

陈丽红,邢荣莲,姜爱莉,等. 柄海鞘-微藻-刺参混养系统对水体中氮的修复潜力[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):289-292.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.081

柄海鞘-微藻-刺参混养系统对水体中氮的修复潜力

陈丽红^{1,2}, 邢荣莲², 姜爱莉², 滕立^{2,3}, 王长海^{1,3}

(1. 大连理工大学生命科学与技术学院, 辽宁大连 116024; 2. 烟台大学生命科学学院, 山东烟台 264000;
3. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏南京 210095)

摘要:为评估 1 种新型柄海鞘-微藻-刺参混养系统对水体中氮的修复潜力,于不同季节在山东莱州养殖基地进行海区围隔养殖,设置刺参套养组和柄海鞘-微藻-刺参混养组:刺参套养组按小规格刺参(S)10~15 ind/m²,大规格刺参(L)5~6 ind/m² 养殖;混养组在此基础上增加微藻 500 cell/mL,柄海鞘 800 g/m³ (湿质量密度)。主要研究不同季节不同养殖模式下水体中 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 和总氮浓度的变化情况。结果表明,投饵和不投饵 2 种养殖模式下,混养组的几种氮浓度均略高于刺参套养组,但远低于刺参单独饲养和柄海鞘单独饲养 2 种养殖模式下氮的排放量之和。混养系统的 3 种生物通过在生态位和食物链上互利共生,可有效降低氮排放量,表明混养系统在氮循环利用中具有修复潜力。

关键词:柄海鞘;微藻;刺参;混养;海鞘;氮排放

中图分类号: S967.2;X171.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0289-03

随着人们生活水平和健康意识的提高,对海参的需求量也不断增加^[1],海参人工养殖业随之快速发展,养殖区域主要集中在沿海附近,养殖面积的迅速扩张以及集约化的养殖方式,既影响海域水质,又降低海参品质^[2]。

为改善上述困境,实现可持续发展。研究者近年来不断尝试生态养殖,将不同种类生物进行混合养殖或综合养殖是目前最有效的方式之一^[3-5]。笔者所在课题组依据生态位原理^[6],选用滤食性动物柄海鞘,建立了 1 种新型的柄海鞘-微藻-刺参混养系统,且已在实验室验证了其有效性和可行性。本研究设计海区养殖的围隔试验,以山东莱州某养殖基地为试验地点,研究刺参套养和柄海鞘-微藻-刺参混养情况下水体中氮元素的变化水平,评估混养系统对海水中氮的修复潜力,旨在建立一种切实可行的自然生态养殖方法。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本研究在山东莱州某一养殖基地进行。试验海区采用网状围隔生态学方法,以竹竿为支撑框架,外覆网孔为 0.5 cm 的聚乙烯网,四面的网衣下部埋入泥下 30 cm。塘内共设试验围隔 20 个,每个围隔的大小为 8 m×8 m,围隔高度约为 2 m,每个网围隔内放置附着基 32 组。围隔配以充气泵增氧,每天 06:30 及 18:30 各开 1 次,每次 2 h。养殖期间,春夏秋

季根据潮汐情况进行换水,平均每天换掉池塘内 30%~50% 的水。冬季水温较低时根据水质情况进行换水。

试验前 7 d 接种底栖硅藻和其他浮游微藻(扁藻、小球藻、角毛藻、底栖硅藻),试验过程中维持水体中的藻类密度约为 500 cell/mL。3~5 d 后按试验设计放入一定规格和数量的刺参;柄海鞘采用吊养方式,将附着柄海鞘的尼龙绳悬挂于养殖围隔的水下,距水面约 50~75 cm。每个围隔分别吊养试验设计规格和数量的柄海鞘。试验刺参规格为大规格刺参(L):(25.0±2.0) g,小规格刺参(S):(5.0±2.0) g。

