

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2013.03.014

· 研究简报 ·

吉富罗非鱼生长过程中氮收支变化的研究

王振华, 刘 晃, 宿 墨, 吴 凡

(农业部渔业装备与工程技术重点实验室, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092)

摘要: 为充实有关鱼类氮收支研究数据, 提供实际生产理论依据, 研究了吉富品系尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 从鱼种 (18 g) 生长至成鱼 (180 g) 过程中氮收支变化。试验为期 73 d, 每日饱食投喂并收集鱼粪, 溶解氧质量浓度为 8.0 ~ 6.0 mg·L⁻¹, pH 为 7.5 ~ 6.5, 水温为 24 ~ 30 °C。在鱼均质量达到 50 g、100 g 和 180 g 时测定并计算当前生长阶段氮收支。结果表明, 生长氮比例在养殖初期最高 (64%), 养殖中期最低 (47%); 粪氮比例在养殖中期最高 (9%), 养殖初期和末期分别为 5% 和 4%; 排泄氮比例随鱼的生长而逐渐增加。此外, 试验期间水中总氮增加速度在养殖中期减慢, 养殖末期再次加快。

关键词: 罗非鱼; 氮收支; 生长

中图分类号: S 963.16; S 965.125

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2013)03-0085-05

Nitrogen budget changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) during growth

WANG Zhenhua, LIU Huang, SU Mo, WU Fan

(Key Lab. of Fishery Equipment and Engineering, Ministry of Agriculture; Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China)

Abstract: We conducted a 73-day experiment to examine the nitrogen budget changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) during its growth from fry (18 g) to adult (180 g). In the experiment, we fed the fish fully, collected feces every day in the water with dissolved oxygen from 8.0 mg·L⁻¹ to 6.0 mg·L⁻¹, pH 7.0 to 6.5, and temperature 24 °C to 30 °C. Nitrogen budgets were calculated when fish weighed 50 g, 100 g and 180 g. Results show that, growth nitrogen proportion is the biggest (64%) at the initial grow-stage and the lowest (47%) at the final grow-stage, fecal nitrogen proportion gets the biggest (9%) at the middle grow-stage, and excretion nitrogen proportion increases progressively all the time. In addition, total nitrogen amount in the water increases with the growth of fish, but the increasing speed is slower in stage II than stage I and III.

Key words: tilapia; nitrogen budget; growth

罗非鱼是一种淡水鱼类, 属鲈形目丽鱼科。全世界 80 多种罗非鱼中只有少数品种能满足商品化养殖要求。商品罗非鱼具有育种简单、生长迅速、对饲养条件耐受性高等优势, 其养殖业因此得到迅速发展。近十年来, 罗非鱼产量以平均每年 14.75% 左右的速度递增, 稳居世界首位^[1]。但随之产生的问题也越来越多, 尤其是受经济利益驱使,

养殖者投入大量肥料和人工配合饲料, 以追求更高的单位产量, 这大大增加了养殖废水的营养负载率^[2]。养殖废水排放过程中造成环境污染, 对鱼本身的生长很不利, 其中氨氮浓度过高会引起鱼类抽搐、昏迷甚至死亡等不利现象^[3], 长时间的亚硝酸盐浓度过高也会影响鱼类生长^[4]。同时, 系统中固体废物的积累也会直接影响到鱼类的生长、

收稿日期: 2012-09-25; 修回日期: 2012-12-18

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003024); 国家科技支撑计划项目 (2011BAD13B04); 科研院所技术开发研究专项 (2010EG134287); 2011 年农业部渔业装备与工程重点开放实验室开放课题“循环水养鱼系统中氮收支与能量收支研究”

作者简介: 王振华 (1986-), 女, 助理工程师, 从事水产养殖工程和化学分析工作。E-mail: wangzhenhua@fmiri.ac.cn

系统运行成本等^[5]。氮收支作为化学收支的一种,常被用来作为评价水产养殖中氮转化效率及养殖污染程度等的有效方法^[2]。鱼类氮收支研究对于饲料蛋白利用、饵料系数、养殖环境监控保护等,都具有理论指导意义^[6]。氮作为蛋白质结构中的一种主要元素,其收支变化情况与蛋白质代谢过程关系密切。氮收支组成包括摄食氮、粪氮、排泄氮和生长氮。粪氮和排泄氮是鱼类的主要代谢产物,能影响养殖环境;生长氮是鱼类养殖生产者最关注的问题。由于鱼对蛋白质的代谢和吸收受到诸多因素影响,不同的品种、摄食水平、体质量和温度等在不同的试验条件下氮收支情况不尽相同^[7-10]。

