

有益微生物在大海马健康养殖中的应用研究

吕军仪¹, 孙燕燕¹, 李秉记², 吴金英¹, 黄克², 陈琳²

(1. 中山大学生命科学院, 广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东广州 510275;

2. 广东中大亿达洲生物科技股份有限公司, 广东陆丰 516500)

摘要:实验用复合微生物由芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)、红螺菌(*Rhodospirillum* spp.)、硝化细菌(*Nitrobacter* spp.)和硫化细菌(*Thiobacillus* spp.)组成,菌量比例分别为61.5%、27.3%、5.8%和5.4%。向大海马养殖池每10 d使用1次,用量5 mL/m³,菌液密度(2.0~2.5)×10⁹/mL。结果表明,应用复合微生物的试验组溶解氧比对照组(不加菌)提高了32.7%,氨氮、亚硝酸盐和硫化物含量则分别降低了76.9%、97.1%和93.3%。对照池的浮游藻类优势种为蓝藻、甲藻和隐藻,分别占浮游植物总量的35.3%、22.3%和19.6%;试验池的浮游藻类优势种为绿藻和硅藻,分别占69.0%和26.8%,其藻类多样性指数比对照组增大了1.2倍。试验池的异养菌增长率为55.3%,而对照池的异养菌增长率达274.6%。试验期间,水温23~26℃,试验组的芽孢杆菌的数量从0.15×10³ CFU/mL急剧增至55.63×10³ CFU/mL,但对照组的仍保持在(0.13~0.38)×10³ CFU/mL的水平。而试验组弧菌数量比对照池的降低了2个数量级。

关键词:有益微生物;大海马;健康养殖

中图分类号:S963.21.1 **文献标识码:**A

文章编号:1005-8737(2003)01-046-05

20世纪90年代以前,有益微生物(Profitable microbe)在水产养殖中的应用已有报道^[1]。近年来有关这方面的报道大多集中于对虾养殖的应用研究^[2-6]。以芽孢杆菌为主导菌的微生物复合菌在改善养殖水体环境质量和维持养殖水生动物消化道微生境的生态平衡,提高养殖动物免疫能力,降低发病率,促进动物生长等方面的作用引起了水产学界的重视^[7-10]。这类有益微生物具有促进对水产养殖中产生的有机污物的降解、能量转化、资源的再生利用以及高效、无污染、低成本的特点,在无公害水产品的生产、开发和生态环境保护中发挥着重要作用^[11-12]。但对这类微生物作用机理的报道以综述居多,在的大海马健康养殖中的应用基础研究方面还

未见报道。作者于1998年进行了由芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)、红螺菌(*Rhodospirillum* spp.)、硝化细菌(*Nitrobacter* spp.)和硫化菌(*Thiobacillus* spp.)组合的复合微生物在的大海马养殖过程中的应用试验,探讨它们对养殖水体理化因子、生物因子和大海马生长的影响。

1 材料与方法

1.1 大海马

取自本试验场夏季培养的2月龄中海马:体长40.4~50.3 mm,平均(44.3±2.65) mm,体重2.15~3.38 g,平均(2.68±0.67) g。放养密度:100尾/m³。

1.2 试验池

水泥池,规格:4.0 m×6.0 m×1.6 m,共有12个。每1个试验项目设3个平行组,并设对照组。试验用的海水先经抽水机进入沉淀池,经2次砂滤后进入试验池,试验期间充气,不换水,水温23~26℃。

1.3 试验有益微生物种类组成和用量

试验微生物由芽孢杆菌、红螺菌、硝化细菌、硫化菌(上述各菌种均由广东省微生物所提供)组成,其菌量比例分别为61.5%、27.3%、5.8%和5.4%;每10 d使用1次,用量为5 mL/m³,复合菌液含菌

收稿日期:2002-03-18.

基金项目:国家“八六三”资助项目(2002AA624010);广东省重点科研课题资助项目(99M03201G);广东省海洋与渔业局重点科技课题资助项目(粤海洋科[1995]15号)。

作者简介:吕军仪(1944-),男,教授,从事海洋生物养殖、养殖生态学与控制研究。Tel:020-84113428, E-mail:ls61@zsu.edu.cn

通讯作者:李秉记。

量: $(2.0 \sim 2.5) \times 10^9/\text{mL}$ 。

1.4 环境因子检测方法

从1998年9月20日至10月20日,每5 d检测1次。检测项目及方法:溶解氧(碘量法)、氨氮(奈氏比色法)、亚硝酸盐(萘胺盐酸比色法)、硫化物(二甲氨基苯胺法)、酸碱度(PHS-30I酸度计)^[13]。浮游单胞藻类(采集水样500 mL,加碘固定沉淀后,浓缩至50 mL,取混匀后的浓缩样1 mL,用血球计数板直接计数,进行定性和定量分析);异养细菌(2216 F培养基)、硝化细菌(专用培养基)、芽孢杆菌(专用培养基)和弧菌(TCBS培养基),先倒平板培养,再划线分离、计数并鉴定^[14]。

