

不同生物絮团对脊尾白虾高密度养殖水体氨氮的影响

马杭柯¹, 李志辉¹, 赖晓芳^{1,2,3,4}, 陈建华^{1,2,3,4}, 张庆起⁵, 阎斌伦^{1,2,3,4}, 高 焕^{1,2,3,4}

(1.江苏省海洋生物技术重点实验室/海洋生命与水产学院,江苏连云港 222005;

2.江苏省海洋生物产业技术创新中心,江苏连云港 222001;

3.江苏省海洋资源开发研究院,江苏连云港 222005;

4.江苏省农业种质资源保护与利用平台,江苏南京 210014;

5.连云港赣榆佳信水产开发有限公司,江苏连云港 222100)

摘要:为筛选适宜虾类工厂化养殖使用的生物絮团种类,以脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)为实验材料,探讨了3种不同产地(河南、福建、河北)来源的EM菌产生的生物絮团对脊尾白虾高密度养殖水体氨氮(ammonia nitrogen, AN)浓度的影响。每种生物絮团下共设置600尾/ m^3 、800尾/ m^3 、1 000尾/ m^3 共3个养殖密度,实验周期为8 d。结果显示,应用河南产地的EM菌,在600尾/ m^3 、800尾/ m^3 、1 000尾/ m^3 养殖密度下,水体最终氨氮浓度为1.28 mg/L、1.52 mg/L、1.90 mg/L,日均节水率为50.1%;应用福建产地的EM菌,水体最终氨氮浓度为1.03 mg/L、1.48 mg/L、2.15 mg/L,日均节水率为52.2%;应用河北产地的EM菌,水体最终氨氮浓度为1.58 mg/L、1.78 mg/L、2.74 mg/L,日均节水率为24.4%;而对照组水体最终氨氮浓度分别为1.62 mg/L、2.12 mg/L、3.05 mg/L,以上3种生物絮团在脊尾白虾高密度海水养殖中均有降低水体氨氮的作用,且效果存在显著差异,揭示水产养殖过程中应对适宜的EM菌试剂进行筛选后使用。实验筛选获得了适合脊尾白虾高密度养殖的生物絮团,为进一步开展其工厂化养殖及节水减排提供了参考。

关键词:生物絮团;脊尾白虾;工厂化养殖;氨氮

中图分类号:X820.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2019)05-0068-05

人工养殖过程中,水产养殖动物只能利用饲料中不到30%的蛋白质,其余部分以氨氮、粪便等形式排放于周围水环境中,导致水体氨氮、亚硝酸盐等浓度升高,最终危害水生生物的生长与生存(Stokstad, 2010)。解决这一问题的通常做法是对养殖水体进行日常性换水,由此也导致水资源的大量耗费,这与当今倡导的环保型养殖模式背道而驰。生物絮团技术(bio-flocs technology, BFT)具有低消耗、零换水的特点,为解决水产动物的集约化养殖提供了新的发展方向(Schryver et al, 2008)。生物絮团技术是指在可控养殖条件下投入枯草芽孢杆菌、光合细菌、乳酸菌等有益微生物,使水体中的这些微生物

聚集形成絮团,将水中氨氮转化为菌体蛋白,作为饵料供水生生物摄食(Avnimelech, 1999; 刘杜娟等, 2013)。研究表明,运用生物絮团技术可以显著增加水产养殖动物对蛋白的利用率,减少排水量与饲料投喂量,并在一定程度上降低疾病的风险,提高成活率(Defoirdt et al, 2005)。目前,生物絮团技术已经用于凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)(Bauer et al, 2012)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) (Asaduzzaman et al, 2009)和鲤(*Cyprinus carpio*) (赵志刚等, 2017)等水产动物的单养及混养模式中,并取得了很好的节水效果。

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)作为我国特有的养殖经济品种,由于其具有繁殖能力强、生长速度快、生长季节长等优点,近年来养殖面积和产量逐年增加(王兴强等, 2005),关于其工厂化养殖模式也开始受到关注。本研究通过比较产地来源不同的3种EM菌复合物形成的生物絮团在脊尾白虾高密度养殖过程中的作用,以期探讨不同养殖密度、不同生物絮团种类对脊尾白虾生长及水质的影响,为其进一步工厂化养殖与节水环保提供指导和帮助。

