

摄食配合饲料的鱼密度和EM菌对蚌鱼综合 养殖系统中浮游植物的影响

唐金玉^{1,2}, 王岩^{3*}, 任岗^{1,4}, 李由明^{1,5}

(1. 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310058;

2. 江苏省农业科学院宿迁农科所, 江苏 宿迁 223800;

3. 浙江大学海洋学院, 浙江 舟山 316021;

4. 绍兴文理学院生命科学院, 浙江 绍兴 312000;

5. 海南热带海洋学院水产与生命学院, 海南 三亚 572022)

摘要: 通过93 d围隔实验比较了增加摄食配合饲料的鱼(草鱼和银鲫)密度和添加EM菌对三角帆蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙综合养殖系统中浮游植物群落和初级生产力的影响。采用2×2实验设计, 设4个处理: LF0(20尾草鱼+10尾银鲫)、LFA(20尾草鱼+10尾银鲫+EM菌)、HF0(40尾草鱼+20尾银鲫)和HFA(40尾草鱼+20尾银鲫+EM菌)。所有处理中三角帆蚌、鲢和鳙密度相同, 均为每个围隔内40只蚌、8尾鲢和2尾鳙。实验期间围隔内不换水, 每天分2次投喂配合饲料; 定期向LFA和HFA围隔内泼洒EM菌。结果显示, 围隔内出现浮游植物超过81种, 分别隶属7门、32科、73属; 实验前期浮游植物优势种为微囊藻和栅藻, 后期转为微囊藻、平裂藻和腔球藻; 浮游植物生物量平均为 $3.2 \times 10^8 \sim 8.3 \times 10^8$ 个/L; 摄食配合饲料的鱼密度和EM菌对浮游植物种类组成和多样性无显著影响, 但高密度草鱼和银鲫组(HF0和HFA)中浮游植物生物量和群落呼吸强度较高, 初级生产力较低; 添加EM菌可降低蓝藻在浮游植物生物量中的比例, 增加初级生产力。研究表明, 在蚌鱼综合养殖中放养摄食配合饲料的鱼密度不宜过高。

关键词: 三角帆蚌; 鱼类; 配合饲料; 浮游植物; EM菌; 综合养殖

中图分类号: S 966.2

文献标志码: A

水产养殖在保障人类食品安全的同时, 也对自然资源和环境产生影响。水产养殖过程中积累的N、P及有机质不仅导致养殖环境恶化, 也是造成周边水域环境污染的重要因素^[1]。降低养殖废物积累和排放是实现水产养殖业可持续发展亟需解决的问题。研究表明, 合理混养或综合养殖是提高水产养殖资源利用效率、降低养殖污染的有效途径^[2]。混养指在同一养殖系统内养殖不同的水生生物种类(如鱼类混养指养殖不同的鱼类种类或品种), 而综合养殖则指将多个相对独立的养殖系统进行组合, 实现不同系统间物质和能量的交流(如鱼贝综合养殖指鱼类

养殖系统和贝类养殖系统的组合)^[3-4]。尽管混养和综合养殖已在世界范围内被广泛应用, 然而现有的混养或综合养殖模式多基于经验总结, 缺乏充分的科学依据^[5]。

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)是用来培育淡水珍珠的主要经济贝类^[6]。在三角帆蚌池塘养殖中往往搭配放养一定数量的滤食性鱼类, 如鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)和鳙(*Aristichthys nobilis*), 通过大量施鸭粪培养天然饵料^[7-9]。大量施有机肥可导致池塘内N、P和有机质积累, 诱发蓝藻水华^[10], 对蚌和鱼的健康与生长产生负面影响。优化池塘养殖模式, 提高淡水珍珠养殖产

收稿日期: 2018-05-20 修回日期: 2018-12-08

资助项目: “十二五”国家科技支撑计划(2015BAD13B04); 浙江省科技厅项目(2015C32003)

通信作者: 王岩, E-mail: ywang@zju.edu.cn

量和资源利用效率并降低养殖污染,有助于淡水珍珠产业的可持续发展。在三角帆蚌养殖模式优化方面已开展了较多的工作^[6-15]。研究表明,在三角帆蚌、鲢和鳙综合养殖系统中增加草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)和银鲫(*Carassius auratus gibelio*)并投喂配合饲料可加快三角帆蚌的生长并提高珍珠产量^[5];当蚌和鱼的放养比例为1:2时(其中草鱼、银鲫、鲢和鳙的放养比例为6:2:2:1),珍珠产量和N、P利用率较高^[16]。Tang等^[16]认为增加摄食配合饲料的鱼密度可产生更多的残饵和鱼粪便,有益于三角帆蚌、鲢和鳙等滤食性动物的生长。此外,鉴于微生物制剂中的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、硝化细菌(*Nitrobacter* sp.)和亚硝化细菌(*Nitrosomonas* sp.)等具有降解有机废物、转化有毒无机氮的作用^[17-18],推测使用此类微生物制剂可降低投喂配合饲料时水体中的废物积累。本研究分析了在三角帆蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙综合养殖系统内增加摄食配合饲料的鱼(草鱼和银鲫)密度和使用微生物制剂(EM菌)对浮游植物群落结构和功能的影响,旨在评价放养方案和水质管理措施对优化三角帆蚌池塘养殖模式的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和围隔

实验于2011年7月13日—10月13日在浙江诸暨枫桥实验基地(29°47'60"N, 120°23'42"E)进行。三角帆蚌购自浙江衢州龙游某养蚌场,包括插珠蚌(2009年4月繁育,2010年4月实施无核珠插片手术)和非插珠蚌(2010年5月繁育,尚未实施手术)。草鱼、银鲫、鲢和鳙分别于2011年6月购自浙江湖州德清某淡水鱼种场。实验前,将三角帆蚌吊养在一口面积为1.33 hm²的土池中,将草鱼、银鲫、鲢和鳙暂养在同一池塘内的网箱中。暂养期间,每天向草鱼和银鲫投喂浙江科盛饲料股份有限公司生产的淡水鱼配合饲料8006(粗蛋白含量为28%)。EM菌干粉购自江苏苏微微生物研究有限公司,细菌组成包括*Acinetobacter* sp.、*Actinopolyspora* sp.、*Bacillus* sp.、*Carnobacterium* sp.、*Corynebacterium tuberculostearicum*、*Jeotgalicoccus psychrophilus*、*Planococcus citreus*、*Rhodococcus* sp.、*Saccharopolyspora taberi*、*Shigella flexneri*,有效活菌数为10¹¹ CFU/g。

