

改性粘土对硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*) 生长的影响*

王梓瞳^{1, 2} 宋秀贤^{2, 3, 4, 5} 张悦^{2, 3, 5} 俞志明^{2, 3, 4, 5} 唐学玺¹

(1. 中国海洋大学海洋生命学院 青岛 266071; 2. 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室(中国科学院海洋研究所) 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室 青岛 266071; 4. 中国科学院大学 北京 100049; 5. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071)

摘要 本文以硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)为研究对象,开展了两种类型改性粘土(聚合氯化铝改性粘土 MC₁, 硫酸铝改性粘土 MC₂)对其急性、亚急性毒性实验。96h 急性毒性实验结果显示, MC₁ 和 MC₂ 对小规格硬壳蛤[壳长(1.98±0.05)mm, 壳高(1.75±0.04)mm]的半致死浓度(LC₅₀)分别为 4.91 和 1.85g/L, 对大规格硬壳蛤[壳长(5.70±0.15)mm, 壳高(5.09±0.13)mm]的 LC₅₀ 分别为 5.77 和 3.40g/L。亚急性毒性实验结果表明: 浓度低于 1.0g/L 的 MC₁ 和 MC₂ 未对两种规格硬壳蛤的存活产生影响; 硬壳蛤滤水率随改性粘土用量增加而降低, 其中 0.1g/L 的 MC₁ 和 MC₂ 对两种规格硬壳蛤滤水率无影响, 0.5g/L 的 MC₁ 对两种规格硬壳蛤滤水率均有显著影响($P < 0.05$), 而 MC₂ 仅对小规格硬壳蛤滤水率有影响; 当改性粘土浓度升高至 1.0g/L, 两种规格硬壳蛤的滤水率均显著低于对照($P < 0.05$)。生长率的结果显示, 仅 1.0g/L 的 MC₁ 和 MC₂ 显著影响小规格硬壳蛤生长。多年的应用结果表明, 现场能有效消除有害赤潮藻华的改性粘土用量为 4—10t/km², 低于本实验中对硬壳蛤产生影响的改性粘土浓度。另外, 我国近海实际养殖过程中投放的硬壳蛤通常为 1cm 左右, 大于本研究中的硬壳蛤规格。据此可以推断, 改性粘土在现场治理藻华的同时不会对其存活和生长产生不良影响。本研究结果将为改性粘土在近海养殖水域的应用提供科学依据。

关键词 改性粘土; 硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*); 急性毒性; 亚急性毒性

中图分类号 X55 doi: 10.11693/hyhz20190200039

有害藻华是一种近海常见的灾害性生态异常现象, 不仅导致海洋生态系统失衡, 而且直接或间接危害海洋环境、海洋生物和人类健康(Anderson *et al.*, 2012)。大规模有害藻华对海水养殖业造成了严重破坏(于仁成等, 2016), 如发生在渤海海域的叉状角藻(*Ceratium furca*)藻华, 严重破坏了辽宁、河北、山东和天津的水产养殖业; 秦皇岛近岸海域近几年多次记录到抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)形成的褐潮, 严重损害了该海域的扇贝养殖业。改性粘

土技术作为一种成本低、快速有效、环境友好的有害藻华应急消除方法(Anderson, 1997), 在我国近海海域得到多次成功应用, 取得了较为理想的效果(Yu *et al.*, 2017)。

改性粘土治理有害藻华主要是利用改性粘土颗粒与藻华生物发生絮凝, 使藻华生物快速沉降到底层死亡(Yu *et al.*, 1994; Sengco *et al.*, 2001; 邱丽霞等, 2017)。而改性粘土作为水体生态系统的一种外来添加物, 其对水域生态系统的影响, 特别是藻-土复合

*国家重点研发计划, 2017YFC1404300号; 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划, 2016ASKJ02-3号; 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山人才计划资助, 2017ASTCP-OS16号; 泰山学者工程专项经费资助。王梓瞳, 硕士研究生, E-mail: 1994wangzitong@sina.com

通信作者: 宋秀贤, 研究员, 博士生导师, E-mail: songxx@qdio.ac.cn

收稿日期: 2019-02-23, 收修改稿日期: 2019-04-03

物沉降后对底栖生物的影响受到广泛关注(曹西华等, 2004)。目前, 国内外已经有诸多专家学者研究了改性粘土或天然矿物方法治理有害藻华对部分生物的影响(Lewis *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2013; 王志富等, 2014a)。但不同类型的粘土及改性剂对藻华生物的絮凝效果不尽相同, 对底栖生物的影响也会存在差异(Maruyama *et al.*, 1987; Na *et al.*, 1996; Sengco *et al.*, 2004)。

硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*, Hard clam 或 Quahog), 属双壳类, 帘蛤科, 成体体重可达 100—200g, 因贝壳坚硬而得名。原分布于美国东海岸, 是美国大西洋沿岸浅海和滩涂主要的经济双壳贝类之一, 营养和经济价值较高, 于 1997 年引进我国并开展大规模增殖(张涛等, 2003)。我国沿海养殖硬壳蛤通常采取室内人工育苗培养, 室内培育至 2mm 左右进入养殖池育成, 至 1cm 左右投放到自然环境。本研究选取两种不同规格(均小于投放规格)的硬壳蛤为实验对象, 探究不同类型改性粘土(MC、MC)对硬壳蛤的影响, 以期对改性粘土在养殖水域现场应用提供数据支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 改性粘土制备 分别配制聚合氯化铝(PAC)改性粘土体系(MC)和硫酸铝(AS)改性粘土体系(MC)母液, 母液浓度 100g/L, 配制方法详见文献(俞志明等, 1994; 刘扬等, 2014)。