收稿日期:2017-10-14

基金项目:江苏省高等学校自然科学研究重大项目(17KJA240001);江苏省“六大人才高峰”创新人才团队项目(2016-HYGC-CXTD-004);连云港市产学研合作项目(CXY1517)。

作者简介:马杭柯,1993年生,男,硕士研究生,研究方向为海洋生物遗传与育种。E-mail: 704243368@qq.com

通信作者:高焕,1976年生,男,教授。E-mail: huanmr@163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用脊尾白虾于 2017 年 8 月取自江苏连云港赣榆佳信水产开发有限公司。在实验室进行适应性暂养 3 d 后,挑选体长(3.4±0.4) cm、体重(1.9±0.1) g、健康活泼的脊尾白虾于玻璃缸(长×宽×高=40 cm×20 cm×20 cm)中进行实验。

实验所用 EM 菌分别购自河南(云酵生物科技有限公司,简称 HN),主要成分为枯草芽孢杆菌、酵母菌、活性酶等;福建(惠盈动保科技有限公司,简称 FJ),主要成分为枯草芽孢杆菌和果寡糖粉;河北(旺发生物技术研究所,简称 HB),主要成分为枯草芽孢杆菌、硝化细菌、复合光合细菌等。各 EM 菌总菌数均 $\geq 3 \times 10^{10}$ CFU/g。

1.2 实验方法

1.2.1 养殖密度设置及日常管理 实验分为 EM 菌组和对照组,每组设置 3 个平行组。EM 菌组根据产地分为 3 组(HN、FJ、HB),每种菌组下各设计 600、800、1 000 尾/ m^3 共 3 个养殖密度组,即每个玻璃缸放虾苗 9 尾、12 尾、15 尾;对照组同样设计 600、800、1 000 尾/ m^3 共 3 个密度组,不加入任何 EM 菌;下文以(产地+密度)格式标识实验组别。取 EM 菌 1 g、红糖 4 g、水 95 g 配置 EM 菌液发酵 3 d。试验期间,共投放 EM 菌液 3 mL,各水体菌种的终浓度(总菌数/水体体积) $\geq 10^5$ CFU/mL。

每天 8:00 和 18:00 各投喂一次饲料(蛋白含量 40%),日投喂量约为虾体重的 3% 左右。每次投喂后 1 h,采用虹吸法吸走底部残饵,并保证每组每次水体吸出量相当。每天添加一次蔗糖,根据 Avnimelech(1999)总结的 C/N=15 为最优配比,每次蔗糖添加量控制在投喂量的 75% 左右。全天控制温度在 25℃ 左右,期间不间断充气、不换水,每天补充损失水量至刻度线。发现死虾及时取出并补充,保证虾密度稳定。每天上午投饵前取水测定温度、盐度、pH,并采用次溴酸钠氧化法测定氨氮浓度,重复 3 次。

1.2.2 水体氨氮浓度测定 氨氮浓度测定采用次溴酸钠氧化法,测定方法参考国家海洋调查规范(GB 12763.4—91)标准。

1.3 数据分析

采用 SPSS18.0 对数据进行分析,以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平判定标准,以日均节水率计算生物絮团降解氨氮效率。日均节水率计算方法如下:

$$R = \frac{AN_c - AN_t}{AN_c}$$

式中: R 为节水率; AN_c 是对照组水体氨氮浓度, AN_t 是实验组水体氨氮浓度。

2 结果

2.1 水体指标变化

各实验组与对照组平均温度、盐度、pH、絮团变化如表 1。HN600 组第 1 天出现絮团,其余组(对照组除外)均为第 2 天出现絮团。出现絮团时水体变浑浊,玻璃缸壁上附着大量黄棕色絮状物。

表 1 各实验密度组的水体指标变化与生物絮团出现时间

Tab.1 Average water temperature, salinity, pH and formation time of biological floc for each treatment