养殖实验在面积为30 m²的陆基围隔中进行。

实验围隔设在暂养三角帆蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙的土池中,其结构、材料及建造方法的介绍参考文献^[8]。

1.2 实验设计与养殖实验

所用的综合养殖系统放养种类包括三角帆蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙^[5]。采用2×2实验设计,包括2组摄食配合饲料的鱼密度(LF: 20尾草鱼+10尾银鲫; HF: 40尾草鱼+20尾银鲫)和2组EM菌添加量(A: 添加EM菌; 0: 不添加EM菌)。共设4个处理,即: LF0(20尾草鱼+10尾银鲫), LFA(20尾草鱼+10尾银鲫+EM菌)、HF0(40尾草鱼+20尾银鲫)和HFA(40尾草鱼+20尾银鲫+EM菌)。所有处理均放养40只三角帆蚌(插珠蚌和非插珠蚌各20只)、8尾鲢和2尾鳙。每个处理设3个重复,共用12个围隔。

实验开始前打开围隔底部的排水管口^[8],用水泵向围隔内泵水,使围隔内的水与池塘水充分交换。待围隔内的水完全被池塘水替换后关闭排水管,向围隔内泼洒生石灰消毒。1周后,将三角帆蚌从暂养的网笼中取出,称重后吊养在围隔中的网笼内(网笼直径为15 cm,每个网笼放2个插珠蚌或5个非插珠蚌,吊养深度为水面下40 cm);将草鱼、银鲫、鲢和鳙分别从暂养的网箱中捕出,散养在围隔内。插珠蚌、非插珠蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙的初始体质量分别为179~183、61~69、24~26、32~37、58~74和84~96 g/个。

养殖实验时间为93 d。每天7:00和17:00向围隔内投喂科盛8006配合饲料,每隔10 d向围隔内添加1次EM菌(首次添加量为48 g,其后每次添加24 g)。实验期间围隔不换水,每晚用2台550 W涡轮增压氧机向围隔内增氧以免三角帆蚌和鱼类缺氧。

1.3 浮游植物采样与分析

用5 L采水器在围隔内一侧(距围隔壁约50 cm)水面下50 cm处采水。将一部分水样灌入1 L玻璃广口瓶(用于分析浮游植物种类组成和生物量),现场用鲁哥氏液固定;另外一部分水样灌入250 mL玻璃样品瓶(用于测定Chl.a和水化学指标)。现场用黑白瓶法测定浮游植物初级生产力和群落呼吸^[2]。将浮游植物水样带回实验室,在暗处静置24 h后浓缩至30~50 mL,取0.1 mL混匀的浓缩水样加入浮游植物计数框,在尼康80i研究显微镜下计数(10×40倍),根据文献^[19-20]确定浮游植物种类及生物量。用Turnner 10-005型荧光计测定浮游植物Chl.a(μg/L),根据预先建立的回归方程:

Chl. *a* = 115.8X - 4.418 (X为荧光计读数), 计算Chl. *a*浓度。浮游植物种类和生物量每月测定1次, Chl. *a*浓度、初级生产力和群落呼吸每月测定2次。

1.4 数据分析

根据下列公式计算浮游植物优势度(Y)^[21]、Shannon-Wiener多样性指数(H')^[22]、Margalef丰富度指数(D)^[23]和Pielou均匀度指数(J)^[24]:

$$Y = (n_i/N) \times f_i$$

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

$$D = (S - 1) / \log_2 N$$

$$J = H/H_{\max}$$

式中, n_i 为第*i*种浮游植物的生物量; N 为样品中浮游植物总生物量; f_i 为第*i*个物种出现的频率; S 为样品中的浮游植物种类数; P_i 为第*i*个物种生物量与总生物量的比值($P_i = n_i/N$); $H_{\max} = \log_2 S$ 。将 $Y > 0.02$ 的浮游植物种类视为优势种。

采用双因素方差分析(Two-Way ANOVA)检验投喂配合饲料的鱼密度和EM菌添加量对浮游植物多样性指数、生物量、Chl. *a*、初级生产力和群落呼吸的影响。利用单因素方差分析和Tukey HSD test分析处理间的差异。对 $Y > 0.02$ 的浮游植物优势种生物量进行去趋势对应分析(DCA)(排序轴中梯度最长值 < 3), 然后采用冗余分析(RDA)评价浮游植物生物量与环境因子如透明度(SD)、溶解氧(DO)、pH、氨态氮($\text{NH}_3\text{-N} + \text{NH}_4^+\text{-N}$, 简称为 $\text{NH}_3\text{-N}$)、亚硝酸态氮($\text{NO}_2\text{-N}$)、硝酸态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)、活性磷($\text{PO}_4\text{-P}$)、总有机碳(TOC)、总氮(TN)、总磷(TP)、碳氮比(TC/TN)、氮磷比(TN/TP)、高锰酸钾指数(COD_{Mn})和生化耗氧量(BOD_5)等之间的关系。图、表中数据除特别说明外均表示为平均值 \pm 标准差($n=3$)。数据(A)分析前进行对数 $\lg(A+1)$ 转换。取 $P < 0.05$ 为差异显著性水平。利用SPSS 19.0(IBM® SPSS® Statistics)软件进行ANOVA, 利用Canoco for Windows 4.5软件进行DCA和RDA。

2 结果

2.1 浮游植物群落结构和生物多样性

实验期间从围隔内鉴定出的浮游植物超过81种, 分别隶属7门、32科、73属(表1)。前期浮

游植物优势种为微囊藻属(*Microcystis*)和栅藻属(*Scenedesmus*)的种类, 各个处理中微囊藻和栅藻占浮游植物的比例分别为33.2%和39.3%(围隔LF0)、26.1%和34.7%(围隔LFA)、46.3%和18.2%(围隔HF0)、59.1%和22.4%(围隔HFA)。后期LF0围隔内浮游植物优势种为微囊藻属(34.0%)、平裂藻属(*Merismopedia*, 14.2%)、腔球藻属(*Coelosphaerium*, 22.3%)和栅藻属(12.2%)种类; LFA围隔内为微囊藻属(34.6%)、平裂藻属(20.5%)、腔球藻属(13.0%)和栅藻属(14.8%)种类; HF0围隔内为微囊藻属(83.2%)和平裂藻属(10.8%)种类; HFA围隔内为微囊藻属(83.2%)种类。同一时间, LF0、LFA、HF0和HFA围隔间浮游植物种类组成无显著差异。

