

文章编号: 1674-5566(2023)03-0532-12

DOI:10.12024/jsou.20220503851

凡纳滨对虾二氧化碳麻醉后有水保活运输条件优化

盛祥¹, 刘文畅^{1,2}, 谭洪新^{1,2}, 罗国芝^{1,2}, 孙大川^{1,2}, 朱博文³, 庞云³, 扶泽发³

(1. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 上海市水产动物良种创制与绿色养殖协同创新中心, 上海 201306; 3. 智循环(南京)水产科技有限责任公司, 江苏 南京 210019)

摘要: 为提高凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)在二氧化碳(Carbon dioxide, CO₂)麻醉后有水运输过程中的存活率, 研究CO₂流速(麻醉阶段)、浸泡时间(浸泡阶段)、水体类型和盐度(复苏阶段)对复苏效果的影响。通过设置CO₂流速(3、5和7 L/min)、浸泡时间(0、1和5 min)、水体类型(自来水、养殖水上清液和养殖水)以及盐度(3、7和11)等4个因素, 进行单因素试验, 并以结果为依据进行L₉(3⁴)正交和验证试验。单因素试验结果表明, 最佳CO₂流速为7 L/min、最佳浸泡时间为0 min、最佳水体类型为自来水、最佳盐度为7; 正交试验结果显示, 当复苏时间为2 h时, 4个因素对运输效果影响的主次关系为浸泡时间 > 水体类型 > 盐度 > CO₂流速, 最佳运输方式组合为CO₂流速为8 L/min、水体类型为自来水、盐度为7、浸泡时间为0 min; 当复苏时间为4 h时, 4个因素对运输效果影响的主次关系为浸泡时间 > CO₂流速 > 水体类型 > 盐度, 最佳运输方式组合为CO₂流速为7 L/min、水体类型为自来水、盐度为7、浸泡时间为0 min; 当复苏时间为6 h时, 4个因素对运输效果影响的主次关系为浸泡时间 > CO₂流速 > 盐度 > 水体类型, 最佳运输方式组合为CO₂流速为6 L/min、水体类型为自来水、盐度为7、浸泡时间为0 min。研究表明, 可通过调节CO₂流速、浸泡时间、水体类型和盐度等4个因素的水平, 提高凡纳滨对虾在不同运输时长条件下的复苏率, 为对虾保活运输提供了新的思路。

关键词: 凡纳滨对虾; CO₂; 保活运输; 条件优化

中图分类号: S 981.21 **文献标志码:** A

随着我国经济快速发展和人均收入水平的提高, 居民水产品需求量也在逐年上升。凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)俗称南美白对虾, 因其味道鲜美, 且富含蛋白质、矿物元素以及不饱和脂肪酸等, 深受消费者喜爱^[1-2]。2020年, 我国虾类海水养殖总量为148.75万t, 比2019年增加2.57%; 海水养殖南美白对虾总量为119万t, 比2019年增加4.66%^[3]; 消费者对水产品的品质要求逐年提高, 鲜活虾更加受消费者的青睐且经济价值更高。因此, 优化凡纳滨对虾的保活运输工艺, 提高存活率并降低成本, 对于产业发展具有重要意义。

麻醉保活法最初在鱼类保活运输领域使用, 后逐渐延伸至虾蟹类保活运输。其作用机理为

抑制中枢神经系统, 降低呼吸和代谢强度, 进而减少环境胁迫产生的应激反应和潜在的机械损伤^[4]。常见的麻醉剂有MS-222、丁香酚、CO₂、乙醇、乙醚、AQUI-S等。CO₂作为空气的组成成分之一, 使用其作为麻醉剂, 一方面不会对操作者和环境造成危害, 另一方面不会在水产品体内残留, 无须经历休药期即可上市。但不同物种对CO₂的耐受剂量和麻醉复苏时间差异较大, 操作者难以把握使用剂量^[5]。研究发现, 当温度为18℃时, 使用60~300 mg/L质量浓度的CO₂麻醉罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*), 结果显示所有虾体均能成功复苏, 且进入麻醉状态的时间与CO₂质量浓度呈负相关, 复苏时间与其呈正相关, 但保活24 h后, 各组间成活率发生显著性差

收稿日期: 2022-05-09 修回日期: 2022-05-16

基金项目: 上海市科学技术委员会扬帆专项(22YF1416400); 上海水产养殖工程技术研究中心能力提升项目(19DZ2284300)

作者简介: 盛祥(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为凡纳滨对虾保活运输。E-mail: 852106474@qq.com

通信作者: 谭洪新, E-mail: hxtan@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

异,结果显示 180 mg/L 是最适宜麻醉保活罗氏沼虾的质量浓度^[6]。

随着水产养殖工程与技术的日益发展,国内部分内陆城市利用各自优势进行凡纳滨对虾养殖,供应养殖地点周边的消费者。如鲁东地区利用地热卤水工厂化模式养殖^[7],西北地区利用盐碱地优势开创“棚塘接力”模式养殖^[8]等。但对比养殖业发展较为成熟的沿海城市,以上地区对外销售渠道相对不够成熟、物流配送环节配套程度不完善^[9-10]。使用传统的低温冷链货车进行保活运输会大大增加运输成本。所以,研究优化凡纳滨对虾的保活运输方式,对满足内陆消费者鲜活对虾消费需求和产业发展具有重要意义。因此,本研究提出 CO₂ 麻醉后有水运输法,探索 CO₂ 流速(麻醉阶段)、浸泡时间(浸泡阶段)、水体类型和盐度(复苏阶段)等 4 个因素的影响效果,通过正交试验确定运输时长为 2、4、6 h 的最佳运输方式并进行验证,为进一步提高凡纳滨对虾的短途运输效率提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

试验材料:10 L 和 120 L 聚乙烯桶(江苏大阳塑业有限公司)、1 000 mL 和 100 mL 玻璃量筒及塑料量筒(北京天波仪器有限公司)、LPS 型珊瑚盐(25 kg/袋,东营海宝盐业有限公司)、钙、镁、钾试剂盒(卜蜂水产阳江有限公司)、捞网(网眼孔径 1.5 cm,网头直径 40 cm,网深 30 cm)。

试验设备:JTP-3000 型氧气泵(森森水族公司)、Multi 3430 型便携式多参数水质分析仪(德国 WTW 公司)、CO₂ 钢瓶(南京通达气体有限公司),并自行连接气压表、泄压阀、气管和气石使用。

1.2 试验方法

1.2.1 虾体和 水体前期处理

凡纳滨对虾均取自智循环(南京)水产科技有限责任公司养殖池,使用生物絮团技术(Biofloc technology, BFT)进行养殖。虾体长 8~10 cm,体质量 10~11 g;试验开始前,使用捞网从池中捞出足够的虾,放置于容积为 120 L(直径 60 cm,高度 70 cm)的聚乙烯塑料桶中暂养 12 h,暂养水体为养殖池水,其间使用小型电磁式交流气泵进行增氧。养殖池水质相关指标:水温(T)为 27.1 ℃、