根据实验室水箱试验和池塘养殖结果设定养殖生物密度,按照养殖业中通常采用的大小刺参混合套养^[2]等情况设置 4 个处理组:A 组为小规格刺参(S)10~15 ind/m²,大规格刺参(L)5~6 ind/m²,不投饵;B 组为小规格刺参(S)10~15 ind/m²,大规格刺参(L)5~6 ind/m²,柄海鞘 800 g/m³ (湿质量密度),不投饵;C 组为小规格刺参(S)10~15 ind/m²,大规格刺参(L)5~6 ind/m²,投饵;D 组为小规格刺参(S)10~15 ind/m²,大规格刺参(L)5~6 ind/m²,柄海鞘 800 g/m³ (湿质量密度),投饵。每个处理设置 5 个重复。试验过程及时将死亡生物取出,并补充同规格的生物,保持养殖过程中生物数量稳定。

投饵模式为每 3 d 投喂 1 次,干质量投饲率为全部刺参总体湿质量的 5% (刺参饵料主要成分:粗蛋白 15%,粗脂肪 2%~5%,粗纤维 10%,粗灰分 45%,购自青岛大海帝饲料有限公司),投喂前先用少量海水浸泡,投喂时均匀泼洒于养殖围隔中,使之在底部均匀分布。刺参夏眠期间停止投喂。

本研究自 2012 年 10 月 10 日开始,2013 年 11 月 20 日结束,按照刺参的生长规律,整个试验分为以下几个阶段:(1) 2012 年 10 月 10 日—2012 年 11 月 25 日,刺参第 1 个秋季生长期;(2) 2012 年 11 月 26 日—2013 年 2 月 10 日,刺参冬眠期;(3) 2013 年 2 月 11 日—2013 年 6 月 30 日,刺参春季生长期;(4) 2013 年 7 月 01 日—2013 年 10 月 25 日,刺参夏眠期;

收稿日期:2016-06-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31572622,31070368);山东省自然科学基金(编号:ZR2014CM031,2014ZRB019DU)。

作者简介:陈丽红(1980—),山东烟台人,硕士,讲师,主要从事海洋微藻研究。Tel:(0535) 6881942;E-mail:linachenlihong@hotmail.com。

通信作者:姜爱莉,博士,教授,主要从事海洋生态系统研究。Tel:(0535) 6881942;E-mail:jal9035@163.com。

(5)2013 年 10 月 26 日—2013 年 11 月 20 日,刺参第 2 个秋季生长期。

按照刺参的养殖规律^[2],2012 年 11 月 10 日和 2013 年 6 月 12 日分别出参 1 次,收获体长 15~20 cm(体质量 150~300 g)的刺参,每次出参后补充 (5.0 ± 2.0) g 小规格刺参。

1.2 监测方法

每天 09:00—09:30 用 YSI-6920M 多参数水质监测仪在线测定水体的温度、盐度、pH 值和溶解氧的量。

每 10~15 d 取 1 次海水样品,测定养殖水体的理化因子。测定日 08:00 用有机玻璃采水器在距水面 0.3~0.5 m 水层处采取水样,测定水体的营养盐等指标。

1.3 统计分析

使用 SPSS 11.0 软件和 Duncan's 极差法对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 作为差异显著的标准。

2 结果与分析

2.1 试验期间基本试验环境的变化

试验过程中不同围隔的水温、盐度、pH 值等指标均无显著差异。试验期间水体 pH 值为 7.89~8.43,溶解氧(dissolved oxygen)的含量为 5.16~7.18 mg/L,整个试验期间海水的盐度为 29.1‰~32.1‰。整个试验过程中,1 月份水温最低,最低的为 4.1℃;8 月份最高,最高的达到 26.7℃(图 1、图 2)。总体而言,试验环境基本在刺参和柄海鞘的适宜生长范围内,对刺参和柄海鞘生长不会产生较大影响。

