

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.00857

## 草鱼不同混养模式下围隔底泥反硝化、硝化和氨化速率

郭永坚, 王芳, 董双林, 高勤峰, 张美昭, 田相利

中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003

**摘要:** 应用乙炔抑制法测定了草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)不同混养模式围隔底泥的硝化、反硝化和氨化速率, 以探究草鱼不同混养模式对池塘底泥-N元素动态变化的影响, 并为草鱼养殖模式的优化提供必要的参考依据。混养组合分别为一元组(草鱼)、二元组(草鱼+鲢、草鱼+凡纳滨对虾)、三元组(草鱼+鲢+凡纳滨对虾, 设 2 种放养比例)。结果显示: 1)草鱼不同混养模式中底泥的反硝化速率范围为 0~734.15  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 硝化速率范围为 0~1 209.20  $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 氨化速率范围为 0~41.25  $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。2)草鱼不同混养模式底泥的反硝化速率较高, 与很多河口和湖泊数值接近; 在养殖中期, 底泥的硝化速率很小甚至检测不到; 底泥的氨化速率呈逐月递增趋势, 以三元混养组最高。3)混养组中凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的放养密度越大, 草鱼的放养密度越小, 反硝化作用出现得越早, 但反硝化速率很难保持开始的水平; 反之, 反硝化作用出现得较晚, 并会随着养殖周期的推移迅速升高; 放养种类越单一, 底泥的硝化速率越低, 且鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)放养密度越高, 硝化速率越高。从养殖模式优化的角度来看, 草鱼三元混养组要优于单养组和二元混养组, 但三元混养组中两种放养密度各有优劣, 有待进一步优化以确定最佳放养比例。

**关键词:** 草鱼混养池塘; 反硝化速率; 硝化速率; 氨化速率

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)04-0857-10

反硝化作用是湖泊、河流、河口等水域中无机态氮的主要去除方式。近年来, 反硝化作用的研究已引起众多学者的关注, 且多数研究集中于江河口<sup>[1-2]</sup>、湖泊<sup>[3-5]</sup>和海岸带<sup>[6-8]</sup>。对于湿地<sup>[9-10]</sup>和稻田<sup>[11]</sup>等生态系统也有少量研究。而对于养殖水体, 一般认为反硝化作用只占氮收支的很小部分<sup>[12-13]</sup>, 很少对其进行直接测定, 对于混养模式下反硝化作用的研究更是知之甚少。齐振雄等<sup>[14]</sup>研究了中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)不同养殖模式实验围隔中底泥的反硝化速率, 郑忠明等<sup>[15]</sup>研究了刺参(*Apostichopus japonicus*)不同养殖模式底泥的反硝化速率, 结果都发现不同养殖模式下底泥的反硝化作用差异很大。

硝化作用与反硝化作用是两个密不可分的过

程, 通常将之列入共同研究范围。广义上讲, 反硝化作用还包括硝酸盐的氨化过程。本实验采用乙炔抑制法测定了草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)不同混养模式实验围隔底泥的硝化、反硝化及氨化速率, 初步了解多元混养对池塘底质的影响, 以期为草鱼不同混养模式养殖结构的优化提供数据支撑。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验池塘与放养情况

实验于 2009 年 6~10 月在山东省淡水水产研究所进行。围隔建于面积 0.27  $\text{hm}^2$ (90 m×30 m), 平均水深 1.5 m 的淡水池塘中。塘内共设围隔 20 个, 每个围隔面积为 64  $\text{m}^2$ (8 m×8 m), 各设设充气

收稿日期: 2010-11-08; 修订日期: 2011-02-18.

基金项目: 国家“973”课题“养殖池塘生态系统生物功能群优化与水环境调控”(2009CB118706); “泰山学者”建设工程专项  
经费资助项目(JS200510013); 浙江省重大科技专项(2008C02009).

作者简介: 郭永坚(1986-), 男, 硕士研究生, 从事养殖水环境调控方面的研究。E-mail: gyjidhx@hotmail.com

通信作者: 王芳, 教授。E-mail: wangfang249@ouc.edu.cn

石 4 个, 气石通过塑料管连接到池塘岸边一个 2 kW 的充气泵上。实验中投喂“海大牌”草鱼膨化配合饲料。整个实验期间除根据需要补充因渗漏、蒸发及采样而丢失的水以外, 一直不换水。

养殖生物放养情况见表 1。其中, 草鱼和鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)于 2009 年 5 月 25 日放入实验围隔内, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)幼苗于 2009 年 6 月 8 日放入实验围隔。每个放养模式设 3 个重复。

## 1.2 样品的采集、测定与计算

分别在 2009 年 6~10 月(每次均在当月的 11 日前后)采样。于不同实验围隔内采集无扰动底泥样品(采用徐继荣<sup>[16]</sup>设计的无扰动底泥采集器, 采样管可在采样完成之后, 卸下作为培养管使用。 $d=5\text{ cm}$ ,  $h=33\text{ cm}$ )。用有机玻璃采水器采集底层水样。

采用改进的 Do-Hee Kim 方法<sup>[17]</sup>测定沉积物中硝化和反硝化速率。每个围隔内采集 2 管底泥样品(1 管加乙炔, 作为乙炔抑制样, 另 1 管不加乙炔为对照样)。采集的底泥样和底层水样快速带回实验室, 同时将底泥样品的高度调整至 10 cm。将采样管在实验室静置 2 h, 使其充分沉降, 再用虹吸法小心地将上覆水用采集的底层水(用医用纱布过滤)置换掉, 培养管内的水柱约 20 cm。用橡胶塞(配有磁力搅拌子)密封培养管的上下管口。