盐度(Sal)为 7、pH 为 7.5、溶氧(DO)质量浓度为 6.5 mg/L、总固体悬浮颗粒(TSS)质量浓度为 160 mg/L。

准备若干 120 L 塑料桶,用于制备所需的水体。从养殖池中取出含有絮团的养殖水,盛放在 2 个 120 L 塑料桶中,其中:一桶沉淀 12 h 后分离出上层清液至新桶中,曝气待用,称为养殖水上清液(简称上清液);另一桶直接接入曝气待用,称为养殖水。另取一新桶通入自来水接入曝气待用,称为自来水;直接使用水龙头中的水,称为龙头水。以上水体均参照试验设计,使用珊瑚盐调节盐度为 7。

试验在智循环(南京)水产科技有限责任公司养殖车间内进行,该车间安装有温控和隔热装置,试验过程中对空气温度进行持续监测,结果显示稳定在 29 ℃。

1.2.2 麻醉及复苏处理方式及各阶段特征

结合林雄生^[11]等相关研究以及预试验的结果,将 CO₂ 麻醉保活运输过程分为 3 个阶段:麻醉阶段、浸泡阶段和复苏阶段,其中麻醉阶段和复苏阶段各时期的特征如表 1 和表 2 所示。

麻醉阶段处理过程:从暂养桶中取出 3 L 水放入 10 L 小桶内,同时将暂养后的虾放入小桶内。通过将钢瓶连接气石的方式向水中通入 CO₂ 并调节流速,根据表 1 判断虾体麻醉状态并记录,当全部进入麻醉状态后,进入浸泡阶段。浸泡阶段处理过程:将处于麻醉状态的虾,立刻转移至另一桶(提前装入经过前期处理的水体)中,并浸泡一定时间。复苏阶段处理方式:到达预设的浸泡时间后,使用气泵向水体增氧,根据表 2 观察虾体复苏状态并记录。

试验期间若发现虾体出现通体发白、机体僵硬等现象,判定为死亡,及时捞出。

1.2.3 单因素试验

依次对 CO₂ 流速(麻醉阶段)、浸泡时间(浸泡阶段)、水体类型和盐度(复苏阶段)等 4 个条件因子进行单因素试验,每个试验组均设置 3 个重复。

从暂养桶中取出 3 L 水放入 10 L 聚乙烯桶内,并随机捞取 13 尾游泳能力强、体表无损伤、规格接近的凡纳滨对虾,放入桶中。以 3、5 和 7 L/min 等 3 种不同的流速通入 CO₂。当所有虾体进入麻醉末期状态(A4)后,记录所用时间(t)、溶

解氧(DO)质量浓度和 pH,并立即把虾体转移至预先准备好的盐度为 7 的曝气后自来水中,通入曝气进行复苏操作(浸泡时长为 0 min)。观察并记录对虾复苏效果,前 3 小时内每隔 0.5 h 观察记录 1 次,之后在第 6 小时观察记录 1 次,指标包括复苏率、死亡率和未复苏率。复苏率指达到 R1、R2 或 R3 任一阶段的虾体占比;死亡率指死亡虾体占比。

表 1 凡纳滨对虾麻醉阶段各时期及特征
Tab.1 Stages of anesthesia and behavioral characteristics of *Litopenaeus vannamei*

麻醉阶段分期 Stages of anesthesia	行为特征 Behavioral characteristics
A1(麻醉前期) Pre-anesthesia	游动速率无变化,游动范围增加
A2(麻醉初期) Early stage of anesthesia	逐渐躁动,开始逃窜和跃出水面
A3(麻醉中期) Mid stage of anesthesia	呈半侧卧状于水底,尾部及游泳足存在活动;此时施加外部刺激,虾体有反应,额舟片活动减弱
A4(麻醉末期) Final stage of anesthesia	完全侧卧于水底,腹节有轻微弯曲,游泳足无明显活动;对外界刺激无反应,额舟片活动极其轻微

表 2 凡纳滨对虾复苏阶段各时期及特征
Tab.2 Stages of recovery and behavioral characteristics of *Litopenaeus vannamei*

复苏阶段分期 Stages of recovery	行为特征 Behavioral characteristics
R1(轻度复苏期) Mild stage of recovery	虾体侧卧水底,游泳足开始出现活动,呼吸不明显
R2(中度复苏期) Moderate stage of recovery	虾体半侧卧于水中,游泳足和附肢活动频率增加;施加外界刺激,虾体产生反应
R3(完全复苏期) Full stage of recovery	虾体直立于水中,恢复正常游动;施加外界刺激,产生反应明显

选择最佳的(麻醉阶段)CO₂ 流速,当所有虾体进入麻醉末期状态后,记录相关数据,并立即转移至预先准备好的盐度为 7 的曝气后自来水中,浸泡时长分别为 0、1 和 5 min,之后立即曝气进行复苏操作,观察并记录对虾复苏效果。

选择最佳的(麻醉阶段)CO₂ 流速,当所有虾体进入麻醉末期状态后,记录相关数据,并分别转移至自来水(调节盐度为 7)、上清液和养殖水中。选择最佳浸泡时长进行浸泡操作,到达时间后立即曝气进行复苏操作,观察并记录对虾复苏效果。

选择最佳的(麻醉阶段)CO₂ 流速,当所有虾体进入麻醉末期状态后,记录相关数据,并转移至最佳浸泡水体类型中(盐度设置为 3、7 和 11),观察并记录对虾复苏效果。

1.2.4 正交实验及验证

依据上述试验结果,设置 4 个因子、3 个水平 L₉(3⁴)的正交实验,对 CO₂ 麻醉保活运输法进行条件优化。各因素水平设置如表 3 所示:(麻醉阶段)CO₂ 流速为 6、7、8 L/min;(复苏阶段)水体类型为龙头水、自来水和上清液;(浸泡阶段)水体盐度为 6、7、8;(浸泡阶段)浸泡时间为 0、1、2 min。观察统计 2、4 和 6 h 时的复苏率。正交实验后,对所得结果进行验证。

表 3 L₉(3⁴)正交实验因子水平表

Tab.3 L₉(3⁴) Factor level table of orthogonal experiment

水平 Level	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/ (L/min)	水体类型 Water type	盐度 Salinity	浸泡时间 Soaking time/min
1	6	龙头水	5	0
2	7	自来水	7	1
3	8	上清液	9	2

1.2.5 数据处理

所得数据首先经 Excel 2019 进行初步处理,之后使用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析(One-way ANOVA),所得数据以“平均值 ± 标准差”(Mean ± SD)表示,当出现显著差异时,使用 Tukey's-b 法进行多重比较,显著水平取 P < 0.05。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 CO₂ 流速对复苏效果的影响

