

# 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)池塘 生物膜低碳养殖技术研究\*

江兴龙<sup>1,2</sup> 邓来富<sup>1,2</sup>

(1. 集美大学水产学院 厦门 361021; 2. 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心 厦门 361021)

**提要** 采用水体中设置生物膜净水栅对比实验的方法,在 6 口土池开展生物膜原位修复技术对土池半咸水养殖凡纳滨对虾的节能减排、养殖效益及机理的研究。结果表明,在 135d 的养殖期间,处理组水质的 pH、TAN、NO<sub>2</sub>-N、无机氮和无机磷浓度分别显著低于对照组 7.5%、78.8%、76.2%、53.2%和 66.1% ( $P < 0.05$ ), DO 浓度极显著高于对照组 13.5% ( $P < 0.01$ ); 弧菌数极显著低于对照组 66% ( $P < 0.01$ ), 细菌总数、硅藻相对密度、藻类生物多样性指数分别极显著高于对照组 206%、173%、25.6% ( $P < 0.01$ ), 藻类密度、蓝藻相对密度分别显著低于对照组 64.7%、70% ( $P < 0.05$ ); 生物膜上的细菌总数高达  $5.8 \times 10^9$  CFU/g, 而弧菌数为零; 虾养殖成活率、虾起捕规格、虾产量分别极显著高于对照组 62.5%、53.9%、150% ( $P < 0.01$ ), 饲料系数极显著低于对照组 26.8% ( $P < 0.01$ ), 处理组每公顷池塘养虾增加利润约 22.1 万元。池塘生物膜低碳养殖技术具有成本低、节能减排、增产增收、操作简便与易推广等优点,具有广阔的应用前景。

**关键词** 凡纳滨对虾; 池塘低碳养殖; 生物膜; 生物修复; 水质改良

**中图分类号** S949

对虾养殖始于 20 世纪 80 年代初,兴于 90 年代,我国于 21 世纪初规模引进凡纳滨对虾(俗称南美白对虾)(*Litopenaeus vannamei*),养殖面积与产量均突飞猛进(蔡强等, 2012)。但是,在对虾高密度养殖过程中的渔药用品、残饵、生物代谢物等引起了水质恶化、有机物沉积等严重的环境问题(李烁寒等, 2009)。对虾养殖池塘的水质恶化,进而诱发大规模的暴发性虾病(王生, 2012)。对虾病害方面的问题严重制约了对虾养殖业的发展,由弧菌属(*Vibrio*)细菌引起的“弧菌病(Vibriosis)”是在世界各地对虾养殖中普遍流行且危害最大的细菌性疾病,给对虾养殖业带来了巨大的经济损失并已成为制约其养殖发展的重大障碍(陈丽等, 2012)。传统池塘水产养殖不仅使自身水体受到污染,导致池塘水质恶化、各种病害频发,还导致周围水域的生态系统恶化,养殖中广泛使用抗生素,还导致了耐药性病原菌的出现(Dagá *et al*, 2013;

Estefanía *et al*, 2013)。微生物修复技术低碳环保,不但能有效消除污染物、净化水质,而且能够抑制水中有害微生物的繁殖,改善养殖生态环境(马倩倩等, 2013)。由本文作者创建的精养水体生物膜原位修复低碳养殖技术,突破了传统池塘养殖渔业设施技术,应用生物修复技术与生态学原理,通过生物膜净水栅在池塘养殖中的应用,大量形成生物膜,对水中污染物进行转移、转化及降解,大幅度降低污染物对养殖生物和水环境产生的影响,大幅降低池塘养殖自身污染及对邻近水域的面源污染,实现饲料蛋白的二次利用,具有显著的节水、减排、节能、低碳、增产与增收的效果(江兴龙等, 2010; 江兴龙, 2012)。本研究通过开展土池凡纳滨对虾生物膜原位修复低碳养殖技术的应用,探讨该技术对养殖对虾池塘水质的改良效果、生物膜及其微生物群落结构的动态变化及对养殖效果的影响,为该技术在对虾池塘养殖

\* 国家公益性行业(农业)科研专项项目, 201203083 号; 海洋公益性行业科研专项项目, 201205009 号; 国家海洋局海洋经济创新发展区域示范专项, 2012FJ03 号; 福建省科技创新平台项目, 2009N2003 号。江兴龙, 博士, 教授, E-mail: xinlongjiang@jmu.edu.cn

收稿日期: 2012-05-25, 收修改稿日期: 2012-08-16

生产中的推广应用提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

水产养殖专用生物膜净水栅(专利号 ZL20112003 2516.6)由作者本人发明,基体材料为聚酰胺弹性填料,每组生物膜净水栅的长度约 20m,高度约 0.7m。土池养殖凡纳滨对虾,试验起始时凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)苗属仔虾 P11,规格约 1cm,每公顷投苗量按 165 万尾。每口池塘面积约 0.33ha,每口池塘均配有增氧机。

### 1.2 方法

**1.2.1 试验时间、地点及池塘条件** 试验养殖时间自 2012 年 11 月 12 日池塘凡纳滨对虾投苗及生物膜净水栅设置完成起,至 2013 年 3 月 26 日凡纳滨对虾起捕收获,试验养殖周期计 135 天。在福建省龙海市紫泥养虾场内,选择池塘条件相近的凡纳滨对虾养殖池塘 6 口,每口池塘面积约 3000—3600m<sup>2</sup>,每口池塘均盖有塑料保温棚且均配备四台 1.2kW 的增氧机,池塘水源为地下井水(半咸水)及溪水。