使用 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 抑制法进行反硝化培养。用 30 mL 乙炔饱和的底层水取代培养管内的底层水, 以使得乙炔抑制样的水相乙炔体积分数达到 10%。另

外, 为抑制底泥内氧化亚氮还原酶的作用, 采用 100 μL 微量注射器透过培养管壁(预先打孔并用硅胶垫填充, 可反复穿刺上百次)沿底泥的垂直方向, 每隔 1 cm 注入 300 μL 被乙炔充分饱和的底层水。培养管置于水浴培养箱(徐继荣设计)中, 开始培养实验, 培养 4 h。位于培养箱中央的磁力搅拌器带动每个培养管内的磁力搅拌子(位于底泥上方 7 cm 处), 缓慢匀速地搅动, 使得培养管内 DO 和营养盐均匀分布。

培养结束后, 立即取样用于测定 N<sub>2</sub>O, 按照取溶解氧的方法采集培养管中的水到 60 mL 玻璃瓶中, 加入 0.3 mL 饱和 HgCl<sub>2</sub> 溶液, 以固定水样, 小心操作避免出现气泡。剩余的水样用 0.45 μm 滤膜过滤, 保存于 30 mL 白色聚乙烯塑料瓶中, 在 -20℃ 下冷冻保存, 用于测定 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>含量(AAIII型流动分析仪测定)。

实验结束后, N<sub>2</sub>O 水样由南京土壤所采用顶空气相色谱法测定, 采用 Terry 等<sup>[18]</sup>提供的公式计算水中溶解的 N<sub>2</sub>O 的浓度, 室温下 Bunsen 吸收系数( $\beta$ )为 0.567。

硝化速率、反硝化速率、氨化速率计算公式如下:

$$\nu = \frac{\Delta C \cdot V}{A \Delta t}$$

式中  $\nu$  为硝化速率、反硝化速率或氨化速率;  $V$  为上覆水的体积(m<sup>3</sup>);  $A$  为有机玻璃管的横截面积(m<sup>2</sup>);  $\Delta t$  为培养时间(d)。

计算硝化速率时,  $\Delta C$  为对照样和乙炔样中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>浓度的变化(mmol/L); 计算反硝化速率

表 1 不同养殖模式下养殖生物的放养密度及比例  
Tab.1 Stocking density and stocking ratio in different farming models

养殖模式 farming model	草鱼/(kg·m <sup>-2</sup> ) <i>C. idellus</i>	鲢/(kg·m <sup>-2</sup> ) <i>H. molitrix</i>	对虾/(g·m <sup>-2</sup> ) <i>L. vannamei</i>	放养比例(C H L) stocking ratio(C H L)			
				C	H	L	
G	0.148				1.0	0.0	0.0
GS	0.122	0.036			0.8	0.2	0.0
GL	0.126		1.27		0.8	0.0	0.2
GSL1	0.121	0.009	0.64		0.8	0.1	0.1
GSL2	0.093	0.047	1.91		0.6	0.3	0.1

注: “C H L”指草鱼:鲢:对虾质量比。

Note: “C H L” refer to *Ctenopharyngodon idellus*: *Hypophthalmichthys molitrix*: *Litopenaeus vannamei* on weight basis.

[ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ ]时, 为参照样和乙炔样中  $\text{N}_2\text{O}$  浓度的变化( $\text{nmol/L}$ ); 计算氨化速率 [ $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ ]时,  $\Delta C$  为未经培养样和乙炔样中  $\text{NO}_3^-$  浓度的变化( $\text{mmol/L}$ )。

硝化速率、反硝化速率和氨化速率如果按上述公式计算结果为负值, 均视为 0<sup>[17]</sup>。

同时, 测定各月采样时围隔底层水水质指标和底泥有机质含量。水质指标的测定方法参照《中国环境保护标准汇编 水质分析方法》<sup>[19]</sup>, 底泥有机质含量采用德国 Vario ELIII 元素分析仪测定。

### 1.3 数据分析

采用 SPSS13.0 软件进行数据统计分析。不同养殖模式围隔中反硝化、硝化和氨化速率先做单因素方差分析(one-way ANOVA), 通过 Duncan 比对以比较单个月份内不同养殖模式间的差异, 不同小写字母表示同一月份内不同模式间存在显著差异, 未标或者相同字母代表差异不显著。方差分析前先进行方差齐性检验, 以  $P < 0.05$  作为差异显著水平。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同养殖模式下围隔底泥的反硝化速率

实验期间不同养殖模式下底泥的反硝化速率范围为 0~734.15  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ (图 1), 各组分别对整个养殖周期中的反硝化速率取平均值, 其范围在 13.91~147.62  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。

6 月份所有围隔底泥均未检测到反硝化作用。7 月份除 G 组外, 其余各组均能检测到反硝化作用。其中, GS 组反硝化速率最低, 仅为 0.15  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 而 GL 组则出现较高的反硝化速率, 达到 78.12  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。而三元混养组则介于两者之间。8 月份 G 组仍未检测到反硝化作用, 其余各组的反硝化速率在 3.77~11.79  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 无显著性差异, 但整体水平高于 7 月份。GS 组的反硝化速率仍最低。9 月份 G 组出现较低的反硝化速率, 为 3.93  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ ; GSL1 组达到 45.22  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 为全组最高。10 月份除 GL 组外, 各组的反硝化速率基本都达到最高值, 且 G 组的反硝化速率在各处理组中达到最高。

