

3 种滩涂贝类对凡纳滨对虾养殖尾水净化效果的比较研究

黄琳¹, 徐胜威^{1*}, 王雪磊¹, 王刚¹, 江维洁²

(1.宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315103; 2.农银人寿保险股份有限公司, 浙江 宁波 315042)

摘要:以文蛤、缢蛏和泥蚶 3 种滩涂贝类为研究对象, 评估了 3 种滩涂贝类不同处理模式下的尾水处理效果。在流水模式下比较不同贝类及密度对水质指标影响的结果表明: 所有实验组均显著降低了水体总悬浮物; 泥蚶对氨氮和亚硝酸盐去除效果较好, 文蛤对弧菌有良好的去除效果。静水模式下的结果表明: 滩涂贝类对尾水处理效果与流水模式趋势相似, 静水模式下高密度($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)贝类更能有效净化水质, 而适当降低贝类密度($0.2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)有利于去除养殖尾水中的弧菌总数。静水模式下对水体菌群研究结果表明: 高密度($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)文蛤组和高密度($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)缢蛏组水体菌群 Chao1、可观测物种指数升高, 泥蚶组菌群丰度和多样性方面更趋于稳定。

关键词:滩涂贝类; 养殖尾水; 水质指标; 菌群结构; 净化

中图分类号: S966.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 06-0007-06

近年来我国水产养殖业发展迅速, 近海养殖也向着高密度和高投入量的集约化、规模化养殖模式发展, 但也造成养殖尾水污染问题日益严重^[1]。在 高密度养殖活动中, 由于没有统一操作规程, 养殖过程中产生的残饵和粪便以及其他残留物如果不经处理肆意排放, 容易造成海水环境的污染^[2]。据估计, 在养殖 1 t 虾的过程中, 可向养殖水体中增加大约 0.25 t 的氮元素和 0.04 t 的磷元素, 还会伴随总悬浮物和弧菌含量的增加, 其结果会引起近海水体环境的退化, 造成局部海域发生赤潮^[3-4]。

传统生物处理方法包括活性污泥法、生物膜法以及微生物处理方法, 但这些方法操作繁琐, 应用成本高, 推广难度大^[5]。有鉴于此, 生态处理方法越来越受到人们的重视, 特别是滩涂滤食性贝类在净化水质方面的作用, 其可以提高水体透明度, 调节营养盐水平, 改变浮游生物群落以及影响沉积物的负荷。

本文采用 3 种滤食性贝类——文蛤(*Meretrix meretrix*)、缢蛏(*Sinonvaculina constricta*)和泥蚶(*Tegillarca granosa*)分别建立了针对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)养殖尾水净化的处理模式,

分析不同养殖模式的处理效果, 以期确定不同滤食性贝类在养殖尾水处理中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用文蛤、缢蛏来源于宁波甬盛水产种业有限公司, 泥蚶来源于象山来发水产育苗场。实验前将文蛤、缢蛏和泥蚶在海水中暂养 1 周, 养殖条件如下: 温度(26 ± 2) °C, pH 7.8~8.4, 每天定量更换培养槽内海水, 投喂微藻 4 次。

实验贝类规格: 文蛤壳长(1.5 ± 0.2) mm, 缢蛏壳长(2.8 ± 0.3) mm, 泥蚶壳长(2.0 ± 0.2) mm。

1.2 实验方法

实验在 $3 \text{ m} \times 2 \text{ m} \times 0.6 \text{ m}$ (水位 0.4 m) 的中间培育装置(平面流槽)中进行。

1.2.1 流水模式下 3 种贝类不同密度对水质净化效果

设置对照组、低密度组($0.2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$)、高密度组($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$), 每组各 3 个平行。具体包括低密度文蛤组(WP)、高密度文蛤组(W)、低密度缢蛏组(YP)、高密度缢蛏组(Y)、低密度泥蚶组(NP)、高密度泥蚶组(N)及对照组(C)。

收稿日期: 2020-04-22.

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

基金项目: 宁波市公益类科技计划项目 (2019C10049) .