摄食配合饲料的鱼密度、EM菌添加量及二者的交互作用对 H' 、 D 和 J 均无显著影响($P > 0.05$)。HF0和HFA围隔内 H' 、 D 和 J 略低于LF0和LFA围隔, LFA和HFA围隔内 H' 和 J 略高于LF0和HF0围隔(表2)。

实验期间各围隔内浮游植物生物量平均值变化范围为 $3.2 \times 10^8 \sim 38.3 \times 10^8$ 个/L。围隔HF0中浮游植物生物量变化幅度显著高于其他围隔($P < 0.05$), 蓝藻生物量在浮游植物生物量中的比例较高, 最高时可达后者的96.6%(图1)。不同处理间蓝藻占浮游植物比例和Chl. *a*浓度无显著差异(图1-b, 图2)($P > 0.05$)。

2.2 浮游植物初级生产力和群落呼吸

摄食配合饲料的鱼密度对初级生产力(P)、群落呼吸(R)和 P/R 具有极显著影响($P < 0.01$), 而EM菌添加量及其与摄食配合饲料的鱼密度的交互作用对 P 、 R 和 P/R 无显著影响($P > 0.05$, 表3)。所有围隔内 P/R 均大于1。相比之下, 降低摄食配合饲料的鱼密度可导致 P 和 P/R 增加, 但导致 R 降低。添加EM菌可引起 P 、 R 增加, 但导致 P/R 降低。

2.3 浮游植物群落与理化环境的关系

优势度 $Y > 0.02$ 的浮游植物种类有11种。RDA发现所测定的理化环境因子可解释浮游植物群落变化的96.8%, 前2个排序轴分别解释了35.6%和21.4%。Monte Carlo置换检验结果显示, DO($F=3.45$, $P=0.002$)和 $\text{NH}_3\text{-N}$ ($F=2.16$, $P=0.038$)对优势度 $Y > 0.02$ 的浮游植物生物量具有显著影响, 分别解释了浮游植物群落变化的20.0%和10.0%。其他理化指标对浮游植物群落影响不显著($P > 0.05$)(图3)。

表 1 实验围隔内出现的浮游植物种类

Tab. 1 Species of phytoplankton present in the experimental enclosures

门 phylum	种类 species	LF0	LFA	HF0	HFA	门 phylum	种类 species	LF0	LFA	HF0	HFA
蓝藻 Cyanophyta	平裂藻 <i>Merismopedia</i> sp.	+	+	+	+	绿藻 Chlorophyta	蹄形藻 <i>Kirchneriella</i> sp.	+	+	+	+
	色球藻 <i>Chroococcus</i> sp.	+	+	+	+		拟新月藻 <i>Closteriopsis</i> sp.	+	+	+	+
	隐球藻 <i>Aphanocapsa</i> sp.	+	+	+	+		四棘藻 <i>Treubaria triappendiculata</i>	-	-	-	+
	微囊藻 <i>Microcystis</i> sp.	+	+	+	+		肾形藻 <i>Nephrocystium</i> sp.	+	+	+	+
	鱼腥藻 <i>Anabaena</i> sp.	+	-	+	-		并联藻 <i>Quadrigula chodatii</i>	-	+	+	+
	腔球藻 <i>Coelosphaerium</i> sp.	+	+	+	+		集星藻 <i>Actinastrum hantzschii</i>	+	+	+	+
	蓝纤维藻 <i>Dactylococcopsis</i> sp.	+	+	+	+		单角盘星藻 <i>Pediastrum simplex</i>	+	+	+	+
	尖头藻 <i>Raphidiopsis</i> sp.	+	+	+	+		二角盘星藻 <i>Pediastrum duplex</i>	+	+	-	+
	拟鱼腥藻 <i>Anabaenopsis</i> sp.	+	-	-	+		纤维藻 <i>Ankistrodesmus</i> sp.	+	+	+	+
	念珠藻 <i>Nostoc</i> sp.	+	+	+	+		卵囊藻 <i>Oocystis</i> sp.	-	+	+	-
	螺旋鞘丝藻 <i>Lyngbya contorta</i>	+	+	+	+		多芒藻 <i>Golenkinia</i> sp.	+	+	+	+
	螺旋藻 <i>Spirulina</i> sp.	+	+	+	+		微芒藻 <i>Micractinium</i> sp.	-	+	-	-
	颤藻 <i>Oscillatoria</i> sp.	-	-	-	+		顶锥十字藻 <i>Crucigenia apiculata</i>	+	+	+	+
	团藻 <i>Volvox</i> sp.	-	+	+	-		四足十字藻 <i>Crucigenia tetrapedia</i>	+	+	+	+
	盘藻 <i>Gonium</i> sp.	-	+	-	-		四角十字藻 <i>Crucigenia quadrata</i>	+	+	+	+
	翼膜藻 <i>Pteromonas</i> sp.	+	-	+	+		二形栅藻 <i>Scenedesmus dimorphus</i>	+	+	+	+
	衣藻 <i>Chlamydomonas</i> sp.	-	+	+	-		四尾栅藻 <i>Scenedesmus quadricauda</i>	+	+	+	+
	空球藻 <i>Eudorina</i> sp.	-	+	-	+		斜生栅藻 <i>Scenedesmus obliquus</i>	+	+	+	+
	实球藻 <i>Pandorina morum</i>	+	+	+	+		四星藻 <i>Tetrastrum</i> sp.	+	-	-	+
	空星藻 <i>Coelastrum</i> sp.	+	+	+	+		丛球韦斯藻 <i>Westella botryoides</i>	+	+	-	+
硬弓形藻 <i>Schroederia robusta</i>	+	+	+	+	线形拟韦斯藻 <i>Westellopsis linearis</i>	+	+	-	+		
螺旋弓形藻 <i>Schroederia spiralis</i>	+	+	+	+	月形双形藻 <i>Dimorphococcus lunatus</i>	+	+	+	+		
拟菱形弓形藻 <i>Schroederia nitzschoides</i>	+	+	+	+	纺锤藻 <i>Elakatothrix gelatinosa</i>	-	-	+	-		
十字顶棘藻 <i>Chodatella wratislaviensis</i>	+	+	+	+	转板藻 <i>Mougeotia</i> sp.	-	+	+	+		
被刺藻 <i>Franceia ovalis</i>	+	+	-	-	水绵 <i>Spirogyra</i> sp.	+	+	+	-		
三叶四角藻 <i>Tetraedron trilobulatum</i>	+	+	+	+	尖刺棒形鼓藻 <i>Gonatozygon aculeatum</i>	+	-	-	-		
微小四角藻 <i>Tetraedron minimum</i>	+	+	+	+	鼓藻 <i>Cosmarium</i> sp.	+	+	+	+		
小球藻 <i>Chlorella</i> sp.	+	+	+	+	角顶鼓藻 <i>Triploceras gracile</i>	+	-	-	-		