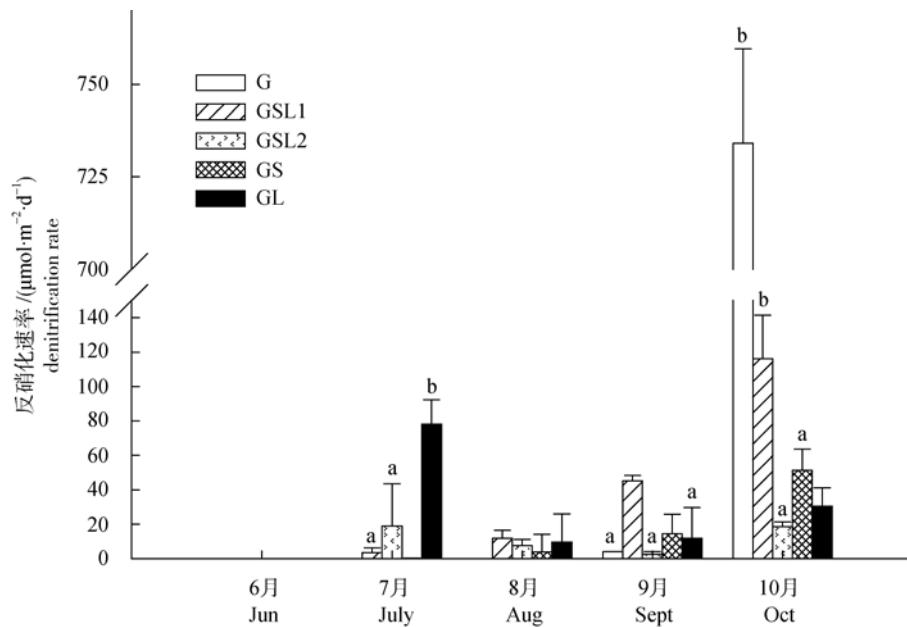


图 1 不同养殖模式下底泥的反硝化速率

G、GSL1、GSL2、GS、GL 分别代表不同的养殖模式, 详见表 1。柱图上方不同字母表示同一个月不同组之间反硝化速率存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig.1 denitrification rates of sediment in different farming models

G, GSL1, GSL2, GS and GL mean different farming models, referring to tab.1 for details. Different letters on the columns mean significant difference in denitrification rate among groups for every month ( $P < 0.05$ ).

## 2.2 不同养殖模式下围隔底泥的硝化速率

实验期间不同养殖模式下底泥的硝化速率范围为 0~1 209.20 mmol/(m<sup>2</sup>·d)(图 2), 各组分别对整个养殖周期的硝化速率取平均值, 其范围为 59.67~147.62 mmol/(m<sup>2</sup>·d)。

6 月份: GSL2 组未检测到硝化作用, G、GSL1 有较高的硝化速率, GS、GL 的硝化速率则相对较小; 7、8 月份各组均未检测出硝化作用; 9 月份 GSL1、GS 和 GL 组开始有较小的硝化速率出现 [3.21~13.03 mmol/(m<sup>2</sup>·d)]; 10 月份除 G 组硝化速率依旧为 0 以外, 各组均达到几个月来的最高值, 其中 GSL1 组达到 1 209.20 mmol/(m<sup>2</sup>·d)。就每个处理组的逐月变化来看, G 组仅 6 月份有较高的硝化速率, 其后均检测不到硝化作用; GSL2 组则直到 10 月份才出现较高的硝化速率。

## 2.3 不同养殖模式下围隔底泥的氨化速率

实验期间不同养殖模式下底泥的氨化速率范围为 0~41.25 mmol/(m<sup>2</sup>·d) (图 3), 各组分别对整个养殖周期的氨化速率取平均值, 其范围为 6.20~

21.88 mmol/(m<sup>2</sup>·d)。

6 月份, GSL1 组、GSL2 组和 GS 组底泥的氨化速率均为 0, G 组和 GL 组出现了较低的氨化速率; 7 月份, 各组的氨化速率都有不同程度的上升, 且 GSL1 组和 GSL2 组均出现了较高值; 8 月份各组的氨化速率均有不同程度的下降, 但相对而言 GSL2 组值较高; 9 月份各组的氨化速率又有一定的回升; 10 月份各组的氨化速率均较高, 其中 GSL1 组和 GSL2 组为最高。

## 2.4 不同养殖模式下围隔底层水质和底质

实验期间不同养殖模式下围隔底层水质的变化情况见表 2。

从表 2 可以看出, 6 月份 DO 为 4.98~6.40 mg/L, 为整个养殖过程中 DO 最高的月份; 可利用的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度(指 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的总浓度, 下同)仅为 0.17~0.42 mg/L, 为养殖过程中最低值。10 月份各组 DO 为 1.38~1.81 mg/L, 均为养殖过程中最低值; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度也非常低, 仅仅略高于 6 月份。而 7~9 月份 DO 值居于 6 月和 10 月两月之间, 可利