第一作者: 黄琳 (1985—), 男, 浙江岱山人, 工程师, 主要研究方向: 水产养殖. E-mail: 350927395@qq.com

*通信作者: 徐胜威 (1983—), 男, 浙江兰溪人, 工程师, 主要研究方向: 水产病害防控与健康养殖. E-mail: 546207546@qq.com

每个平面流槽保持养殖尾水 24 h 流动, 养殖尾水为外塘抽取的南美白对虾养殖尾水, 每个平面流槽初始尾水一致, 且保持每个平面流槽尾水进水流速为 $15 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$. 48 h 后在平面流槽尾部取水样, 测定水体中总悬浮物、氨氮、亚硝酸盐、弧菌总数 4 项水质指标.

1.2.2 静水模式下 3 种贝类不同密度对水质净化效果

实验中, 共设 6 个实验组和 1 个对照组(WP、W、YP、Y、NP、N、C), 每组各 3 个平行.

停止加尾水 0、1、2、3 h 后分析微生物菌群, 停止加尾水 3 h 后分析总悬浮物、氨氮、亚硝酸盐、弧菌总数等 4 项指标.

1.2.3 水体理化指标和弧菌测定

(1)pH 值采用玻璃电极法; (2)悬浮物(SS)采用重量法; (3)氨氮测定采用纳氏试剂比色法; (4)亚硝酸盐测定采用分光光度法; (5)弧菌采用 TCBS 平板计数法: 取 $100 \mu\text{L}$ 养殖用水(必要时需稀释), 均匀涂抹在 TCBS 琼脂平板培养基上, 置于恒温培养箱中, 30°C 培养 24 h, 计数, 最后得出每毫升水中的弧菌含量($\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$).

1.2.4 养殖水体菌群分析

取 100 mL 养殖水体, 经 $0.22 \mu\text{m}$ 无菌纤维素滤膜过滤, 然后用无菌剪刀剪碎滤膜, 剪碎后再采用 E.Z.N.A.®Water DNA Kit 提取细菌基因组 DNA. DNA 提取操作详见试剂盒(Omega Bio-tek). 16S rDNA 高通量测序委托杭州联川生物技术股份有限公司进行.

1.3 数据处理

水质指标数据在 Graphpad Prism 8 软件下拟合作图, 在 SPSS 20.0 软件下统计分析. 使用单因素方差分析(One-way ANOVA) Duncan 多重比不同处理组之间差异是否显著, 使用 T-test 分析贝类高密度和低密度对水质指标的影响.

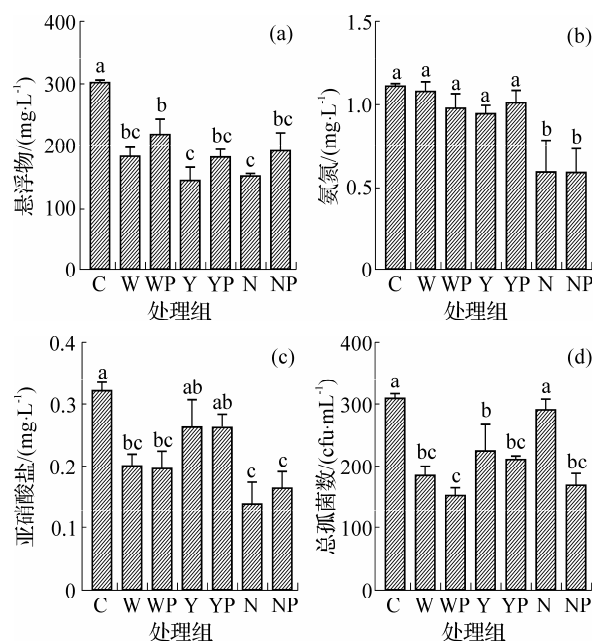
α 多样性指数、菌群丰度指数(Chao1 指数、Observed species 指数)、菌群多样性指数(Shannon 指数、Simpson 指数)及菌群覆盖度指数(Coverage 指数)使用 QIIME 2 软件进行分析.