· 续表1 ·

门 phylum	种类 species	LF0	LFA	HF0	HFA	门 phylum	种类 species	LF0	LFA	HF0	HFA
裸藻 Englenophyta	新月藻 <i>Closterium</i> sp.	+	+	+	+	黄藻 Xanthophyta	黄丝藻 <i>Tribonema</i> sp.	+	+	-	-
	角星鼓藻 <i>Staurastrum</i> sp.	+	+	+	+	硅藻	小环藻	+	+	+	+
	锥刺四棘鼓藻 <i>Arthrodesmus subulatus</i>	+	+	+	+	Baellariophyta	<i>Cyclotella</i> sp.				
	桑葚藻 <i>Pyrobotrys</i> sp.	+	-	-	-		冠盘藻 <i>Stephanodiscus</i> sp.	+	+	+	+
	四月藻 <i>Tetrallantos lagerheimii</i>	+	+	+	-		直链藻 <i>Melosira</i> sp.	+	+	+	+
	裸藻	+	+	+	+		棒杆藻 <i>Rhopalodia</i> sp.	-	+	-	-
	Englenophyta	<i>Euglena</i> sp.					舟形藻 <i>Navicula</i> sp.	+	+	+	-
		囊裸藻 <i>Trachelomonas</i> sp.	+	+	+	+	肋缝藻 <i>Frustulia</i> sp.	+	-	-	-
		鳞孔藻 <i>Lepocinclis</i> sp.	+	+	+	-	针杆藻 <i>Synedra</i> sp.	+	+	+	+
		扁裸藻 <i>Phacus</i> sp.	+	+	+	+	桥弯藻 <i>Cymbella</i> sp.	+	-	-	-
隐藻 Cryptophyta	陀螺藻 <i>Strombomonas</i> sp.	-	-	+	+	甲藻 Pyrrophyta	裸甲藻 <i>Gymnodinium aeruginosum</i>	+	+	+	+
	隐藻	+	+	+	+		薄甲藻 <i>Glenodinium pulvisculus</i>	+	+	+	-
	Cryptophyta	<i>Cryptomonas</i> sp.					多甲藻	-	+	+	-
		蓝隐藻 <i>Chroomonas</i> sp.	-	+	+	-		<i>Peridinium</i> sp.			

注：“+”表示出现；“-”表示未出现
Notes: “+” represents occurrence; “-” represents undetectable

表 2 实验围隔内浮游植物的多样性

Tab. 2 Diversity of phytoplankton in the experimental enclosures

处理 treatment	多样性指数(H) Shannon-Wiener's index	丰富度指数(D) Margalef's index	均匀度指数(J) Pielou's index
LF0	1.75±0.02	0.61±0.09	0.42±0.02
LFA	1.94±0.28	0.63±0.08	0.44±0.05
HF0	1.24±0.49	0.52±0.09	0.30±0.11
HFA	1.37±0.79	0.50±0.09	0.34±0.18
双因素方差分析结果 results of Two-Way ANOVA			
草鱼和银鲫密度 density of <i>C. idella</i> and <i>C. auratus gibelio</i>	0.095	0.056	0.103
EM菌添加量 EM addition	0.618	0.943	0.609
交互作用 interaction	0.977	0.713	0.939

注：双因素方差分析中P<0.05表示具有显著影响
Notes: P<0.05 means significant effect in Two-Way ANOVA

3 讨论

3.1 摄食配合饲料的鱼密度与EM菌添加量对浮游植物群落结构的影响

浮游植物是池塘的主要初级生产者，具有产生DO、降低有害无机氮浓度和作为滤食性动物的活饵料等作用^[25]。研究表明蓝藻中的微囊藻属、平裂藻属和腔球藻属是三角帆蚌与鱼类综合

养殖系统内常见的浮游植物优势种^[11-12, 15]。本研究中，前期围隔内浮游植物优势种为微囊藻属和栅藻属，随实验时间延长微囊藻在浮游植物生物量中的比例逐渐增加，栅藻的比例逐渐减少；后期围隔内浮游植物优势种以微囊藻属为主。相同月份采用不同处理的围隔间浮游植物种类组成差别较小，表明季节是驱动浮游植物群落演替的主要因素，也表明增加摄食配合饲

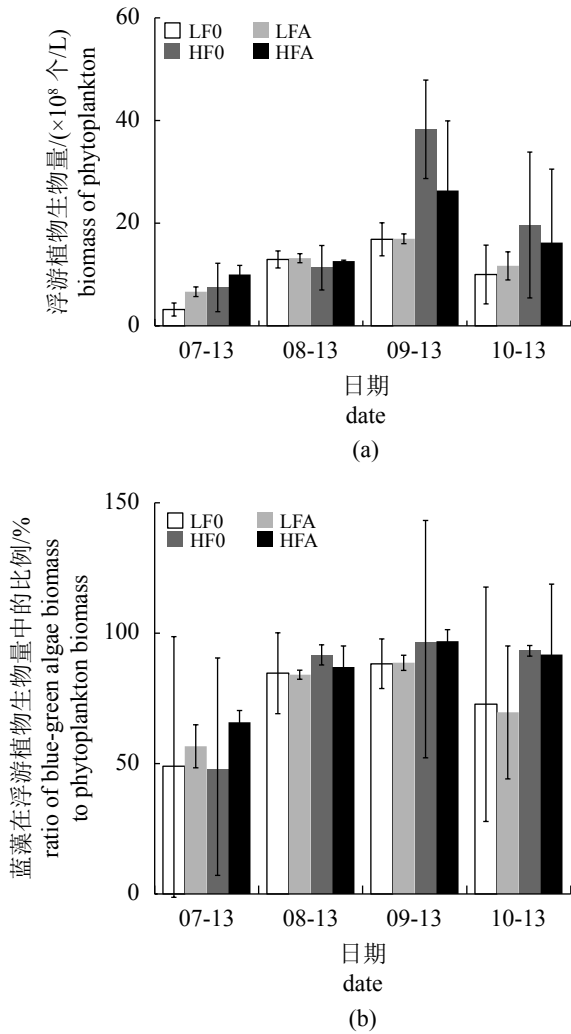


图 1 实验围隔内浮游植物生物量(a)以及蓝藻生物量在浮游植物生物量中的比例(b)