1.5 数据处理

1.5.1 用 Shannon-Wiener Index 描述生物群落多样性^[15]

$$H = - \sum_{i=1}^S (P_i) \cdot \log_2 P_i = 3.3219 [\lg N - (\sum_{i=1}^S n_i \cdot \lg n_i) / N]$$

式中, H 为物种多样性指数, S 为物种数, P_i 为第 i 种物种在其总数中的相对值 ($P_i = n_i/N$), n_i 为第 i 种的个体数, N 为所有物种的个体总数。

1.5.2 实验资料显著性测定 单因素方差分析法^[16]

2 结果

2.1 海马养殖水体理化因子的变化

有益微生物复合制剂对海马健康养殖水体中的理化因子变化影响极为显著 ($F > F_{0.01}$, $P < 0.01$)。从图1中可以看到,第1天施用有益微生物复合剂后,水体中的溶解氧从第1天的6.1 mg/L 增到第10天的6.80 mg/L,增加了11.5%,而对照组溶解氧在同一时间则降低了27.7%;至实验结束,试验组溶解氧比对照组提高了32.7%。第10天、第30天氨氮、亚硝酸盐、硫化物的含量分别比对照组的降低了17.6%、33.3%、30.0%和76.9%、97.1%和93.3%,从第15天至30天发生了显著变化。试验池的pH相对较稳定,变化幅度不明显 ($P > 0.05$),而对照组的pH值呈下降趋势 ($P < 0.05$)。

2.2 海马养殖水体微生物的变化

异养菌的数量至试验结束时,对照组增加了2.7倍多,而试验组的只增加了55.3%。由于试验组定期定量投放微生物制剂,有机物及时降解,淤积量减少,试验组的异养菌数比对照组的降低了60%,硝化细菌和硫化细菌分别比对照组增加3.1倍和3.5倍(图2)。

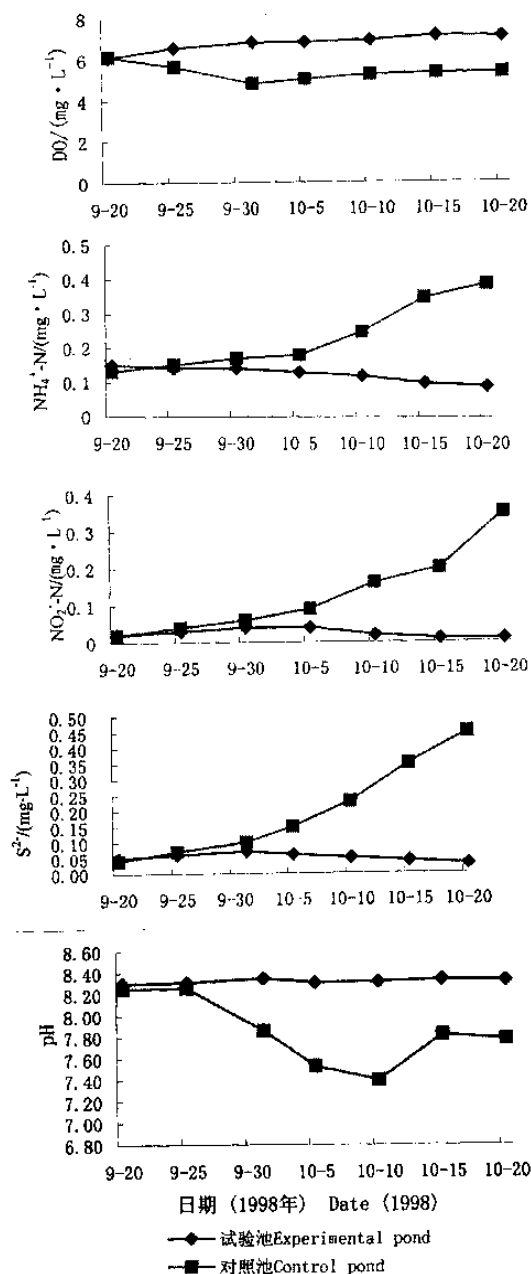


图1 有益微生物对海马养殖水体理化因子的影响

Fig.1 Effects of profitable microbes on physicochemical factors in aquatic water for seahorse