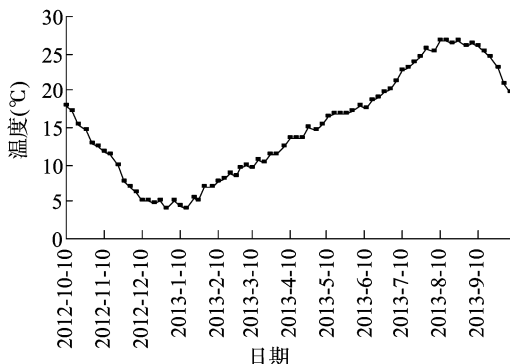


图1 试验期间水温变化

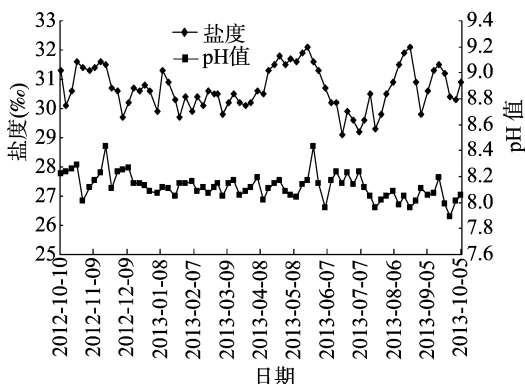


图2 试验期间盐度和 pH 值变化

2.2 试验期间水体中氮素指标变化

氨态氮是刺参和柄海鞘主要的氮排泄物^[7-8],2 种生物代谢率直接影响养殖环境中的氨氮浓度。从图 3 中可以看出,

氨态氮在整个试验周期中波动较大。养殖初期,由于养殖生物的引入,水体氨态氮含量持续升高,进入冬季后,刺参和柄海鞘代谢率降低,且在水体中微藻的作用下,氨态氮含量有所降低。春季刺参和柄海鞘进入快速生长期,生长代谢旺盛,产生并排泄大量氨态氮,引起水体氨态氮浓度升高,但是春季微藻繁殖生长也加快,在此过程中可加快将水体中的氨态氮转化为自身生物量,因而水体中氨态氮总体增长缓慢,这一趋势一直持续到夏季刺参夏眠期。之后随着刺参夏眠代谢的减缓,氨态氮浓度缓慢下降,夏眠结束后开始回升。

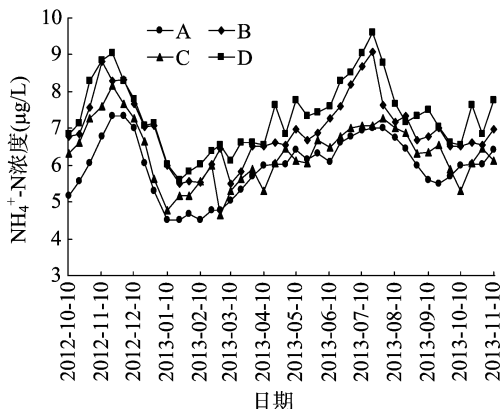


图3 试验期间 NH_4^+-N 含量变化

在刺参养殖系统中引入柄海鞘后,柄海鞘代谢会产生较多氨态氮^[8],因而水体中的氨态氮浓度高于刺参单独养殖组,但是在微藻的协同作用下,两者之间的差异并不显著,只有在 7—10 月期间,由于柄海鞘没有夏眠过程,混养组水体中的氨态氮浓度显著高于刺参套养组($P < 0.05$)。此阶段微藻的生长繁殖较快,刺参的夏眠促进了底泥中底栖硅藻数量的增加^[9],这些微藻会消耗掉大量的溶解性营养盐,这对水质的保持也起到积极的作用。

投饵和不投饵 2 种模式比较,由于投喂的饵料不会被完全摄食,因此投饵组水体中的氨态氮浓度大体上显著高于不投饵组($P < 0.05$)。夏眠期间不投喂,因此与其他阶段相比,这一阶段 2 种模式水体中的氨态氮浓度差异较小。

综上所述,整个养殖周期中,刺参柄海鞘混养组与刺参套养组相比,混养组的氨态氮浓度略高,但两者的氨态氮浓度差异不显著,这也充分表明混养系统可有效降低水体中的氨态氮浓度。

养殖初期随着水体中氨态氮(图 3)水平的逐渐升高,亚硝态氮($\text{NO}_2^- - \text{N}$)(图 4)和总氮(图 5)水平也缓慢升高,而图 6 表明,硝态氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$)的浓度变化较小。2012 年 11 月 10 日出参并补充小规格刺参,不久刺参进入冬眠期,代谢基本停滞,低温条件下柄海鞘和微藻及细菌的代谢均保持在较低水平,这一时期(2012 年 11 月 26 日—2013 年 2 月 10 日)水体中各种形态的氮浓度均呈下降趋势。之后随着水温的升高,刺参进入春季生长期,代谢率逐渐升高,水体中氨态氮浓度逐渐升高,亚硝态氮浓度变化不大,而硝态氮和总氮浓度仍表现为持续的下降趋势,主要原因可能是由于冬眠期刺参生物扰动作用的减弱引起底泥中微藻增殖^[9],微藻对硝态氮的利用率高于氨态氮,在此过程中消耗掉水体中大量的硝态氮和亚硝氮^[10];另外此时在养殖系统中以小规格刺参为