在不同 CO₂ 流速条件下,3 组对虾进入麻醉末期(A4)状态所需的时间存在显著差异,3 L/min 组用时最长,7 L/min 组用时最短;7 L/min 组的 DO 显著低于其他 2 组;3 组 pH 无显著差异(表 4)。在复苏阶段,3 L/min 组的死亡率显著高于其他 2 组(表 5)。

分析 CO₂ 流速的单因素试验结果(图 1)可知,在进入复苏阶段 0.5 h 时,流速为 3 L/min 组的对虾复苏率为 28%、5 L/min 组的复苏率为 26%、7 L/min 组的复苏率为 33%,3 组复苏率无显著差异。随着时间的增加,各组复苏率逐渐上

升,2.5 h 时,7 L/min 组的复苏率显著大于另外 2 组,为 77%;3 h 时,3 L/min 组的复苏率为 54%、5 L/min 组为 62%,显著小于 7 L/min 组的 82%;当复苏时间为 6 h 时,3 组复苏率存在显著差异,7 L/min 组复苏率最高为 87%,5 L/min 组复苏率为 67%,3 L/min 组复苏率最低为 57%,故选择 7 L/min 作为最佳 CO₂ 流速进行后续研究。

表 4 不同 CO₂ 流速条件下麻醉阶段相关数据
Tab.4 Relevant data of anesthesia stage at different CO₂ flow rates

项目 Item	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rate/(L/min)		
	3	5	7
麻醉时间 Anesthesia time/s	122 ± 10.54 ^a	104 ± 2.65 ^b	83.67 ± 7.57 ^c
DO/(mg/L)	2.65 ± 0.29 ^a	2.79 ± 0.26 ^a	1.65 ± 0.27 ^b
pH	5.62 ± 0.03 ^a	5.62 ± 0.00 ^a	5.55 ± 0.05 ^a

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著(P<0.05)。
Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences (P<0.05).

表 5 不同 CO₂ 流速条件下复苏阶段相关数据
Tab.5 Relevant data of recovery stage at different CO₂ flow rates

项目 Item	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rate/(L/min)		
	3	5	7
Ca ²⁺ /(mg/L)	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54
Mg ²⁺ /(mg/L)	53.00 ± 6.92	53.00 ± 6.92	53.00 ± 6.92
K ⁺ /(mg/L)	94.33 ± 4.04	94.33 ± 4.04	94.33 ± 4.04
死亡率(6 h) Mortality rate/%	28.21 ± 4.44 ^a	10.26 ± 4.44 ^b	12.82 ± 4.44 ^b

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著(P<0.05)。
Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences (P<0.05).

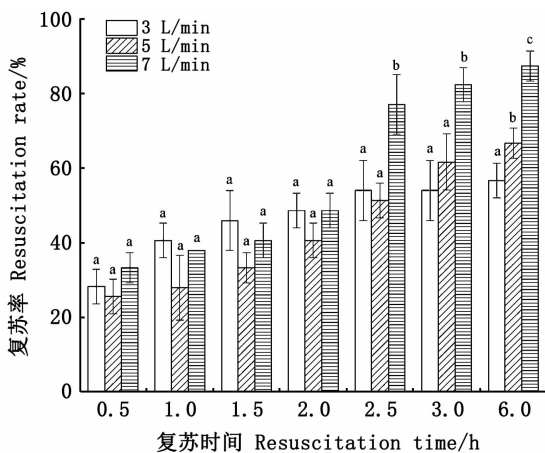


图 1 CO₂ 流速对复苏效果的影响
Fig.1 Effect of CO₂ flow rate on recovery condition

2.1.2 浸泡时间对复苏效果的影响

在研究浸泡时间对复苏效果影响的试验过程中,麻醉阶段相关数据如表 6 所示。因为 3 个实验组在麻醉阶段操作相同,所以麻醉时间、DO 和 pH 指标无显著差异。在复苏阶段,浸泡时间为 0 min 组别的 6 h 死亡率显著低于另外 2 组(表 7)。

表 6 不同浸泡时间麻醉阶段相关数据
Tab.6 Relevant data of anesthesia stage at different soaking time

项目 Item	浸泡时间 Soaking time/min		
	0	1	2
麻醉时间 Anesthesia time/s	82.67 ± 3.06 ^a	86.33 ± 6.66 ^a	83.67 ± 7.57 ^a
DO/(mg/L)	1.82 ± 0.04 ^a	1.78 ± 0.06 ^a	1.65 ± 0.27 ^a
pH	5.70 ± 0.20 ^a	5.53 ± 0.23 ^a	5.55 ± 0.05 ^a

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著(P<0.05)。
Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences (P<0.05).

表 7 不同浸泡时间复苏阶段相关数据
Tab.7 Relevant data of recovery stage at different soaking time

项目 Item	浸泡时间 Soaking time/min		
	0	1	2
Ca ²⁺ /(mg/L)	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54
Mg ²⁺ /(mg/L)	53.00 ± 6.92	53.00 ± 6.92	53.00 ± 6.92
K ⁺ /(mg/L)	94.33 ± 4.04	94.33 ± 4.04	94.33 ± 4.04
死亡率(6 h) Mortality rate/%	7.69 ± 7.69 ^b	17.95 ± 4.41 ^a	28.21 ± 4.41 ^a

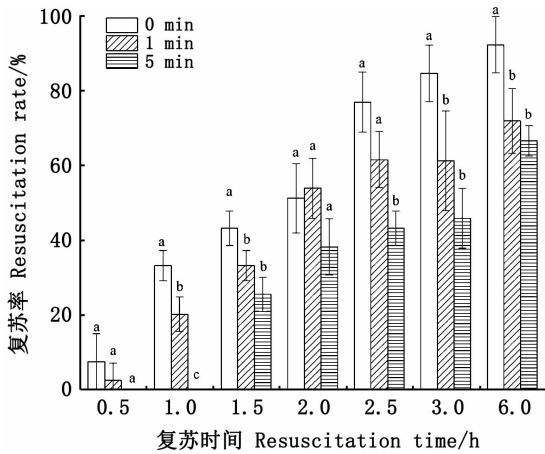
注:同行平均值间上标字母不同者差异显著(P<0.05)。
Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences (P<0.05).