Fig. 1 Biomass of phytoplankton (a) and the ratio of blue-green algae biomass to phytoplankton biomass (b) in the experimental enclosures

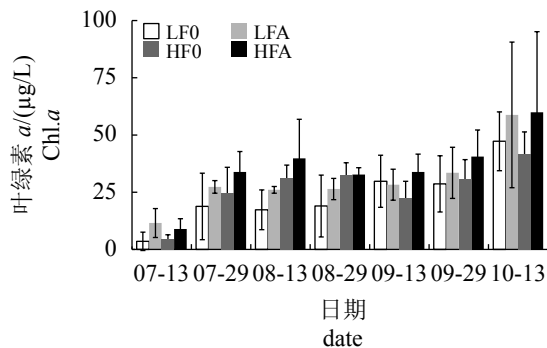


图 2 实验期间围隔内Chl.a浓度变化

Fig. 2 Variation in concentration of Chl.a in the experimental enclosures

料的鱼密度和EM菌添加量对浮游植物群落影响较小。唐金玉等^[12]认为改变鱼类放养种类组合和投喂配合饲料不会显著影响浮游植物种类组成, 本实验结果与此观点一致。Yamamoto等^[26]认为水温、光照和营养盐浓度可影响浮游植物优势种的变化。Casé等^[25]指出水温较高、阳光充足时浮游植物群落变化主要取决于营养盐浓度以及不同营养盐之间的比例。本实验中, 所有围隔设在同一池塘内, 其底质条件、水源、水温和光照条件相同。随摄食配合饲料的鱼(草鱼和银鲫)密度的增加, 配合饲料投喂量增加, 导致HF0和HFA围隔中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、TN和TP相对较高, 但上述营养盐的变化并未对浮游植物种类组成和优势种产生显著不同的影响, 表明在养殖池塘中增加N、P浓度有时并不能够使浮游植物种类组成和优势种发生明显的变化。Yusoff等^[27]指出微囊藻水华暴发时不仅导致养殖水体DO和透明度下降, 微囊藻毒素对养殖生物的存活和生长也会产生负面的影响。本实验中, HF0和HFA围隔中微囊藻生物量占浮游植物生物量的比例高于LF0和LFA围隔, 表明在大量投喂配合饲料的情况下容易发生微囊藻水华, 对三角帆蚌和鱼类养殖产生负面影响。

研究表明, 浮游植物多样性与水体中N/P存在一定的关系^[2, 28]。在三角帆蚌池塘中配养草鱼、银鲫、鲢和鳙并投喂配合饲料可引起浮游植物多样性下降^[12]。本实验中, 增加摄食配合饲料的鱼密度导致围隔内TN/TP显著降低, 但未显著降低浮游植物多样性(H)、丰富度(D)和均匀度(J), 这与实验期间围隔内浮游植物种类组成变化较小以及个别优势种类的优势度较高有关。使用微生物制剂对养殖水体浮游植物多样性影响的报道较少。于明等^[29]发现光合细菌可抑制富营养化水体中的铜绿微囊藻。Janeo等^[30]发现使用一种含硝化细菌*Nitrobacter*、芽孢杆菌和酶类的微生物产品可显著促进斑节对虾(*Penaeus monodon*)养殖水体中绿藻和硅藻的生长并抑制蓝藻水华。然而, 一些研究表明添加微生物制剂不会显著影响水体中的Chl.a含量或降低有害蓝藻生物量^[31-34]。本实验中, 添加EM菌的围隔(LFA和HFA)中浮游植物H'和J略高于未添加EM菌的围隔(LF0和HF0), 浮游植物生物量、Chl.a浓度以及蓝藻在浮游植物生物量中的比例低于LF0和HF0, 初步表明添加EM菌可在一定程度上增加浮游植

表 3 实验围隔内初级生产力和群落呼吸

Tab. 3 Primary productivity and community respiration in the experimental enclosures

处理 treatment	初级生产力(P)/[mg O ₂ /(L·d)] primary productivity	群落呼吸(R)/[mg O ₂ /(L·d)] community respiration	P/R
LF0	9.71±1.28 ^{ab}	4.06±1.09 ^b	2.09±0.14 ^a
LFA	11.02±0.12 ^a	5.29±0.36 ^{ab}	1.80±0.34 ^{ab}
HF0	6.00±1.25 ^b	6.25±1.01 ^{ab}	1.14±0.23 ^{ab}
HFA	7.36±2.80 ^{ab}	7.16±0.84 ^a	1.06±0.48 ^b

双因素方差分析结果 results of Two-Way ANOVA			
草鱼和银鲫密度 density of <i>C. idella</i> and <i>C. auratus gibelii</i>	0.005	0.004	0.001
EM菌添加量 EM addition	0.200	0.067	0.334
交互作用 interaction	0.982	0.761	0.550

注：上标字母表示Tukey HSD test结果，同一列具有不同字母上标的数据间差异显著($P<0.05$)，双因素方差分析中 $P<0.05$ 表示具有显著影响
Notes: the data in the same column with different superscripts are significantly different in Tukey HSD's test ($P<0.05$). $P<0.05$ means significant effect in Two-Way ANOVA