目前的研究有从饲料角度出发,研究其质量、组成和种类等对鱼类氮收支的影响^[6-12];也有从外部条件出发,研究投饲节律、温度和养殖密度等对氮收支的影响^[13-15]。而从鱼本身出发,研究其在生长过程中氮收支变化的报道较少,而实际生产养殖过程中都要经历一个鱼类从幼鱼生长至成鱼的饲养过程,期间鱼类对蛋白的代谢水平是变化的,由此也会引起氮收支组成的变化。该试验旨在研究罗非鱼从鱼种成长至成鱼期间的氮收支变化情况,以期补充目前的氮收支研究数据,为罗非鱼生产应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 装置

试验地点为中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所农业部渔业装备与工程技术重点实验室,试验在3套相同的循环水养殖系统中进行,试验时间为2012年6月12日至8月20日。单套系统示意图见图1。鱼粪通过旋转水流聚集到鱼池1底部中央,在水流带动下进入漩涡分离器2,经沉淀、分离由分离器底部排水阀收集。上层清流自设在漩涡分离器上部的出水口流出,经滤棉过滤后流入调节池3,再由调节池内水泵抽入生物滤塔4,之后经自流回到鱼池,回水沿池壁切向进入,以此实现水体循环利用。曝气在生物滤塔中进行,供氧的同时不搅乱鱼池水流,使粪便随旋流沉淀至池底。

1.2 材料

鱼苗购至广东番禺国家级罗非鱼良种场,5 g以下吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*);饲料为浮性膨化商品饲料,粗蛋白质量分数为36%;生物滤塔滤料是分散悬浮式填料;溶解氧质量浓度为 $8.0 \sim 6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;pH为 $7.5 \sim 6.5$;水温 $24 \sim 30 \text{ }^\circ\text{C}$ (6月~8月,自然光照);每套系统总水体体积 1 m^3 ,2 h循环1次。

1.3 试验步骤

4月6日收到试验鱼苗,移入试验室暂养60 d。试验前1周,调试系统至运行稳定。试验开始时将鱼饥饿24 h,再选取体长相近的称质量放入3个平行池,鱼池上直径1 070 mm,下直径920 mm,总高810 mm,每套系统水体质量 1 m^3 。每池50尾。同时另取3尾,称质量后烘干,用于

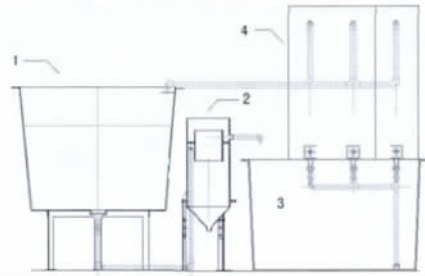


图1 循环水养殖系统示意图

1. 鱼池; 2. 漩涡分离器; 3. 调节池; 4. 生物滤塔

Fig. 1 Recirculating aquaculture system

1. pond; 2. separator; 3. water regulating tank;

4. bio-filtration column

分析初始鱼体氮质量分数。试验73 d,每天于9:00、13:00和17:00饱食投饲,投喂时少量多次至鱼不再摄食,确保没有残饵。每天于9:00收集分离器和滤棉的排泄物, $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干待测。每隔14 d称鱼总体湿质量1次,除以每池鱼总尾数,得到各池鱼平均质量,对3个平行池的鱼体质量求平均值,得到鱼均质量,观察生长情况。在鱼均质量达到50 g(试验第24天)、100 g(试验第56天)和180 g(试验结束日)时将鱼饥饿24 h,每池随机取3尾烘干,用于分析当前生长阶段鱼体氮质量分数。

试验期间每周监测水质指标2~3次,包括水中总氮、氨氮、亚硝酸盐氮、碱度和pH,其中水中总氮视为氮收支中的鱼排泄氮。试验第1天投饲前测定水中总氮,用于计算排泄氮初始值。试验开始时鱼均质量为18 g,在鱼均质量达到50 g、100 g和180 g时测定水中总氮,用于计算当前生长阶段排泄氮。