**1.2.2 实验分组和生物膜净水栅设置** 6 口池塘随机分成 2 组,设为对照组与处理组,其中 3 口不设置生物膜净水栅为对照组,3 口设置生物膜净水栅为处理组。生物膜净水栅设置:每公顷池塘水面安装 45 组生物膜净水栅,每组间距约 2m,将生物膜净水栅垂直悬挂于池塘水面下约 30cm 处,其两端分别用木桩固定系紧。

**1.2.3 养殖管理** 养殖投饲管理参照凡纳滨对虾土池精养殖日常管理进行,使用凡纳滨对虾配合粉料,饲料的粗蛋白(质量分数) 35.0,每天投饲 2 次;试验期间仅添补因蒸发与池塘渗漏损失的水,池塘基本不换水。严格记录每口池塘投苗量、规格、药物使用、投饲料量等。养殖期间用虾笼(俗称地笼)诱捕对虾及生产结束起捕时,均进行抽样和称重,严格记录每口池塘的凡纳滨对虾产量、抽样出池规格等。生产结束时统计每口池塘的对虾平均体重、产量、成活率和饲料系数。

**1.2.4 样品采集与检测** 在生物膜净水栅下池塘安装前,用有机玻璃采水器采集各池塘表层水(水面下约 50cm 处)水样一次(本底水样)。生物膜净水栅设置完成后,于第 15 天及此后每 30 天开展处理组池塘生物膜的采样检测及各池塘水样的采样检测。生物膜采样采用无菌剪子和镊子随机采集水面下 50cm 处的

生物膜净水栅基体填料约 20g,放入无菌培养皿中,10g 用于测定填料上生物膜的形成情况,用游标卡尺测量生物膜的平均形成厚度;10g 用于检测生物膜的细菌总数、弧菌、异养菌总数,带回实验室后,将填料生物膜上的附着水珠用滤纸吸去,首次称重后再移入装有 100mL 灭菌水的试剂瓶中,瓶口盖紧后超声 30min,再全部取出填料用滤纸吸水后再称重,计算两次重量之差可获得生物膜重量,然后再把该试剂瓶内获得的生物膜水样,搅拌均匀,可开展生物膜的细菌总数、弧菌、异养菌总数及藻类等的抽样检测。水样采取现场测定各池塘水的溶氧(DO)、pH 和水温,于上午 9 点用溶氧仪和 pH 计测定,并采集各池塘表层水水样,用于检测氨氮(TAN)、亚硝酸盐氮(NO<sub>2</sub>-N)、硝酸盐氮(NO<sub>3</sub>-N)、化学需氧量(COD<sub>Mn</sub>)、无机磷(DIP)、细菌总数、弧菌、藻类等水质指标。藻类水样用卢戈氏液进行现场固定(终浓度为 2%)。

**1.2.5 微生物与水质因子检测方法** 细菌总数用平板计数法、异养菌数用平板计数法、弧菌数量用平板计数法、浮游植物用镜检细胞计数法(国标 GB17378.7)(中华人民共和国国家标准,2007b);水质溶解氧的测定用膜电极法、pH 的测定用玻璃电极法、氨氮的测定用靛酚蓝分光光度法、硝酸盐氮测定用锌镉还原法、亚硝酸盐氮测定用萘乙二胺分光光度法、COD<sub>Mn</sub>测定用高锰酸钾法、无机磷测定用磷钼蓝分光光度法(国标 GB17378.4)(中华人民共和国国家标准,2007a)。

### 1.2.6 数据处理和分析

多样性分析采用 Shannon-wiener 多样性指数  $H'$

$$\text{公式: } H' = -\sum_{i=1}^S P_i \log_2 P_i$$

均匀度指数  $J$  公式:  $J = H'/\log_2 S$

式中,  $P_i = n_i/N$ ,  $n_i$  为物种  $i$  的个体数,  $N$  为群落样本个体总数,  $P_i$  为第  $i$  种个体数占总个体数的比,  $S$  为样品中的种类数(国标 GB17378.7)(中华人民共和国国家标准,2007b)。

应用 SAS 9.1 统计分析软件(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA),对对照组与处理组的试验数据进行显著水平  $\alpha=0.05$  的  $t$ -test 检验,以  $P<0.05$  为显著差异,  $P<0.01$  为极显著差异。

## 2 结果

### 2.1 水质

由表 1 可知,在试验起始时,池塘本底的水质因子浓度在处理组与对照组之间均无显著差异( $P>$

表 1 对照组与处理组池塘水质因子本底浓度

Tab.1 The background concentrations of water quality parameters in the control and treatment ponds

水质指标	对照组	处理组
水温(°C)	27.2 ± 0.21	27.5 ± 0.32
盐度	7.2 ± 0.4	7.1 ± 0.3
pH	8.33 ± 0.15	8.33 ± 0.13
溶解氧(mg/L)	6.76 ± 0.21	6.54 ± 0.27
总氮(mg/L)	0.015 ± 0.01	0.014 ± 0.004
亚硝酸盐氮(mg/L)	0.029 ± 0.01	0.020 ± 0.01
硝酸盐氮(mg/L)	0.022 ± 0.01	0.033 ± 0.02
无机磷(mg/L)	0.319 ± 0.08	0.300 ± 0.07
化学需氧量(mg/L)	5.65 ± 0.23	5.84 ± 0.25
总细菌数(10 <sup>6</sup> CFU/mL)	1.23 ± 0.45	1.01 ± 0.68
异养菌数(10 <sup>6</sup> CFU/mL)	0.36 ± 0.4	0.25 ± 0.4
弧菌数(10 <sup>3</sup> CFU/mL)	7.5 ± 7.6	8.0 ± 7.8
藻类密度(10 <sup>3</sup> cells/mL)	2.89 ± 2.6	2.32 ± 2.0
蓝藻相对密度(%)	34.7 ± 26	36.2 ± 30
硅藻相对密度(%)	20.9 ± 12	19.1 ± 12
藻类生物多样性指数	2.08 ± 0.4	2.01 ± 0.4
藻类生物均匀度指数	0.63 ± 0.32	0.50 ± 0.29