1.1.2 生物培养 硬壳蛤取自莱州湾海域的养殖场, 选择壳身完好、体质健康、不同育苗期的硬壳蛤稚贝, 清除表面附着物, 按壳长分为大、小两种规格: 大规格壳长(5.70±0.15)mm、壳高(5.09±0.13)mm; 小规格壳长(1.98±0.05)mm、壳高(1.75±0.04)mm。对选择的稚贝进行 10d 的室内培养, 暂养水体为过滤(0.45μm)的自然海水, 每日换水一次, 换水量约为培养体系的 2/3—3/4, 水体温度控制在 18—20°C, 暂养期间均匀充气, 使溶解氧保持>5.0mg/L, 水体 pH 范围在 7.8—8.2, 自然光照培养, 每日喂球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*), 投喂密度 10⁴cells/mL。

1.2 改性粘土对硬壳蛤急性毒性实验

在 1L 玻璃烧杯中加入过滤的自然海水, 分别放置生长健康的小硬壳蛤 50 个、大硬壳蛤 20 个。根据静水法生物测试方法(中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局等, 2007), 实验期间内不换水、不投饵, 喷洒粘土后在水体上层均匀充气保证溶解氧饱和。喷

洒不同体积的 MC 母液和 MC 母液, 使最终各实验组改性粘土浓度分别为 0、0.2、0.5、1、2、4g/L, 每组设置 3 个平行。实验进行 96h, 期间记录各组稚贝在 96h 的死亡数, 并计算死亡率, 利用直线内插法计算半致死浓度(LC₅₀), 并根据 LC₅₀ 估算安全浓度。实验结果以 0.1 为安全系数, 以 96h 半致死浓度与安全系数的乘积为安全浓度(safety concentration, SC)(曾艳芝等, 2014)。硬壳蛤死亡的判断标准是两壳长久张开, 多次刺激无反应, 为避免实验过程中水质败坏和病原微生物交叉感染, 每 24h 观察一次, 并将死亡硬壳蛤及时捞出。在观察记录稚贝死亡情况的同时, 分别对各实验组的 pH 进行测定。

1.3 改性粘土对硬壳蛤的亚急性毒性实验

两种规格硬壳蛤实验分别进行, 在过滤自然海水中放置小硬壳蛤 40 只, 大硬壳蛤 30 只。实验开始时一次性喷洒适量 MC 母液和 MC 母液, 使各组改性粘土浓度分别为 0、0.1、0.5、1.0g/L。每组设置两个平行, 均匀通气, 培养 4 周, 培养期间不再喷洒粘土, 喷洒后至第二天开始换水。实验过程中跟踪测定的指标包括:

(1) 存活率: 培养过程中每隔一天换水, 不吸底, 换水量 2/3, 第一次换水后按暂养密度(10⁵cells/mL)投喂球等鞭金藻, 一日两次, 4 周后, 观察各实验组硬壳蛤死亡个数, 以确定存活率。

(2) 滤水率: 生物在单位时间内完全滤过海水中颗粒物的海水体积。滤水率以 7d 为一个周期, 前 3d 投喂球等鞭金藻, 第 4d 开始不投饵, 饥饿培养 3d, 第 7d 分别从每组随机取 10 只硬壳蛤放置在含有相同密度(10⁵cells/mL)球等鞭金藻的 1L 烧杯中, 另设置不放生物的自然沉降组 1 个, 消除由藻细胞自然沉降带来的误差, 2h 后测定各组藻密度。再每组随机挑选 10 只硬壳蛤, 相同条件下重复测定 1 次, 以消除随机误差。滤水率(clearance rate)的计算公式如公式(1)、(2)所示(Coughlan, 1969)。

$$m = \frac{M}{n} \left[\frac{(\ln C_0 - \ln C_t) - a}{t} \right], \quad (1)$$

$$a = \frac{\ln C'_0 - \ln C'_t}{t}, \quad (2)$$

其中, m 为每个生物的滤水率, M 表示实验水体积, n 为生物体个数, C_0 、 C_t 分别代表实验开始和结束时的饵料浓度; a 是空白对照的沉降速率, C'_0 、 C'_t 分别代表自然沉降组开始和结束时的饵料浓度。

(3) 生长率: 实验开始时从各组中随机挑取 10

只硬壳蛤测量壳高、壳长, 4 周后再从各组中随机挑取 10 只进行测量, 计算生长率[公式(3)、(4)]。

$$\text{壳长日生长率} = (\text{终末壳长} - \text{初始壳长}) / \text{天数} \times 100\%, \quad (3)$$

$$\text{壳高日生长率} = (\text{终末壳高} - \text{初始壳高}) / \text{天数} \times 100\%. \quad (4)$$