2 结果

2.1 流水模式下 3 种贝类及其密度对水质净化效果

3 种滩涂贝类不同密度组对南美白对虾养殖尾

水都表现出明显的净化效果. 相比对照组, 各处理组的悬浮物浓度均显著降低($P < 0.05$), 其中高密度缢蛭组和高密度泥蚶组悬浮物浓度最低(图 1(a)). 相比对照组, 文蛤和缢蛭的 2 种密度均没有显著降低氨氮含量($P > 0.05$), 高密度和低密度泥蚶组均显著降低了氨氮含量($P < 0.05$)(图 1(b)). 与对照组相比, 文蛤和泥蚶在不同密度下均显著降低了亚硝酸盐含量($P < 0.05$), 其中高密度泥蚶组亚硝酸盐去除效果最好(图 1(c)). 弧菌方面, 高密度泥蚶组弧菌浓度没有显著降低($P > 0.05$), 而其余 5 组均显著降低了弧菌浓度($P < 0.05$)(图 1(d)).



W: 高密度文蛤组; WP: 低密度文蛤组; Y: 高密度缢蛭组; YP: 低密度缢蛭组; N: 高密度泥蚶组; NP: 低密度泥蚶组; 图 2 同.

图 1 流水模式下 3 种贝类不同密度对水质净化效果

2.2 静水模式下 3 种贝类密度对水质净化效果

静水模式下(停止供尾水 3 h 后), 3 种滩涂贝类不同密度组对南美白对虾养殖尾水的整体净化效果与流水模式基本相似.

相比对照组, 各处理组的悬浮物浓度均显著降低($P < 0.05$), 其中缢蛭组和泥蚶组悬浮物下降较明显(图 2(a)); 除高密度文蛤外, 其他实验组都显著降低了水体中的氨氮浓度($P < 0.05$), 其中高密度和低密度的泥蚶组氨氮浓度下降最为明显(图 2(b)). 在亚硝酸盐含量上, 泥蚶不同密度组均显著降低($P < 0.05$), 而缢蛭组和文蛤组均没有显著变化($P > 0.05$)(图 2(c)). 相比对照组, 高密度文蛤组和高密

度缢蛏组弧菌浓度没有显著降低($P>0.05$), 其余 4 组均显著降低了弧菌浓度($P<0.05$)(图 2(d)).

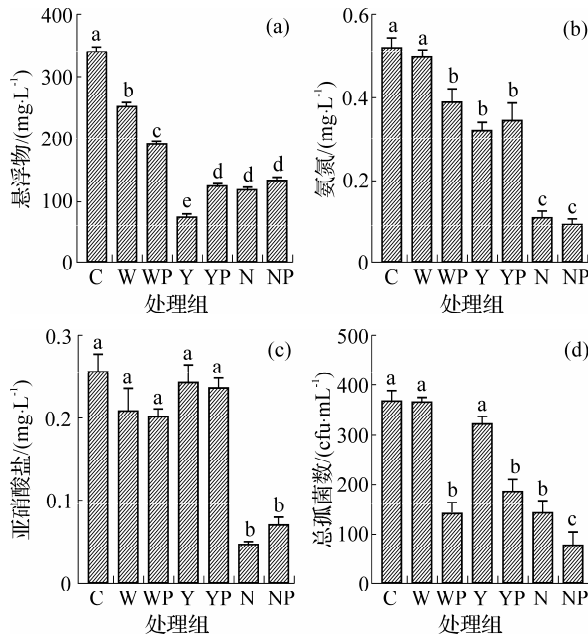


图2 静水模式下3种贝类不同密度对水质净化效果

2.3 不同贝类养殖水体细菌群落结构组成及差异分析

2.3.1 基于门水平的各样本细菌群落组成与结构

图3为6种样本不同时间在门水平上的细菌群落组成情况, 其中横坐标中的1、2、3分别表示停止加养殖尾水1、2、3 h. 从图3可见, 6个实验组在门水平上优势菌群相同, 均为变形菌门(Proteo-