主,对微藻的摄食能力弱于大规模刺参,也有利于微藻的快速繁殖,使总氮维持在较低水平。4 月中旬之后,刺参和柄海鞘均进入快速生长期,代谢率大幅度提升,对微藻的摄食需求也随之增加,表现为水体中各硝态氮和总氮浓度逐渐升高,亚硝态氮浓度仍处于较低水平。7 月份刺参夏眠之后,由于氨态氮浓度降低,水体中总氮浓度开始下降,而硝态氮、亚硝态氮浓度仍缓慢升高,刺参和海鞘的主要氮代谢形态是氨态氮,因而在各种形态氮中,氨态氮的变化与这 2 种生物的生长相关性较强,而占比重较小的硝态氮和亚硝态氮则更多受到水体中微藻和细菌的影响。

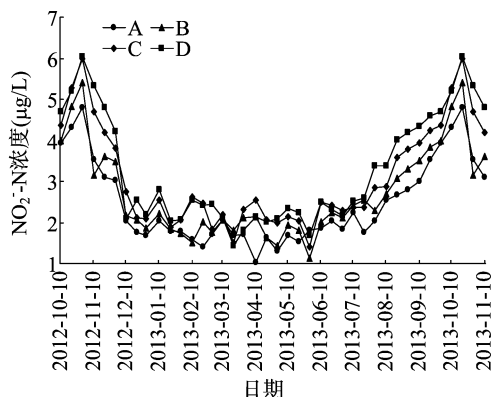


图4 试验期间 NO_2^- -N 水平变化

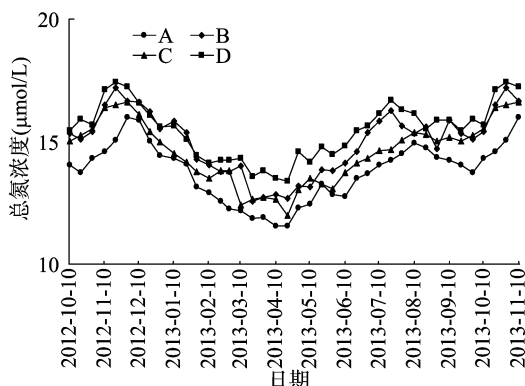


图5 试验期间总氮浓度变化

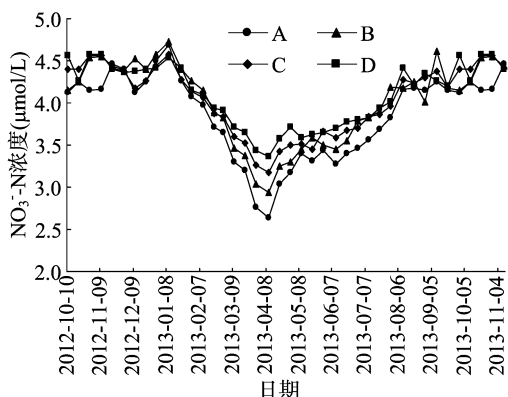


图6 试验期间 NO_3^- -N 水平变化

试验组间比较可知,2 种养殖模式(投饵和不投饵)下,刺参套养组的几种氮浓度整体上略低于刺参和柄海鞘混养组,主要原因可能是混养组中柄海鞘的代谢提高了氮的浓度。养

殖系统中引入柄海鞘后,由于柄海鞘没有夏眠期,而且夏季是柄海鞘的快速生长期,其较高的代谢率对水体氮浓度的提高起到了一定的作用,而其强大的滤水作用有效减少了水体悬浮微藻的量,但对于刺参的优质饵料——底栖硅藻并没有太大作用。2 种养殖模式比较可知,投饵组的氮浓度整体上显著高于不投饵组($P < 0.05$)。虽然混养组氮浓度要略高于刺参套养组,但远低于刺参单独饲养和柄海鞘单独饲养 2 种养殖模式下氮排放水平之和(数据另有文章发表),充分表明混养系统对水体中氮浓度的修复潜力。

