

DOI: 10.11758/yykxjz.20140418

http://www.yykxjz.cn/

循环水养殖系统生物滤器负荷挂膜技术*

朱建新¹ 刘 慧¹ 徐 勇¹ 陈世波^{1,2} 刘圣聪³ 张 涛³ 曲克明¹

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266041;
2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 3. 大连天正实业发展有限公司 大连 116011)

摘要 循环水养殖系统启动运行前往往需要经过一段时间的生物膜预培养,使生物膜达到成熟稳定,从而保证系统的水质净化功能。本研究通过养殖试验,研究了生物滤器负荷挂膜的技术方法,以期实现生物膜的快速成熟和系统的快速启动。为此,构建了 6 组循环水系统组成的养殖车间,建成后立即投入试验生产。试验为期 120 d,养殖种类为红鳍东方鲀,初始放养平均体重(632.5 ± 2.26) g。期间,红鳍东方鲀平均增重 29.91%,养殖成活率 98.7%,养殖密度由(19.34 ± 1.89) kg/m³ 增加到(32.17 ± 3.40) kg/m³,投饵率由 0.2%增加到 0.5%–0.7%,每日换水量由 50%逐渐减至 10%。结果表明,在生物膜的生长期,通过对投饵量及新水补充量的有效调节,可以把养殖水体中的氨氮和亚硝氮浓度控制在安全范围以内,以保证养殖鱼类的生长。生物膜在 50 天左右达到完全成熟,此后便可依靠生物膜的净化作用将氨氮浓度控制在 0.5–1.2 mg/L、亚硝氮浓度控制在 0.2–0.5 mg/L、pH 值控制在 6.5–7.5、COD 值低于 4 mg/L、细菌总数控制在 800–2100 cell/ml 的安全范围内。利用生物滤器负荷挂膜技术,在合理调控水质指标的条件下,循环水养殖系统建成后可以立即投入生产,实现生物滤器挂膜与养殖生产的同步进行。

关键词 循环水养殖系统; 负荷挂膜; 水质指标; 红鳍东方鲀

中图分类号 S969 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)04-0118-07

循环水养殖兴起于 20 世纪 80 年代末,是一种把养殖水经过多级物理净化和生物净化,经过增氧、脱气及杀菌消毒处理后得以循环利用的新型养殖模式,具有节水、节地、节能、减排和高效等突出优点,代表了工厂化养殖未来发展方向(刘鹰, 2011; Abbink *et al*, 2012; 王印庚等, 2013)。近年来,我国的海水鱼类循环水养殖发展迅速,开展循环水养殖的企业有 70 多家,养殖面积近 50 万 m² (国家鲆鲽类产业技术体系年度报告, 2012)。

在循环水养殖中,氨氮和亚硝氮是制约鱼类正常生长的主要因子之一,养殖密度越大影响越明显(Mook *et al*, 2012),是循环水养殖的潜在威胁因素(曲克明等, 2007),需要通过生物净化环节予以降解。生物净化是由附着在生物填料表面的生物膜完成的,

生物膜是指由微生物、原生动物、多糖组成,具有生物降解、硝化功能、亚硝化功能及硫代谢功能的生物絮团(高喜燕等, 2009)。前期研究表明,在启动循环水养殖系统前,为了使生物膜的水处理功能达到稳定和高效,往往需要经过一个为期 70 d 左右的预培养过程,生物膜培养分为定向菌接种挂膜法、活性污泥挂膜法和自然挂膜法 3 种¹⁾(齐巨龙等, 2010)。3 种方法费时、费力,特别是用人工氮源培养的生物膜,在系统启动以后还会出现“脱膜”的现象(王冠平等, 2003),显著影响水处理效果。

本研究基本思路是利用一系列技术调控,在养鱼的同时培养生物膜,达到循环水系统稳定、快速启动的目的。实验利用新建成的循环水系统进行红鳍东方鲀养殖,探讨了在不同水温、养殖密度、投饵量及新

* 国家科技支撑计划课题(2011BAD13B04)、(2011BAD13B07)共同资助。朱建新, E-mail: zhujx@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2013-09-23, 收修改稿日期: 2014-01-24

1) 曹涵. 循环水养殖生物滤池滤料挂膜及其水处理效果研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文, 2008