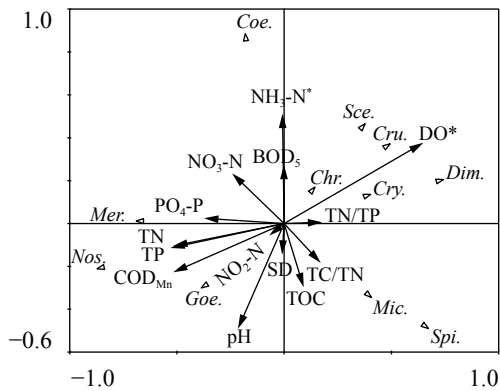


图 3 浮游植物生物量与理化环境因子的关系

优势度 $Y>0.02$ 的浮游植物种类代码: Mer. 平裂藻; Chr. 色球藻; Mic. 微囊藻; Goe. 腔球藻; Nos. 念珠藻; Spi. 螺旋藻; Sce. 栅藻; Cru. 十字藻; Coe. 空星藻; Dim. 双形藻; Cry. 隐藻。*表示具有显著影响($P<0.05$)

Fig. 3 Relationships between phytoplankton biomass and environmental variables during the experimental period

Code of phytoplankton species with dominance index >0.02 : Mer. *Merismopedia* sp.; Chr. *Chroococcus* sp.; Mic. *Microcystis* sp.; Goe. *Coelosphaerium* sp.; Nos. *Nostoc* sp.; Spi. *Spirulina* sp.; Sce. *Scenedesmus* sp.; Cru. *Crucigenia* sp.; Coe. *Coelastrum* sp.; Dim. *Dimorphococcus* sp.; Cry. *Cryptomonas* sp.; * represents the significant effect ($P<0.05$)

物的多样性和均匀度,抑制蓝藻的生长。

本实验围隔内的浮游植物生物量($3.2\times 10^8\sim 38.3\times 10^8$ 个/L)高于早期研究报道^[11-12, 15];同时,本实验围隔内N、P浓度亦高于早期研究报道^[8, 10, 13]。浮游植物生物量随摄食配合饲料的鱼密度增加而增加,表明投喂鱼类配合饲料所产生的N、P

废物促进了浮游植物生长。唐金玉等^[11]和Mischke^[35]认为施肥可增加养殖池塘浮游植物生物量但不会显著影响其种类组成,本研究结果与其观点一致。

本实验中,浮游植物群落变化与NH₃-N和DO显著相关,这与早期报道^[11-12]略有不同。绿藻和隐藻种类与DO或NH₃-N浓度呈正相关,蓝藻种类与DO或NH₃-N浓度呈负相关,表明DO和NH₃-N较高时绿藻和隐藻占优势,而DO和NH₃-N较低时蓝藻占优势。Yusoff等^[27]认为蓝藻水华暴发可导致水体中NH₃-N积累,本实验结果与此观点存在分歧。蓝藻占优势时水体中NH₃-N较低的原因可能与蓝藻水华暴发后抑制三角帆蚌和鱼类的摄食和代谢有关。

3.2 摄食配合饲料的鱼密度和EM菌添加量对初级生产力和群落呼吸的影响

以往研究发现采用施肥或投饵+施肥的管理措施时三角帆蚌单养及其与银鲫或鲢和鳙综合养殖实验围隔内的初级生产力为4.11~5.45 mg O₂/(L·d)^[15],采用投饵+施肥的管理措施时三角帆蚌与草鱼、银鲫、鲢和鳙综合养殖(鱼:蚌=1:1)实验围隔内的初级生产力为8.15 mg O₂/(L·d)^[2]。本实验中,HF0和HFA围隔内的初级生产力为6.00~7.36 mg O₂/(L·d),LF0和LFA围隔内的初级生产力为9.71~11.02 mg O₂/(L·d)。根据上述结果,初步认为三角帆蚌养殖水体初级生产力变化范围为4.11~11.02 mg O₂/(L·d)。

有关三角帆蚌与鱼类综合养殖系统内初级

生产力与投喂配合饲料的鱼密度之间的关系尚未见报道。本实验中, 初级生产力随投喂配合饲料的鱼密度增加而降低, 这一趋势与浮游植物生物量的变化趋势相反。初步分析增加配合饲料投喂量导致围隔内N、P浓度及浮游植物生物量增加, 引发严重的微囊藻水华, 进而降低水体透明度, 导致初级生产力下降。群落呼吸随投喂配合饲料的鱼密度增加而升高, 表明增加配合饲料投喂量可增加水呼吸强度, 加大DO昼夜变化幅度。因此, 从初级生产力和群落呼吸的角度分析, 高密度放养摄食配合饲料的鱼会加大蚌鱼综合养殖池塘水质管理的难度。

使用微生物制剂对三角帆蚌养殖水体初级生产力的影响鲜见报道。本实验中, 添加EM菌的围隔内初级生产力和群落呼吸均高于未添加EM菌的围隔, 初步表明EM菌有利于加强浮游植物光合作用和微生物代谢。添加EM菌后降低了蓝藻在浮游植物生物量中的比例可能是其增加初级生产力的原因之一, 这一推测有待实验验证。

4 结论

在三角帆蚌、草鱼、银鲫、鲢和鳙综合养殖中增加摄食配合饲料的鱼密度可导致浮游植物生物量、蓝藻在浮游植物生物量中的比例以及群落呼吸强度升高, 浮游植物多样性和初级生产力下降; 添加EM菌导致蓝藻在浮游植物生物量中的比例下降和初级生产力升高, 但未显著改变浮游植物种类组成和生物量。上述结果表明在蚌鱼综合养殖中不宜高密度放养草鱼和银鲫等摄食配合饲料的鱼, 有关EM菌对浮游植物群落结构和功能的影响仍需进一步评价。

参考文献:

- [1] Tang J Y, Dai Y X, Li Y M, *et al.* Can application of commercial microbial products improve fish growth and water quality in freshwater polyculture?[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2016, 78(2): 154-160.
- [2] 唐金玉, 王岩, 戴杨鑫. 在淡水鱼类混养系统中吊养三角帆蚌对养殖产量和水质的影响[J]. *水产学报*, 2014, 38(2): 208-217.
- Tang J Y, Wang Y, Dai Y X. Effects of co-culturing freshwater pearl mussel *Hyriopsis cumingii* in a fish polycultural system on fish yield and water quality[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(2): 208-217(in Chinese).
- [3] Troell M, Halling C, Neori A, *et al.* Integrated mariculture: asking the right questions[J]. *Aquaculture*, 2003, 226: 69-90.
- [4] Zhong Y G, Power G. Fisheries in China: progress, problems, and prospects[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1997, 54(1): 224-238.
- [5] Tang J Y, Dai Y X, Wang Y, *et al.* Improvement of fish and pearl yields and nutrient utilization efficiency through fish-mussel integration and feed supplementation[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 321-326.
- [6] Wang Y, Wang W L, Qin J G, *et al.* Effects of integrated combination and quicklime supplementation on growth and pearl yield of freshwater pearl mussel[J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(14): 1634-1641.
- [7] Yan L L, Zhang G F, Liu Q G, *et al.* Optimization of culturing the freshwater pearl mussels, *Hyriopsis cumingii* with filter feeding Chinese carps (bighead carp and silver carp) by orthogonal array design[J]. *Aquaculture*, 2009, 292(1/2): 60-66.
- [8] 戴杨鑫, 王岩, 唐金玉, 等. 不同混养鱼类和投喂方式对蚌鱼综合养殖水体化学特征的影响[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(2): 351-360.
- Dai Y X, Wang Y, Tang J Y, *et al.* Effects of co-cultured fish and feed supplement on water chemistry characteristics of freshwater pearl mussel farming[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(2): 351-360(in Chinese).
- [9] 王小冬, 王伟良, 董向全, 等. 不同放养和管理模式对三角帆蚌生长与养殖产量的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2006, 15(3): 315-320.
- Wang X D, Wang W L, Dong X Q, *et al.* Effect of different models of stocking and management on growth and yield of freshwater pearl mussel *Hyriopsis cumingii*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, 15(3): 315-320(in Chinese).
- [10] 王小冬, 王岩, 王伟良, 等. 不同放养和管理模式下三角帆蚌养殖水体的水化学特征[J]. *水产学报*, 2008, 32(2): 303-308.
- Wang X D, Wang Y, Wang W L, *et al.* Water chemistry for culturing freshwater pearl mussel, *Hyriopsis cumingii* under different stocking and management models[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(2): 303-308(in Chinese).

- [11] 唐金玉, 王岩, 戴杨鑫, 等. 不同施肥方法对鱼蚌综合养殖池塘浮游植物群落结构的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1421-1430.
Tang J Y, Wang Y, Dai Y X, *et al.* Effects of three fertilization methods on phytoplankton community in integrated culture of freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) and fishes[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1421-1430(in Chinese).
- [12] 唐金玉, 王岩, 戴杨鑫, 等. 不同鱼类混养组合与饲喂方式对鱼蚌综合养殖水体浮游植物群落结构的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(6): 1190-1199.
Tang J Y, Wang Y, Dai Y X, *et al.* Effects of co-cultured fish species combination and formulated feed supplement on phytoplankton community in the enclosures with integrated culture of freshwater pearl mussel and fishes[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(6): 1190-1199(in Chinese).
- [13] 戴杨鑫, 唐金玉, 王岩, 等. 不同施肥方法对鱼蚌综合养殖水体水化学的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(3): 407-416.
Dai Y X, Tang J Y, Wang Y, *et al.* Effect of three fertilization programs on the chemical water quality for integrated culture of freshwater pearl mussel and fish[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(3): 407-416(in Chinese).
- [14] 周小玉, 张根芳, 刘其根, 等. 鲢、鳙对三角帆蚌池塘藻类影响的围隔实验[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 729-737.
Zhou X Y, Zhang G F, Liu Q G, *et al.* Effects of *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* on the enclosures phytoplankton community of *Hyriopsis cumingii* pond[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 729-737(in Chinese).
- [15] 朱生博, 王岩, 王小冬, 等. 不同放养和管理模式下三角帆蚌养殖水体中的浮游生物和初级生产力[J]. 生态学杂志, 2008, 27(3): 401-407.
Zhu S B, Wang Y, Wang X D, *et al.* Plankton community and primary productivity in waters for culturing freshwater pearl mussel *Hyriopsis cumingii* under different stockings and management models[J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(3): 401-407(in Chinese).
- [16] Tang J Y, Dai Y X, Wang Y, *et al.* Optimization of fish to mussel stocking ratio: development of a state-of-art pearl production mode through fish-mussel integration[J]. *Aquacultural Engineering*, 2015, 66: 11-16.
- [17] Duvall R J, Anderson L, Goldman C R. Pond enclosure evaluations of microbial products and chemical algicides used in lake management[J]. *Journal of Aquatic Plant Management*, 2001, 39: 99-106.
- [18] Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, *et al.* Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 655-671.
- [19] Havens K E. Fish-induced sediment resuspension: effects on phytoplankton biomass and community structure in a shallow hypereutrophic lake[J]. *Journal of Plankton Research*, 1991, 13(6): 1163-1176.
- [20] 胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类—系统、分类及生态[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
Hu H J, Wei Y X. *Algal of China—systematics, taxonomy and ecology*[M]. Beijing: Taxonomy and Ecology Science Press, 2006(in Chinese).
- [21] 林峰竹, 吴玉霖, 于海成, 等. 2004年长江口浮游植物群落结构特征分析[J]. *海洋与湖沼*, 2008, 39(4): 401-410.
Lin F Z, Wu Y L, Yu H C, *et al.* Phytoplankton community structure in the Changjiang estuary and its adjacent waters in 2004[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2008, 39(4): 401-410(in Chinese).
- [22] Shannon C E, Wiener W. *The mathematical theory of communication*[M]. Urbana: University of Illinois Press, 1963.
- [23] Margalef D R. *Perspective in ecological theory*[M]. Chicago: Chicago University Press, 1963.
- [24] Pielou D P, Pielou E C. Association among species of infrequent occurrence: the insect and spider fauna of *Polyporus betulinus* (Bulliard) fries[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 1968, 2(21): 202-216.
- [25] Casé M, Leça E E, Leitão S N, *et al.* Plankton community as an indicator of water quality in tropical shrimp culture ponds[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2008, 56(7): 1343-1352.
- [26] Yamamoto Y, Shiah F K, Chen Y L. Importance of large colony formation in bloom-forming cyanobacteria to dominate in eutrophic ponds[J]. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 2011, 47(2): 167-173.