浸泡时间对复苏效果的影响如图 2 所示。复苏开始 0.5 h 时,浸泡时长为 0 min 组和 1 min 组均有部分虾体复苏,但 5 min 组无虾体复苏。复苏 1~1.5 h 时,浸泡时长为 0 min 组复苏率显著大于另外 2 组。随着复苏时间的增加,各组复苏率也逐渐上升:2.5 h 时,0 min 组和 1 min 组复苏率显著大于 5 min 组;3 h 时,0 min 组复苏率达 84%,显著大于其他 2 组;6 h 时,0 min 组复苏率达 92%,同样显著大于其他 2 组。故选择浸泡时间 0 min 作为最佳浸泡时间,进行后续研究。

2.1.3 水体类型对复苏效果的影响

在研究水体类型对复苏效果影响的试验过程中,麻醉阶段相关数据如表 8 所示,养殖水组的麻醉时间显著高于上清液组和自来水组,3 组的 DO 和 pH 无显著差异。复苏阶段自来水中

的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 K^{+} 的质量浓度都显著低于上清液和养殖水(表 9)。



同一时间点不同处理组平均值上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。The means with different lowercase letters at same time are significantly different in the different groups ($P < 0.05$)。

图 2 浸泡时间对复苏效果的影响

Fig. 2 Effect of soaking time on recovery condition

表 8 不同水体类型麻醉阶段相关数据
Tab. 8 Relevant data of anesthesia stage at different water type

项目 Item	水体类型 Water type		
	上清液 Supernatant of aquaculture water	养殖水 Aquaculture water	自来水 Tap water
麻醉时间 Anesthesia time/s	81.67 ± 3.21 ^b	100.67 ± 5.13 ^a	85.67 ± 6.34 ^b
DO/(mg/L)	1.35 ± 0.11 ^a	1.34 ± 0.14 ^a	1.35 ± 0.04 ^a
pH	5.55 ± 0.04 ^a	5.48 ± 0.02 ^a	5.50 ± 0.03 ^a

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences ($P < 0.05$)。

表 9 不同水体类型复苏阶段相关数据
Tab. 9 Relevant data of recovery stage at different water type

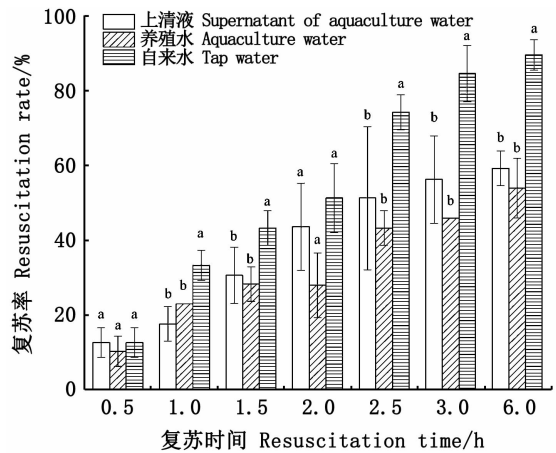
项目 Item	水体类型 Water type		
	上清液 Supernatant of aquaculture water	养殖水 Aquaculture water	自来水 Tap water
Ca^{2+} /(mg/L)	253.33 ± 11.54 ^b	240.00 ± 20.00 ^b	153.33 ± 11.54 ^a
Mg^{2+} /(mg/L)	338.00 ± 23.64 ^b	321.67 ± 6.02 ^b	53.00 ± 6.92 ^a
K^{+} /(mg/L)	133.33 ± 4.04 ^b	137.33 ± 7.02 ^b	94.33 ± 4.04 ^a
死亡率(6 h) Mortality rate/%	23.08 ± 7.69 ^a	28.21 ± 8.89 ^a	10.26 ± 4.44 ^a

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences ($P < 0.05$)。

水体类型对复苏效果的影响如图 3 所示。开始复苏的 0.5 h, 3 种类型水体的复苏率无显著差异。之后的复苏过程中,除了 2 h 时 3 组复苏率无显著差异外,其余时间点自来水组复苏率显著高于其他 2 组。在 6 h 时,自来水组复苏率达到 90%,上清液组复苏率为 59%,养殖水组复苏率为 50%。所以,选择曝气后的自来水作为最佳水体类型进行后续研究。

2.1.4 水体盐度对复苏效果的影响

在研究水体类型对复苏效果影响的试验过程中,麻醉阶段相关数据如表 10 所示,盐度为 3 组的 pH 显著高于另外 2 组,但麻醉时间和 DO 无显著差异,而复苏阶段盐度为 7 组在复苏 6 h 后死亡率显著低于另外 2 组(表 11)。



同一时间点不同处理组平均值上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。The means with different lowercase letters at same time are significantly different in the different groups ($P < 0.05$)。

图 3 水体类型对复苏效果的影响

Fig. 3 Effect of water type on recovery condition

表 10 不同盐度条件下麻醉阶段相关数据
Tab. 10 Relevant data of anesthesia stage at different salinity

项目 Item	盐度 Salinity		
	3	7	11
麻醉时间 Anesthesia time/s	80.00 ± 1.73 ^a	91.67 ± 9.02 ^a	86.00 ± 9.00 ^a
DO/(mg/L)	1.24 ± 0.05 ^a	1.00 ± 0.14 ^a	1.25 ± 0.19 ^a
pH	5.52 ± 0.04 ^a	5.44 ± 0.01 ^b	5.46 ± 0.02 ^b

注:同行平均值间上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences ($P < 0.05$)。

复苏阶段水体盐度对复苏效果的影响如图 4 所示。0.5 h 时,3 组水体盐度复苏率无显著差

异;其余时间节点,盐度为 7 组的复苏率显著大于其他 2 组。在 6 h 时,盐度为 7 组的复苏率为 90%、盐度为 3 组为 62%、盐度为 5 组为 54%。所以,选择 7 作为最佳盐度进行后续研究。

表 11 不同盐度条件下复苏阶段相关数据

Tab. 11 Relevant data of recovery stage at different salinity

项目 Item	盐度 Salinity		
	3	7	11
Ca ²⁺ / (mg/L)	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54	153.33 ± 11.54
Mg ²⁺ / (mg/L)	153.33 ± 11.54	53.00 ± 6.92	153.33 ± 11.54
K ⁺ / (mg/L)	153.33 ± 11.54	94.33 ± 4.04	153.33 ± 11.54
死亡率(6 h) Mortality rate/%	33.33 ± 4.44 ^a	10.26 ± 4.44 ^b	35.90 ± 8.89 ^a

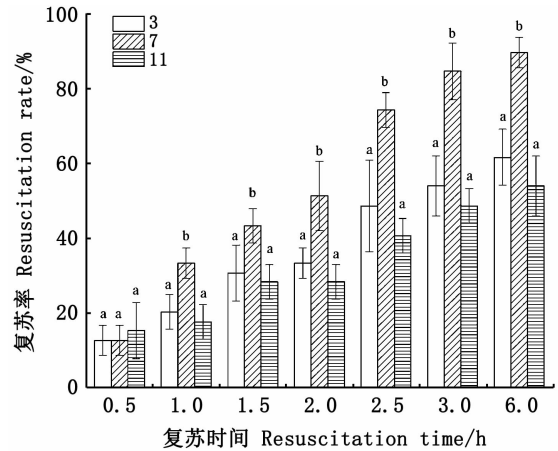
注:同行平均值间上标字母不同者差异显著(P < 0.05)。
Notes: Different superscript letters in the same row denote significant differences (P < 0.05).