1.4 数据处理

利用 SPSS 22.0 软件, 对数据进行单因素方差分析(ANOVA, one-way), 比较各实验组与对照组间是否存在显著差异(差异显著性水平 $\alpha=0.05$), 运用 Origin8.5 和 Excel 2013 对数据进行处理和绘图。

2 结果与讨论

2.1 改性粘土对硬壳蛤的急性毒性实验

不同类型改性粘土对两种规格硬壳蛤的 96h 急性毒性实验结果表明, 随着改性粘土用量增加, 死亡率逐渐升高, 4g/L 的 MC 会导致小硬壳蛤 100% 死亡(图 1, 图 2)。利用直线内插法可得 MC 和 MC 对小硬壳蛤的 96h-LC₅₀ 分别为 4.91 和 1.85g/L, 依据安全系数乘积算出安全浓度分别为 0.49 和 0.19g/L。MC 和 MC 对大规格硬壳蛤的 96h-LC₅₀ 分别为 5.77 和 3.40g/L, 安全浓度分别为 0.58 和 0.34g/L(表 1)。

研究表明, 硬壳蛤是滤食性生物, 活动能力差, 水体悬浮物易影响其呼吸和滤食(Maurer *et al.*, 1981)。因此, 随着改性粘土浓度升高, 水体中悬浮物含量增加, 这可能是导致硬壳蛤死亡率逐渐升高的原因之一。此外, 对比不同规格的硬壳蛤可以看出, 大规格硬壳蛤相较于小规格硬壳蛤对改性粘土的耐受性更强。以往的研究结果也显示生物幼体较成体对环境中的重金属离子、氨氮、硫化物等含量变化更敏感(Hedtke *et al.*, 1982; 陈坚等, 2010; 刘建魁等, 2014), 这与本研究结果一致。本研究中, 两种类型改性粘土对硬壳蛤的半致死浓度均大于 1.85g/L, 而前人研究表明十六烷基三甲基溴化铵(HDTMA)有机改性粘土和 PAC 无机改性粘土对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)稚贝 96h-LC₅₀ 分别为 4.62 和 2.67g/L; PAC 改性粘土对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)稚贝的 96h-LC₅₀ 为 2.3g/L, 高于本研究中浓度(高咏卉等, 2007; 王志富等, 2014b)。这说明不同贝类对改性粘土的耐受力存在较大差异, 硬壳蛤较其他滤食贝类对改性粘土可能更敏感。但本研究中实验容器为 1L 烧杯, 实验水深约为 10cm, 如将安全浓度换算至现场喷洒浓度单位可知, MC 和 MC 对小硬壳蛤的安全浓度分别为 49 和 19g/m²; 对

大硬壳蛤为 58 和 34g/m², 均高于现场实际的喷洒浓度(4—10g/m²), 说明现场可有效治理藻华的改性粘土用量不会对硬壳蛤的存活造成不良影响。

对比硬壳蛤在相同浓度 MC I 和 MC II 下的死亡率(图 1, 图 2)可知, 在低浓度下二者死亡率相差不大, 但当 MC II 浓度升高至 1.0g/L 及以上时, 实验组硬壳蛤死亡率要高于 MC I 组。对比 MC I 和 MC II 对 2 种规格硬壳蛤的急性毒性结果(表 1), 发现 MC I 对 2 种规格硬壳蛤的 96 h-LC₅₀ 和安全浓度均比 MC II 高。即相同用量下, MC I 对小规格硬壳蛤的影响更小, 更适合治理发生在养殖生物规格较小或较敏感的海域。两种类型改性粘土对硬壳蛤的影响差异与其性质有关。研究表明, 在适宜的 pH 范围内, 贝类能表现出较高的滤水率, 超出适当的范围, 滤水率降低并表现出一定的不适应性(左骁等, 2009)。当贝类长期处于 pH 低于 7 的环境时, 贝类机体会处于一种近乎麻痹状态且摄食活力明显下降(Bamber, 1990)。Stevens 等(2018)研究显示, 水体 pH 降低会对硬壳蛤存活、壳生长率、组织增重产生显著不良影响。并且小规格硬壳蛤相较于大规格硬壳蛤对低 pH 表现出更高的敏感性, 如 4mm 左右硬壳蛤在低 pH 下存活率、生长率显

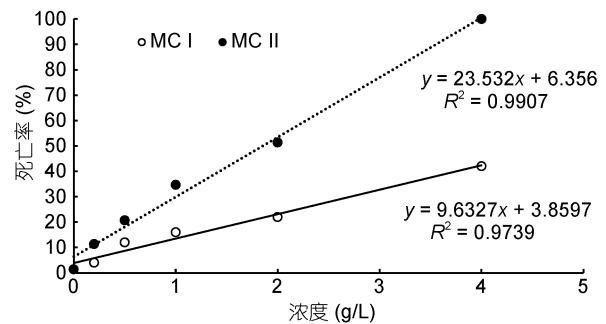


图 1 改性粘土对小硬壳蛤的 96h 急性毒性实验
Fig.1 Acute toxicity of modified clay to the small juveniles in 96h