- [27] Yusoff F M, Zubaidah M S, Matias H B, *et al.* Phytoplankton succession in intensive marine shrimp culture ponds treated with a commercial bacterial product[J]. *Aquaculture Research*, 2002, 33(4): 269-278.
- [28] 孙凌, 金相灿, 钟远, 等. 不同氮磷比条件下浮游藻类群落变化[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(7): 1218-1223.
- Sun L, Jin X C, Zhong Y, *et al.* Changes of algal communities in water body with different proportions of nitrogen and phosphorus[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(7): 1218-1223(in Chinese).
- [29] 于明, 周云龙. 从浮游植物的变化看光合细菌在治理富营养化水体中的作用[J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 37(5): 680-684.
- Yu M, Zhou Y L. The effects of photosynthetic bacteria on controlling eutrophic water through the changes of phytoplankton[J]. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science Edition)*, 2001, 37(5): 680-684(in Chinese).
- [30] Janeo R L, Corre V L, Sakata T. Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds[J]. *Aquacultural Engineering*, 2009, 40(3): 120-125.
- [31] de Paiva-Maia E, Alves-Modesto G, Otavio-Brito L, *et al.* Effect of a commercial probiotic on bacterial and phytoplankton concentration in intensive shrimp farming (*Litopenaeus vannamei*) recirculation systems[J]. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 2013, 41(1): 126-137.
- [32] Boyd C E, Hollerman W D, Plumb J A, *et al.* Effect of treatment with a commercial bacterial suspension on water quality of channel catfish ponds[J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1984, 46(1): 36-40.
- [33] 刘福军, 胡文英. 光合细菌对盐碱地池塘浮游生物的影响[J]. *湖泊科学*, 2002, 14(1): 83-89.
- Liu F J, Hu W Y. Effects of PSB to plankton in saline-alkali wetland ponds[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2002, 14(1): 83-89(in Chinese).
- [34] Barkoh A, Paret J M, Lyon D D, *et al.* Evaluation of barley straw and a commercial probiotic for controlling *Prymnesium parvum* in fish production ponds[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2008, 70(1): 80-91.
- [35] Mischke C C. Winter pond fertilization can increase phytoplankton in aquaculture ponds[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2014, 76(1): 67-71.

Effects of stocking density of the fishes fed formulated feed and EM product on phytoplankton community in a mussel-fish integrated system

TANG Jinyu^{1,2}, WANG Yan^{3*}, REN Gang^{1,4}, LI Youming^{1,5}

(1. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Suqian 223800, China;

3. Ocean College, Zhejiang University, Zhoushan 316021; China;

4. College of Life Science, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China;

5. College of Fisheries and Life Science, Hainan Tropical Ocean University, Sanya 572022, China)

Abstract: Integrated culture of pearl mussel *Hyriopsis cumingii* and planktivorous fishes, such as *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* is widely used in commercial freshwater pearl mussel farming. Previous studies reported that stocking *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus gibelio* in an integrated system comprising *H. cumingii*, *H. molitrix* and *A. nobilis* and feeding *C. idella* and *C. auratus gibelio* with formulated feed could increase pearl production and mussel growth. At present, the integrated system of pearl mussel, *C. idella*, *C. auratus gibelio*, *H. molitrix* and *A. nobilis* has been widely used as a model for freshwater *H. cumingii* farming. However, the suitable stocking density of *C. idella* and *C. auratus gibelio* remains to be determined. Generally, increasing density of the fishes fed with formulated feed can increase either fish production or waste output, and the increased accumulation of toxic inorganic nitrogen (ammonia and nitrite) and organic

matters can negatively affect health and growth of the farmed *H. cumingii* and fishes. Although microbial products have been recognized as a potential technique to alleviate the environmental impact and enhance the production performance in aquaculture practices, knowledge about application of microbial products in *Hyriopsis cumingii* farming is scarce. In the present study, a 93-day experiment was conducted in land-based enclosures to evaluate the effect of stocking density of the fishes (*C. idella* and *C. auratus gibelio*) fed with formulated feed and effective microorganisms (EM) on structure and function of phytoplankton community in an integrated system of *H. cumingii*, *C. idella*, *C. auratus gibelio*, *H. molitrix* and *A. nobilis*. Four treatments abbreviated as LF0 (20 *C. idella* + 10 *C. auratus gibelio* + 40 mussel + 8 *H. molitrix* + 2 *A. nobilis*), LFA (20 *C. idella* + 10 *C. auratus gibelio* + 40 mussel + 8 *H. molitrix* + 2 *A. nobilis* + EM supplementation), HF0 (40 *C. idella* + 20 *C. auratus gibelio* + 40 mussel + 8 *H. molitrix* + 2 *A. nobilis*), and HFA (40 *C. idella* + 20 *C. auratus gibelio* + 40 mussel + 8 *H. molitrix* + 2 *A. nobilis* + EM supplementation) were established. The pearl mussel included 20 grafted mussel and 20 non-grafted mussel. Each treatment was three replicated, and total 12 enclosures were used. During the experiment, species and biomass of phytoplankton were monitored at the intervals of four weeks, and chlorophyll a (Chl.a) and primary productivity were measured at the intervals of two weeks. Results showed that more than 81 phytoplankton species that belonged to 7 phyla, 32 families and 73 genera were identified. *Microcystis* sp. and *Scenedesmus* sp. dominated in phytoplankton community at the early stage of the experiment, and *Microcystis* sp., *Merismopedia* sp. and *Coelosphaerium* sp. dominated at the later stage. The phytoplankton biomass ranged from 3.2×10^8 to 38.3×10^8 cells/L. No significant differences were found in the species composition of phytoplankton among treatments LF0, LFA, HF0 and HFA. The increase of stocking density of *C. idella* and *C. auratus gibelio* resulted in the increase of phytoplankton biomass and community respiration and the decline of the primary productivity. EM supplementation did not significantly affect species composition and diversity of phytoplankton, but resulted in the decrease of the ratio of blue-green algae to phytoplankton biomass and the increase of the primary productivity. This study reveals that the fishes (*C. idella* and *C. auratus gibelio*) fed with formulated feed should not be stocked at high densities in the mussel-fish integrated system.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; fish; formulated feed; phytoplankton; effective microorganisms; integrated culture

Corresponding author: WANG Yan. E-mail: ywang@zju.edu.cn

Funding projects: National Science and Technology Pillar Program during the Twelfth Five-year Plan Period(2015BA13B04); Zhejiang Provincial Department of Science and Technology Project (2015C32003)