1.4 分析方法

鱼样、饲料样品、粪便样品在 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干至恒质量,用定氮仪(Kjeltec 2300,丹麦福斯公司出品)按凯氏定氮法测定氮质量分数^[9]。氨氮和亚硝酸盐氮分别用奈氏比色法和 α -奈乙二胺法测定;水中总氮用总氮试剂盒(美国哈希公司出品)采用过硫酸钾消解法测定^[9]。水温、pH和溶解氧通过便携式水质分析仪(YSI plus,美国维赛仪器公司出品)测定。

1.5 计算公式

氮收支表示为 $C_N = G_N + E_N + F_N$,式中 C_N 为摄食氮 $[\text{mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}]$, G_N 为生长氮 $[\text{mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}]$, F_N 为粪氮 $[\text{mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}]$, E_N 为排泄氮 $[\text{mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}]$ 。

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER) = 增加质量/蛋白质摄入量。

特定生长率(SGR) = $100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$,式中 W_t 为试验结束时鱼体的湿质量; W_0 为试验开始时鱼体的湿质量; t 为试验天数。

日均增加质量(daily weight increment) = $(W_t - W_0) / t$,

式中 W_t 为该生长阶段结束时鱼体的湿质量, W_0 为在该生长阶段初始时鱼体的湿质量, t 为该生长阶段历时天数。

2 结果

2.1 生长

试验期间罗非鱼成活率 95%。暂养阶段(4月6日至试验开始前,初始鱼体湿质量 5 g,结束鱼体湿质量 18 g),鱼生长非常缓慢,日均增加质量(0.19 ± 0.02) g。放入试验系统后生长速度逐渐递增,至生长中期(第 II 阶段)时放缓。之后又进入快速生长期,日均增加质量(5.63 ± 0.53) g (图 2 和表 1)。

2.2 水质参数

在生物滤塔硝化细菌的作用下,试验期间氨氮质量浓度基本维持在 1.0 mg·L⁻¹ 以下,水中总氮则不断累积,累积速度在试验中期减慢,后期又大幅增加(图 3)。

2.3 氮收支

通过方差分析表明,不同生长阶段的生长氮和粪氮所占比例均有显著差异,而排泄氮所占比例没有显著差异。摄食氮、粪氮和排泄氮的绝对值均随罗非鱼生长而递增,而生长氮在第 II 生长阶段出现下降,跌至 0.95 mg·(g·d)⁻¹。养殖初期生长氮占摄食氮比例最高,达到 64%,中期降到 47%,末期又再升至 54%。排泄氮占摄食氮比例则随鱼不断生长而逐渐增加。粪氮占摄食氮比例在第 II 生长阶段达到最高值 9%,第 I 和第 III 阶段分别为 5% 和 4%。

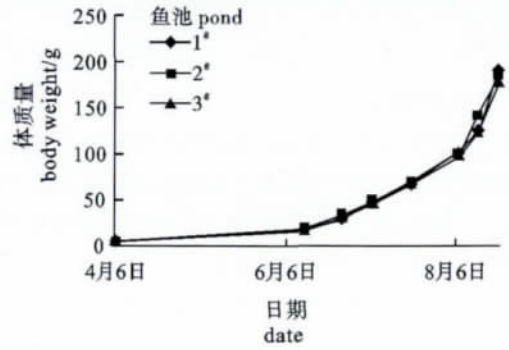


图 2 罗非鱼生长曲线

Fig. 2 Growth curve for tilapia

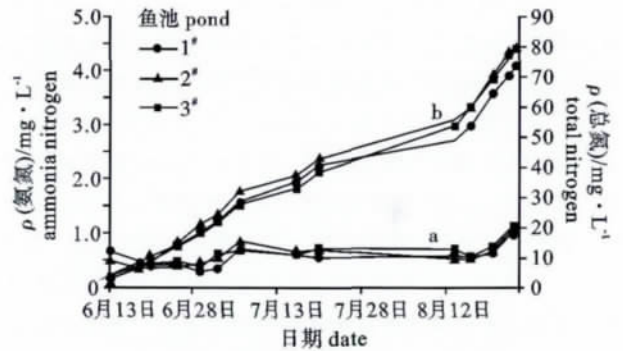


图 3 水体氨氮(a)和总氮(b)质量浓度

Fig. 3 Ammonia nitrogen (a) and total nitrogen (b) concentration in waters

表 1 不同生长阶段罗非鱼的始质量、末质量和特定增长率($\bar{X} \pm SD$)