2.2 正交实验

由正交实验结果可知,当复苏时间为 2 h 时,4 个因素对运输效果影响的次要关系为浸泡时间 > 水体类型 > 盐度 > CO₂ 流速,最佳运输方式组合为 CO₂ 流速为 8 L/min、水体类型为自来水、盐度为 7 或 9(综合考虑珊瑚盐成本,可采用 7 作为最佳盐度)、浸泡时间为 0 min(表 12 和表 13)。

当复苏时间为 4 h 时,4 个因素对运输效果影响的次要关系为浸泡时间 > CO₂ 流速 > 水体类型 > 盐度,最佳运输方式组合为 CO₂ 流速为 6

或 7 L/min(综合考虑时间成本,可采用 7 L/min 作为最佳流速)、水体类型为自来水、盐度为 7、浸泡时间为 0 min(表 14 和表 15)。



同一时间点不同处理组平均值上标字母不同者差异显著(P < 0.05)。

The means with different lowercase letters at same time are significantly different in the different groups (P < 0.05).

图 4 盐度对复苏效果的影响

Fig. 4 Effect of salinity on recovery condition

当复苏时间为 6 h 时,4 种因子对运输效果影响的次要关系为浸泡时间 > CO₂ 流速 > 盐度 > 水体类型,最佳运输方式组合为 CO₂ 流速为 6 L/min、水体类型为自来水、盐度为 7、浸泡时间为 0 min。验证试验中所得结果与正交实验结果相符合(表 16 和表 17,图 5)。

表 12 正交实验结果(复苏时长:2 h)

Tab. 12 Results of orthogonal experiment (recovery time: 2 h)

实验组 Experiments	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	水体类型 Water type	盐度 Salinity	浸泡时间 Soaking time/min	复苏率 Recovery rate/%
1	1(6)	1(龙头水)	1(5)	1(0)	38
2	1	2(自来水)	2(7)	2(1)	31
3	1	3(上清液)	3(9)	3(2)	15
4	2(7)	1	2	3	23
5	2	2	3	1	46
6	2	3	1	2	15
7	3(8)	1	3	2	31
8	3	2	1	3	23
9	3	3	2	1	38
T ₁	84.62	92.31	76.92	123.08	
T ₂	84.62	100.00	92.31	76.92	
T ₃	92.31	69.23	92.31	61.54	
\bar{X}_1	28.21	30.77	25.64	41.03	
\bar{X}_2	28.21	33.33	30.77	25.64	
\bar{X}_3	30.77	23.08	30.77	20.51	
R	2.56	10.26	5.13	20.51	

表 13 方差分析表(因变量:复苏率)

Tab. 13 ANOVA table (dependent variable: Recovery rate)

差异来源 Differences between the source	偏差平方和 Deviation square	自由度 Degrees of freedom	平均偏差 Deviation from the mean	<i>F</i>	<i>P</i>
校正模型 Correction model	2 327.404	8	290.926	16.593	0**
截距 Intercept	20 196.607	1	20 196.610	1 151.906	0**
CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	52.668	2	26.334	1.502	0.249*
水体类型 Water type	407.878	2	203.939	11.632	0.001***
盐度 Salinity	39.424	2	19.712	1.124	0.347*
浸泡时间 Soaking time/min	1 827.435	2	913.717	52.114	0**
误差 Error	315.598	18	17.533		
总误差 Total error	22 839.610	27			
校正总误差 Corrected total error	2 643.002	26			

注:*. 显著性相关($P < 0.05$); **. 极显著相关($P < 0.01$).Notes: *. Significant correlation ($P < 0.05$); **. Extremely Significant correlation ($P < 0.01$).

表 14 正交实验结果(复苏时长:4 h)

Tab. 14 Results of orthogonal experiment (recovery time: 4 h)

实验组 Experiments	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	水体类型 Water type	盐度 Salinity	浸泡时间 Soaking time/min	复苏率 Recovery rate/%
1	1(6)	1(龙头水)	1(5)	1(0)	77
2	1	2(自来水)	2(7)	2(1)	69
3	1	3(上清液)	3(9)	3(2)	46
4	2(7)	1	2	3	62
5	2	2	3	1	85
6	2	3	1	2	46
7	3(8)	1	3	2	46
8	3	2	1	3	38
9	3	3	2	1	62
T_1	192.31	184.62	161.54	223.08	
T_2	192.31	192.31	192.31	161.54	
T_3	146.15	153.85	176.92	146.15	
\bar{X}_1	64.10	61.54	53.85	74.36	
\bar{X}_2	64.10	64.10	64.10	53.85	
\bar{X}_3	48.72	51.28	58.97	48.72	
<i>R</i>	15.38	12.82	10.26	25.64	

表 15 方差分析表(因变量:复苏率)

Tab. 15 ANOVA table (dependent variable: recovery rate)

差异来源 Differences between the sources	偏差平方和 Deviation square sum	自由度 Degrees of freedom	平均偏差 Deviation from the mean	<i>F</i>	<i>P</i>
校正模型 Correction model	6 316.977	8	789.622	40.023	0**
截距 Intercept	89 422.917	1	89 422.920	4 532.531	0**
CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	1 805.886	2	902.943	45.767	0**
水体类型 Water type	688.238	2	344.119	17.442	0**
盐度 Salinity	333.336	2	166.668	8.448	0.003***
浸泡时间 Soaking time/min	3 489.517	2	1 744.759	88.436	0**
误差 Error	355.124	18	19.729		
总误差 Total error	96 095.018	27			
校正总误差 Corrected total error	6 672.101	26			

注:*. 显著性相关($P < 0.05$); **. 极显著相关($P < 0.01$).Notes: *. Significant correlation ($P < 0.05$); **. Extremely Significant correlation ($P < 0.01$).

表 16 正交实验结果(复苏时长:6 h)
Tab. 16 Results of orthogonal experiment (recovery time:6 h)

实验组 Experiments	CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	水体类型 Water type	盐度 Salinity	浸泡时间 Soaking time/min	复苏率 Recovery rate/%
1	1(6)	1(龙头水)	1(5)	1(0)	85
2	1	2(自来水)	2(7)	2(1)	77
3	1	3(上清液)	3(9)	3(2)	62
4	2(7)	1	2	3	69
5	2	2	3	1	92
6	2	3	1	2	54
7	3(8)	1	3	2	46
8	3	2	1	3	46
9	3	3	2	1	77
T_1	223.08	200.00	184.62	253.85	
T_2	215.38	215.38	223.08	176.92	
T_3	169.23	192.31	200.00	176.92	
\bar{X}_1	74.36	66.67	61.54	84.62	
\bar{X}_2	71.79	71.79	74.36	58.97	
\bar{X}_3	56.41	64.10	66.67	58.97	
R	17.95	7.69	12.82	25.64	

表 17 方差分析表(因变量:复苏率)
Tab. 17 ANOVA table (dependent variable: recovery rate)