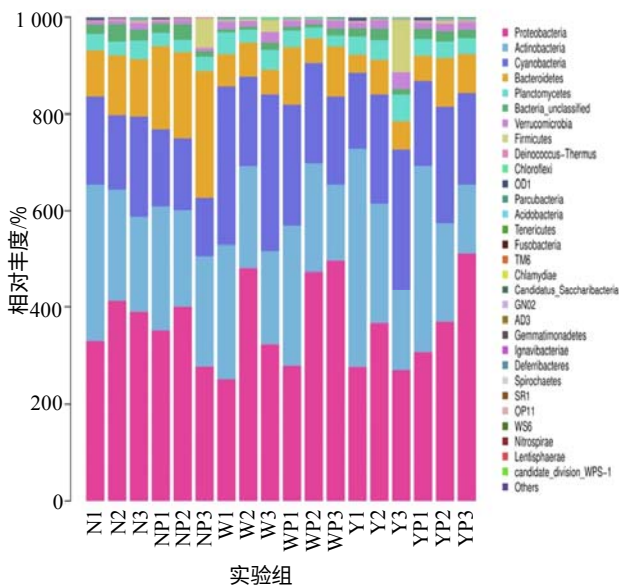


图3 养殖水体菌群在门水平上物种分布堆叠图

bacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)以及拟杆菌门(Bacteroidetes).

2.3.2 基于科水平的各样本细菌群落组成与结构

图4为6种样本不同时间在科水平上的细菌群落热图, 结果表明, 6个实验组不同时间科水平上优势菌群均无显著差异, 且6个实验组科水平上优势菌群相似, 主要是蓝细菌(Cyanobiaceae)、微杆菌科(Microbacteriaceae)、红杆菌科(Rhodobacteraceae)以及黄杆菌科(Flavobacteriaceae).

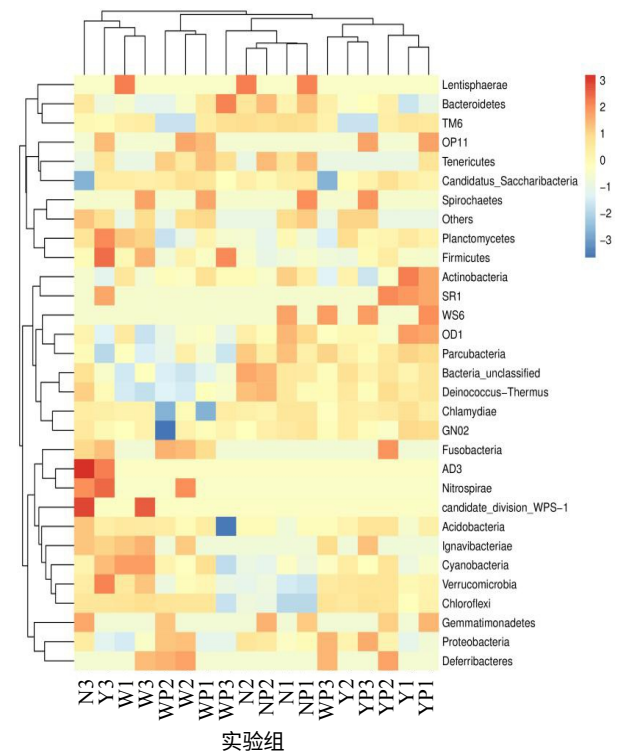


图4 养殖水体菌群在科水平上物种分布热图

2.3.3 α 多样性分析

不同贝类水体微生物菌群的 α 多样性指数见表1. 从表中数据可见, 高密度文蛤组和高密度缢蛏组静水处理1 h后, Chao1 指数、可观测物种数显著高于静水处理0 h ($P<0.05$), 而香农-威尔多样性指数、辛普森多样性指数与对照组相比, 变化(规律)不明显; 其他组的相关指数与对照组相比也没有明显的变化规律.