水补充量的条件下, 生物膜的增长情况和成熟时间, 同时监测了实验过程中养殖生物的生长和存活情况。研究结果可以为建立生物滤器负荷挂膜的新技术提供支撑, 为实现循环水养殖系统的快速启动、改进和完善提供新思路。

1 材料与方法

1.1 循环水养殖系统工艺流程

实验在新建成的 6 套循环水养殖系统中进行, 工艺流程如图 1 所示。每套系统包括 9 个有效养殖水体为 48.4 m³ 的养殖池、过水面积为 5 m² 的国产 316 L 不锈钢材料制作的弧形筛、流量为 400 m³/h 的离心式提水泵、产气量为 35 m³/h 的潜水式气浮泵、产气量为 50 g/h 臭氧发生器、容积为 144 m³ 的生物滤池、10 m³ 的曝气池和功率为 2 kW 的悬挂式紫外消毒器。以 PVC 刷状立体弹性填料作为生物膜的附着基, 用罗兹鼓风机向生物滤池和曝气池供气。氧源为工业用液态氧, 液氧供向增氧池和养殖池, 分别作为循环水养殖时的集中供氧和停电、停水情况下的应急增氧之用。养殖用水为盐度 30 的地下深井海水, 分别在养殖池、泵池和一级生物滤池设置了补充用水点。该系统结构简单、运行管理方便。

1.2 实验用鱼

实验用鱼为红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*), 取自大连天正实业有限公司养殖二厂, 初始规格为体重 (632.5 ± 2.26) g, 初始放养密度为 (19.34 ± 1.89) kg/m³。从 2011 年 12 月 31 日实验开始, 到 2012 年 4 月 30 日实验结束, 每隔 30 d 对实验鱼进行抽样称重; 每

次从养殖池中随机抽取 20 尾, 用毛巾拭干体表水分后, 用精密电子天平称重。抽样比例约为 1:75。

1.3 日常水质指标监测

日常水质指标的监测是循环水养殖管理的重要内容。每天早晨投饵之前从每套系统的回水管口取水样分析, 监测指标主要有水温、溶氧、pH 值、氨氮浓度、亚硝氮浓度、COD 和细菌总数。为了保证监测数据的准确性, 测定依据《海洋监测规范》(GB 17378.4-2007)标准(国家质量技术监督局, 2007), 采用仪器监测和手动监测交叉进行。

1.3.1 溶解氧、水温、pH 值的监测 采用 YSI550A 便携式野外溶氧仪测定各套系统养殖池水温和进出水口的溶解氧浓度, pH 值采用 Aquastar 全能水质检测仪检测。

1.3.2 氨氮、亚硝氮的监测 每天早 8:00 在各套系统弧形筛溢水槽取水样, 及时送检。氨氮浓度的检测采用次溴酸盐氧化法, 亚硝氮浓度的检测采用萘乙二胺分光光度法。

1.3.3 COD 的检测 每隔 7 d 在各系统弧形筛溢水槽取样, 检测各系统的 COD 值, 检测方法为碱性高锰酸钾法。

1.3.4 细菌总数检测 每隔 15 d 在各系统弧形筛溢水槽取样, 检测各系统的细菌总数。培养基配方为: 每 100 ml 培养基含 0.5 g 牛肉膏, 1 g 蛋白胨, 0.5 g NaCl, 2 g 琼脂粉。培养温度为 37℃, 培养时间为 48 h。