差异来源 Differences between the sources	偏差平方和 Deviation square sum	自由度 Degrees of freedom	平均偏差 Deviation from the mean	F	P
校正模型 Correction model	7 262.766	8	907.846		0**
截距 Intercept	114 926.583	1	114 926.583		0**
CO ₂ 流速 CO ₂ flow rates/(L/min)	1 871.576	2	935.788		0**
水体类型 Water type	267.368	2	133.684		0.006**
盐度 Salinity	490.905	2	245.453		0**
浸泡时间 Soaking time/min	4 632.917	2	2 316.458		0**
误差 Error	355.030	18	19.724		
总误差 Total error	122 544.379	57			
校正总误差 Corrected total error	7 617.795	26			

注:*. 显著性相关($P < 0.05$); **. 极显著相关($P < 0.01$)。

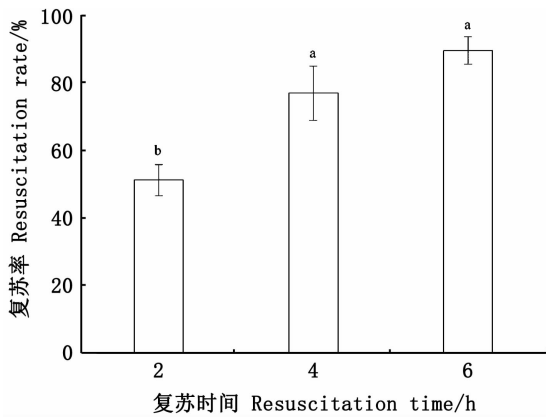
Notes: *. Significant correlation ($P < 0.05$); **. Extremely Significant correlation ($P < 0.01$).

3 讨论

捕捞过程中因捕捞方式和用具的不同,虾体所产生的应激程度也不尽相同。在日常生产中,常使用地笼作为捕捞工具,但捞出的虾体往往在起捕过程中被周围虾体的额剑所刺伤,同时由于挤压造成的应激脱壳现象较多。为提高存活率,当出虾量较少时,可使用捞网作为捕捞工具。研究^[10]指出,在捕捞凡纳滨白对虾“活水虾”时,使用地笼进行捕捞的效果要优于使用拉网。在选择捕捞方式时,也要考虑养殖对象的生活习性。在捕捞日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)时,由于其具有白天潜沙、夜晚觅食的习性,所以应在夜间使用灯光诱捕,同时因其具有环游的特性,

可将虾笼以环形放入池底,效果较好^[11]。

暂养是指将捕获的水产品转移至人工可控条件下进行停饵、低温适应等操作^[12]。暂养可以使运输对象排出消化道内容物,减缓运输过程中水质的恶化。要保证暂养环境中的氧气含量充足、水质适宜、密度适中。本实验将捞出的虾体放入盛有养殖水体的桶中暂养 12 h,发现在虾体有水运输过程中排泄物减少。研究^[13]发现:在运输克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*)亲本前,可以在水泥池中进行暂养,其运输成活率优于未经过暂养的组别;在运输日本对虾种虾前,可将其在水泥池中暂养 1~2 d,可增强运输效果^[14]。与本实验研究结果一致。



同一时间点不同处理组平均值上标字母不同者差异显著 ($P < 0.05$)。

The means with different lowercase letters at same time are significantly different in the different groups ($P < 0.05$).

图5 验证实验

Fig. 5 Verification experiment

在虾类保活运输过程中,水温是影响保活效率的重要因素之一,因为水温的变化不仅会影响DO、盐度和pH的变化,更会直接影响虾体的摄食和代谢^[15]。当凡纳滨对虾体质量 > 5 g时,最适生长水温为 27 °C^[16]。在实际生产中,最常见的运输设备为配备有温控和增氧设备的活水车,但该方式会增加能源消耗和运输成本^[17]。研究^[18]显示,使用 CO_2 麻醉法保活运输罗氏沼虾时,水温为 20 °C组的虾体在 48 h后的存活率为 70% ,显著高于 12 和 16 °C组。本研究中运输温度控制为 29 °C,与养殖水体温度和夏季气温相近,在运输过程中无须额外使用降温设备,进一步降低了运输成本。结合前人研究成果,若运输路程大于本研究中设定的 6 h,采用低温与 CO_2 麻醉相结合的方式有可能会进一步提高保活时间。

研究结果显示,麻醉阶段 CO_2 流速的不同,会显著影响虾体进入麻醉末期的时间和DO,流速较高组的麻醉时间和DO显著低于流速较低的组别。当水体中 O_2 质量浓度短时间内迅速下降、 CO_2 质量浓度迅速上升时,虾体会受到低氧胁迫^[19-20],发生应激响应并生成一系列的活性氧物质,这些物质对细胞具有很强的危害性^[21-22]。所以,当 CO_2 流速提高时,麻醉时间会下降,产生的活性氧物质可能会减少,导致对虾复苏率提高。杨丰^[18]研究了不同 CO_2 质量浓度对罗氏沼虾麻醉效果的影响,结果显示质量浓度越高,麻醉时

长越短,但质量浓度过高或过低会降低罗氏沼虾保活 48 h内的存活率。在研究 CO_2 麻醉鲤(*Cyprinus carpio*)的效果时发现,可以通过使用高浓度的 CO_2 延长休眠时间,使用低浓度的 CO_2 使鲤维持休眠,该结果与本试验结果相似^[23]。

浸泡时间的不同,也会对虾体复苏效果产生显著影响,随着浸泡时间的增加,虾体在 6 h内的复苏率逐渐下降。在研究 CO_2 麻醉液浸泡时间对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的复苏效果的影响时,结果显示随着浸泡时间的延长,复苏时间也延长,浸泡时间最长为 16 min^[24]。由于虾类的循环系统较为原始,所以向水体通入 CO_2 后, CO_2 会迅速穿过外壳进入肌肉和血淋巴中,抑制神经节的活性^[17]。而虾类自我调节功能弱于罗非鱼,导致其对浸泡时间十分敏感。浸泡时间过长会导致虾体直接死亡,且麻醉剂的种类和质量浓度也会影响复苏效果。使用 4% 、 5% 和 6% 的乙醇作为麻醉剂对罗氏沼虾进行麻醉,当虾体进入麻醉状态浸泡 1 min后开始复苏,复苏时间分别为 30 s、 1 min和 2 min^[25];而当使用 120 、 180 和 240 mg/L的 CO_2 作为麻醉剂时,浸泡 0 min后开始复苏,复苏时间分别为 830 、 855 和 960 s^[17]。