对照组与处理组之间均无显著差异( $P>0.05$ )

0.05)。表明试验起始时处理组池塘的水质与对照组池塘基本一样。

**2.1.1 水质理化因子浓度** 由表 2 可知, 试验期间, 水温、盐度及硝酸盐氮在对照组与处理组之间均无显著差异( $P>0.05$ ), 处理组平均的 pH、TAN、NO<sub>2</sub>-N、DIN(无机氮)和 DIP(无机磷)浓度分别显著低于对照组 7.5%、78.8%、76.2%、53.2%和 66.1% ( $P<0.05$ ), 处理组平均的 DO 浓度比对照组高 13.5%, 具有极显著差异( $P<0.01$ )。处理组池塘无机氮与无机磷的比值约 4.0, 比对照组(约 2.9)提高了约 38%。处理组池塘水质的 pH 和 TAN 浓度均符合国家渔业水质标准(GB11607-89)(国家环境保护总局, 1989), 对照组池塘水质的 pH 和 TAN 浓度均超标。表明, 试验期间处理组池塘由于设置了生物膜净水栅, 水质得到了显著改良, 显著优于对照组池塘水质。

**2.1.2 水质生物因子动态与生物多样性** 由表 2 及图 1、图 2、图 3 可知, 试验期间, 处理组平均的藻类密度、蓝藻相对密度分别显著低于对照组 64.7%、70% ( $P<0.05$ ), 处理组平均的藻类生物均匀度指数显著高于对照组 20.6% ( $P<0.05$ ), 处理组平均的细菌总数、异养菌数、硅藻相对密度、藻类生物多样性指数分别极显著高于对照组 206%、237%、173%、25.6%

表 2 试验期间对照组与处理组水质因子浓度

Tab.2 The concentrations of water quality parameters among the control and treatment during the trial

水质指标	对照组	处理组	增减幅度(%)
水温(°C)	25.9 ± 2.2	25.7 ± 2.2	—
盐度	2.1 ± 0.5	2.3 ± 0.4	—
pH	9.01 ± 0.18	8.33 ± 0.07	-7.5
溶解氧(mg/L)	8.21 ± 1.3	9.32 ± 1.3	13.5
总氮(mg/L)	0.132 ± 0.09	0.028 ± 0.03	-78.8
亚硝酸盐氮(mg/L)	0.382 ± 0.08	0.091 ± 0.03	-76.2
硝酸盐氮(mg/L)	0.516 ± 0.72	0.363 ± 0.38	—
无机氮(mg/L)	1.03 ± 0.72	0.482 ± 0.36	-53.2
无机磷(mg/L)	0.357 ± 0.29	0.121 ± 0.07	-66.1
化学需氧量(mg/L)	5.78 ± 0.71	5.15 ± 0.56	-10.9
细菌总数(10 <sup>6</sup> CFU/ml)	2.52 ± 1.31	7.70 ± 5.0	206
异养菌数(10 <sup>6</sup> CFU/ml)	0.59 ± 0.29	1.99 ± 1.1	237
弧菌数(10 <sup>3</sup> CFU/ml)	13.9 ± 9.9	4.72 ± 5.9	-66.0
藻类密度(10 <sup>3</sup> cells/ml)	27.9 ± 26	9.86 ± 14	-64.7
蓝藻相对密度(%)	62.9 ± 9.1	18.9 ± 7.9	-70.0
硅藻相对密度(%)	18.8 ± 8.2	51.4 ± 18.1	173
藻类生物多样性指数	2.34 ± 0.53	2.94 ± 0.64	25.6
藻类生物均匀度指数	0.63 ± 0.15	0.76 ± 0.22	20.6

pH、TAN 浓度、NO<sub>2</sub>-N 浓度、DIN 浓度、DIP 浓度、COD 浓度、藻类丰度、蓝藻相对密度、藻类生物均匀度指数, 在对照组与处理组之间均有显著差异( $P<0.05$ ); DO 浓度、细菌总数、异养菌数、弧菌数、硅藻相对密度、藻类生物多样性指数, 在对照组与处理组之间具有极显著差异( $P<0.01$ ); 水温、盐度和 NO<sub>3</sub>-N 浓度在对照组与处理组之间均无显著差异( $P>0.05$ )

( $P<0.01$ ), 处理组平均的弧菌数极显著低于对照组 66% ( $P<0.01$ ), 处理组平均的异养菌数占细菌总数的比例为 25.8%。

处理组中共检出浮游植物 5 门 33 种, 其中硅藻门 6 种, 绿藻门 10 种, 蓝藻门 15 种, 隐藻门 1 种, 裸藻门 1 种。在对照组中共检出浮游植物 6 门 30 种, 硅藻门 4 种, 绿藻门 8 种, 蓝藻门 15 种, 隐藻门 1 种, 裸藻门 1 种, 甲藻门 1 种。处理组中主要的优势藻属依丰度递减排序有硅藻门小环藻 *Cyclotella* sp., 绿藻门栅藻 *Scenedesmus* sp., 硅藻门菱形藻 *Nitzschia longissima*, 蓝藻门平裂藻 *Merismopedia* sp., 硅藻门曲舟藻 *Pleurosigma* sp., 蓝藻门螺旋藻 *Spirulina platensis*; 对照组中主要的优势藻属依丰度递减排序有蓝藻门平裂藻 *Merismopedia* sp., 蓝藻门鞘丝藻 *Lyngbya agardh*, 硅藻门小环藻 *Cyclotella* sp., 绿藻门栅藻 *Scenedesmus* sp., 硅藻门菱形藻 *Nitzschia longissima*, 蓝藻门颤藻 *Oscillatoriales* sp.