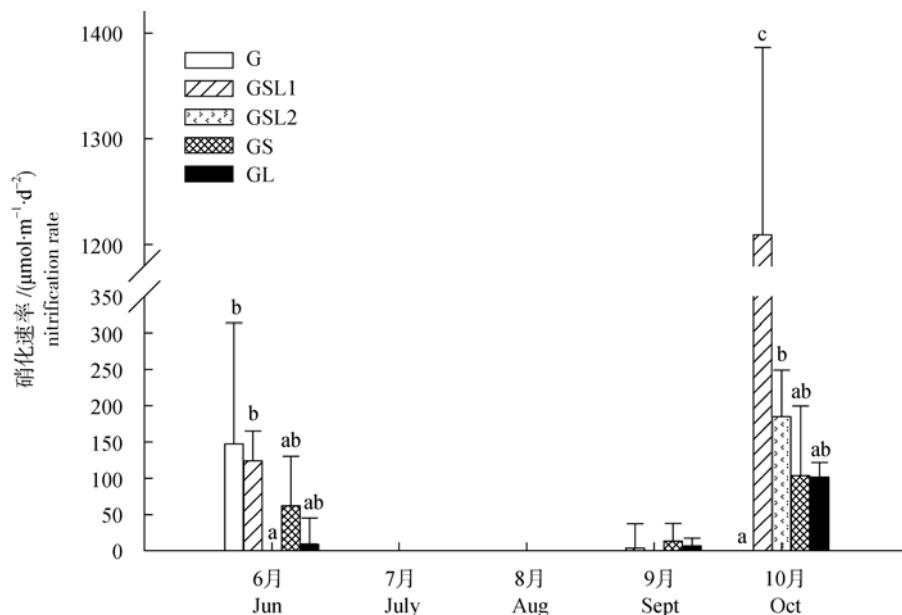


图 2 不同养殖模式下底泥的硝化速率

G、GSL1、GSL2、GS、GL 分别代表不同的养殖模式, 详见表 1.柱图上方不同字母表示同一个月不同组之间硝化速率存在显著差异( $P<0.05$ )。

Fig. 2 Sediment nitification rates in different farming models

G, GSL1, GSL2, GS, GL means different farming models, refer to the Tab.1 for details. Different letters on the columns mean significant difference in nitification rate among groups for every month ( $P<0.05$ ).

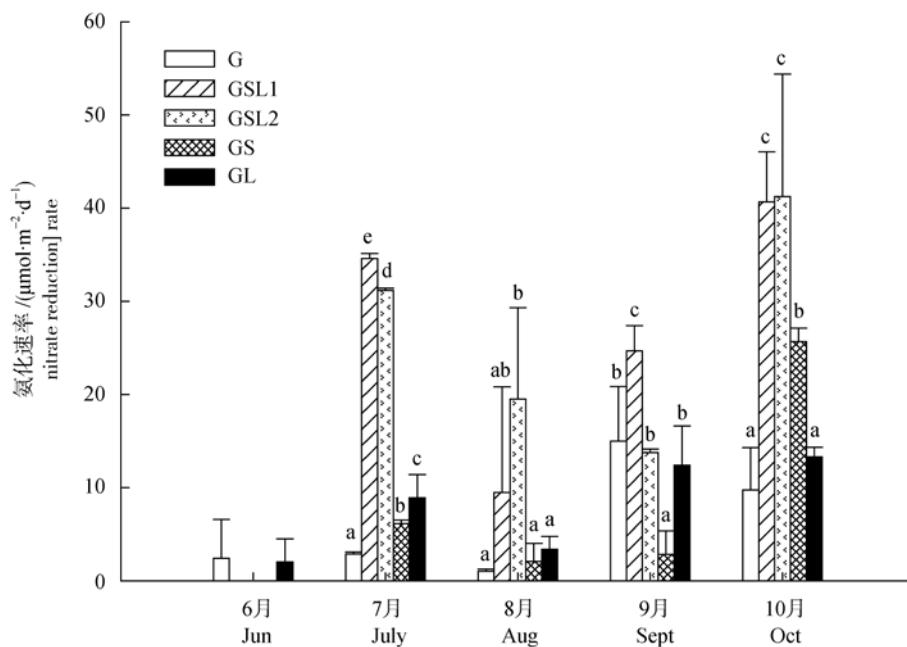


图3 不同养殖模式下底泥的氨化速率

G、GSL1、GSL2、GS、GL 分别代表不同的养殖模式, 详见表 1。柱图上方不同字母表示同一个月不同组之间氨化速率存在显著差异( $P<0.05$ )。

Fig. 3 Sediment ammonification rates in different farming models

G, GSL1, GSL2, GS, GL means different farming models, referring to tab.1 for details. Different letters on the columns mean significant difference in nitrate reduction rate among groups for every month ( $P<0.05$ )。

用的  $\text{NO}_3^-$  浓度也较高。每个月中不同模式下水温差别非常小, 但各月之间水温差别很大, 从 6 月的  $25^\circ\text{C}$ , 到 7、8 月的  $30^\circ\text{C}$ , 到 9、10 月份又降到  $20^\circ\text{C}$  左右。在整个养殖过程中, 三元混养组 (GSL1、GSL2) 的  $\text{NH}_4^+$  浓度一般高于其他各组, 而二元混养组 GL 的  $\text{NH}_4^+$  浓度在各模式下处于最低。

从表 3 中可以看出: 在不同养殖模式下, 养殖后期(9月、10月)底泥干物质中 C、N、P 的含量明显增加, 而各月中, 不同组之间的含量差异不明显。本实验池塘内底泥有机碳含量偏高。