组别	温度/℃	盐度	pH	絮团出现/d
HN600	25.1	22.3	8.80	1
HN800	25.8	22.3	8.72	2
HN1000	25.6	22.4	8.66	2
FJ600	25.4	22.6	8.79	2
FJ800	25.1	21.8	8.78	2
FJ1000	25.2	21.9	8.75	2
HB600	25.4	22.5	8.83	2
HB800	25.8	22.0	8.81	2
HB1000	24.9	22.2	8.71	2
DZ600	25.0	22.5	8.86	
DZ800	24.8	22.0	8.85	
DZ1000	25.2	21.7	8.80	

2.2 不同养殖密度下水体氨氮变化

不同脊尾白虾养殖密度条件下水体氨氮浓度变化见图 1。可以看出,氨氮浓度随养殖时间的增加而增加。投放 HN 生物絮团时水体氨氮浓度变化见图 1-a,在 600、800、1 000 尾/ m^3 密度下,第 1 天氨氮浓度均值分别为 0.09、0.08、0.09 mg/L,水体氨氮浓度无显著差异($P > 0.05$);从第 2 天开始,氨氮浓度随养殖密度增加而上升,水体氨氮浓度均值分别为 0.72、0.84、1.03 mg/L,峰值为 1.28、1.52、1.90 mg/L,不同密度水体氨氮浓度差异显著($P < 0.05$)。投放 FJ 生物絮团时水体氨氮浓度变化如图 1-b 所示,第 3 天开始水体氨氮浓度快速上升,第 8 天达到最高,分别为 1.03、1.48、2.15 mg/L,各组间差异显著($P < 0.05$)。投放 HB 生物絮团时水体氨氮浓度变化规律见图 1-c,第 3 天时水体氨氮浓度快速上升,均值分别为 0.87、0.97、1.38 mg/L,峰值为 1.58、1.78、2.74 mg/L,各组间差异显著($P < 0.05$)。对照组氨氮浓度变化规律见图 1-d,第 8 天各密度组水体氨氮浓度达到 1.62、2.12、3.05 mg/L,各组间差异显著($P < 0.05$)。

2.3 不同生物絮团对水体氨氮浓度的影响

不同生物絮团在 600 尾/ m^3 密度下对水体氨氮浓度的影响见图 2-a, 养殖前期(第 1~2 天)对照组与实验组水体氨氮浓度差距较小, 第 2 天 HN 组(0.29 mg/L)和 HB 组(0.23 mg/L)浓度高于对照组(0.15 mg/L)。从第 3 天开始, 对照组氨氮浓度

快速上升, 达到 0.78 mg/L, 远远大于实验组($P < 0.05$)。第 5 天开始, HB 组氨氮浓度快速上升(1.22 mg/L), 与对照组(1.30 mg/L)无显著差异($P > 0.05$), HN 组(0.83 mg/L)、FJ 组(0.84 mg/L)与对照组差异显著($P < 0.05$)。各组氨氮浓度峰值分别为 1.28、1.03、1.58、1.62 mg/L。