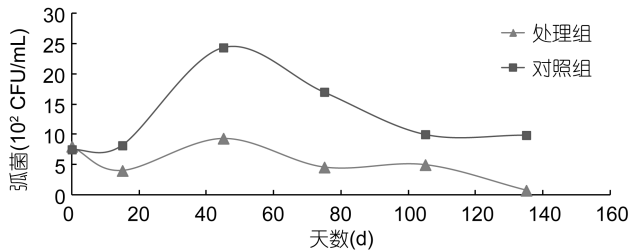


图1 试验期间对照组和处理组之间的弧菌数

Fig.1 The quantity of Vibrio among the control and treatment during the trial

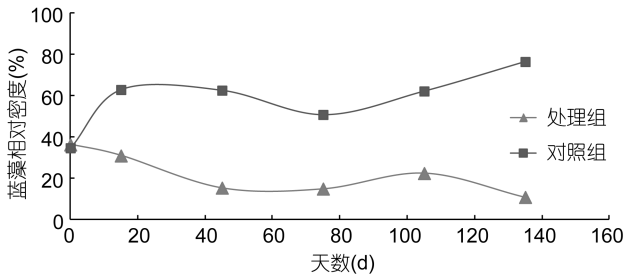


图2 试验期间对照组和处理组之间的蓝藻相对密度

Fig.2 The blue algae relative density among the control and treatment during the trial

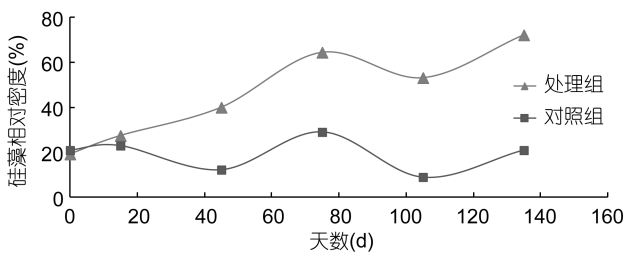


图3 试验期间对照组和处理组之间的硅藻相对密度

Fig.3 The silicon algae relative density among the control and treatment during the trial

## 2.2 生物膜的生物学指标动态变化

**2.2.1 生物膜厚度、细菌、藻类与原生动物数量的动态变化** 生物膜厚度随着养殖时间的增加, 整体趋于增加到一定的厚度, 但受到养殖对虾对生物膜上所形成生物絮团的摄食压力影响, 同时也受水质理化及生物因子等的影响, 而有较大波动, 变化幅度约 66%, 平均厚度约 0.53mm。根据生物膜的平均形成厚度及生物膜净水栅基体填料的比表面积等, 可测算出平均每公顷池塘所形成的生物膜面积约 6—11 万 m<sup>2</sup>。生物膜上聚集生长着数量巨大的细菌及异养菌, 虽然在养殖期间也有类似的较大波动, 但平均数量分别约达  $5.8 \times 10^9$  及  $3.3 \times 10^9$  CFU/g; 弧菌始终在生物膜上未检测发现, 数量为零; 藻类数量及原生动物数量均有很大波动变化, 变化幅度分别高达约 201%和 178%。藻类生物多样性指数较高, 均值达 2.6,

且波动幅度小; 原生动物的生物多样性指数较低, 且波动幅度高于藻类生物多样性指数(表 3)。从图 4 可知, 生物膜上的细菌总数及异养菌数量在生物膜形成及成熟期间(15 天前), 增速较缓慢, 然后呈指数扩增, 在 45 天时数量均达到峰值, 后开始下降, 但细菌总数在养殖后期仍有一定增加并达到一个较高的峰值, 而异养菌数量则降至一定数量后呈小幅波动, 总体异养菌数量在细菌总数中的占比趋于下降, 从约 87% 降至基本约为 41%。而总体生物膜藻类与原生动物数量在生物膜形成及成熟期间(15 天前), 增速较缓慢, 然后种群迅速扩增, 在 45 天时数量均达到峰值, 后开始下降, 降至一定数量后呈小幅波动。

表 3 试验期间生物膜的生物学指标数据

Tab.3 The biofilm biological parameters data during the trial

生物学指标	数据	波动幅度(%)
生物膜厚度(mm)	$0.53 \pm 0.35$	66
细菌总数( $10^8$ CFU/g)	$58.1 \pm 35$	60
异养菌总数( $10^8$ CFU/g)	$33.3 \pm 25$	75
弧菌(CFU/g)	0	—
藻类数量( $10^6$ cells/g)	$59.2 \pm 119$	201
原生动物数量( $10^6$ 个/g)	$2.3 \pm 4.1$	178
藻类生物多样性指数	$2.60 \pm 0.41$	16
原生动物生物多样性指数	$0.80 \pm 0.36$	45

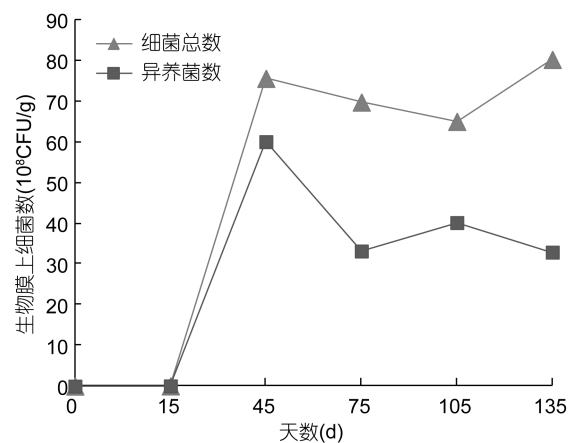


图4 试验期间生物膜上细菌总数及异养菌数

Fig.4 The total bacteria and heterotrophic bacteria quantities in biofilm during the trial