## 2.5 相关性分析

相关性分析表明: 反硝化速率与水体  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  浓度相关性不显著, 而与 TN、TP 显著相关; 氨化速率与  $\text{NH}_4^+$  浓度极显著正相关, 与 DO 值极显著地负相关, 与 TN、TP 显著相关; 硝化速率与  $\text{NH}_4^+$  浓度显著正相关, 与 TC、TP 的相关性也较高。各种速率与温度均呈现不明显的负相关性(表 4)。

相关性分析表明: 反硝化速率与硝化速率及

氨化速率显示出不明显的正相关性, 而硝化速率与氨化速率则显著正相关(表 5)。

## 3 讨论

### 3.1 草鱼不同养殖模式下围隔底泥与其他生态系统中反硝化速率、硝化速率和氨化速率的比较

养殖期间各实验围隔的反硝化速率范围为  $0\sim734.15 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ , 通过与其他生态系统(表 6)中的反硝化速率比较不难看出, 远高于刺参养殖围隔, 亦远低于对虾不同养殖试验围隔, 而与很多河口、湖泊的反硝化速率接近。

实验测得的硝化速率范围为  $0\sim1209.20 \text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ , 高于珠江口沉积物的硝化速率 [ $0.32\sim2.43 \text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ]<sup>[20]</sup>, 更高于大亚湾沉积物的硝化速率范围 [ $0\sim4.68 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ]<sup>[27]</sup>; 氨化速率范围在  $0\sim41.25 \text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ , 高于珠江口沉积物 [ $4.17\sim13.06 \text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ], 更高于海参养殖池塘 [ $0\sim21.916 \text{ mg}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ]<sup>[15]</sup>。

表2 草鱼不同养殖模式下池塘底层水的水质指标

Tab.2 Mean concentrations of ammonium, nitrate, nitrite, dissolved oxygen (DO) and water temperature in different farming models  
mg/L

养殖模式 farming model	DO	$\text{NO}_3^-$ -N	$\text{NO}_2^-$ -N	$\text{NH}_4^+$ -N	温度/°C temperature
六月 June					
G	6.40	0.18	0.14	2.13	25.9
GSL1	5.95	0.12	0.05	2.29	25.9
GSL2	6.39	0.16	0.06	2.05	25.9
GS	4.98	0.11	0.07	1.42	25.9
GL	5.69	0.13	0.29	2.07	25.9
七月 July					
G	2.92	0.34	0.01	0.74	29.8
GSL1	2.90	0.22	0.01	3.19	29.8
GSL2	2.23	0.23	0.01	2.12	29.9
GS	2.57	0.20	0.00	2.17	29.9
GL	2.50	0.31	0.12	0.75	29.9
八月 Aug.					
G	3.44	0.68	0.03	1.37	30.1
GSL1	2.69	1.70	0.46	3.40	30.3
GSL2	2.84	0.35	0.12	3.55	30.1
GS	4.07	0.63	0.08	2.90	30.1
GL	3.12	0.45	0.12	2.42	30.1
九月 Sept.					
G	5.11	0.49	0.12	3.10	21.7
GSL1	4.46	1.17	0.13	3.01	21.1
GSL2	3.64	0.33	0.11	4.33	21.5
GS	3.23	0.75	0.10	2.62	21.5
GL	3.70	0.65	0.26	1.72	21.3
十月 Oct.					
G	1.38	0.13	0.22	3.52	19.6
GSL1	1.53	0.19	0.17	5.09	19.7
GSL2	1.40	0.29	0.03	5.45	19.6
GS	1.46	0.29	0.24	4.01	19.6
GL	1.81	0.20	0.22	1.85	19.6

注: G、GSL1、GSL2、GS、GL 分别代表不同的养殖模式, 详见表 1。

Note: G, GSL1, GSL2, GS and GL mean different farming models, referring to tab.1 for details.

### 3.2 草鱼不同养殖模式对底泥反硝化、硝化以及氨化作用的影响

大量研究表明, 水温升高, 硝化速率也相应升高。但本实验中, 在养殖的中期硝化速率很小甚至检测不到, 可能是由于硝化细菌对环境因子很敏感<sup>[30]</sup>, 实验中期水温过高, 超出硝化细菌生长所需的适宜范围, 故反而对其抑制。养殖末期, 三元混养组(GSL1、GSL2)的硝化速率高于二元混

养组(GS、GL), 而草鱼单养组(G)硝化速率为 0。由此可见, 混养模式的不同对硝化速率的影响显著。鲢的滤食降低了浮游藻类的生物量, 使得在整个养殖过程中, 三元混养组(GSL1、GSL2)的水体  $\text{NH}_4^+$  浓度整体高于其他组, 硝化反应的原料比较充裕; 对虾对底泥的扰动作用可能会增加沉积物-水界面的有效表面积, 使单位面积内的硝化细菌数目增多。当鲢和对虾的比例维持在一个均衡

的情况下时, 硝化速率可能就比较高, 这可能就是GSL1的硝化速率明显高于其他组的原因(白鲢与对虾的比例接近1:1)。而GL组中没有鲢,

$\text{NH}_4^+$ 浓度较低, 其硝化速率也相对较低。

由于硝化作用与反硝化作用间存在着很高的程度的耦合<sup>[31-32]</sup>, 水中可利用 $\text{NO}_3^-$ 浓度与反硝化速

表3 草鱼不同养殖模式底泥干物质中有机质含量

Tab.3 Organic matter mean contents of dry sediments in different farming models for grass carp