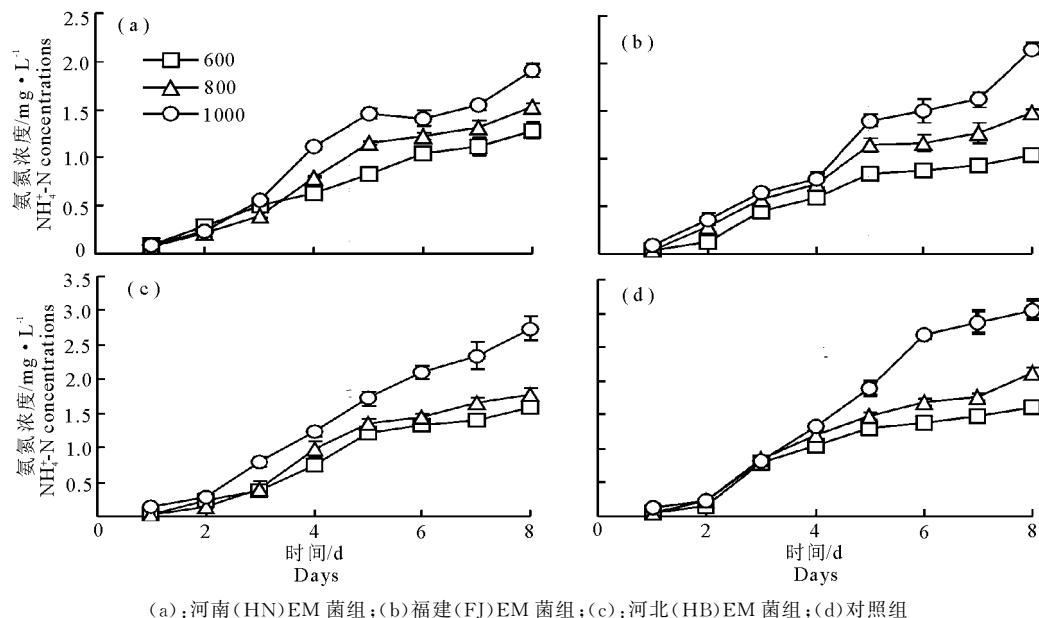


图 1 不同养殖密度下水体氨氮浓度的变化

(a) : Henan (HN) EM bacteria group; (b) : Fujian (FJ) EM bacteria group; (c) : Hebei (HB) EM bacteria group; (d) : the control group

Fig.1 Variation of ammonia nitrogen concentration for each EM treatment and cultivation density

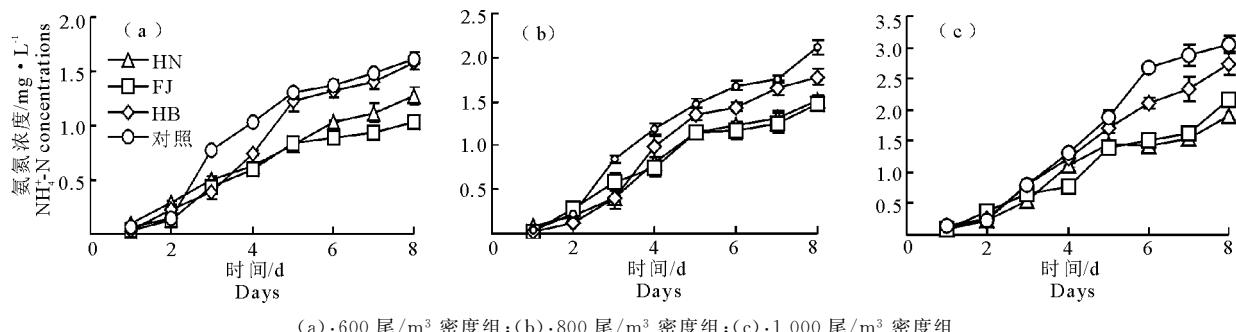


图 2 不同生物絮团对水体氨氮浓度的影响

(a) : the group of 600 ind./ m^3 density; (b) : the group of 800 ind./ m^3 density; (c) : the group of 1 000 ind./ m^3 density

Fig.2 Effect of each biological floc on ammonia nitrogen concentration at different cultivation densities

密度 800 尾/ m^3 时水体氨氮变化如图 2-b。养殖前期(第 1~2 天)对照组水体氨氮浓度与实验组差异较小。从第 4 天开始, HB 组氨氮浓度快速上升, 达到 0.99 mg/L, 与 HN 组(0.8 mg/L)、FJ 组(0.74 mg/L)差异显著($P < 0.05$)。各组氨氮浓度峰值分别为 1.52、1.48、1.78、2.12 mg/L, 除 HN 组与 FJ 组无显著差异($P > 0.05$), 其余各组间均有显著差异($P < 0.05$)。

养殖密度为 1 000 尾/ m^3 时, 不同生物絮团对

水体氨氮浓度的影响见图 2-c。养殖前期(第 1~2 天), 各实验组之间无显著差异($P > 0.05$)。第 4~8 天, 对照组平均氨氮浓度 2.37 mg/L, 远远高于 HN 组 1.48 mg/L、FJ 组 1.49 mg/L, 而 HB 组氨氮浓度一直保持高水平, 平均值 2.17 mg/L, 直到第 6 天上升趋势有所下降。各组氨氮浓度峰值分别为 1.90、2.15、2.74、3.05 mg/L, 各实验组与对照组差异显著($P < 0.05$), 但 HN 组与 FJ 组无显著差异($P > 0.05$)。