1.4 生物膜培养与生产管理

1.4.1 生物膜培养 本研究采用自然挂膜工艺。生物滤池内生物填料是用直径为 0.5 mm, 比表面积为

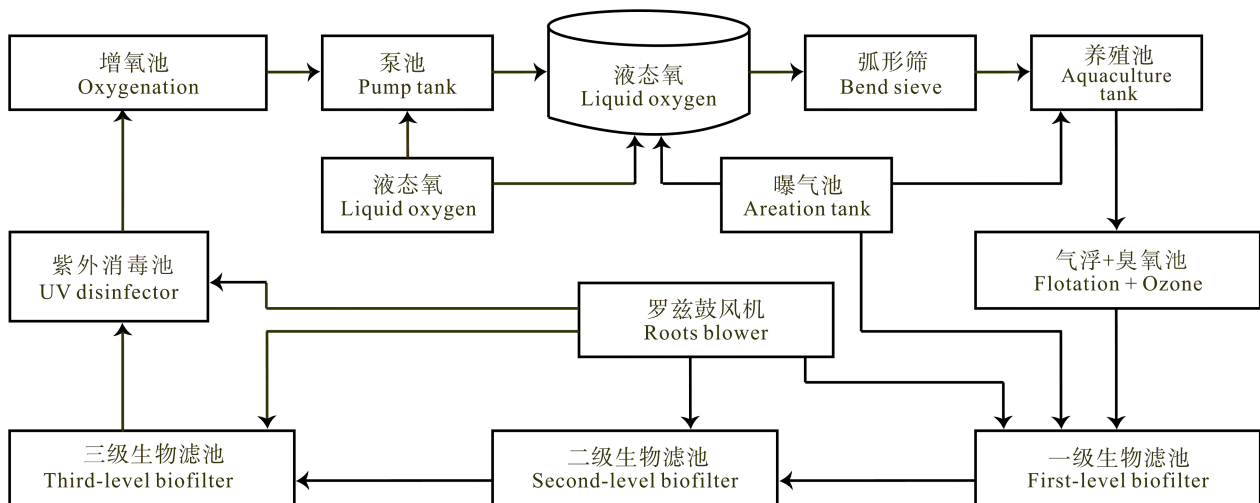


图 1 循环水养殖系统工艺流程

Fig.1 Flow chart of RAS

360 m²/m³ 的聚乙烯及聚丙烯纤维丝条加工而成的弹性刷状载体。生物填料在水中呈均匀辐射状伸展,具有一定的柔韧性和刚性,使净化微生物能均匀地附着在每一根纤维丝条上,使气、水、净化微生物之间充分接触。生物填料以竖向的方式悬挂在各级生物滤池中,并且通过池底充气增加生物滤池中的溶氧量,以满足微生物生长代谢所需。

1.4.2 投饵率 实验用饲料采用“海旗牌”河鲢鱼专用饲料。养殖期间,每天分别在 06:00 和 17:00 投饵两次。系统运行前 60 d 左右,投饵率控制在鱼体重的 0.2%–0.6%。随着生物膜的逐渐成熟,为了促进鱼的生长,投饵率逐渐增加至 0.5%–0.7%。期间连续进行水质监测。当水中氨氮和亚硝氮指标明显升高时,减少投饵或停止投饵。

1.4.3 换水率 适时补充新水是循环水养殖过程中调节水质指标最直接、最有效的方法。本研究在生物膜的生长潜伏期补充新水量控制在 50%,然后根据生物膜的生长及水质指标变化情况逐渐减少换水量,最终在系统各项指标趋于稳定时,换水量控制在 10% 水平。具体换水情况见图 2。

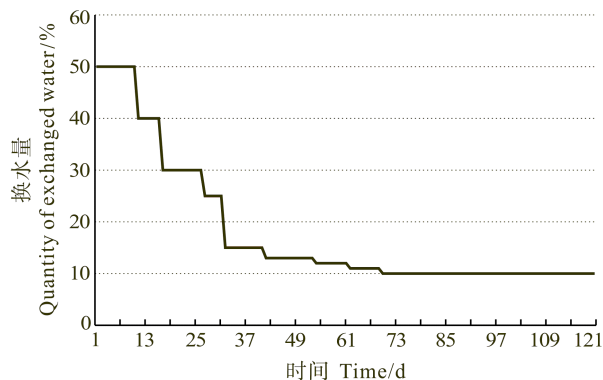


图 2 养殖系统换水量变化

Fig.2 Water exchange rate of the culture system

2 结果

2.1 生物膜形成及形态变化观察

在循环水养殖系统启动初期的 1–8 d, 生物填料

的表面慢慢形成一层无色透明状黏液层,生物膜处于生长的潜伏期。9–20 d, 生物膜增长速度加快,生物滤池进水端的生物填料表面逐渐出现零散絮状的浅褐色附着物。21–29 d, 生物膜处于线性增长期,浅褐色附着物的覆盖范围顺水流方向向下游延伸,进水端的生物膜接近成熟期。29–40 d, 生物膜不断积累并且布满载体表面,进水端生物膜增长速度开始减慢,进入减速增长期。第 40 天之后,生物膜生长处在稳定期和再生期。第 50 天,载体表面形成一层浅黄色绒毛状物质,用手触摸有滑腻感且附着牢固,水体各项指标趋于稳定,生物膜培养工作结束,进入生物膜日常维护阶段。