项目 item	测定时间 testing time	养殖模式 farming model					%
		G	GS	GL	GSL1	GSL2	
TC	六月 June	4.91	4.69	4.64	4.61	4.75	
	七月 July	4.20	4.75	4.33	4.69	4.77	
	八月 Aug.	4.32	4.98	4.23	4.98	5.00	
	九月 Sept.	4.96	5.42	5.16	5.17	5.39	
	十月 Oct.	5.37	5.53	5.25	5.25	5.28	
TN	六月 Jun	0.26	0.26	0.25	0.27	0.24	
	七月 July	0.23	0.25	0.24	0.27	0.26	
	八月 Aug	0.23	0.27	0.23	0.23	0.28	
	九月 Sept	0.28	0.33	0.32	0.33	0.34	
	十月 Oct	0.37	0.34	0.35	0.34	0.34	
TP	六月 Jun	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
	七月 July	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	
	八月 Aug	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	
	九月 Sept	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	
	十月 Oct	0.08	0.08	0.07	0.08	0.07	

注: G、GSL1、GSL2、GS、GL 分别代表不同的养殖模式, 详见表 1.

Note: G, GSL1, GSL2, GS, GL means different farming models, refering to tab.1 for details.

表4 养殖围隔底泥反硝化速率、硝化速率、氨化速率与理化因子的相关性分析

Tab.4 Correlation of the denitrification, nitrification and ammonification rates with physical and chemical factors

相关系数 pearson's correlation	$\text{NO}_3^-$ -N	DO	$\text{NH}_4^+$ -N	TC	TN	TP	温度/°C temperature
反硝化速率 denitrification rates	-0.08	-0.365	0.199	0.34	0.468*	0.463*	-0.342
氨化速率 nitrification rates	-0.042	-0.576**	0.686**	0.351	0.404*	0.464*	-0.354
硝化速率 ammonification rates	-0.145	-0.245	0.463*	0.382	0.317	0.394	-0.363

注: \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

Note: \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

表5 养殖围隔底泥反硝化速率、硝化速率、氨化速率三者之间的相关性分析

Tab.5 Correlation among the rates of denitrification, nitrification and ammonification in the sediments of different farming models for grass carp

相关系数 pearson's correlation	反硝化速率 denitrification rates	氨化速率 nitrification rates	硝化速率 ammonification rates
反硝化速率 denitrification rate	1.000	0.054	0.072
氨化速率 nitrification rate	0.054	1.000	0.475 *
硝化速率 ammonification rate	0.072	0.475 *	1.000

注: \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

Note: \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

表6 国内外不同区域底泥中反硝化速率的比较  
Tab.6 Comparison of daily denitrification rates in sediments among different countries and regions

位 置 location	反硝化速率/(μmol·m <sup>-2</sup> ·d <sup>-1</sup> ) denitrification rates	方法 method
河口 estuaries	长江口崇明东滩 <sup>[1]</sup> the east Chongming tidal flat	1.12~34.09
	珠江口入海河段 <sup>[20]</sup> the near sea section of Pearl River	30~840
	Tagus estuary <sup>[21]</sup>	20~250
	Lawrence estuary <sup>[22]</sup>	1.8~3.3
	Humber estuary <sup>[23]</sup>	1.2±1.1~10±0.7
湖泊 lakes	Okeechobee <sup>[24]</sup>	2~25
	Hampen <sup>[25]</sup>	5~50
	太湖梅梁湾 <sup>[26]</sup> the Meiliang Bay of lake Taihu	16.34~46.36
海岸带 coastal marine	大亚湾海域 The Daya Bay <sup>[27]</sup>	0~2.88
	珠江口淇澳岛海岸 <sup>[8]</sup> Qi'ao island coastal zone, Pearl River estuary	239.92~707.74
	Four League Bay <sup>[28]</sup>	2~74
	Arabian Sea(ocean stations) <sup>[29]</sup>	(9.1±1.0) nmol/(L·d)
	Arabian Sea(coastal stations) <sup>[29]</sup>	(33.2±12.4) nmol/(L·d)
养殖池塘 culture ponds	对虾不同养殖实验围隔 <sup>[14]</sup> different shrimp polyculture enclosures	0.212~6.490 mg/(m <sup>2</sup> ·d)
	刺参不同养殖实验围隔 <sup>[15]</sup> different sea cucumber polyculture enclosures	0~3.03
	草鱼不同混养实验围隔(本次实验) different grass carp polyculture enclosures(this experiment)	0~734.15
		ATI

注: ATI 指乙炔抑制法, IPT 指同位素配对技术。

Note: ATI refer to acetylene inhibition technique, while IPT refer to Isotope pairing technique.