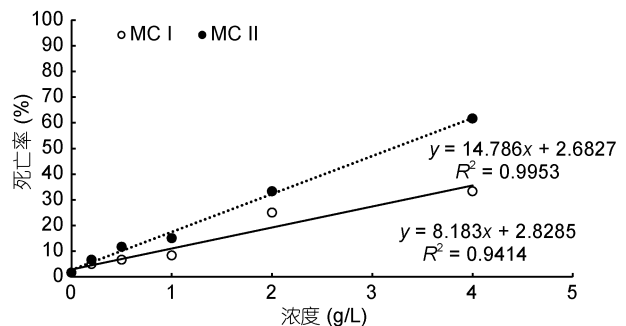


图 2 改性粘土对大硬壳蛤的 96h 急性毒性实验
Fig.2 Acute toxicity of modified clay to the large juveniles in 96h

表 1 大小两种规格硬壳蛤急性毒性比较
Tab.1 Comparison in acute toxicity of modified clay between small- and large-sized juveniles

浓度(g/L)	小规格		大规格	
	MC I	MC II	MC I	MC II
96h-LC ₅₀	4.91	1.85	5.77	3.40
SC	0.49	0.19	0.58	0.34

注: 96h-LC₅₀表示 96h 半致死浓度, SC 表示安全浓度

著降低; 而 6mm 左右硬壳蛤并未出现显著影响 (Waldbusser *et al.*, 2010)。在本研究中, 添加 1.0g/L MC II 改性粘土后, 水体 pH 显著降低 ($P < 0.05$), 而实验浓度范围内的 MC I 未显著影响水体 pH (图 3)。推测急性实验中 MC II 死亡率显著升高可能与水体 pH 的相应变化有关, 且 MC I 改性剂为聚合氯化铝, MC II 改性剂为硫酸铝, 由二者作为改性剂制备的改性粘土, 粒径大小并不相同 (邱丽霞等, 2017), MC I 粒径较 MC II 大, 而粒径大小与沉降速度相关, 改性粘土沉积后不会对硬壳蛤造成显著影响, 但悬浮于水体中时会造成不利影响 (Archambault *et al.*, 2004), 这也是可能造成 MC II 死亡率高于 MC I 的原因之一。

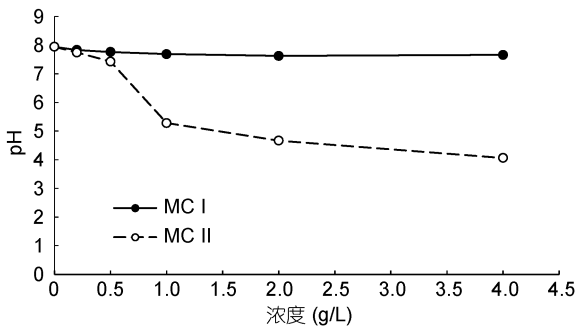


图 3 96h 添加不同类型改性粘土水体 pH 值

Fig.3 The pH of water added with different modified clay in 96 h

表 2 改性粘土对硬壳蛤存活率的影响
Tab.2 Effect of modified clay on the survival rate of the juveniles

分组	浓度(g/L)	小规格(%)	大规格(%)
对照组	0	95.0	100
	0.1	98.8	100
MC I	0.5	96.3	100
	1.0	95.0	100
MC II	0.1	97.5	100
	0.5	96.3	100
	1.0	93.8	100

2.2.2 改性粘土对硬壳蛤滤水的影响 随着硬壳蛤生长, 28d 小规格硬壳蛤滤水率比 7d 时增大了 1 倍

2.2 改性粘土对硬壳蛤的亚急性毒性实验

亚急性毒性实验是指受试物浓度较低不会引起实验生物急性中毒致死, 但对生物以后的生存仍可产生影响的毒性实验。在亚急性毒性实验中, 选用的观察指标通常包括健康状况及生长发育的观察、生理生化指标的测定、血液学指标测定、生物材料中毒物及其代谢物的分析、病理组织学检查及脏器系数的测定等 (徐镜波, 2000)。由于本研究选用的硬壳蛤相对较小, 因此以存活率、滤水率及生长率等指标来表征添加改性粘土对两种规格硬壳蛤的亚急性毒性作用。

2.2.1 改性粘土对硬壳蛤存活的影响 经过 28d 的亚急性毒性实验, 对大、小两种规格硬壳蛤各组的存活率进行测定 (表 2)。测定结果表明, 小规格硬壳蛤对照组存活率为 95%, 实验组存活率呈随改性粘土浓度升高略有降低, 如当 MC 改性粘土浓度由 0.1g/L 升高至 1.0g/L 时, 存活率由 98.8% 降低至 95.0%; 添加 0.1—1.0g/L MC 改性粘土后小规格硬壳蛤存活率由 97.5% 降低至 93.8%。与对照组相比, 添加 0.1、0.5g/L 的 MC、MC 改性粘土后小规格硬壳蛤存活率稍高于对照, 仅 1.0g/L 的 MC 改性粘土组中小规格硬壳蛤存活率略低于对照。统计分析可知, 各实验组同对照组相比存活率无显著差异 ($P > 0.05$)。28d 的亚急性毒性实验过程中, 大规格硬壳蛤对照组和实验组均未出现死亡现象, 存活率为 100%。