**2.2.2 生物膜上藻类与原生动物的种群结构** 生物膜上藻类共检出浮游微藻 5 门 25 属 35 种, 其中硅藻门 9 属 13 种, 占 37.1%; 蓝藻门 8 属 10 种, 占 28.6%; 绿藻门 5 属 8 种, 占 22.8%; 裸藻门 2 属 3 种, 占 8.6%; 隐藻门 1 属 1 种, 占 2.9%。藻类优势种主要有硅藻门的长菱形藻 *Nitzschia longissima* 和近缘桥

弯藻 *Cymbella cymbiformis*, 蓝藻门的平裂藻 *Merismopedia* sp.和针状蓝纤维藻 *Dactylococcopsis acicularis*; 生物膜上原生动物共检出 2 门 3 属 3 种, 其中原生动物门 2 属 2 种, 占 66.7%; 袋形动物门 1 属 1 种, 占 33.3%。优势种为聚缩虫 *Zoothamnium* sp. 和钟虫 *Vorticellidae* sp., 属于耐污性种类。

### 2.3 养殖结果与效益分析

由表 4 可知, 冬季保温棚养殖一造虾起捕收获时, 处理组每公顷池塘虾产量约 10335kg, 处理组的虾养殖成活率、虾起捕规格、虾产量分别比对照组高 62.5%、53.9%、150%, 均具有极显著差异( $P<0.01$ ), 处理组的饲料系数比对照组低 26.8%, 具有极显著差异( $P<0.01$ )。扣除饲料费用及生物膜净水栅一造虾养殖折旧费用, 处理组与对照组相比, 一造虾平均每公顷池塘养殖可增加收入约 22.1 万元(表 5)。按池塘一年平均养殖 3 造虾, 每公顷池塘养殖凡纳滨对虾年可增加收入约 66.3 万元。

## 3 分析与讨论

### 3.1 水质改良效果与机理

凡纳滨对虾是我国沿海地区重要的水产养殖品种, 但是水体水质管理一直是养殖过程中的难点, 对虾高密度养殖过程中的渔药用品、残饵、生物代谢物等引起了水质恶化、有机物沉积等严重的环境问题, 主要表现为高氨氮、高悬浮物、低溶解氧, 以及环境污染。水体中的氨氮, 特别是非离子氨对水产动物具有毒害作用, 当水体中其质量浓度达到一定量时即可对养殖动物的生长发育产生不利影响, 甚至死亡(李烁寒等, 2009; 安阳等, 2012)。养殖环境中的细菌具有极大的物种多样性和代谢途径多样性, 细菌的生长需要吸收氮、磷元素。细菌是养殖环境中高效的

有机物分解者, 使水体中的 COD 和 BOD 得到降低(肖国华, 2006)。本研究中, 处理组池塘水体的细菌总数和异养菌数分别极显著高于对照组 206%及 237%, 另一方面, 处理组平均每公顷池塘所形成的生物膜面积约 6—11 万  $m^2$ , 生物膜上聚集生长着数量巨大的细菌及异养菌, 平均数量密度分别达  $5.8 \times 10^9$  及  $3.3 \times 10^9$  CFU/g。由于生物膜净水栅的基体填料可吸附池塘水中有机碎屑、悬浮有机物质、颗粒有机物等, 与其生物膜上的细菌、藻类及原生动物等可以共同形成生物絮团(江兴龙, 2012)。养殖系统中的有毒氮化物可被异养细菌同化去除, 水体中的氨氮可以通过生物絮凝的方式直接转化成异养细菌的生物量被驱除, 异养细菌的生长代谢速率约 10 倍快于硝化细菌类的自养细菌, 通过生物絮凝实现的异养氮转化明显快于硝化作用实现的氮转化(罗国芝等, 2010)。因此, 处理组的 TAN、 $NO_2$ -N、DIP、COD 浓度等均显著低于对照组; 由于处理组 COD 浓度降低, 使处理组 DO 浓度显著高于对照组。藻类的光合作用使 pH 升高, 而呼吸作用则使 pH 下降, 藻类光合作用消耗二氧化碳的速率大于其呼吸作用产生二氧化碳的速率(Nurdoğan *et al.*, 1995), 因此在光照正常情况下, 藻类密度低的池塘 pH 将下降。此外, 池塘水体硝化作用的进行及有机物的降解均使 pH 下降。由于处理组平均的藻类密度显著低于对照组 64.7%, 它们综合作用的结果使处理组池塘水体的 pH 显著低于对照组。养殖期间, 处理组池塘水质的 pH 和 TAN 浓度均符合国家渔业水质标准(GB11607-89), 而对照池塘水质的 pH 和 TAN 浓度均超标。从广大养殖者的实践经验看, 对虾养殖池塘水质的 pH 和 TAN 浓度如果超标偏高, 将导致对虾养殖病害发生率提高、养殖成活率下降、产量下降。因此在养殖期间, 有效调控对虾养殖池塘

表 4 养殖结果  
Tab.4 The production results

组别	虾养殖成活率(%)	虾起捕规格(g/尾)	虾产量(kg/ha)	饲料系数
对照组	29.3 ± 3.4	8.55 ± 0.66	4140 ± 165	1.38 ± 0.12
处理组	47.6 ± 1.9	13.16 ± 0.43	10335 ± 270	1.01 ± 0.00
增减幅度	62.5%	53.9%	150.0%	- 26.8%