率呈现正相关的关系。G 组和 GL 组 6 月硝化速率较低, 导致沉积物中可利用  $\text{NO}_3^-$  的降低, 可能正是由于这个原因使得反硝化速率也比较低。养殖初期水体底层主要是对虾耗氧, 因而 DO 浓度较低, 当可利用的  $\text{NO}_3^-$  浓度合适时, 较早地出现反硝化作用。而随着养殖时间的推移, 草鱼对底层耗氧的贡献值增大, 因此草鱼放养密度大的模式在养殖后期的反硝化速率会迅速升高。

齐振雄等<sup>[14]</sup>对中国明对虾不同混养模式下实验围隔(海水池塘)的反硝化速率研究结果显示, 二元混养组(对虾+缢蛏、对虾+扇贝)以及对虾单养组之间差异不大, 而三元混养组(对虾+罗非鱼+缢蛏)的反硝化速率明显高于单养组和二元组, 这可能是由于罗非鱼对水体底层耗氧的影响所致, 这一点与本实验中草鱼放养密度大而使得养殖后

期反硝化速率升高相似。

而郑忠明等<sup>[26]</sup> 对刺参不同养殖模式下反硝化速率、硝化速率的部分研究显示的规律则与上述规律有所不同: 围隔底泥的硝化速率明显低于其他已报道文献; 投饵情况下反硝化速率在养殖前期为 0, 养殖后期则随着刺参放养密度的增加而降低, 这可能是由于刺参摄食的底泥有机质超过排泄活动所增加的有机质, 使得养殖后期底泥中有机质含量偏低, 使得硝化速率和反硝化速率都有不同程度的降低。

一般认为, 在碳源丰富的环境中, 当电子受体缺乏时, 氨化作用与反硝化过程竞争电子受体, 并且更占优势<sup>[33~34]</sup>。其后研究也发现, 在鱼类养殖池塘沉积物中, 反硝化速率非常低, 进一步验证了这一推断<sup>[35]</sup>。本实验环境碳源丰富, 氨化速

率也相对较高。此外, 随着养殖种类的增多, 养殖密度的增大, 养殖生物的排泄物对底泥的影响也逐渐增大, 这可能也是三元混养模式明显高于一元、二元模式的原因, 这一点与刺参不同养殖模式下氨化速率规律(投饵模式下氨化速率普遍大于非投饵模式)<sup>[15]</sup>相似。

综上所述, 不同养殖模式对底泥反硝化速率、硝化速率、氨化速率影响显著。三元混养模式(GSL1、GSL2)下, 鲢的滤食作用起到对水质的净化和对虾的扰动作用, 后者促进了底泥-水界面的物质交换, 增加了沉积物-水界面的有效表面积; 氨化速率虽然比较高, 但由于保持了较高的硝化速率, 使得水体  $\text{NH}_4^+$  浓度得到有效地控制, 并通过与反硝化作用的偶联降低水体中 N 的负荷。因此, 从养殖模式优化的角度来看, 三元混养组优于二元混养组和草鱼单养组。而就三元混养而言, GSL1 和 GSL2 各有优劣, 有待进一步优化。

#### 参考文献:

- [1] 王东启, 陈振楼, 许世远, 等. 长江口崇明东滩沉积物反硝化作用研究[J]. 中国科学(D辑), 2006, 36(6): 544–551.
- [2] 李佳霖, 白洁, 高会旺, 等. 长江口海域夏季沉积物反硝化细菌数量及反硝化作用[J]. 中国环境科学, 2009, 29(7): 756–751.
- [3] 钟继承, 刘国锋, 范成新, 等. 湖泊底泥疏浚环境效应研究: II. 内源氮释放控制作用[J]. 湖泊科学, 2009, 21(3): 335–344.
- [4] Hamersley M R, Woebken D, Boehrger B, et al. Water column anammox and denitrification in a temperate permanently stratified lake (Lake Rassnitzer, Germany) [J]. System Appl Microbiol, 2009, 32(8): 571–582.
- [5] Spooner D R, Maher W. Benthic sediment composition and nutrient cycling in an intermittently closed and open lake Lagoon [J]. J Mar Syst, 2009, (1-2): 33–45.
- [6] Patel A B. Benthic denitrification and organic matter mineralization in intertidal flats of an enclosed coastal inlet, Ago Bay, Japan [J]. Mar Pollut Bull, 2008, 57(1-5): 116–124.
- [7] Monica P, Marco B, Daniele L, et al. Benthic metabolism and denitrification in a river reach: a comparison between vegetated and bare sediments [J]. Benth Veget Metabol River Reach, 2009, 68(1): 133–145.
- [8] 章超梅, 周怀阳, 吴自军, 等. 珠江口淇澳岛海岸带反硝化作用研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(2): 74–79.
- [9] 廖晓数, 贺峰, 徐栋, 等. 低 C/N 对湿地中硝化反硝化作用的影响[J]. 中国环境科学, 2008, 28(7): 603–607.
- [10] 杨琼, 李刚, 谭凤仪, 等. 红树林人工湿地硝化和反硝化作用研究[J]. 海洋技术, 2009, 28(3): 62–65.
- [11] 徐玉裕, 曹文志, 黄一山, 等. 五川流域农业土壤反硝化作用测定及其调控措施[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3): 1126–1131.
- [12] Riise J C, Roos N. Benthic metabolism and the effects of bioturbation in a fertilised polyculture fish pond in northeast Thailand [J]. Aquaculture, 1997, 150: 45–62.
- [13] Briggs M R P, Funge-Smith S J A. nutrient budget of some intensive marine shrimp ponds in Thailand [J]. Aqu. Fish Manage Man, 1994, 25: 789–811.
- [14] 齐振雄, 张曼平, 李德尚, 等. 对虾养殖实验围隔中的解氮作用氮输出[J]. 海洋学报, 1999, 21(6): 130–133.
- [15] 郑忠明. 刺参养殖池塘沉积物 - 水界面营养盐通量的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [16] 王友绍, 徐继荣. 一种无边界扰动的单管沉积物采样器: 中国, 200410026847.3 [P]. 2004-04-13.
- [17] Do-Hee K, Osamu M, Tamiji Y. Nitrification, Denitrification and Nitrate Rates in the Sediment of Hiroshima Bay [J]. J Oceanogr, 1997, 53: 317–324.
- [18] Terry R E, Tate R L, Duxbury J M. The effect of flooding on nitrous oxide emissions from an organic soil [J]. Soil Sci, 2007, 132: 228–232.
- [19] 中国标准出版社第二编辑室. 中国环境保护标准汇编 水质分析方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [20] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 等. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用[J]. 环境科学学报, 2005, 25(5): 686–692.
- [21] Cabrita M T, Brotas V. Seasonal variation in denitrification and dissolved nitrogen fluxes in intertidal sediments of the Tagus Estuary, Portugal [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2000, 202: 51–65.
- [22] Wang F H, Juniper S K, Pelegri S P, et al. Denitrification in sediments of the Laurentian Trough, St. Lawrence Estuary, Québec, Canada [J]. Estuar Coast Shelf Sci, 2003, 57(3): 515–522.
- [23] Barnes J, Owens N J P. Denitrification and nitrous oxide concentrations in the Humber Estuary, UK, and adjacent coastal zones [J]. Mar Pollut Bull, 1998, 37(3-7): 247–260.
- [24] Messer J, Brezonik P L. Comparison of denitrification rate estimation techniques in a large, shallow lake [J]. Water Res, 1983, 17: 631–640.