2.2 红鳍东方鲀养殖效果

系统运行期间红鳍东方鲀生长情况见表 1。实验结束时,平均增重(189.2±0.93) g, 平均增重率为 29.91%, 养殖密度从(19.34±1.89) kg/m³ 增加到(32.17±3.40) kg/m³。系统运行第 29 天,红鳍东方鲀体重下降了(9.2±0.34) g。随着生物膜逐渐成熟,第 60 天后鱼开始稳定生长,且增长速度不断加快;第 90 天以后,进入快速生长阶段。60–90 d 生物膜从线性生长期进入成熟期。90 d 以后,生物膜的各项功能已经成熟,氨氮、亚硝酸盐等各项水体指标稳定,红鳍东方鲀生长速度明显加快,第 120 天的增重率达到 29.91%。

2.3 循环水系统内部水质变化

2.3.1 亚硝酸氮和氨氮浓度 如图 3 所示,在系统运行初期,因生物膜未成熟,各实验养殖系统亚硝氮和氨氮浓度变化剧烈,且无明显的规律。至 60 d 左右时,亚硝氮浓度 0.5 mg/L,氨氮浓度 1 mg/L,二者均在一个相对安全的范围内呈小幅度波动,表明系统内的残饵和粪便等残留物与水体的综合消氮作用达到了一个相对平衡,此时,可视为生物膜培养成熟,系统进入稳定运行。总之,在 60 d 左右生物膜进入成熟期以后,养殖水体中的氨氮浓度始终在 0.5–1.2 mg/L 之间,亚硝氮浓度始终在 0.2–0.5 mg/L 之间,并无剧烈波动。

表 1 红鳍东方鲀生长情况

Tab.1 Growth of *Takifugu rubripes* during the experiment

项目 Items	日期 Date (M-D)				
	12-31	01-31	02-29	03-31	04-30
体重 Body weight (g)	632.52±2.26	623.31±2.27	643.60±2.39	678.42±2.64	821.72±3.26
净增重 Net weight gain (g)		-9.20±0.34	11.08±0.51	45.9±0.55	189.20±0.93
增重率 Percentage weight gain(%)		-1.45	1.75	7.26	29.91