以上 (图 4, 图 5)。且随改性粘土浓度升高, 硬壳蛤滤水率呈降低趋势, MC 和 MC 两种改性粘土对小

规格硬壳蛤滤水率的影响相似。其中, 0.1g/L 的 MC 和 MC 改性粘土在所有测量时间点均未显著影响两种规格硬壳蛤滤水率($P>0.05$); 0.5g/L 的 MC 和 MC 在个别测定时间点上对小规格硬壳蛤滤水率造成显著影响, 1.0g/L 的 MC 和 MC 对小规格硬壳蛤滤水率有显著影响($P<0.05$)。

大规格硬壳蛤滤水率同小规格硬壳蛤滤水率变化趋势相近(图 6, 图 7), 由统计结果可知, 0.1、0.5g/L 的 MC I 对大规格硬壳蛤滤水率的影响同对照组相比无显著差异($P>0.05$); 1.0g/L 的 MC I 对大规格硬壳蛤滤水率有显著影响($P<0.05$), MC II 各组的统计结果与 MC I 相似, 但 0.5g/L 的 MC II 改性粘土除第 7d 外对均显著降低了大规格硬壳蛤的滤水率($P<0.05$)。

研究表明, 水体中长时间存在过多悬浮颗粒会对海洋生物带来一定的负面效应, 如损伤鳃丝、减少摄食量和增加对疾病的易感性等(Leverone, 1995)。粘土对不同生物滤食的影响存在很大差异, Shumway 等(2003)研究了黄土对底栖动物滤水率的影响, 结果发现 1.0g/L 的粘土对美国牡蛎(*Crassostrea virginica*)无显著影响, 而海湾扇贝(*Argopecten irradians*)在 0.01g/L 粘土浓度下就可显著降低滤水率, 紫贻贝(*Mytilus edulis*)滤水率在 1—10g/L 粘土浓度范围内出现显著降低。本研究中硬壳蛤的滤水率在 0.5 和 1.0g/L 的 MC 和 MC 出现了一定程度的降低, 这与生物种类本身对悬浮物质的敏感性有关, 且实验选择的硬壳蛤规格较小, 大规格硬壳蛤壳长、壳高仅为 5.70、5.09mm。两种规格硬壳蛤均小于现场投放规格, 由此可以推断, 在改性粘土治理藻华过程中对养殖区海域内硬壳蛤滤水率的影响十分有限。此外, 现场治理藻华时可适当降低用量, 以确保改性粘土对硬壳蛤滤水率无不良影响。

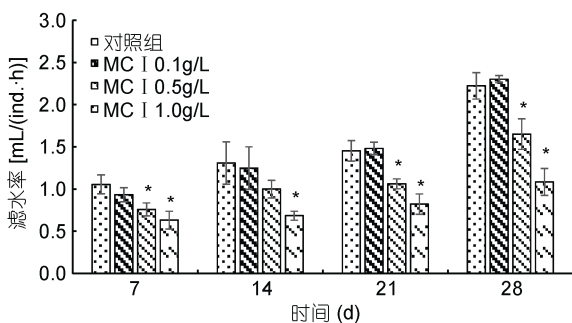


图 4 MC 对小规格硬壳蛤滤水率的影响

Fig.4 Effect of MC on clearance rate of the small juveniles
注: *代表差异显著($P<0.05$)

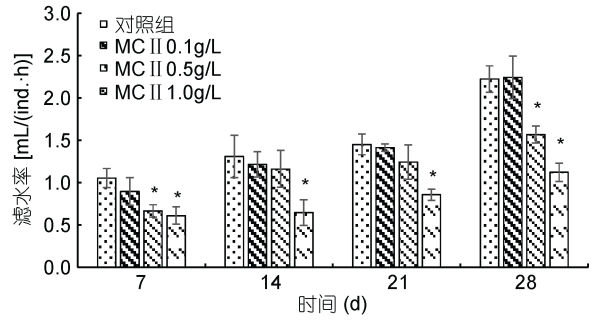


图 5 MC 对小规格硬壳蛤滤水率的影响

Fig.5 Effect of MC on clearance rate of the small juveniles
注: *代表差异显著($P<0.05$)

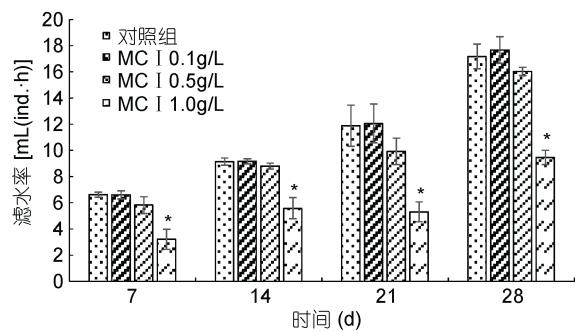


图 6 MC 对大规格硬壳蛤滤水率的影响

Fig.6 Effect of MC on clearance rate of the large juveniles
注: *代表差异显著($P<0.05$)

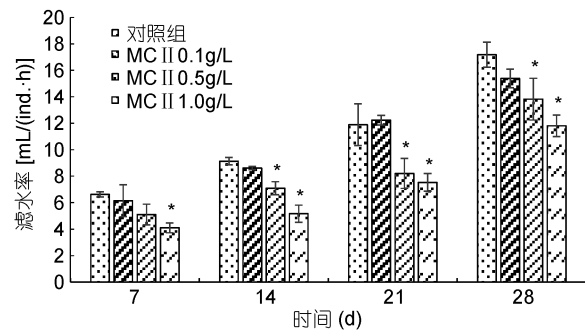


图 7 MC 对大规格硬壳蛤滤水率的影响

Fig.7 Effect of MC on clearance rate of the large juveniles
注: *代表差异显著($P<0.05$)