对照组与处理组之间均有极显著差异( $P<0.01$ )

表 5 处理组养殖增产效益分析  
Tab.5 The profit analysis of yield increased in the treatment compared with the control

项目	净增产量(kg/ha)	售价(元/kg)	增加产值(万元/ha)	饲料价格(元/吨)	饲料费用(万元/ha)	节省药物费用(万元/ha)	生物膜净水栅单造折旧费用(万元/ha)	净增加利润(万元/ha)
虾	6195	42	26	7000	4.38	0.8	0.3	22.1

水质的 pH 和 TAN 浓度至关重要。

### 3.2 生物絮凝与提高饲料转化率

一般情况下, 养殖鱼类仅能消化吸收投喂的饵料中的 20%—25% 的蛋白质, 剩余的以氨氮、残饵和粪便的形式存在于养殖水环境。生物絮凝技术基于城市污水的活性污泥方法, 是微生物的无机氮同化过程, 将氨氮等转化成细菌物质。异养细菌群落稳定, 不会引起水体中 pH 的变化, 不受光照控制。将养殖环境中的浮游植物群落自养净化转变成异养的细菌群落净化, 是水产养殖生物絮凝的关键(罗国芝等, 2010)。应用池塘生物膜低碳养殖技术, 池塘水中有机碎屑、悬浮有机物质、颗粒有机物等与生物膜上的细菌、藻类及原生动物等可以共同形成生物絮团(江兴龙, 2012)。Burford 等(2003)研究了虾类摄食生物絮团的情况, 结果发现虾类日常摄食的 18%—29% 的 N 来源于生物絮团。本试验结果, 处理组池塘水体的细菌总数和异养菌数分别极显著高于对照组 206% 及 237%, 生物膜上聚集生长着数量巨大的细菌及异养菌, 处理组的藻类密度显著低于对照组 64.7%, 处理组的饲料系数比对照组极显著降低了 26.8%。这些都表明, 处理组的池塘已经从对照组池塘以浮游植物群落自养净化水质为主转变成以细菌及异养细菌群落净化水质为主, 且通过主要在生物膜上大量进行生物絮凝作用, 利用水体中的残饵和粪便因水流扰动等而散发形成的有机碎屑、悬浮有机物质、颗粒有机物等, 主要在生物膜上不断形成可以被对虾摄食的生物絮团, 从而实现饲料蛋白的二次利用, 大幅度提高了饲料的转化率, 降低了对虾养殖的饲料需求量。

### 3.3 细菌-藻类微生态调控与生态防病

本试验处理组池塘水体的细菌总数、异养菌数分别极显著高于对照组 206%、237%, 藻类密度显著低于对照组 64.7%, 处理组池塘水体的弧菌数极显著低于对照组 66%, 生物膜上弧菌数为零, 生物膜上聚集生长着数量巨大的细菌及异养菌。表明, 处理组池塘较对照组池塘其细菌及异养菌种群数量在微生物群落结构中所占的比例得到了显著提高, 作为池塘生态系统分解者的功能得到了显著增强, 有利于促进生物絮凝, 有利于促进系统的物质和能量的循环利用, 减少污染物在水体中积累, 净化水质, 减少病原菌如弧菌等的种群数量及其致病力, 减少病害发生。由弧菌属(*Vibrio*)细菌引起的“弧菌病”是在世界各地对虾养殖中普遍流行且危害最大的细菌性

疾病, 常表现为发病急剧、流行广泛、发病和致死率高等特点。由于病原弧菌的种类较多, 在生产实践中难以做到具有针对性地有效防控(陈丽等, 2012)。处理组弧菌数极显著低于对照组 66%, 生物膜上弧菌数为零, 对于降低对虾养殖期间病害的发生率, 提高养殖成活率具有重要作用。生物膜上没有弧菌的生长, 认为可能是生物膜上的微生态环境不适宜弧菌的生存与种群生长而导致。本研究应用生物膜低碳养殖技术, 较好地控制了弧菌种群数量, 防控了弧菌病的发生, 为开展生态防控弧菌病新开辟了一个途径。徐乐中等(2008)在对水源水的处理研究中, 采用原位生物膜技术有效地控制了处理出水中藻类含量, 其控制机理主要是生物絮凝、微生物细菌等对藻类的分解, 而填料上微生物的大量繁殖, 分解的化感物质又可以抑制藻类的大量生长, 并进一步抑制水华的发生。处理组中藻类密度显著低于对照组, 可能是细菌和藻类在竞争同化水体营养盐和生态位中, 细菌竞争力较强而导致藻类密度下降。而是否存在因生物膜上微生物大量繁殖而分解化感物质以抑制藻类生长, 有待于进一步深入研究。由于蓝藻会引起养殖鱼虾的不良味道(Lovell *et al.*, 1985), 且其中的一些种类还会分泌毒素(Zimba *et al.*, 2001), 影响水产品的食用安全、养殖产量及效益。随着国内外市场对水产品品质与安全性的日益提高, 对养殖期间蓝藻水华的控制及优良藻相的培养, 已成研究的热点。有研究认为绿藻类和硅藻类具有吸收有害物质, 保持水质的“活、爽”功能(彭聪聪等, 2011), 硅藻和绿藻是理想的藻类, 因为它们的营养价值更高, 有利于虾的生长及产量的增加(Shigueno, 1985), 而蓝藻、甲藻、裸藻常会引起养虾的水质问题(Boyd *et al.*, 1993)。以裸藻为主的褐色水系藻类单一, 容易因气候变化而变动, 从而引起对虾产生应激反应(申玉春等, 2004)。对虾养殖生产中通常以绿藻、硅藻为优势种的池塘为好, 其水质稳定, 病害少, 对虾生长亦较好; 以蓝藻为优势的水体中, 对虾生长缓慢而且容易引发病害(周国勤等, 2006)。在大多数的养虾场池塘中, 蓝藻占优势, 接下来依次为硅藻、绿藻、裸藻、甲藻(Rungsupa *et al.*, 1999)。提高池塘水中的氮磷比值, 有利于提高绿藻对蓝藻的比例, 且有可能削弱蓝藻在种间竞争上的优势, 因为蓝藻占优势主要是在营养盐浓度高, 尤其是相对于磷的氮被限制时发生(Hansell *et al.*, 1980)。对虾池塘养殖初期一般以绿藻、硅藻为主, 随着养殖时间增加养殖水体开始出现富营养化, 浮游植物的种