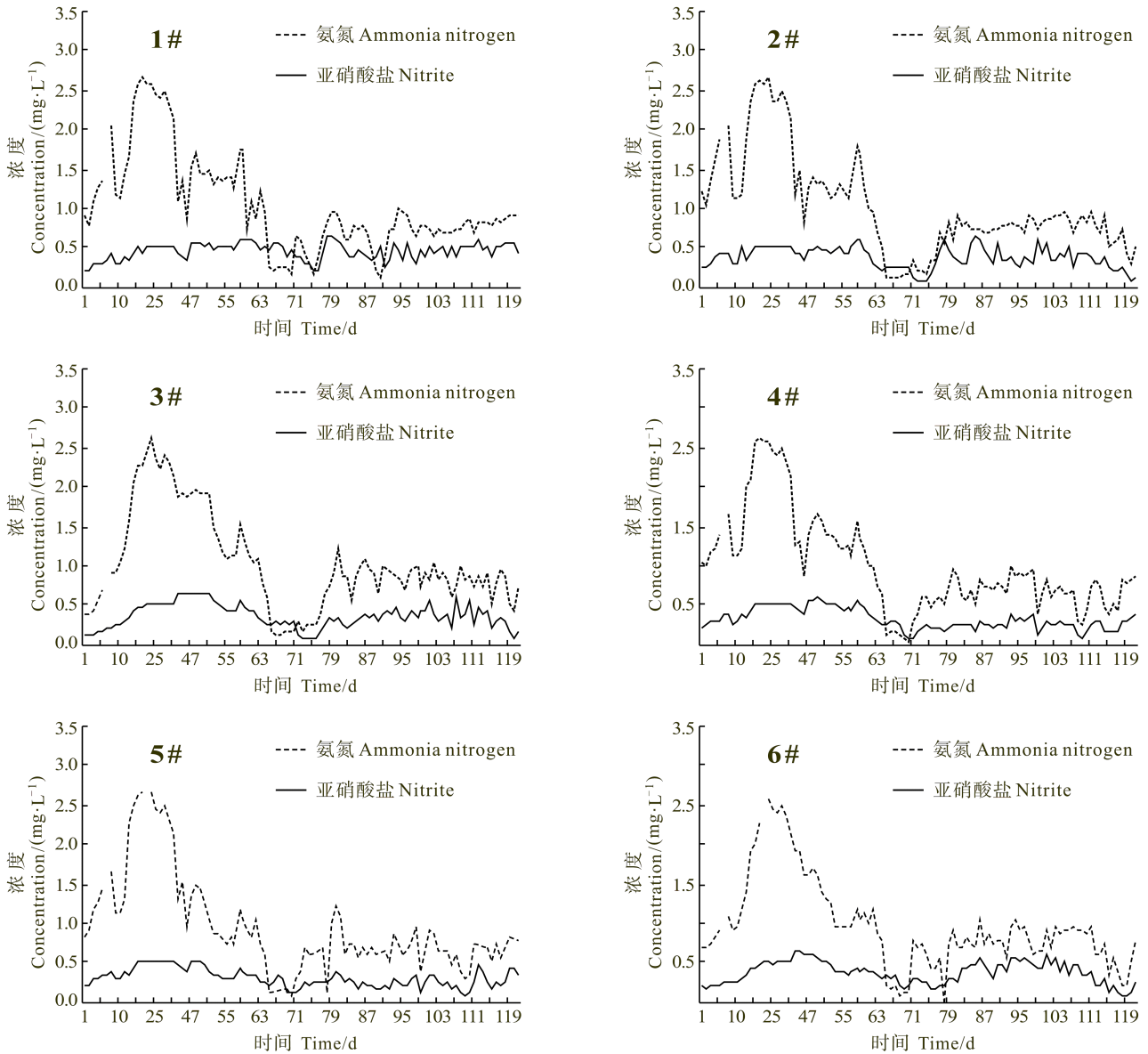


图 3 试验期间各系统氨氮、亚硝酸盐变化情况

Fig.3 Variation of ammonia and nitrite concentrations in respective RAS during the experiment

2.3.2 pH 值 实验期间, 随着鱼类养殖密度的增大, pH 值表现为缓慢下降趋势。采用适当补充新水来调节 pH 值, 各实验养殖系统水体 pH 值波动区间处于 6.8–7.5 之间(图 4), 虽然偏低, 但养殖的红鳍东方鲀生长正常, 生物膜也能有效去除水体中的亚硝酸盐与氨氮。

2.3.3 COD(化学耗氧量) COD 反映了水体中有机物的污染程度。COD 值越高, 水体受有机物污染程度越重。本研究各循环水系统的 COD 值始终小于 4 mg/L (图 5), 说明该系统养殖池流态、弧形筛过滤及生物滤池截污净化等方面设计合理, 养殖期间, 水体保持较高洁净度。

2.3.4 细菌浓度与养殖成活率 本研究前后持续 4

个月, 期间养殖的河鲀鱼除入池时由于运输过程操作损伤和不适应新环境造成的死亡外, 未发生任何因致病菌或寄生虫引发的病损, 养殖成活率高达 98.7%。细菌浓度检测结果显示, 系统内的臭氧与紫外线消毒杀菌器很好地控制了水体的游离细菌数量, 水体中的游离细菌浓度绝大多数时间维持在 2000 cell/ml 以下的极低水平(图 6)。

3 讨论

3.1 生物滤器负荷挂膜与养殖效果分析

在实验规模的海水循环水养殖系统中, 生物滤器的挂膜时间一般需要 45 d 以上(傅雪军等, 2011), 而

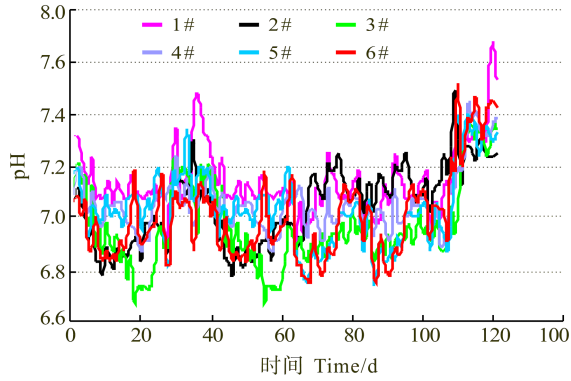


图4 试验期间各系统 pH 值波动情况

Fig.4 Variation of pH in respective RAS during the experiment

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, 6#为实验循环水系统编号

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, and 6# are the serial number of the experiment systems