2.2.3 改性粘土对硬壳蛤生长的影响 从各组随机挑取小规格硬壳蛤进行壳长、壳高的测定(图 8)。初始时各组硬壳蛤的壳长约 1.99mm、壳高 1.77mm, 实验结束后对照组壳长、壳高日生长率分别为 9.7、8.4 $\mu\text{m}/\text{d}$ 。当 MC 改性粘土浓度由 0.1g/L 升高至 1.0g/L 时, 壳长、壳高日生长率由 9.8、8.5 $\mu\text{m}/\text{d}$ 降低至 7.7、7.0 $\mu\text{m}/\text{d}$; 添加 0.1—1.0g/L 的 MC 改性粘土使得小规格硬壳蛤壳长、壳高日生长率由 10.1、8.8 $\mu\text{m}/\text{d}$ 降低至 8.5、7.9 $\mu\text{m}/\text{d}$ 。与对照组相比, 0.1g/L

的 MC I 和 MC II 用量下小规格硬壳蛤日生长率均稍高于对照组; 0.5g/L 的 MC I 使小规格硬壳蛤日生长率略有降低, 而 0.5g/L 的 MC II 使小规格硬壳蛤日生长率高于对照组; 1.0g/L 的 MC I 和 MC II 组中小规格硬壳蛤生长率均低于对照组。进一步的统计分析结果表明, 低于 1.0g/L 的 MC I 和 MC II 对小规格硬壳蛤的生长率无显著影响($P>0.05$)。

经测量, 大规格硬壳蛤初始时各组壳长约 5.73mm、壳高 5.09mm, 实验结束后对照组壳长日生长率为 30.6 $\mu\text{m}/\text{d}$ 、壳高日生长率为 27.3 $\mu\text{m}/\text{d}$, 大规格硬壳蛤生长率的变化趋势与小规格硬壳蛤大体相同, 在 0.1g/L 的 MC I 和 MC II 用量下硬壳蛤日生长率略高于对照组; 在 0.5g/L 和 1.0g/L 的 MC I 和 MC II 浓度下大规格硬壳蛤日生长率与对照组相比略有降低。统计结果表明, MC I 和 MC II 组中大规格硬壳蛤生长率与对照组相比无显著差异($P>0.05$)(图 9)。研究发现, 滤食生物对颗粒或存在一定选择性, 滤食器官表面的凝集素会排斥 AlO_2 等化合物的摄入(Rosa *et al.*, 2013), 当水体中添加改性粘土时, 其所含改性剂或对滤食器官的滤食功能产生抑制, 导致本研究中 0.5g/L 的 MC I 和 MC II 在部分测量时间点显著降低了两种规格硬壳蛤的滤水率。但 Bricelj 等(1984)以干组织重量增加百分比表示生长率, 结果显示沉积物浓度 25mg/L 对硬壳蛤稚贝生长无显著影响, 在沉积物浓度达到 44mg/L 时, 生长显著降低(相对于仅喂藻类对照组减少 16%), 其认为低浓度的沉积物颗粒对生长无影响, 而高浓度的沉积物会导致稚贝生长率的下降。本实验中 0.5g/L 的 MC I 和 MC II 并未对两种规格硬壳蛤的生长造成显著影响, 而 1.0g/L 的 MC I 和 MC II 仅对小规格硬壳蛤生长有一定影响, 对大规格硬壳蛤并无显著影响。前人研究表明, 现场 4—10t/km² 的用量对东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)和球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)藻华都可有效去除(邱丽霞等, 2017), 现场应用浓度低于本实验中对硬壳蛤产生影响的改性粘土用量。且我国近海实际养殖过程中投放的硬壳蛤规格通常为 1cm 左右, 据此可以推断, 当硬壳蛤养殖海域发生藻华时, 改性粘土在有效消除藻华的同时不会对其存活和生长产生不良影响。

3 结论

(1) MC I、MC II 对小规格硬壳蛤的 96h-LC₅₀ 分别为 4.91、1.85g/L, 依据公式算出安全浓度分别为 0.49、

0.19g/L。MC I、MC II 对大规格硬壳蛤的 96h-LC₅₀ 分别为 5.77、3.40g/L, 安全浓度分别为 0.58、0.34g/L。MC I 和 MC II 对硬壳蛤的安全浓度均高于现场实际用量。