3 讨论

3.1 流水模式下3种贝类及其密度对水质净化效果

滤食性贝类主要通过自身的摄食, 可以将较小颗粒重新包装, 以较大颗粒形式排出, 从而达到

表 1 不同贝类养殖水体菌群 α 多样性指数

样本名称	可观测物种数	香农-威尔多样性指数	辛普森多样性指数	chao1 值	覆盖率
N0	689.33±32.87	7.48±0.15	0.99±0.003	758.62±37.62	0.99±0.000
N1	788.67±83.76	7.51±0.20	0.99±0.003	903.28±100.11	0.99±0.000
N2	737.00±74.84	7.63±0.11	0.99±0.003	828.09±112.94	0.99±0.000
N3	761.00±43.97	7.53±0.12	0.98±0.003	861.70±51.42	0.99±0.000
NP0	510.67±135.42	6.95±0.28	0.98±0.013	541.79±153.25	1.00±0.003
NP1	542.00±86.48	6.99±0.43	0.98±0.013	586.66±102.94	0.99±0.003
NP2	676.67±112.25	7.10±0.41	0.98±0.006	750.00±132.10	0.99±0.003
NP3	672.67±86.43	6.96±4.24	0.97±0.023	739.05±95.00	0.99±0.003
W0	381.00±39.87 ^b	6.49±0.24	0.97±0.017	398.34±45.46 ^b	1.00±0.003
W1	637.33±76.80 ^a	6.86±0.38	0.97±0.012	717.42±97.60 ^a	0.99±0.003
W2	602.00±19.50 ^a	6.97±0.14	0.97±0.060	661.59±15.85 ^a	0.99±0.003
W3	682.00±101.87 ^a	7.02±0.42	0.98±0.015	749.66±109.64 ^a	0.99±0.003
WP0	610.67±138.45	7.08±0.33	0.97±0.012	673.51±172.52	0.99±0.033
WP1	521.33±48.50	6.98±0.23	0.97±0.015	556.78±33.18	1.00±0.003
WP2	676.67±47.43	6.97±0.45	0.97±0.020	742.98±30.90	0.99±0.003
WP3	785.33±78.44	7.32±0.25	0.98±0.005	909.14±113.52	0.99±0.033
Y0	537.67±44.76 ^b	7.16±0.17	0.98±0.000	575.43±63.15 ^b	0.99±0.003
Y1	687.67±19.88 ^a	7.27±0.08	0.98±0.000	773.28±29.47 ^a	0.99±0.003
Y2	678.33±33.25 ^a	7.18±0.17	0.98±0.000	778.78±55.22 ^a	0.99±0.003
Y3	643.00±78.02 ^{ab}	6.94±0.38	0.98±0.000	728.07±45.52 ^{ab}	0.99±0.033
YP0	637.67±118.75	7.39±0.16	0.98±0.003	723.96±107.59	0.99±0.033
YP1	664.00±66.55	7.45±0.20	0.98±0.003	734.30±53.40	1.00±0.003
YP2	797.33±58.61	7.60±0.19	0.98±0.003	931.50±73.13	0.99±0.033
YP3	639.67±44.18	7.17±0.16	0.98±0.003	701.95±44.03	0.99±0.033

去除悬浮物的目的^[6], 本实验条件下各处理组的悬浮物浓度相比对照组均显著降低, 其中高密度缢蛭组和高密度泥蚶组悬浮物浓度最低, 相同密度下缢蛭对悬浮物的去除效果比文蛤和泥蚶好, 具体原因与缢蛭生长速度和摄食需求有关。由于贝类对不同营养盐去除率各不相同, 甚至同一种贝类的不同养殖密度对同一种营养盐的去除率亦不相同^[4]。在本实验中, 高密度和低密度的泥蚶均显著降低了氨氮含量, 说明泥蚶能有效降低养殖尾水氨氮。文蛤和泥蚶的不同密度均显著降低了亚硝酸盐含量, 且高浓度泥蚶效果较佳。弧菌的生长需要碳源和氮源^[7], 滩涂贝类对颗粒悬浮物的去除有效降低了大分子有机质, 一定程度上抑制了弧

菌的生长。本实验中, 高密度泥蚶组弧菌数没有显著降低, 但其余 5 组均显著降低了弧菌数, 且低密度贝类比高密度贝类去除效果佳。可能是高密度的贝类组有机代谢物相比低密度组有所增加, 给弧菌的增殖提供了便利^[8]。结果表明, 不同贝类处理水的效果不同, 如果条件允许的话, 凡纳滨对虾养殖池塘污水处理可以多种贝类混养的方式要好于单一贝类处理。