Tab. 1 Initial and final body weight and specific growth rates of tilapia during different growth stages

生长阶段 growth stage	始质量/g initial weight (W_0)	末质量/g final weight (W_t)	特定增长率/%·d ⁻¹ specific growth rates (SGR)
I	17.89 ± 1.31	48.00 ± 1.00	4.12 ± 0.22
II	48.00 ± 1.00	99.83 ± 1.43	2.29 ± 0.07
III	99.83 ± 1.43	184.33 ± 6.51	5.11 ± 0.41

表 2 不同生长阶段罗非鱼的摄食氮、粪氮、排泄氮、生长以及氮收支($\bar{X} \pm SD$)

Tab. 2 Food nitrogen, faeces nitrogen, excretion nitrogen, growth nitrogen and nitrogen budget of tilapia during different growth stages

生长阶段 growth stage	摄食氮/mg·(g·d) ⁻¹ food nitrogen (C_N)	粪氮/mg·(g·d) ⁻¹ faeces nitrogen (F_N)	排泄氮/mg·(g·d) ⁻¹ excretion nitrogen (E_N)	生长氮/mg·(g·d) ⁻¹ growth nitrogen (G_N)	生长氮/摄食氮/% G_N/C_N	排泄氮/摄食氮/% E_N/C_N	粪氮/摄食氮/% F_N/C_N	蛋白质效率/% protein efficiency ratio (PER)
I	1.97 ± 0.01	0.11 ± 0.00	0.72 ± 0.04	1.26 ± 0.01	64 ± 0.00	37 ± 0.02	5 ± 0.00	3.46 ± 0.07
II	2.02 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.76 ± 0.03	0.95 ± 0.04	47 ± 0.02	38 ± 0.01	9 ± 0.01	2.45 ± 0.11
III	4.17 ± 0.34	0.20 ± 0.03	1.90 ± 0.17	2.54 ± 0.03	54 ± 0.03	40 ± 0.01	4 ± 0.01	2.82 ± 0.21
P 值	$P < 0.01$	$P > 0.05$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$0.01 < P < 0.05$	$P > 0.05$	$0.01 < P < 0.05$	$0.01 < P < 0.05$

注: $P < 0.01$. 差异极显著; $0.01 < P < 0.05$. 差异显著; $P > 0.05$. 没有显著差异

Note: $P < 0.01$. very significant difference; $0.01 < P < 0.05$. significant difference; $P > 0.05$. no significant difference

3 讨论

3.1 生长氮变化

不同的试验中生长氮的比例变化跨度很大,从18%到65%不等^[6,16-18],这与体质量、温度以及饲料水平等多种因素有关。暂养阶段试验鱼质量增加较慢,这符合罗非鱼的一般生长规律,养殖初期从鱼苗生长至25 g规格需要3个月左右^[19]。MEDRI等^[20]关于尼罗罗非鱼的生长试验,试验鱼从4.32 g生长至22.71 g历时4个月,日均质量增加0.15 g。笔者试验中罗非鱼在幼鱼时期(50 g以下)的生长氮比例最高,这符合一般水生动物吸收蛋白质的特点。鱼类从饲料中获取外源性蛋白质,在体内水解成氨基酸,其中的一部分用于重新合成体组织蛋白,幼鱼用于合成体组织的氨基酸数量大于成鱼^[21],因此幼鱼会比成鱼从食物中获取更多用于机体合成的氮。试验末期生长氮比例又开始上升,这可能是由于末期试验鱼的生长速度骤增的缘故,罗非鱼的生长曲线是抛物线形,生长进入中后期会显著加速^[19],100 g以后(第Ⅲ生长阶段)鱼质量增加速度明显加快,特定生长率远高于Ⅱ阶段,甚至超过了第Ⅰ阶段(图2和表1)。此外,末期的蛋白质效率也较第Ⅱ阶段有所增加,这意味着更多的摄食氮转化为鱼肉蛋白,使得最后生长氮比例升高。