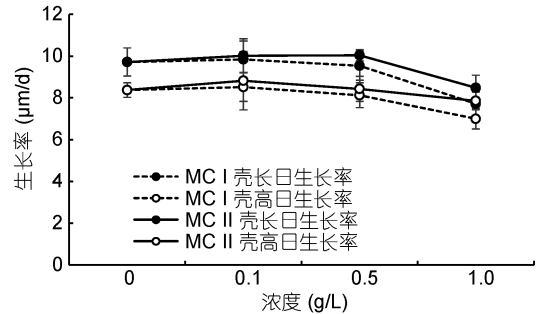


图 8 MC 作用下小硬壳蛤的生长情况

Fig.8 Effect of modified clay on growth rate of the small juveniles

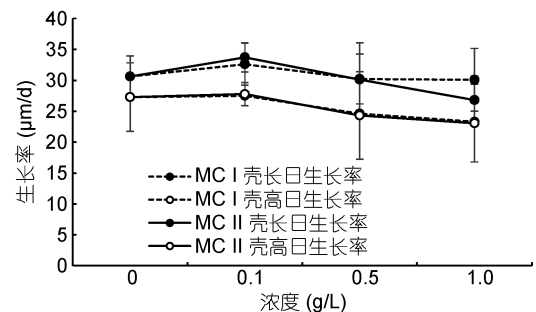


图 9 MC 作用下大硬壳蛤的生长情况

Fig.9 Effect of modified clay on growth rate of the large juveniles

(2) 亚急性毒性实验结果表明, MC I 和 MC II 浓度在 <1.0g/L 时对两种规格硬壳蛤存活、生长无影响。低于 0.5g/L 的 MC I 和 MC II 对两种规格硬壳蛤的滤水率无显著影响, 即可有效治理藻华的改性粘土用量不会对两种规格硬壳蛤存活、滤水率及生长造成不良影响。

(3) 大规格硬壳蛤相对小规格硬壳蛤表现出更高的耐受性, 硬壳蛤对 MC I 具有更高的敏感性, 建议在硬壳蛤养殖海域有害藻华治理中可优先选择 MC II 类型改性粘土。

参 考 文 献

- 于仁成, 刘东艳, 2016. 我国近海藻华灾害现状、演变趋势与应对策略. 中国科学院院刊, 31(10): 1167—1174
- 王志富, 俞志明, 宋秀贤等, 2014a. 有害藻华治理过程中改性粘土对仿刺参(*Apostichopus japonicas Selenka*)稚参的影响. 海洋与湖沼, 45(2): 233—238
- 王志富, 俞志明, 宋秀贤等, 2014b. 改性粘土治理有害藻华方法对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)稚贝的影响. 海洋

- 环境科学, 33(6): 817—821, 836
- 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 17378.7-2007 海洋监测规范 第7部分: 近海污染生态调查和生物监测. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- 左 骁, 曹善茂, 刘鹏亮, 2009. 饵料种类、盐度、pH和规格对曼氏皮海鞘摄食率的影响. 大连水产学院学报, 24(S1): 113—117
- 刘 扬, 俞志明, 曹西华等, 2014. 悬浮液中硫酸根对改性粘土去除藻华生物效率的影响. 海洋与湖沼, 45(4): 734—740
- 刘建魁, 刘立志, 赵 文等, 2014. 非离子氨和氨氮对不同规格史氏鲟幼鱼的急性毒性及安全浓度评价. 大连海洋大学学报, 29(2): 175—178
- 邱丽霞, 俞志明, 曹西华等, 2017. 改性粘土对球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 和东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 的去除作用. 海洋与湖沼, 48(5): 982—989
- 张 涛, 杨红生, 刘保忠等, 2003. 环境因子对硬壳蛤 *Mercenaria mercenaria* 稚贝成活率和生长率的影响. 海洋与湖沼, 34(2): 142—149
- 陈 坚, 胡一箫, 许丰瑞等, 2010. 氨氮和硫化物对文蛤幼体及成体的急性毒性试验. 现代农业科技, (3): 324—325, 331
- 俞志明, 邹景忠, 马锡年, 1994. 一种提高粘土矿物去除赤潮生物能力的新方法. 海洋与湖沼, 25(2): 226—232
- 徐镜波, 2000. 环境毒理学. 长春: 东北师范大学出版社, 138—139
- 高咏卉, 俞志明, 宋秀贤等, 2007. 改性粘土絮凝法对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 稚贝的影响. 海洋通报, 26(3): 53—60
- 曹西华, 宋秀贤, 俞志明, 2004. 改性粘土去除赤潮生物及其对养殖生物的影响. 环境科学, 25(5): 148—152
- 曾艳艺, 赖子尼, 杨婉玲等, 2014. 铜和镉对珠江天然仔鱼和幼鱼的毒性效应及其潜在生态风险. 生态毒理学学报, 9(1): 49—55
- Anderson D M, 1997. Turning back the harmful red tide. *Nature*, 388(6642): 513—514
- Anderson D M, Cembella A D, Hallegraeff G M, 2012. Progress in understanding harmful algal blooms: Paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. *Annual Review of Marine Science*, 4: 143—176
- Archambault M C, Bricelj V M, Grant J *et al*, 2004. Effects of suspended and sedimented clays on juvenile hard clams, *Mercenaria mercenaria*, within the context of harmful algal bloom mitigation. *Marine Biology*, 144(3): 553—565
- Bamber R N, 1990. The effects of acidic seawater on three species of lamellibranch mollusc. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 143(3): 181—191
- Bricelj V M, Malouf R E, De Quillfeldt C, 1984. Growth of juvenile *Mercenaria mercenaria* and the effect of resuspended bottom sediments. *Marine Biology*, 84(2): 167—173
- Coughlan J, 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Marine Biology*, 2(4): 356—358
- Hedtko J L, Robinson-Wilson E, Weber L J, 1982. Influence of body size and developmental stage of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) on lethality of several toxicants. *Fundamental and Applied Toxicology*, 2(2): 67—72
- Lee Y C, Jin E S, Jung S W *et al*, 2013. Utilizing the algicidal activity of aminoclay as a practical treatment for toxic red tides. *Scientific Reports*, 3: 1292
- Leverone J R, 1995. Growth and survival of caged adult bay scallops (*Argopecten irradians concentricus*) in Tampa Bay with respect to levels of turbidity, suspended solids and chlorophyll A. *Florida Science*, 58: 216—227
- Lewis M A, Darrin D D, Walker C C *et al*, 2003. Toxicity of clay flocculation of the toxic dinoflagellate, *Karenia brevis*, to estuarine invertebrates and fish. *Harmful Algae*, 2(4): 235—246
- Maruyama T Y, Yamada R, Usui K *et al*, 1987. Removal of marine red tide planktons with acid treated clay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53(10): 1811—1819
- Maurer D, Keck R T, Tinsman J C *et al*, 1981. Vertical migration and mortality of benthos in dredged material-part I: Mollusca. *Marine Environmental Research*, 4(4): 299—319
- Na G H, Choi W J, Chu Y Y, 1996. A study on red tide control with Loess suspension. *Korean Journal of Aquaculture*, 9: 239—245
- Rosa M, Ward J E, Shumway S E *et al*, 2013. Effects of particle surface properties on feeding selectivity in the eastern oyster *Crassostrea virginica* and the blue mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 446: 320—327
- Sengco M R, Li A S, Tugend K *et al*, 2001. Removal of red- and brown-tide cells using clay flocculation. I. Laboratory culture experiments with *Gymnodinium breve* and *Aureococcus anophagefferens*. *Marine Ecology Progress Series*, 210: 41—53
- Sengco M R, Anderson D M, 2004. Controlling harmful algal blooms through clay flocculation. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2): 169—172
- Shumway S E, Frank D M, Ewart L M *et al*, 2003. Effect of yellow loess on clearance rate in seven species of benthic, filter-feeding invertebrates. *Aquaculture Research*, 34(15): 1391—1402
- Stevens A M, Gobler C J, 2018. Interactive effects of acidification, hypoxia, and thermal stress on growth, respiration, and survival of four North Atlantic bivalves. *Marine Ecology Progress Series*, 604: 143—161
- Waldbusser G G, Bergschneider H, Green M A, 2010. Size-dependent pH effect on calcification in post-larval hard clam *Mercenaria* spp. *Marine Ecology Progress Series*, 417: 171—182
- Yu Z M, Song X X, Cao X H *et al*, 2017. Mitigation of harmful algal blooms using modified clays: Theory, mechanisms, and applications. *Harmful Algae*, 69: 48—64
- Yu Z M, Zou J Z, Ma X N, 1994. Application of clays to removal of red tide organisms. Coagulation of different species of red tide organisms with montmorillonite and effect of clay pretreatment. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 12(4): 316—324