- [25] Christensen P B, Sbrensen J. Temporal variation of denitrification activity in plant-covered littoral sediment from Lake Hampsen, Denmark [J]. Appl Environ Microbial, 1986, 51: 1174–1179.
- [26] 徐徽, 张路, 商景阁, 等. 太湖梅梁湾水土界面反硝化和厌氧氨氧化[J]. 湖泊科学, 2009, 21(6): 775–781.
- [27] 徐继荣, 王友绍, 王清吉, 等. 大亚湾海域沉积物中的硝化与反硝化作用[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(3): 206–211.
- [28] Smith C J, Delaune R D, Patrick W H. Fate of riverine nitrate entering an estuary: I. Denitrification and nitrogen burial [J]. Estuaries, 1985, 8: 15–21.
- [29] Devol A H, Uhlenhopp A G, Naqvi S W A, et al. Denitrification rates and excess nitrogen gas concentrations in the Arabian Sea oxygen deficient zone [M]. Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Res Papers, 2006, 53 (9): 1533–1547.
- [30] Mennerich A, Albers H. Nitrification/denitrification of landfill leachates [J]. Water Supp, 1988, 6: 157–166.
- [31] DeLaune R D, Smith C J. Simultaneous Determination of Nitrification and Nitrate Reduction in Sediment-Water Columns by Nitrate-15 Dilution [J]. J Environ Qual, 1987, 16: 227–230.
- [32] Victor H R M, Peter L, Robert R T, et al. Denitrification in coastal Louisiana: A spatial assessment and research needs [J]. J Sea Res, 2010, 63(3-4): 157–172.
- [33] Nishio T, Koike L, Hattori A. Estimates of denitrification and nitrification in coastal and estuarine sediments [J]. Appl Environ Microbio, 1983, 49: 444–450.
- [34] Tiedje J M. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium [Z]. In: Zehnder, A J B (Ed.). Biology of Anaerobic Microorganisms. Wiley, New York, 1988: 179–244.
- [35] Hall P O J, Holby O, Kollberg S, et al. Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm.IV. Nitrogen [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1992, 89: 81–91.

## Benthic denitrification, nitrification, and nitrate reduction rates in a range of grass carp polyculture enclosures

GUO Yongjian, WANG Fang, DONG Shuanglin, GAO Qinfeng, ZHANG Meizhao, TIAN Xiangli

The Key Laboratory of Mariculture of the Education Ministry, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

**Abstract:** We measured denitrification, nitrification, and ammonification rates in the pond sediment of several systems for the polyculture of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) using AIT (acetylene inhibition). The rates of denitrification, nitrification, and ammonification ranged from 0–734.15  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 0–1209.20  $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , and 0–41.25  $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , respectively. The denitrification rates were relatively high, and were similar to those measured in estuaries and pools. The nitrification rates were either very low or undetectable during the mid-period of culture. The ammonification rates increased each month in all systems, but were highest in the triple polyculture system. A higher ratio of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to grass carp was associated with an earlier increase in denitrification. However, the system was unable to maintain this level of nitrification. Conversely, a higher abundance of grass carp resulted in a delayed increase in denitrification, but a more rapid, and sustained increase during the culture period. In general, cultures with fewer species had lower rates of nitrification and cultures with a higher proportion of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) had higher rates of nitrification. The polyculture group (shrimp, grass carp, and silver carp) outperformed the monoculture triple group (shrimp only) and the binary groups (grass carp and shrimp or grass carp and silver carp). We tested two stocking densities of the polyculture group, but it is unclear which of these groups performed best. The objective of the present study is to access the effects of different poly culture systems of grass carp on the dynamic changes of N at the ponds sediment-water interface, and to provide a certain basis for the further optimize of polyculture models.

**Key words:** grass carp polyculture system; denitrification; nitrification; ammonification

**Corresponding author:** WANG Fang. E-mail.wangfang249@ouc.edu.cn