类和生物量也随之增多,到养殖后期水体富营养化严重,优势种基本为裸藻、蓝藻等耐污性强的藻类(查广才等,2004;曹煜成等,2007)。处理组池塘水中的氮磷比值较对照组的提高了约38%,一定程度上可能削弱了蓝藻在种间竞争上的优势,有利于硅藻和绿藻种群的增长。另一方面,由于处理组池塘水质显著优于对照组池塘,也不利于蓝藻等耐污性强藻类种群的增长。试验结果,处理组的蓝藻相对密度显著低于对照组70%,硅藻相对密度显著高于对照组173%。处理组中的第一优势藻属是硅藻门小环藻,第二优势藻属是绿藻门栅藻;对照组中的第一优势藻属是蓝藻门平裂藻,第二优势藻属是蓝藻门鞘丝藻。浮游植物多样性指数( $H'$ )和均匀度( $J$ )可以反映植物群落结构的多样性,也是水环境质量的重要指标,通常以 $H'$ 小于1.0和 $J$ 小于0.3为浮游植物多样性较差的标准进行综合评价。虾池水体富营养化的主要特征是过量的营养盐和有机物引起浮游藻类的群落结构发生变化,多样性指数降低。当指数低于一定的域值时,水质会出现不同程度的变色、发黑等恶化的表征(曹煜成等,2007),过低的多样性指数容易导致对虾不同程度地出现病症和死亡(梁伟峰等,2007)。因此,多样性指数不但能反映出养殖水质的优劣程度,还与对虾发病程度呈负相关。处理组水体藻类生物多样性指数2.94极显著高于对照组25.6%,藻类生物均匀度指数0.76显著高于对照组20.6%,表明,养殖期间处理组池塘水体藻相优于对照池塘,且有利于降低养殖对虾的发病率。

### 3.4 养殖结果的分析

试验结果表明,池塘生物膜低碳养殖技术应用用于土池养殖凡纳滨对虾,显著提高了虾养殖成活率及起捕规格,促进了对虾生长、降低饲料系数、提高产量及经济效益。主要原因是处理组的水质显著优于对照组且基本稳定,处理组池塘水质的pH和TAN浓度均符合国家渔业水质标准,藻相优良,以硅藻和绿藻为主要优势种,较好地控制了弧菌种群数量,防控了弧菌病的发生;另一方面,由于池塘中有机碎屑、悬浮有机物质、颗粒有机物与生物膜上的细菌、藻类及原生动物等大量形成生物絮团被对虾所摄食,实现了饲料蛋白的二次利用,提高了饲料转化率,降低了饲料系数。此外,生物膜净水栅为对虾提供了隐匿的栖息场所,有利于减少对虾应激,减少游动,降低体能消耗,促进虾体增重生长。从生态学原理分析,处理组池塘应用生物膜净水栅,形成大量面积的生

物膜,使微生物数量显著增加,生物多样性增加,有利于竞争抑制有害病菌的异常大量繁殖和生长,使池塘生态系统中的分解者功能得到了显著增强,促进系统的物质和能量的循环利用,减少污染物在水体中积累,改良水质,减少养殖对虾的应激发生,降低发病率,促进良好生长。应用池塘生物膜低碳养殖技术开展凡纳滨对虾养殖,大幅降低了池塘养殖自身污染及对邻近水域的面源污染,实现了饲料蛋白的二次利用,具有显著的低碳、节能减排、生态防病、增产与增收的效果,该技术的应用推广为促进我国水产养殖发展方式的转变,提供了一条简便、实用、科学、可行的途径,也为当前我国正大力推行的水产养殖池塘标准化改造建设,提供了一种可操作应用的工程化技术升级设施与技术。它的应用推广必将大力促进当前我国传统的高耗费资源型水产养殖模式向资源节约环境友好型养殖模式的转变,产生巨大的经济、社会与生态效益。具有广阔的应用前景。