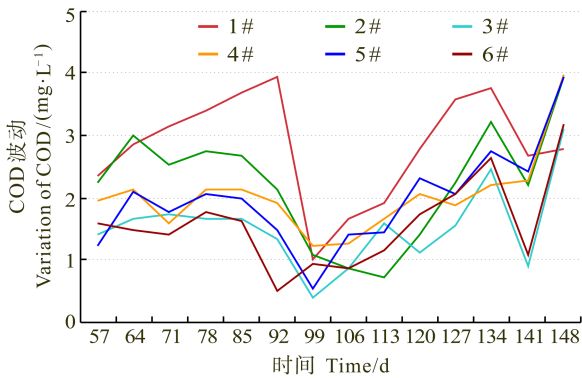


图5 试验期间各系统 COD 波动情况

Fig.5 Variation of COD in respective RAS during the experiment

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, 6#为实验循环水系统编号

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, and 6# are the serial number of the experiment systems

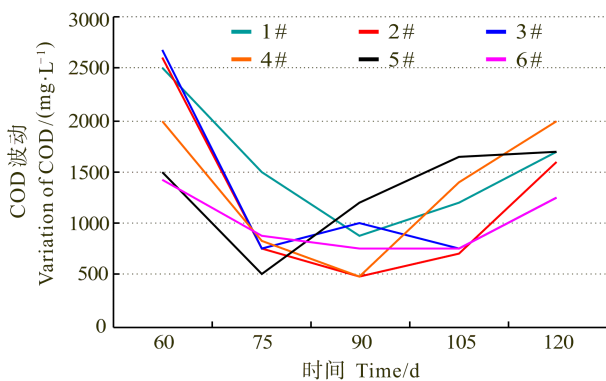


图6 试验期间各系统内游离细菌浓度

Fig.6 Variation of free bacteria concentrations in respective RAS during the experiment

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, 6#为实验循环水系统编号

1#, 2#, 3#, 4#, 5#, and 6# are the serial number of the experiment systems

在实际生产中,获得成熟生物膜的时间会更长。本研究采用负荷挂膜技术,在生产性循环水养殖系统建成以后,不经过生物膜预培养环节,直接投入生产运行,边养鱼边培养生物膜,既节省了系统启动前的准备时间和前期培养生物膜的费用,又避免了因使用人工氮源培养的生物膜在系统运行后发生的“脱膜”现象。其技术要点是,通过调节新水补充量、养殖密度、投喂量来控制早期水质指标,使其既能满足生物膜培养所需要的高营养,又不至于对养殖鱼类的生长构成太大影响。在系统运行第50天,载体表面即形成一层浅黄色的团状物质,水体各项指标趋于稳定,新水补充量显著下降,生物膜逐渐趋于成熟。在整个实验期间,养殖密度由 $(19.34 \pm 1.89) \text{ kg/m}^3$ 增加到 $(32.17 \pm 3.40) \text{ kg/m}^3$,投喂率由0.2%增加到0.5%–0.7%,每日换水量由50%逐渐减至10%,红鳍东方鲀平均增重29.91%,养殖成活率98.7%。结果表明负荷挂膜简单、实用,具有很高推广价值。

本研究用红鳍东方鲀取自海上养殖网箱,试验初始水温 16°C 左右,逐渐把温度提升至 $21\text{--}22^\circ\text{C}$,由于海上网箱养殖与室内水泥池养殖环境差异较大,鱼进入室内后有一段时间的适应过程,另外,试验初期由于生物膜尚未产生,为了维持水质,对投喂量进行了严格控制,导致第一个月的鱼体重下降。随着生物膜的逐步形成与成熟,水质指标、投喂量均有了较大提高,鱼的生长速度呈逐渐加快之势。红鳍东方鲀越冬一直是困扰养殖发展的制约因素之一,传统的河鲀鱼越冬多采用流水或换水方式,需要大量高温海水,能耗高。以流水或换水方式越冬,河鲀鱼还面临丝状菌、车轮虫、小瓜虫、淀粉裸甲藻等众多病害生物侵扰。所以一般情况下,越冬期鱼不生长,成活率只有40%左右(王如才等,2001)。本研究采用循环水养殖,由于系统中以生物膜上的硝化菌占据优势,有害微生物受到抑制,且其他各项水环境指标都控制在最适状态。因此,整个试验过程未发生任何疾病,保持快速生长的同时,获得了98.7%的较高成活率。