使用不同水体类型进行复苏,其效果也存在差异,第4个单因素实验的结果显示,自来水中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 K^+ 的质量浓度都显著低于上清液和养殖水组,且自来水组的复苏效果显著优于养殖水组和养殖水上清液组。由于养殖水和上清液来源于BFT养殖系统,养殖水中含有一定量的絮体,而絮体可作为虾类的饲料,虾类在运输过程中受到胁迫时,可摄取絮体获得能量,以抵抗胁迫^[26]。但由于未采用降温措施,摄食后产生的粪便会在水中被细菌快速分解并产生氨氮和亚硝态氮,对虾体造成伤害^[27]。同时,两种水体中含有大量的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ ,这些离子与虾类的生长发育有关^[28],会增加虾类在应激情况下脱壳的概率^[29],而脱壳时期容易被同类攻击造成伤害甚至死亡。自来水中絮体、细菌和相关离子的含量远小于另外两种絮体,这可能是导致其复苏率较高的原因。

水体盐度的变化会导致虾体耗氧速率和排氨量发生变化。研究显示:将盐度从 37 降至 10 时,日本对虾的耗氧速率增加 2 倍;而将盐度从 0 上升至 4 时,耗氧速率没有发生显著变化^[30]。王

吉桥等^[31]研究发现,盐度降低会导致虾体排氨量升高。本研究中盐度为 3 和 11 组的复苏率显著低于盐度为 7 的组,推测是由于虾体消耗大量能量,无法进行低渗或高渗调节;同时由于没有水体交换,水中氨含量上升,最终导致虾体死亡。

4 结论

对 CO₂ 流速(麻醉阶段)、浸泡时间(浸泡阶段)、水体类型和盐度(复苏阶段)等 4 个条件因素进行单因素试验,并进行正交验证。结果显示在 29 ℃ 的温度条件下,CO₂ 麻醉后有水运输法可作为一种低成本、高效率的凡纳滨对虾保活方式,运输 6 h 后的存活率可达 90%。本研究为凡纳滨对虾长距离运输提供了研究思路和数据支撑。

参考文献:

- [1] 王彩理,毕国栋,于爱美,等. 凡纳滨对虾的营养功效和安全利用[J]. 农产品加工(下半月), 2021(12): 72-74. WANG C L, BI G D, YU A M, et al. Nutritional effect and safe utilization of *Penaeus vannamei* [J]. Farm Products Processing, 2021(12): 72-74.
- [2] WANG Y B, LIU L, ZHOU J R, et al. Effect of chitosan nanoparticle coatings on the quality changes of postharvest whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, During Storage at 4 ℃ [J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(4): 907-915.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 2021: 172-180. Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, PRC. 2021 China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 172-180.
- [4] TRUMPER M, CANTAROW A. Clinical biochemistry[M]. 4th ed. WB Saunders, 1962: 145-152.
- [5] 周翠平. 罗非鱼二氧化碳麻醉无水保活技术研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015. ZHOU C P. Study on the keep-alive technology without water of tilapia anesthetized by carbon dioxide [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2015.
- [6] 杨丰,王逸鑫,沈思远,等. CO₂ 麻醉处理对罗氏沼虾保活的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(6): 874-882. YANG F, WANG Y X, SHEN S Y, et al. Effects of carbon dioxide anaesthesia on survival of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2020, 35(6): 874-882.
- [7] 张效新,王淑生,韩红梅,等. 地热深井卤水配兑黄河淡水工厂化养殖凡纳滨对虾试验[J]. 河北渔业, 2016(1): 32-34. ZHANG X X, WANG S S, HAN H M, et al. Experiment on industrial culture of *Litopenaeus vannamei* by mixing geothermal brine in deep well with fresh water in Yellow River [J]. Hebei Fisheries, 2016(1): 32-34.
- [8] 张国维,邵东宏,杨树军,等. 西北内陆盐碱地池塘南美白对虾与罗氏沼虾混养技术[J]. 科学养鱼, 2021(3): 32-34. ZHANG G W, SHAO D H, YANG S J, et al. Mixed culture technology of *Penaeus vannamei* and *Macrobrachium rosenbergii* in inland saline-alkali land ponds in northwest China [J]. Scientific Fish Farming, 2016(1): 32-34.
- [9] 杨帆. 1 亩地产 1000 多斤,纯赚 2 万多元,川疆对虾养殖业正在崛起[J]. 当代水产, 2020, 45(1): 53-55. YANG F. 1 Mu of real estate is more than 1,000 kg, with a net profit of more than 20,000 yuan. The shrimp breeding industry in Sichuan and Xinjiang is on the rise [J]. Current Fisheries, 2020, 45(1): 53-55.
- [10] 侯传宝,刘雯雯,李敏. 浅谈南美白对虾“活水虾”的捕捞[J]. 农村养殖技术, 2011(17): 40. HOU C B, LIU W W, LI M. On the fishing of *Litopenaeus vannamei* "Live Water Shrimp" [J]. Journal of Rural Animal-Breeding Technology, 2011(17): 40.
- [11] 林雄生. 大型池塘养殖日本对虾的活虾捕捞技术[J]. 科学与财富, 2015(7): 403. LIN X S. Fishing technology of live shrimp in large pond culture *Penaeus japonicus* [J]. Sciences & Wealth, 2015(7): 403.
- [12] 王朝瑾,张饮江,谈向东. 水产品保鲜与运输实用技术问答[M]. 北京:化学工业出版社, 2006: 86-90. WANG C J, ZHANG Y J, TAN X D. Questions and answers on practical techniques of aquatic product preservation and transportation [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 86-90.
- [13] 宋光同,丁凤琴,何吉祥,等. 克氏螯虾亲本的选购、暂养和运输技术研究[J]. 水利渔业, 2008, 28(4): 90-91, 102. SONG G T, DING F Q, HE J X, et al. Study on the purchase, temporary rearing and transportation technology of *Procambarus clarkia* [J]. Reservoir Fisheries, 2008, 28(4): 90-91, 102.
- [14] 李正良. 日本对虾种虾干包装运输与性腺培育技术探讨[J]. 福建水产, 2001(4): 56-59. LI Z L. Research on dry packing transportation and sexual gland breeding for ovigerous females of *Penaeus japonicus* [J]. Journal of Fujian Fisheries, 2001(4): 56-59.
- [15] 吴萌. 低温胁迫对凡纳滨对虾呼吸性能及抗氧化能力的影响[D]. 武汉:华中农业大学, 2017. WU M. Effect of low temperature stress on respiratory performance and antioxidant capacity of *Litopenaeus vannamei* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.