### 参 考 文 献

- 马倩倩,孙敬锋,邢克智,2013. 养殖水环境微生物修复技术应用研究进展. 水产科技情报,40(2): 89—96
- 中华人民共和国国家标准,2007a. 海洋监测规范第4部分: 海水分析,GB17378.4-2007. 北京: 中国标准出版社,1—162
- 中华人民共和国国家标准,2007b. 海洋监测规范第7部分: 近海污染生态调查和生物监测,GB17378.7-2007. 北京: 中国标准出版社,1—94
- 申玉春,熊邦喜,叶富良等,2004. 南美白对虾高位池浮游生物和初级生产力的研究. 水利渔业,24(3): 7—10
- 江兴龙,2012. 日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)土池生物膜原位修复低碳养殖技术的研究. 海洋与湖沼,43(6): 1134—1140
- 江兴龙,关瑞章,2010. 日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)精养水体生物膜原位修复低碳养殖技术的研究. 海洋与湖沼,41(5): 769—775
- 安 阳,曾国权,陈雪初等,2012. 南美白对虾养殖池塘水体原位复合生态净化技术研究. 渔业现代化,39(3): 28—33
- 李烁寒,李卓佳,杨莺莺等,2009. 秋冬季凡纳滨对虾养殖池塘细菌的数量动态. 暨南大学学报,30(3): 344—348
- 肖国华,2006. 微生物在水产养殖环境生物修复中的作用机制. 河北渔业,(10): 1—3
- 陈 丽,白雪松,张晓君等,2012. 日本对虾(*Penaeus japonicus*)病原需钠弧菌(*Vibrio natriegens*)表型与分子特征及LAMP检测方法的建立. 海洋与湖沼,43(6): 1227—1232
- 国家环境保护总局,1989. 国家渔业水质标准 GB11607-89. 北京: 中国标准出版社,1—5
- 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. 中国水产,(2): 62—63
- 周国勤,陈树桥,茆建强等,2006. 益生菌在水产养殖方面的研究进展. 安徽农业科学,34(11): 2421—2425

- 查广才, 周昌清, 黄建荣等, 2004. 凡纳对虾淡化养殖虾池微型浮游生物群落及多样性. 生态学报, 24(8): 1—8
- 徐乐中, 李大鹏, 2008. 原位生物膜技术去除水源藻类研究. 工业用水与废水, 39(3): 31
- 曹煜成, 李卓佳, 杨莺莺等, 2007. 浮游微藻生态调控技术在虾养殖应用中的研究进展. 南方水产, 3(4): 70—73
- 梁伟峰, 李卓佳, 陈素文等, 2007. 对虾养殖池塘微藻群落结构的调查与分析. 南方水产, 3(5): 33—34
- 彭聪聪, 李卓佳, 曹煜成等, 2011. 凡纳滨对虾半集约化养殖池塘浮游微藻优势种变动规律及其对养殖环境的影响. 海洋环境科学, 30(2): 193—198
- 蔡强, 黄天文, 李亚春等, 2012. 对虾清洁健康养殖技术. 中国水产, (8): 70
- Boyd C E, Daniels H V, 1993. Liming and fertilization of brackishwater shrimp ponds. Journal of Applied Aquaculture, 2(3): 221—234
- Burford M A, Thompson P J, McIntosh P R *et al*, 2003. Nutrient and microbial dynamics in high-intensity, zero-exchange shrimp ponds in Belize. Aquaculture, 219: 393—411
- Dagá P, Feijoo G, Moreira M T *et al*, 2013. Bioencapsulated probiotics increased survival, growth and improved gut flora of turbot (*Psetta maxima*) larvae. Aquacult Int, 21: 337—345
- Estefanía Muñoz-Atienza, Beatriz Gómez-Sala, Carlos Araújo *et al*, 2013. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. BMC Microbiology, 13: 15
- Hansell D A, Boyd C E, 1980. Uses of Hydrated Lime in Fish Ponds. Proc Annual Conf S E Assoc Fish and Wild. Agencies, 34: 49—58
- Lovell R T, Brocel D, 1985. Cause of musty flavor in pond-cultured penaeid shrimp. Aquaculture, 50: 169—174
- Nurdogan Yakup, William J Oswald, 1995. Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. Water Sci Technol, 31(12): 33—43
- Rungsupa S, Poonsuk K, Niyomthamm V, 1999. Zooplankton and phytoplankton in marine shrimp pond between rearing. Proceedings of 37<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference. Text and Journal Publication, Kasetsart, Thailand, 246—251
- Shigueno K, 1985. Intensive culture and feed development in *Penaeus japonicus*. In: Proceedings of the first international conference on the culture of penaeid prawns/shrimps. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Iloilo City, Philippines, 1—550
- Zimba P V, Khoo L, Gaunt P S *et al*, 2001. Carmichael confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from microcystis toxins. Journal of Fish Diseases, 24: 41—47

## TECHNIQUE OF POND AQUACULTURE WITH BIOFILM LOW-CARBON FOR WHITE SHRIMP *LITOPENAEUS VANNAMEI*

JIANG Xing-Long<sup>1,2</sup>, DENG Lai-Fu<sup>1,2</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen, 361021; 2. Engineering Research Center of the Modern Industry Technology for Eel, Ministry of Education, Xiamen, 361021)

**Abstract** To save energy and reduce pollution, we studied the technique of biofilm *in-situ* bioremediation of earthen pond culture for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. The treatment system included biofilm purification water bar, earthen ponds for biofilm development, and the control without the bar. Six brackish water earthen ponds for intensive *L. vannamei* culture were built. The results show, during 135-day trial, in comparison with the control, the concentrations of pH, TAN, NO<sub>2</sub>-N, inorganic nitrogen and soluble reactive phosphate were significantly ( $P < 0.05$ ) decreased by 7.5%, 78.8%, 76.2%, 53.2% and 66.1%; concentration of dissolved oxygen was significantly increased for 13.5%; the quantity of *Vibrio* decreased by 66%; total bacteria, silicon algae relative density and algae diversity index increased for 206%, 173%, and 25.6%, respectively; algae density and blue algae relative density decreased by 64.7% and 70%, respectively; total bacteria within biofilm was about  $5.8 \times 10^9$  CFU/g, while the quantity of *Vibrio* within the biofilm was zero. The treatment increased significantly the survival rate, harvest size, and net yield for 62.5%, 53.9%, and 150%, respectively, and decreased feed conversion rate by 26.8%, resulting in the increased profit of about 221 thousand Yuan per hectare than the control.

**Key words** shrimp *Litopenaeus vannamei*; pond low-carbon aquaculture; biofilm; bioremediation; water quality improvement