3.2 氨氮浓度与挂膜速度的控制

在生物滤池中,生物膜上细菌数量及优势菌种的形成受水中初始氨氮浓度影响,初始氨氮浓度越高,越有利于硝化细菌在生物膜上聚集,生物膜上细菌数量及优势菌也越多(李秋芬等,2011)。本研究挂膜过程中,水质监测的数据显示,初始氨氮浓度越高的生物滤池,氨氮的去除率越高,达到氨氮浓度稳定的时间越短。

从另一角度来看,循环水养殖系统氨氮和亚硝氮等水质指标的控制是依据养殖鱼类的生理生态要求,必须以不影响鱼类正常生活和生长为前提。因此,加强对不同养殖鱼类生理适应性的研究,找到负荷挂膜的最适氮化合物指标,或者采用对氨氮等营养盐耐受能力比较强的鱼类作为系统启动阶段的养殖品种,是获得养殖效果与快速挂膜双赢的合理选择。

3.3 pH 值与生物净化效果的关系

在循环水养殖过程中,生物净化系统内的微生物代谢产生大量的 CO_2 , 容易导致养殖水体 pH 值下降。研究发现,当养殖海水 pH 值低于 7.5 时,不但会影响鱼类的摄食与生长(Abbink *et al*, 2012),而且会抑制生物膜的净化效果(Chen *et al*, 2006)。pH 值变化与系统的生物承载量密切相关,如何有效控制循环水养殖系统的 pH 值是目前国际循环水养殖研究的重点。当前最有效的调控手段是脱气和补充新水。本研究过程中,随着养殖密度的增大,pH 值表现为缓慢下降趋势,但通过适当换水(大约 10%),可以把养殖水 pH 值维持在 6.8–7.5 之间。本研究结果显示,虽然 pH 值始终低于 7.5,但养殖的红鳍东方鲀生长正常,生物膜也能有效去除水体中的亚硝酸盐和氨氮,说明红鳍东方鲀对低 pH 值有很强的适应能力。因此,把循环水系统的 pH 值临界值定为 7.5 有待商榷。

3.4 COD 和初始氨氮浓度与生物净化效果的关系

COD 反映了水体中有机物的污染程度,其值越高,水体受有机物污染程度越重。在循环水养殖系统中,一定浓度的有机物会充当微生物碳源,有利于异养细菌繁殖(王以尧等,2011)。生物膜属于一个微生物生态系统,异养细菌和硝化菌存在着生长竞争(李秋芬等,2011),当 COD 含量过高时异养细菌的竞争优势比硝化细菌明显,从而导致系统消氮能力下降。氨氮和亚硝氮含量的升高,会促进硝化细菌的生长,形成一种动态平衡。本研究循环水系统的 COD 值均小于 4 mg/L,在此浓度下异养细菌和硝化细菌数量维持在平衡状态,系统运行稳定。

4 结论

负荷挂膜操作简单、实用,既节省了单独培养生物膜的时间及一系列繁复的培养环节,加快循环水养殖系统的启动速率,且系统运行中后期生物膜及水质指标稳定,所养殖的红鳍东方鲀生长健康快速。本研究的结果可为构建循环水养殖系统生物膜培养与快速启动运行提供有力的技术支持。