- [16] WYSTUB S, EBNER B, FUCHS C, et al. Interspecies comparison of neuroglobin, cytoglobin and myoglobin sequence evolution and candidate regulatory elements [J]. *Cytogenetic and Genome Research*, 2004, 105(1): 65-78.
- [17] 肖童, 王红丽, 王锡昌. 虾蟹类水产品保活运输的研究进展[J/OL]. *食品与发酵工业*, 1-9(2021-12-17). <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029182>.
XIAO T, WANG H L, WANG X C. Progress on keep-alive transportation of shrimp and crab [J/OL]. *Food and Fermentation Industries*, 1-9 (2021-12-17). <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029182>.
- [18] 杨丰. 罗氏沼虾保活技术与保鲜工艺的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
YANG F. Study on keep-alive and preservation technology of *Macrobrachium rosenbergii* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [19] 梁敏, 吉宏武, 郝记明, 等. 凡纳滨对虾在二氧化碳麻醉无水保活过程中呼吸代谢及免疫的变化[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(4): 280-284, 295.
LIANG M, JI H W, HAO J M, et al. Respiratory metabolism and immune response of CO₂-anesthetized white shrimp *Litopenaeus vannamei* during waterless transportation [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(4): 280-284, 295.
- [20] 张义浩, 梅文骧, 王春琳, 等. 活虾脱离水干露试验[J]. *浙江水产学院学报*, 1996(1): 43-48.
ZHANG Y H, MEI W X, WANG C L, et al. Live souilla testing of dissociated water and dry exposure [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 1996(1): 43-48.
- [21] BACHÈRE E, MIALHE E, NOËL D, et al. Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology [J]. *Aquaculture*, 1995, 132(1/2): 17-32.
- [22] MUÑOZ M, CEDEÑO R, RODRÍGUEZ J, et al. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2000, 191(1/3): 89-107.
- [23] YOSHIKAWA H, ISHIDA Y, UENO S, et al. The use of sedating action of CO₂ for long-term anesthesia in carp [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1988, 54(4): 545-551.
- [24] 周翠平, 白洋, 秦小明, 等. 二氧化碳麻醉技术在罗非鱼无水保活运输中的应用研究[J]. *渔业现代化*, 2014, 41(4): 21-25.
ZHOU C P, BAI Y, QIN X M, et al. The application research of CO₂ in alive-keeping and transportation without water of tilapia [J]. *Fishery Modernization*, 2014, 41(4): 21-25.
- [25] 李全. 乙醇对罗氏沼虾麻醉效果及虾肉品质的影响[J]. *黑龙江水产*, 2011(4): 2-6.
LI Q. Effect of ethanol on anesthesia effect and shrimp meat quality of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Northern Chinese Fisheries*, 2011(4): 2-6.
- [26] 张亚卓, 郑忠明, 华建权, 等. 低盐度条件下生物絮团的营养组分及凡纳滨对虾和银鲫对其摄食效率的研究[J]. *宁波大学学报(理工版)*, 2016, 29(3): 29-33.
ZHANG Y Z, ZHENG Z M, HUA J Q, et al. Bio-floc nutrition and nitrogen uptake by shrimp and silver prussian carp in polyculture brackish water [J]. *Journal of Ningbo University (NSEE)*, 2016, 29(3): 29-33.
- [27] 谢晶, 曹杰. 渔用麻醉剂在鱼类麻醉保活运输中应用的研究进展[J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(1): 189-196.
XIE J, CAO J. Research progress on application of fishing anesthetic in fish anesthesia keep-alive transportation [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(1): 189-196.
- [28] 陈昌生, 纪德华, 王兴标, 等. Ca²⁺、Mg²⁺对凡纳滨对虾存活及生长的影响[J]. *水产学报*, 2004, 28(4): 413-418.
CHEN C S, JI D H, WANG X B, et al. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on survival and growth of *Penaeus vannamei* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(4): 413-418.
- [29] 何琳剑, 武祥伟, 陈路斯, 等. 水体中Ca²⁺、Mg²⁺和K⁺对南美白对虾幼虾生长的影响[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(15): 102-104.
HE L J, WU X W, CHEN L S, et al. Effects of Ca²⁺, Mg²⁺ and K⁺ in water on the growth of *Penaeus vannamei* larvae [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(15): 102-104.
- [30] 李江涛, 邱小龙, 邱晓桐, 等. 盐度对罗氏沼虾能量代谢和运动能力的影响[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(10): 1291-1302.
LI J T, QIU X L, QIU X T, et al. Effects of salinity on the energy metabolism and locomotive ability of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(10): 1291-1302.
- [31] 王吉桥, 罗鸣, 张德治, 等. 水温和盐度对南美白对虾幼虾能量收支的影响[J]. *水产学报*, 2004, 28(2): 161-166.
WANG J Q, LUO M, ZHANG D Z, et al. Effects of water temperature and salinity on energy budget of *Penaeus vannamei* juveniles [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(2): 161-166.

Optimization of keep-alive transportation conditions with water after carbon dioxide anesthesia for *Litopenaeus vannamei*

SHENG Xiang¹, LIU Wenchang^{1,2}, TAN Hongxin^{1,2}, LUO Guozhi^{1,2}, SUN Dachuan^{1,2}, ZHU Bowen³, PANG Yun³, FU Zefa³

(1. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Collaborative Innovation Center for Cultivating Elite Breeds and Green-culture of Aquaculture Animals, Shanghai 201306, China; 3. Innovative Recirculating Aquaculture Systems (Nanjing) Co., Ltd, Nanjing 210019, Jiangsu, China)

Abstract: In order to improve the survival rate of *Litopenaeus vannamei* during transportation with water after carbon dioxide (CO₂) anesthesia, the effects of CO₂ flow rates (anesthesia stage), soaking time (soaking stage), water type and salinity (recovery stage) on the survival rate were studied. The experiment set four factors: CO₂ flow rates (3 L/min, 5 L/min and 7 L/min), soaking time (0 min, 1 min and 5 min), water type (tap water, supernatant of aquaculture water and aquaculture water) and salinity (3, 7 and 11). The single factor experiment was carried out, and the L₉(3⁴) orthogonal experiment and verification experiment were carried out based on the single factor experimental results. The results showed that in the single factor experiment, the best CO₂ flow rates was 7 L/min, the best soaking time was 0 min, the best water type was tap water and the best salinity was 7. The results of orthogonal experiment of transportation within 2 hours showed that the primary and secondary relationship of the four factors was: soaking time > water type > salinity > CO₂ flow rates, and the best combination was CO₂ flow rates of 8 L/min, the water type of tap water, the salinity of 7 and the soaking time of 0 min. The results of orthogonal experiment of transportation within 4 hours showed that the primary and secondary relationship of the four factors was soaking time > CO₂ flow rates > water type > salinity, and the best combination was CO₂ flow rates of 7 L/min, the water type of tap water, the salinity of 7 and the soaking time of 0 min. The results of orthogonal experiment of transportation within 6 hours showed that the primary and secondary relationship of the four factors was soaking time > CO₂ flow rates > salinity > water type, and the best combination was CO₂ flow rates of 6 L/min, the water type of tap water, the salinity of 7 and the soaking time of 0 min. The experimental results show that the recovery rate of *Litopenaeus vannamei* under different transportation time conditions can be improved by adjusting the levels of four factors: CO₂ flow rates, soaking time, water type and salinity, which provides a new idea for shrimp keep-alive transportation.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; CO₂; keep-alive transportation; condition optimization