3.2 排泄氮变化

鱼类的氮排泄分为内源氮排泄和外源氮排泄^[22],外源氮排泄是自食物中的蛋白代谢产生的,主要受被消耗食物成分的影响^[23];内源氮排泄表示无外来氮源的最低氮排泄率水平,是鱼体内部组织蛋白代谢产生的,它代表鱼类对蛋白质需求的维持水平^[24]。笔者试验得到的是罗非鱼饱食情况下外源氮的排泄量。结果表明,排泄氮比例随着鱼的生长,体质量的不断增加而增加。这与大多数试验的结果是一致的,氮的排泄率与体质量呈幂函数关系,符合 $R = aW^b$ 的模式,式中a和b为常数,其中b又称为体质量指数,b值大小反映排氮率对体质量变化的敏感程度^[24-26]。

第Ⅰ阶段的氮回收率为106%,第Ⅱ和第Ⅲ阶段的氮回收率分别为94%和98%(表2),可能是由于试验中排泄氮的值是直接测定,而非差减法计算,有一定的误差;此外,会有部分鱼粪积聚在生物滤塔内部,或者穿过滤棉沉淀在调节池底部而未被收集,同样引起一定程度的误差,其中生物滤塔内部的鱼粪量非常少,仅占总氮收支的1%,沉淀在鱼池底部的鱼粪每阶段略有不同,占总氮收支的2%左右。

3.3 排氮量变化

作为硬骨鱼类,罗非鱼的氮排泄主要为氨和尿素,大部分由鳃排出,少量随尿液排泄,一般情况下氨氮占总排泄氮的80%~98%,是最主要的排泄物^[27-29],笔者试验中

水体经生物滤塔过滤,氨氮的质量浓度始终维持在 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下,因此将水中总氮(即排泄氮)的累积情况视为氨氮排泄量的变化情况。由图3可见,总氮的质量浓度增加速度在试验中期略降,之后又快速增长,这意味着排氮量并非随着鱼体生长而简单递增。TIMMONS等^[29]曾提出氨氮产生量的推测公式 $P_{\text{TAN}} = \frac{F \cdot PC \cdot 0.092}{t = 1 \text{ day}}$,其中 P_{TAN} 、 F 和 PC 分别为氨氮产生量、投喂量和饲料蛋白含量;而0.092是指饲料蛋白中氮元素的质量分数、鱼吸收氮比例、排泄氮比例以及氨氮占总排泄氮比例都为确定值时的乘积。即在饲料不变的情况下如果氨氮占总排泄氮比例不变,排氮量与投喂量、吸收氮和排泄氮比例是成正向关系的。笔者试验中期随着鱼生长加快,对饲料蛋白的需求降低,吸收氮比例减少,使氨氮排泄速度减慢;试验后期鱼生长进一步加快,投喂量和排泄氮比例都大幅度增加,抵消了吸收氮比例降低的影响,氨氮排泄速度反弹。

4 结论

罗非鱼在生长过程中,其氮收支并非随着体质量增加而简单递增或递减,进入快速生长期时由于摄食量和体质量快速增加,代谢加快,引起生长氮和排泄氮比例同时提升,排氮率也大大增加。因此在鱼进入快速增加质量阶段时,除了提供足够的饲料蛋白满足摄食需要,还应加大对水质参数的监控,及时降低氨氮浓度,增加碱度,使罗非鱼在良好的环境中更健康地生长。

参考文献:

- [1] 陈胜军,李来好,杨贤庆,等.我国罗非鱼产业现状分析及提高罗非鱼出口竞争力的措施[J].南方水产,2007,3(1):75-80.
- [2] 周玲.两种罗非鱼精养模式的氮、磷收支研究[D].湛江:广东海洋大学,2010.
- [3] U. S. Environmental Protection Agency. EPA-823-F-99-024: 1999 Update of ambient water quality criteria for ammonia[S]. Washington, D. C.: U. S. Environmental Protection Agency, 1999.
- [4] 魏东,白东清,乔秀亭,等.亚硝酸盐对长尾墨金丝神仙幼鱼的急性毒性试验[J].水利渔业,2007,27(6):98,116.
- [5] 倪琦,张宇雷.循环水养殖系统中的固体悬浮物去除技术[J].渔业现代化,2007,24(6):7-10.
- [6] 李军,徐世宏,薛平玉.日粮对黑鲟幼鱼氮收支的影响[J].海洋与湖沼,1998,29(4):368-373.
- [7] 杨严鸥,崔奕波,熊邦喜,等.建鲤和异育银鲫摄食不同质量饲料时的氮收支和能量收支比较[J].水生生物学报,2003,27(6):572-579.
- [8] 杨严鸥,解绶启,熊邦喜,等.饲料质量对丰鲤和奥尼罗非鱼氮及能量收支的影响[J].水生生物学报,2004,28(4):337-343.
- [9] 白志毅,何学军,李思发.尼罗罗非鱼幼鱼氮收支与饲料组成关系[J].上海水产大学学报,2003,12(4):298-302.