以各组氨氮浓度为参照,从第 3 天开始计算每天节水量,各组日均节水率见表 2。

表 2 不同密度下各组别的日均节水率

Tab.2 Percent reduction in daily water usage for each treatment and cultivation density

养殖密度/ 尾·m ⁻³	不同产地 EM 菌实验组的节水率/%		
	河南(HN)	福建(FJ)	河北(HB)
600	44.4	50.6	26.9
800	49.7	51.2	30.2
1000	56.2	54.7	16.0
平均值	50.1	52.2	24.4

3 讨论

生物絮团以水体中的各种微生物、有机碎屑等为核心,在碳源合适且充足的情况下形成微小絮状物,可以有效地分解水体氨氮,有些絮团还可以充当虾蟹食物(罗国芝等,2010)。由于不同微生物核心形成的生物絮团种类不同,功效也会有一定的差别。从实验结果看,不同 EM 菌生成的生物絮团对水体氨氮的降解能力存在显著差异,最好的是产自福建的 EM 菌,主要成分为枯草芽孢杆菌和果寡糖粉;其次是产自河南的 EM 菌,主要成分为枯草芽孢杆菌、酵母菌、活性酶等;再次为产自河北的 EM 菌,主要成分为枯草芽孢杆菌、硝化细菌等。产生这种差异的原因可能有以下两点:首先,菌种最适工作条件可能存在差异,其中产自福建的菌种适用于海淡水,故在脊尾白虾养殖中有较好的降解氨氮效果,而产自河南、河北的菌种可能更适合于淡水养殖;其次,不同菌种的活性应该存在一定差异,比如枯草芽孢杆菌降解水体氨氮能力明显优于短小芽孢杆菌和硝化细菌等(孙运忠等,2012;高明亮,2015),进而导致其降解水体氨氮能力上的不同。

本次研究表明,养殖密度对水体氨氮浓度的影响也很大。尽管有些生物絮团对氨氮的降解能力很强,在低密度下可以较好地抑制水体氨氮上升的速率(夏耘等,2014);但在高密度下,水体氨氮浓度仍然快速上升,对水生生物造成很大危害。本研究中,EM 菌组平均氨氮浓度最低为 0.61 mg/L,对照组为 1.25 mg/L,显著高于李晓梅(2017)等在高密度养殖凡纳滨对虾中得到的值(实验组氨氮终浓度为 0.37 mg/L,对照组低于 1.0 mg/L)。这种差异的原因可能是后者采用的凡纳滨对虾养殖密度仅为 400 尾/m³,远低于此次采用的密度。在工厂化养殖过程中,只有采用合理的养殖密度并配合适宜的生物絮团种类,才能取得更好的节水减排效果。