3.2 静水模式下 3 种贝类密度对水质净化效果

静水模式下, 各处理组的悬浮物浓度相比对照均显著降低, 其中高密度缢蛭组和高密度泥蚶组悬浮物浓度最低, 与流水模式一致, 凸显出该 2 种贝类较强的滤食能力, 赵志东等^[9]也证明了缢蛭

能显著降低凡纳滨对虾养殖尾水中的悬浮物,这与本文结果一致。本文中高密度的文蛤组悬浮物浓度高于低密度文蛤组,可能与密度过高有关,研究表明,高密度下贝类的生理状态遭受胁迫,会影响贝类对悬浮物的去除效率^[8]。营养盐指标方面,高密度和低密度组的泥蚶均显著降低了氨氮含量,这与流水模式下一致;缢蛏组和低密度文蛤组氨氮含量也低于对照组,说明3种滩涂贝类都有氨氮去除效果,而泥蚶去除效果最佳;高密度文蛤组氨氮含量高于低密度文蛤组,可能与贝类高密度养殖能够增加养殖水体中氨的浓度有关^[10-11]。文蛤和缢蛏对亚硝酸盐的含量没有显著影响,高密度和低密度组的泥蚶均处于较低水平的亚硝酸盐含量,这与流水模式下结果一致。在静水模式下,低密度贝类比高密度贝类去除弧菌效果更好。

3.3 静水模式下3种贝类对水体细菌群落 α 多样性的影响

水产养殖环境是一种复杂的水生生态系统,而细菌多样性的改变也会在一定程度上影响养殖生物的生长和健康^[12]。本研究发现,高密度文蛤组静水处理1h和2h后,Chao1、observed_species显著高于静水0h;然而在低密度文蛤组静水处理1h和2h后,没有观察到同样的变化,说明高密度文蛤组改变了水体细菌群落的丰度。 α 多样性指数方面,高密度泥蚶组和低密度泥蚶组均没有显著变化,说明在此实验条件下的泥蚶不能改变水体细菌群落的多样性和丰度。而高密度缢蛏组静水处理1~3h后,Chao1和observed_species指数显著高于静水0h;然而在低密度缢蛏组静水处理1、2、3h后,没有观察到同样变化,由此说明只有高密度缢蛏才会改变水体细菌群落的丰度。在本研究中,滩涂贝类仅改变菌群的丰度,并没有改变菌群的多样性,这与王鑫毅等^[13]对缢蛏的研究不同,菌群结构改变可能需要更长的时间,静水处理3h还不足以改变菌群的结构;但也有学者提出群落结构的稳定和滩涂养殖贝类的生理代谢活动有关^[14],相关定论还需进一步研究。本文研究可以看出泥蚶组在水体细菌丰度和多样性方面更加稳定。

4 结论

本文研究表明,不同滩涂贝类在平面流水和

静水模式下对水质的净化效果虽有差异,但总体趋势相似。平面24h流水模式下,缢蛏对降低水体悬浮物浓度效率最高,其次是泥蚶;泥蚶对氨氮和亚硝酸盐去除效果较好;文蛤在降低弧菌含量效果更佳。静水模式下高密度($0.5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$)贝类更能有效净化水质,而适当降低贝类密度($0.2\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$)有利于去除养殖尾水中的弧菌总数;水体菌群研究结果表明,高密度文蛤和缢蛏会改变水体细菌群落的丰富度,但多样性不会改变,泥蚶组菌群丰度和多样性方面更趋于稳定。整体来看,本试验中高密度($0.5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$)泥蚶对凡纳滨对虾养殖尾水综合净化效果最好。

参考文献:

- [1] 刘庆辉,余祥勇,张鹤千,等.微藻对水产养殖尾水中氮磷去除效果的研究进展——基于水产养殖尾水资源化利用角度分析[J].水产科技情报,2019,46(5):290-295.
- [2] Quintã, R, Hill P W, Jones D L, et al. Uptake of an amino acid (alanine) and its peptide (trialanine) by the saltmarsh halophytes *Salicornia europaea* and *Aster tripolium* and its potential role in ecosystem N cycling and marine aquaculture wastewater treatment[J]. Ecological Engineering, 2015, 75:145-154.
- [3] Lananan F, Hamid S H A, Din W N S, et al. Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing Effective Microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella* sp.)[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 95:127-134.
- [4] Kandra P, Challa M M, Jyothi H K P. Efficient use of shrimp waste: Present and future trends[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93(1):17-29.
- [5] 秦文娟,陆开宏,郑忠明,等.龙须菜与缢蛏单养或混养对对虾集约化养殖尾水净化的效果[J].宁波大学学报(理工版),2017,30(4):35-41.
- [6] 董波,薛钦昭.滤食性贝类摄食生理的研究进展[J].海洋科学,2000,24(7):31-34.
- [7] 刘连生,闫茂仓,赵海泉,等.哈氏弧菌文蛤分离株WG1702培养条件优化研究[J].水产科学,2010,29(2):79-82.
- [8] 吕晓燕.亚硝酸盐和氨氮对红螯光壳螯虾生理生化的影响[D].上海:华东师范大学,2011.
- [9] 赵志东,常抗美,吴雄飞,等.养虾废水经贝类滤食净化后池塘主要水环境因子的变化分析[J].宁波大学学

- 报(理工版), 2004, 17(1):52-57.
- [10] Khoi L V, Fotadar R. Integration of blue mussel (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) with western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) in a closed recirculating aquaculture system under laboratory conditions[J]. Aquaculture, 2012, 354/355:84-90.
- [11] Prins T C, Smaal A C. The role of the blue mussel *Mytilus edulis* in the cycling of nutrients in the Oosterschelde estuary (The Netherlands)[J]. Hydrobiologia, 1994, 282/283(1):413-429.
- [12] Tang Y Y, Tao P Y, Tan J G, et al. Identification of bacterial community composition in freshwater aquaculture system farming of *Litopenaeus vannamei* reveals distinct temperature-driven patterns[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(8):13663-13680.
- [13] 王鑫毅, 谢晓, 金珊, 等. 基于高通量测序的缢蛏及其养殖池塘菌群结构的季节变化[J]. 应用生态学报, 2019, 30(12):4267-4276.
- [14] 金珊, 薛超波, 王国良, 等. 缢蛏滩涂养殖环境的细菌群落组成及分析[J]. 应用生态学报, 2005, 16(7):1380-1382.

The purification effect of three types of tidal flats shellfish on the tail water of *Litopenaeus vannamei* culture

HUANG Lin¹, XU Shengwei^{1*}, WANG Xuelei¹, WANG Gang¹, JIANG Weijie²

(1.Institute of Marine and Fisheries Research of Ningbo, Ningbo 315103, China;

2.ABC Life Insurance Co., Ltd., Ningbo 315042, China)

Abstract: Under different treatment, three types of tidal flats shellfish, *Meretrix meretrix*, *Sinonvaculina constricta* and *Tegillarca granosa* were used to investigate their effect on tail water. The results obtained from the flow mode indicates that all the experimental groups significantly reduced the total suspended solids in water. In addition, *Tegillarca granosa* has a good removal effect on ammonia nitrogen and nitrite and the *Meretrix meretrix* produced a good removal effect on vibrio. The results from the static water model show a similar trend as those obtained from flow mode. Furthermore, the high density ($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) shellfish in static water mode is significantly more effectively to purify the water quality. A given degree of shellfish density reduction ($0.2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) is effective to remove the total number of vibrios in the aquaculture tail water. The results obtained from the study on the microflora in static water showed that the indexes of Chao1 and observed species significantly increased in the groups of high-density ($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) *Meretrix meretrix* and high density ($0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) *Sinonvaculina constricta*. Finally, the abundance and diversity of the bacteria in the *Tegillarca granosa* groups tended to be more stable than other groups.

Key words: tidal flats shellfish; aquaculture tail water; water quality index; microbial community; purification

(责任编辑 章践立)