- [10] 孙丽华, 陈浩如, 黄洪辉, 等. 摄食水平和饵料种类对军曹鱼幼鱼生长及氮收支的影响[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(4): 94-101.
- [11] 孙丽华, 陈浩如, 黄洪辉, 等. 摄食水平对几种重要海水养殖鱼类生长和氮收支的影响[J]. 水产学报, 2009, 33(3): 470-478.
- [12] 安瑞永, 李同庆, 杨振才. 饵料蛋白质含量对史氏鲟幼鱼氮收支的影响[J]. 河北渔业, 2008(1): 23-25.
- [13] 杨严鸥, 甄恕其, 余文斌, 等. 投喂节律对异育银鲫氮收支的影响[J]. 长江大学学报: 自科版, 农学卷, 2007, 4(1): 31-33.
- [14] 线薇薇, 朱鑫华. 温度和体重对褐牙鲈氮收支的影响[J]. 海洋科学集刊, 2002, 44: 199-205.
- [15] 姚峰, 甄恕其, 杨严鸥, 等. 养殖密度对异育银鲫氮和能量收支的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2009, 36(3): 451-45.
- [16] GAO Y, LV J, LIN Q, et al. Effect of protein levels on growth, feed utilization, nitrogen and energy budget in juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma* [J]. Aquac Nutr, 2005, 11(6): 427-433.
- [17] 孙耀, 张波, 郭学武, 等. 鲑鱼能量收支及其饵料种类的影响[J]. 海洋水产研究, 1999, 20(2): 96-100.
- [18] CARTER C G, BRAFIELD A E. The bioenergetics of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*: the influence of body weight, ration and dietary composition on nitrogenous excretion [J]. J Fish Biol, 1993, 41(4): 533-543.
- [19] CDI. Technical guide for tilapia farming[EB/OL]. [2012-06-01]. http://www.appropedia.org/Tilapia_Fish_Farming_Notions.
- [20] MEDRI V, PEREIRA G V, LEONHARDT J H. Growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed with different levels of alcohol yeast [J]. Revista Brasileira de Biologia, 2000, 60(1): 113-121.
- [21] 黄峰. 水生动物营养与饲料学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 24-25.
- [22] JOBLING M. Fish ecophysiology bioenergetics: feed intake and energy partitioning [M]. London: Chapman and Hall, 1993: 1-44.
- [23] BRETT J R, ZALA C A. Daily pattern of nitrogen excretion and oxygen consumption of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) under controlled conditions [J]. J Fish Res Board Can, 1975, 32(12): 2479-2486.
- [24] 线薇薇, 朱鑫华. 梭鱼标准代谢、内源氮排泄与体重和温度的关系[J]. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 2002, 32(3): 368-374.
- [25] 叶乐, 杨圣云, 刘敏, 等. 温度和体重对克氏双锯鱼仔鱼代谢率的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(14): 4516-4524.
- [26] 张兆琪, 张美昭, 李吉清, 等. 牙鲈鱼耗氧率、氮排泄率与体重及温度的关系[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 483-489.
- [27] DAVID R, HEWITT D R, IVRING M G. Oxygen consumption and ammonia excretion of the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* fed diets of varying protein content [J]. Comp Biochem Physiol A, 1990, 96(3): 373-378.
- [28] DOSDAT A, SERVAIS F, METAILLER R, et al. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species [J]. Aquaculture, 1996, 141(1/2): 107-127.
- [29] TIMMONS M B, EBELING J M, WHEATON F W, et al. Recirculating aquaculture systems[M]. New York: Cayuga Aqua Ventures Ltd, 2002: 101.