3 讨论

养殖水体中氮的浓度远高于磷的浓度^[11],饵料投放通常是水体中氮的主要来源,其中只有很小一部分的氮转换为刺参生物量^[12]。各种养殖模式下,氨态氮都是最主要的无机氮形式,刺参和海鞘氮的主要排泄物均为氨态氮(70% ~ 85%)^[13]。本研究表明,混养系统可将养殖水体中的部分氮排泄物吸收利用,从而使水体中的氮浓度保持在较低水平,说明该混养系统在氮的利用循环中具有较强的可行性。

养殖水体中的氮循环变化大多是生物学变化,受生物学活性调节^[14]。混养系统重视以自养生物为基础的食物链调节作用。柄海鞘和刺参均为异养生物,微藻为自养型生物,可吸收水体中柄海鞘和刺参代谢产生的氮、磷并转化为有机体,还可作为柄海鞘和海参饵料,降低人工投饵量,有助于降低水体的富营养化水平^[15-16]。

柄海鞘属于滤食性动物,生态位与养殖贝类相同^[17],具有很强的净水能力^[18],养殖方式一般采用绳子附着生长,不占据很大空间,不影响池底采光。在混养系统中柄海鞘可滤除过量的微藻,并通过摄食减少水体悬浮的有机颗粒含量。同时,微藻和柄海鞘排泄的假粪可成为底栖海参的食物来源^[19],满足了海参部分摄食需要,通过海参的摄食可有效清除富含的有机质,净化水质。上述 3 种生物在水体中分别占据不同的空间位置,在食物链上存在互利关系。三者构成的生态系统正常运转时,有机物质可被充分吸收利用,减少营养物质排放量,减少人为调节和环境污染。

参考文献:

- [1] Kinch J, Purcell S, Uthicke S, et al. Papua New Guinea: a hot spot of sea cucumber fisheries in the Western Central Pacific [J]. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 2008, 516: 57-77.
- [2] 张春云, 王印庚, 荣小军, 等. 国内外海参自然资源、养殖状况及存在问题[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(3): 89-97.
- [3] Chopin T, Robinson S M C, Troell M, et al. Multi-trophic integration for sustainable marine aquaculture [C]//The Encyclopedia of Ecology, Ecological Engineering, 2008: 2463-2475.
- [4] Soto K. Integrated mariculture: a global review [J]. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 2009, 529: 183.
- [5] 王吉桥, 杨义, 程鑫, 等. 不同密度的皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 与仿刺参 (*Apostichopus japonicus* Selenka) 混养的研究 [J]. 现代渔业信息, 2007, 22(10): 3-7.
- [6] Bosma R H, Verdegem M C. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits [J]. Livestock Science, 2011, 139(1/2): 58-68.

何士成,彭太兵,孙曼钰,等. 碱处理中温度对不同底物特性木质纤维素结构及酶解的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):292-296.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.082

碱处理中温度对不同底物特性木质纤维素结构及酶解的影响

何士成, 彭太兵, 孙曼钰, 贾士儒, 钟 成

(天津科技大学生物工程学院/工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457)

摘要:为研究碱法预处理中温度对不同底物特性的木质纤维素结构及酶解效率的影响,选用柠条锦鸡儿(*Caragana korshinskii* Kom, 简称 CKK, 以下简称柠条)、水稻秸秆、小麦秸秆为原料,用 NaOH 溶液分别在常温和高温条件下进行预处理;通过扫描电镜(简称 SEM)分析、傅立叶转换红外光谱(简称 FTIR)分析、X-射线衍射(简称 XRD)分析等分析预处理后木质纤维素的表面形态、化学成分及结晶度的变化,并用纤维素酶对预处理后的木质纤维素原料进行酶解糖化试验。SEM 和成分分析结果表明,NaOH 溶液碱处理能有效去除木质纤维素的木质素成分,破坏致密的物理结构;FTIR 图谱表明,经 NaOH 溶液处理后,柠条、水稻秸秆和小麦秸秆的木质素结构受到一定程度的破坏,羟基、亚甲基、甲基基和酯键等部分官能团发生断裂;XRD 分析和酶解结果显示,碱处理能破坏木质纤维素原料中的结晶区,增大原料的孔隙率和内表面积,从而增加纤维素酶的可及性和酶解转化率,经过 24 h 酶解后,高温下碱处理能使水稻秸秆葡萄糖的转化率达 94.87%;其中,温度又作为一个重要的因素影响 NaOH 溶液碱处理的效果,当温度升高时,NaOH 溶液碱处理对木质素的去除效果更好,对底物的物理结构破坏更严重,因此升高温度会促进 NaOH 溶液碱处理的作用效果。