参考文献

- 高明亮,2015. 生物絮团技术在海水虾蟹池塘中应用的初步研究[J]. 青岛:中国海洋大学,43-51.
- 李晓梅,郭体环,2017. 生物絮团对凡纳滨对虾养殖过程中氨氮和亚硝酸氮含量的影响[J]. 渔业研究,39(4): 283-286.
- 刘杜娟,潘晓艺,尹文林,等,2013. 生物絮团在罗氏沼虾育苗中的应用[J]. 上海海洋大学学报,22(1): 47-53.
- 罗国芝,朱泽闻,潘云峰,等,2010. 生物絮凝技术在水产养殖中的应用[J]. 中国水产, (2): 62-63.
- 孙运忠,赵培,王彦怀,等,2012. 添加红糖和芽孢杆菌对日本囊对虾室内集约化养殖水质的调控作用[J]. 渔业科学进展,33(3): 70-76.
- 王兴强,阎斌伦,马甡,等,2005. 脊尾白虾生物学及养殖生态学研究进展[J]. 齐鲁渔业,22(8): 21-23.
- 夏耘,邱立疆,郁二蒙,等,2014. 生物絮团培养过程中养殖水体水质因子及原核与真核微生物的动态变化[J]. 中国水产科学,21(1): 75-83.
- 赵志刚,罗亮,王常安,等,2017. 不同鲤养殖模式生物絮团系统中鱼体的生长及水质[J]. 水产学报,41(1): 99-108.
- Asaduzzaman M, Wahab M A, Mcj V, et al, 2009. Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems[J]. Aquaculture, 287(3): 371-380.
- Avnimelech Y, 1999. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. Aquaculture, 176(3/4): 227-235.
- Bauer W, Prentice-Hernandez C, Tesser M B, et al, 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 342/343(1): 112-116.
- Defoirdt T, Bossier P, Sorgeloos P, et al, 2005. The impact of mutations in the quorum sensing systems of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio harveyi* on their virulence towards gnotobiotically cultured *Artemia franciscana* [J]. Environmental Microbiology, 7(8): 1239-1247.
- Schryver P D, Crab R, Defoirdt T, et al, 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture [J]. Aquaculture, 277(3): 125-137.
- Stokstad E, 2010. Down on the shrimp farm[J]. Science, 328: 1504-1505.

Effects of Different Biological Flocs on Ammonia Nitrogen Content in High-density Aquaculture Water of *Exopalaemon carinicauda*

MA Hang-ke¹, LI Zhi-hui¹, LAI Xiao-fang^{1,2,3,4}, CHEN Jian-hua^{1,2,3,4},
ZHANG Qing-qi⁵, YAN Bin-lun^{1,2,3,4}, GAO Huan^{1,2,3,4}

(1.Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology/College of Marine Life and Fisheries,

Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, P.R.China;

2.Co-innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, P.R.China;

3.Marine Resource Development institute of Jiangsu, Lianyungang 222005, P.R.China;

4.The Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm, Nanjing 210014, P.R.China

5.Lianyungang Ganyu Jiaxin Aquatic Development Co. Ltd., Lianyungang 222100, P.R.China)

Abstract: *Exopalaemon carinicauda* is an aquaculture species endemic to China and characterized by a high reproduction rate, fast growth and an extended growing season. Production has increased in recent years and industrialized aquaculture of *E. carinicauda* has attracted increasing attention. In this study, we explored the effects of bio-flocs produced by three different EM (effective microorganisms) bacteria on ammonia nitrogen concentrations in the high-density culture water of *E. carinicauda*, aiming to obtain the most suitable biological floc for industrialized aquaculture of *E. carinicauda* and provide support for conserving water and improving water quality from high density aquaculture operations. The experiment was carried out in an indoor factory farming system with healthy adult shrimp [body length, (3.4±0.4) cm, body weight (1.9±0.1) g]. EM bacteria from three provinces (Henan, Fujian and Hebei) were selected to form bio-flocs. Each bio-floc treatment and the control were set at three culture densities: 600 tail/m³, 800 tail/m³ and 1 000 tail/m³, with each trial run in triplicate. An EM bacteria density of >10⁵ CFU/mL was achieved in each trial. The test duration was 8 days and water temperature, salinity, pH, and ammonia nitrogen concentration were determined each morning at 8 : 00, prior to feeding. The final concentrations of ammonia nitrogen at the three shrimp densities were 1.28 mg/L, 1.52 mg/L and 1.90 mg/L with EM bacteria from Henan; 1.03 mg/L, 1.48 mg/L and 2.15 mg/L with EM bacteria from Fujian, and 1.58 mg/L, 1.78 mg/L, 2.74 mg/L with EM bacteria from Hebei. The corresponding daily water saving rates with EM bacteria from Henan, Fujian and Hebei were, respectively, 50.1%, 52.2% and 24.4%. Treatment with EM bacteria from all three provinces significantly reduced the ammonia nitrogen concentration, but the reduction varied by source province. A biological floc suitable for high-density culture of *E. carinicauda* was obtained and our results provide a reference for further development of industrial shrimp culture.

Key words: biological floc; *Exopalaemon carinicauda*; industrial aquaculture; ammonia nitrogen