或直接增强其活性,从而可以增强对虾的消化能力。国外学者 Verschuere 等^[33]研究发现,絮团中的有益菌不仅通过促使对虾肠道菌群平衡提高了饲料利用率,同时还使得对虾免疫应答能力也相应得到提高。学者 Crab 等^[40]在实验中也发现类似的现象,推测为絮团中的细菌分泌了某种胞外免疫刺激物,被对虾摄食以后,增强了对虾的免疫力,当然这也需要更多的研究证据来证实。

4 小结与展望

生物絮团技术应时而生,以其独特的原位微生物水处理技术理念,吸引了众多研究学者的关注。尤其是生物絮团技术的应用不仅减轻了对水资源的消耗,而且提高了对虾海水养殖的生物安全性和食品安全性,为绿色健康可持续水产养殖理念注入了新的血液。

生物絮团技术基本理念虽然得到了大家的基本认可,但是从理论研究进入到广泛的生产应用仍然需要大量的应用研究。首先,对于这项技术而言,并没有形成一套特别具有操作性的技术手册,尽管以色列学者 Yoram Avnimelech 编写了《生物絮团技术实用指南》一书,但是毕竟养殖地域所造就的养殖水体环境千差万别,不可能一概而论,因此在具体操作中仍然要求从业者具备一定的相关知识背景,极大地限制了这项技术的推广应用。其次,这项技术对池塘设施配备要求较高,一般都需要水泥或者薄膜铺底,而且需要高的能耗来维持絮团颗粒物的悬浮,这也让众多水产从业者望而却步。第三,目前而言这项技术只在对虾及罗非鱼养殖中试验成功,并非所有的养殖对象均可以适应这种较高浑浊度的水体,而且需要对絮团颗粒中的某些菌群数量加以人工干预和控制(尤其是丝状细菌),否则极易堵塞虾鳃而造成严重后果,但是如何控制也是一个亟待解决的难题。第四,絮团的控制,除了要快速建立以异养细

菌为主的生物絮团系统,对养殖水质进行调控之外,还要能及时从池中移除一些老化多余的絮团,防止老化絮团在池底沉积,产生一些厌氧代谢产物,对对虾生长产生不利影响。

近些年,生物絮团技术与其他水处理技术的结合应用,也取得了一定的效果,如与生物膜技术的结合^[41-42]。原理是:在养殖水体中悬挂附着基质,基质表面形成一层生物膜。生物膜在净水同时还可吸附水体中过多的絮团颗粒物,既减少其向池底的沉积,又可被对虾所摄食,降低饲料系数。如此一来,集“净水”、“改底”和“降饵料系数”于一体,二者结合,具有广阔的应用前景。但同时悬挂附着基质也存在诸如以下问题:(1)如何根据不同地域选用价格相对低廉的基质材料;(2)基质材料如何进行加工、处理;(3)附着基质的安放与去除都较为耗时、费力;(4)商品化的基质材料较少,而且价格昂贵,限制了其应用范围等。

虽然前路困难重重,但是我们相信随着广大水产工作者对生物絮团技术奥秘的不懈钻研,使得我们对生物絮团技术产生更深一步的了解之后,这些问题最终都将会被逐个顺利解决。

参考文献:

- [1] FAO statistics. The state of world fisheries and aquaculture 2003[EB/OL].[2013-08-15].<http://www.fao.org/fi/statist/fisoft/FISHPLUS.asp>.
- [2] 王少沛,曹煜成,李卓佳,等.水生环境中细菌与微藻的相互关系及其实际应用[J].南方水产,2008,4(1):76-80.
- [3] 彭聪聪,李卓佳,曹煜成,等.虾池浮游微藻与养殖水环境调控的研究概况[J].南方水产,2010,6(5):74-80.
- [4] 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.
- [5] Avnimelech Y. Biofloc technology-A practical guide book, second edition[M]. Baton Rouge: The World Aquaculture Society, 2012: 189-195.
- [6] Hopkins J S, Hamilton R D, Sandier P A, et al. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1993, 24(3): 304-320.