关键词:碱法预处理;温度;木质纤维素;柠条;水稻秸秆;小麦秸秆;成分分析;酶解糖化

中图分类号: TQ351.3;TQ91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0292-05

能源危机与环境压力一直迫使人们寻求一种可代替现有化石能源的新能源,木质纤维素是地球上大量存在的一种极具开发潜力的可再生能源。中国木质纤维素资源丰富,仅农

收稿日期:2016-06-15

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201503135-15)。

作者简介:何士成(1991—),男,山东枣庄人,硕士,主要从事木质纤维素生物质降解研究。E-mail:hsctust@163.com。

通信作者:钟 成,博士,教授,主要从事纤维素的生物合成代谢与降解机制研究。E-mail:czhong@tust.edu.cn。

作物秸秆年产生量就有约 7 亿 t,林木枝叶和林业废弃物约 9 亿 t^[1]。木质纤维素是一种具有高度结晶区、结构非常稳定的超分子,主要由 40%~50% 纤维素、15%~30% 半纤维素以及 15%~30% 木质素 3 种化学物质组成^[2-3]。在植物细胞壁中,木质素填充于纤维素和半纤维素之间,通过氢键和共价键与糖类聚合物连接在一起。这种结构严重阻碍了纤维素酶对它的降解,合适的预处理是打破这种抗性的有效手段。常用的预处理方法有物理法、化学法和物理化学法等,其中碱法预处理是一种备受关注的化学预处理方法,碱法预处理可去除

[7] Yang H S, Zhou Y, Zhang T, et al. Metabolic characteristics of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) during aestivation[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2006, 330(2): 505-510.

[8] 张晓凌. 柄海鞘摄食、呼吸和排泄的研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2004.

[9] 张志南. 水层-底栖耦合生态动力学研究的某些进展[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, 30(1): 115-122.

[10] 许忠能, 林小涛, 林继辉, 等. 营养盐因子对细基江蓠藻枝变种氮、磷吸收速率的影响[J]. 生态学报, 2002, 22(3): 366-374.

[11] 王 岩, 齐振雄. 不同单养和混养海水实验围隔的氮磷收支[J]. 汕头大学学报(自然科学版), 1998, 13(2): 71-75.

[12] Funge-Smith S J, Briggs M R P. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds: implication for sustainability[J]. Aquaculture, 1998, 164(1/2/3/4): 117-133.

[13] 樊绘曾. 海参:海中人参——关于海参及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001(4): 37-44.

[14] Boyd C E. Aquaculture pond fertilization: impacts of nutrient input on production[M]. New York: Wiley-Blackwell, 2012: 219.

[15] 江红霞, 郑 怡. 8 种微藻抗菌活性研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2002, 18(2): 117-120.

[16] Neori A, Krom M D, Ellner S P, et al. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units[J]. Aquac, 1996, 141(3/4): 183-199.

[17] Jiang A L, Lin J, Wang C H, et al. Physiological energetics of the ascidian *Styela clava* in relation to body size and temperature[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(2): 129-136.

[18] Ribes M, Coma R, Atkinson M J, et al. Sponges and ascidians control removal of particulate organic nitrogen from coral reef water[J]. Limnology and Oceanography, 2005, 50(5): 1480-1489.

[19] 秦传新, 张立勇, 方 涛, 等. 复合式循环养殖系统——“藻塘”与“食藻动物塘”研究进展[J]. 宁波大学学报(理工版), 2007, 20(1): 31-37.