参 考 文 献

- 王以尧, 罗国强, 张哲勇, 等. 投喂频率对循环水养殖系统氨氮浓度的影响. 渔业现代化, 2011, 38(1): 7–11
- 王印庚, 陈君, 潘传燕. 鲆鲽类循环水养殖系统中病原菌的分布及杀除工艺. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 81–97
- 王如才, 俞开康, 姚善成, 等. 海水养殖技术手册. 上海科学技术出版社, 2001: 39–47
- 王冠平, 谢曙光, 施汉昌, 等. 预处理生物滤池挂膜的影响因素. 中国给水排水, 2003, 19(z1): 41–43
- 刘鹰. 海水工业化循环水养殖技术研究进展. 中国农业科技导报, 2011, 13(5): 50–53
- 曲克明, 徐勇, 马绍赛, 等. 不同溶解氧条件下亚硝酸盐和非离子氨对大菱鲆的急性毒性效应. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 83–88
- 齐巨龙, 赖铭勇, 谭洪新, 等. 预培养生物膜法在海水循环水养殖系统中的应用效果. 渔业现代化, 2010, 37(2): 14–18
- 李秋芬, 傅雪军, 张艳, 等. 循环水养殖系统生物滤池细菌群落的 PCR-DGGE 分析. 水产学报, 2011, 35(4): 579–586
- 高喜燕, 傅松哲, 刘纓, 等. 循环海水养殖中生物滤器生物膜研究现状与分析. 渔业现代化, 2009, 36(3): 75
- 傅雪军, 马绍赛, 朱建新, 等. 封闭式循环水养殖系统水处理效率及半滑舌鲷养殖效果分析. 环境工程学报, 2011, 5(4): 745–751
- Abbink W, Garcia AB, Jonathan AR. The effect of temperature and pH on the growth and physiological response of juvenile yellowtail kingfish *Seriolalalandi* in recirculating aquaculture systems. Aquaculture, 2012, 330(17): 130–135
- Chen S, Jian L, Jean-Paul B. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. Aquacultural Engineering, 2006, 34(3): 179–19
- Mook WT, Chakrabarti MH, Aroua MK. Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review. Desalination, 2012, 285(31): 1–13

(编辑 刘丛力)

Dual-Culture Techniques for the Rapid Start-up of Recirculating Aquaculture System

ZHU Jianxin¹, LIU Hui¹, XU Yong¹, CHEN Shibo^{1,2}, LIU Shengcong³, ZHANG Tao³, QU Keming¹

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266041; 2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 3. Dalian Tianzheng Industrial Development Co., Ltd., Dalian 116011)

Abstract Recently recirculating aquaculture system (RAS) has become popular in large scale land-based aquaculture in China because of its high productivity, less water consumption, better control on the effluent and pollutants, and lower demand for land space. The function of RAS relies largely on the efficiency and stability of the bio-filters which need to be carefully cultured and maintained throughout the culture period. The conventional start-up of RAS usually takes about 70 days before the pre-cultured biofilm matures for the steady high-capacity water purification. In this study, a technique for the rapid maturation of a bio-filter and RAS start-up was developed through dual-culture of the biofilm and finfish *Takifugu rubripes*. The experiment was carried out in a newly-built workshop with 6 separate RASs. Each RAS consisted of 9 fish culture tanks. Each tank had a volume of 48.4 m³ and included parts shown below: 1) a model 316 L stainless steel bend sieve with a surface area of 5 m²; 2) a centrifugal pump with a water flow volume of 400 m³/h; 3) a submersible air pump with an air-production volume of 35 m³/h; 4) an ozone generator with an ozone-production capacity of 50 g/h; 5) three bio-filters with a volume of 144 m³ each; 6) a suspended UV disinfectant with the power of 2 kW; 7) an aeration tank with a volume of 10 m³. *T. rubripes* with the initial body weight of (632.5±2.26) g were transferred into the tanks with the density of (19.34±1.89) kg/m³ in the beginning and were cultured for 120 days. During this period, their body weight increased by 29.91% to a final value of (821.72±3.26) g; the survival rate was 98.7%; the stocking density of the fish increased to (32.17±3.40) kg/m³; daily feeding rate increased from 0.2% to 0.5%–0.7%; and the daily water exchange rate decreased from 50% to 10%. Observations mentioned above indicated the good growth and maturation of the bio-filters. Through the proper control of daily feeding rate and water exchange rate, good water quality in the culture tanks can be maintained during the culture of the bio-filter. After the bio-filter became mature around day 50, water quality can be maintained by the purification function of the bio-filter, with the concentrations of ammonia and nitrite at 1.2–0.5 mg/L and 0.5–0.2 mg/L respectively, pH at 6.5–7.5, COD value below 4 mg/L, and the total bacterial count of 800–2100 cell/ml. These results suggested that with effective water quality control, a newly-built RAS could be put into operation immediately by using biofilm dual-culture technique, and the biofilm culture and fish culture could be carried out simultaneously. This technique will provide valuable supports for the operation of newly-built RAS by lowering both the time consumption and the operation costs.

Key words Recirculating aquaculture system; Biofilm dual-culture techniques; Water quality; *Takifugu rubripes*