EFFECTS OF MODIFIED CLAY ON *MERCENARIA MERCENARIA*

WANG Zi-Tong^{1,2}, SONG Xiu-Xian^{2,3,4,5}, ZHANG Yue^{2,3,5}, YU Zhi-Ming^{2,3,4,5}, TANG Xue-Xi¹

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266071, China; 2. CAS Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 3. Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 5. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract The poly aluminum chloride and aluminium sulfate modified clays (termed MC₁ and MC₂, respectively) were used to estimate the acute and subacute toxicity on two-sized *Mercenaria mercenaria*. The results of 96 h acute toxicity show that the half lethal concentration (LC₅₀) of MC₁ and MC₂ for the small-sized hard clam [shell length (1.98±0.05)mm, shell height (1.75±0.04)mm] were 4.91 and 1.85g/L, respectively. And for the large-sized hard clam [shell length (5.70±0.15)mm, shell height (5.09±0.13)mm], the LC₅₀ of MC₁ and MC₂ were 5.77 and 3.40g/L, respectively. The results of subacute toxicity test show that MC₁ and MC₂ had no effects on the survival of hard clams at concentrations below 1.0g/L. The clearance rates of the hard clams decreased with the increasing of the modified clay. Both MC₁ and MC₂ caused negligible effects on the clearance rates at 0.1g/L. However, the clearance rates of small- and large-sized hard clams decreased significantly under MC₁ concentration of 0.5g/L, whereas MC₂ only affected the clearance rates of small-sized hard clams at 0.5g/L ($P<0.05$). When the MC concentration increased to 1.0g/L, the clearance rates of both small- and large-sized hard clams decreased significantly ($P<0.05$). The results of growth rates show that 0.1 and 0.5g/L of MC₁ and MC₂ had no effects on hard clams, only 1.0g/L of MC₁ and MC₂ affected small-sized hard clams. In fact, the amount of modified clay that is effective to mitigate the harmful algal blooms in fields is usually 4—10t/km², which is much lower than the safety concentrations in this study. Furthermore, the sizes of hard clams in coastal farming of China is about 1cm, which is much larger than the sizes of hard clams used in this study. Therefore, it can be concluded that the modified clay used in field will not cause adverse effects on the survival or growth of *M. mercenaria*. This study may provide a scientific basis for the application of modified clay.

Key words modified clay; *Mercenaria mercenaria*; acute toxicity; subacute toxicity