- [7] Avnimelech Y. Control of microbial activity in aquaculture systems: active suspension ponds[J]. World Aquaculture, 1993, 34: 19-21.
- [8] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 1999, 176(3): 227-235.
- [9] Jorand F, Zartarian F, Thomas F, et al. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs[J]. Water Research, 1995, 29(7): 1639-1647.
- [10] 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): 125-137.
- [11] Chu C P, Lee D J. Multiscale structures of biological flocs[J]. Chemical Engineering Science, 2004, 59(8): 1875-1883.
- [12] 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): 179-194.
- [13] Bolton T F, Havenhand J N. Physiological acclimation to decreased water temperature and the relative importance of water viscosity in determining the feeding performance of larvae of a serpulid polychaete[J]. Journal of Plankton Research, 2005, 27(9): 875-879.
- [14] Wang W N, Wang A L, Liu Y, et al. Effects of temperature on growth, adenosine phosphates, ATPase and cellular defense response of juvenile shrimp *Macrobrachium nipponense*[J]. Aquaculture, 2006, 256(1): 624-630.
- [15] Mubiana V K, Blust R. Effects of temperature on scope for growth and accumulation of Cd, Co, Cu and Pb by the marine bivalve *Mytilus edulis*[J]. Marine Environmental Research, 2007, 63(3): 219-235.
- [16] Le Moullac G, Haffner P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea[J]. Aquaculture, 2000, 191(1): 121-131.
- [17] Krishna C, Van Loosdrecht M C M. Effect of temperature on storage polymers and settle ability of activated sludge[J]. Water Research, 1999, 33(10): 2374-2382.
- [18] Wilen B M, Lund Nielsen J, Keiding K, et al. Influence of microbial activity on the stability of activated sludge flocs[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2000, 18(2): 145-156.
- [19] 田相利, 董双林, 王芳. 不同温度对中国对虾生长及能量收支的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(4): 670-682.
- [20] 杨章武, 卢小宁, 郑雅友, 等. 温度对凡纳滨对虾幼体生长、变态和存活率的影响[J]. 台湾海峡, 2011, 30(1): 81-85.
- [21] 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 对虾健康养殖学[M]. 北京: 海洋出版社, 2009: 39-42.
- [22] 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): 346-358.
- [23] Wilen 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.
- [24] McIntosh P R. Changing paradigms in shrimp culture, III: Pond design and operation considerations[J]. Global Aquaculture Alliance Advocate, 2000, 42-45.
- [25] Parker D S, Kaufman W J, Jenkins D. Floc breakup in turbulent flocculation processes[J]. Journal of the Sanitary Engineering Division, 1972, 98(1): 79-99.
- [26] Spicer P T, Pratsinis S E, Raper J, et al. Effect of shear schedule on particle size, density, and structure during flocculation in stirred tanks[J]. Powder Technology, 1998, 97(1): 26-34.
- [27] Biggs C A, Lant P A. Activated sludge flocculation: on-line determination of floc size and the effect of shear[J]. Water Research, 2000, 34(9): 2542-2550.
- [28] 高磊. 碳氮比调节在对虾养殖中的作用及优化[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [29] 邓应能. 不同养殖系统生物絮团调控模式研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- [30] Wang J K. Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system[J]. Aquacultural Engineering, 2003, 28(1): 37-46.
- [31] Burford M A, Thompson P J, McIntosh R P, et al.

- Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize[J]. *Aquaculture*, 2003, 219(1): 393-411.
- [32] Chamberlain G, Avnimelech Y, McIntosh R P, et al. Advantages of aerated microbial reuse systems with balanced C: N. II: Composition and nutritional value of organic detritus[J]. *The Global Aquaculture Advocate*, 2001, 4: 22-24.
- [33] Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 655-671.
- [34] Defoirdt T, Sorgeloos P, Bossier P. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 251-258.
- [35] Defoirdt T, Verstraete W, Bossier P. Luminescence, virulence and quorum sensing signal production by pathogenic *Vibrio campbellii* and *Vibrio harveyi* isolates[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 104(5): 1480-1487.
- [36] Abreu P C, Ballester E L C, Odebrecht C, et al. Importance of biofilm as food source for shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*) evaluated by stable isotopes (^{13}C and ^{15}N)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 347(1): 88-96.
- [37] Epp M A, Ziemann D A, Schell D M. Carbon and nitrogen dynamics in zero-water exchange shrimp culture as indicated by stable isotope tracers[J]. *Aquaculture Research*, 2002, 33(11): 839-846.
- [38] Velasco M, Lawrence A L, Neill W H. Development of a static-water ecoassay with microcosm tanks for postlarval *Penaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1): 79-87.
- [39] Xu W J, Pan L Q. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed[J]. *Aquaculture*, 2012, 356: 147-152.
- [40] Crab R, Defoirdt T, Bossier P, et al. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges[J]. *Aquaculture*, 2012, 356: 351-356.
- [41] 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): 127-136.
- [42] Anand P S S, Kumar S, Panigrahi A, et al. Effects of C: N ratio and substrate integration on periphyton biomass, microbial dynamics and growth of *Penaeus monodon* juveniles[J]. *Aquaculture International*, 2013, 21(2): 511-524.

(本文编辑: 谭雪静)