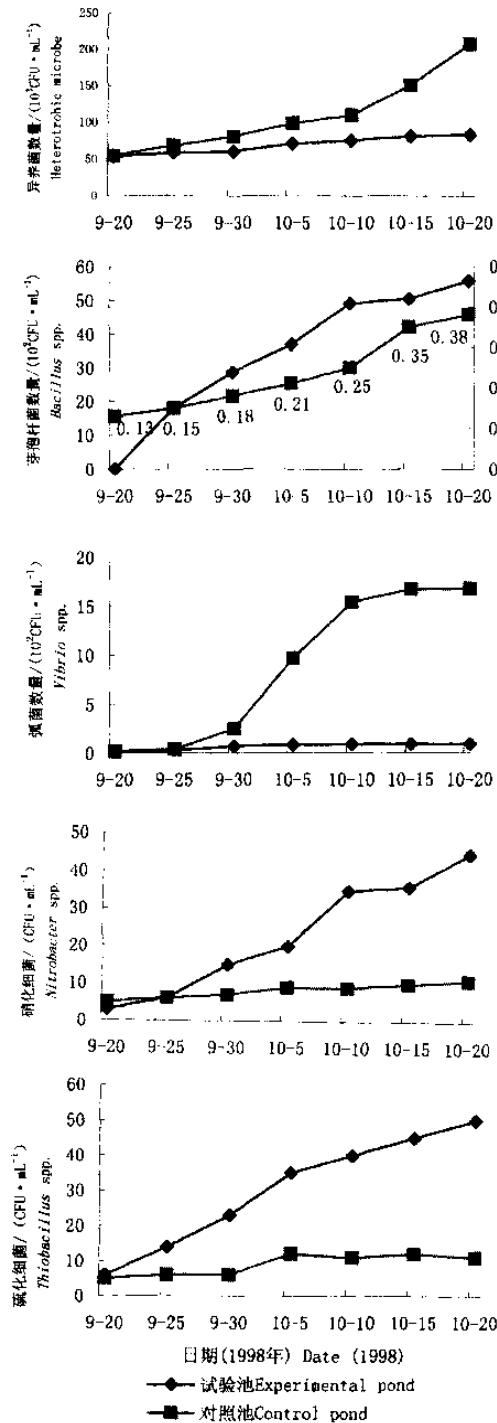


图2 海马养殖水体微生物的变化

Fig.2 Fluctuation of profitable microbes in aquatic water for seahorse

试验组的芽孢杆菌数量由 0.15×10^3 CFU/mL 急剧增加至 55.63×10^3 CFU/mL, 对照组的芽孢杆菌仍保持在 $(0.13 \sim 0.38) \times 10^3$ CFU/mL 的水平上。至试验结束芽孢杆菌数量比对照组的增大 2 个数量级以上。对照组的弧菌数量由开始时的 0.16×10^2 CFU/mL 急剧增加到 16.8×10^2 CFU/mL, 试验组弧菌数量比对照组降低了 2 个数量级。

2.3 海马养殖水体浮游单胞藻类的变化

海马养殖水体的浮游藻类从开始的 5.55×10^2 /mL 增至结束时的 8.10×10^2 /mL, 藻类总量增加了 46.0%, 而对照池则降低了 36.6% (图 3, 表 1)。浮游藻类多样性指数比对照组的增加了 1.2 倍。海马养殖池的浮游藻类有 5 个门, 即绿藻门、蓝藻门、硅藻门、隐藻门和甲藻门。试验池的各门藻类的数量分别为 8.25×10^2 /mL, 0.16×10^2 /mL, 3.21×10^2 /mL, 0.23×10^2 /mL 和 0.11×10^2 /mL, 浮游植物总丰度 11.96×10^2 /mL。其中绿藻和硅藻为优势种, 分别占 68.98% 和 26.84%。而对照池的浮游植物总丰度为 23.67×10^2 /mL, 各门藻类数量分别为 3.25×10^2 /mL, 8.35×10^2 /mL, 2.13×10^2 /mL, 4.65×10^2 /mL, 5.29×10^2 /mL, 其中, 以蓝藻、甲藻和隐藻为优势种, 分别占 35.28%、22.35% 和 19.65%, 而绿藻和硅藻数量比试验组分别降低了 60% 和 33%。

3 讨论

3.1 有益微生物对养殖水体菌相的影响

以芽孢杆菌为主的有益微生物在养殖水体中的作用机理, 主要是通过芽孢杆菌含有丰富的胞外酶

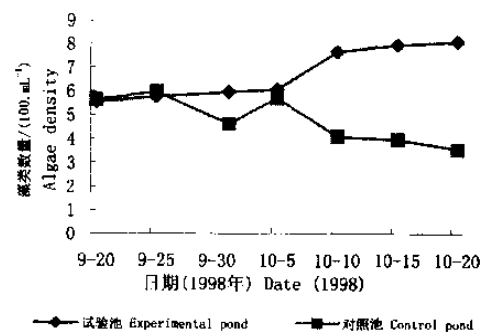


图3 有益微生物对海马养殖水体藻类数量变化的影响

Fig.3 Influence of profitable microbe on population of algae in aquatic water

表1 试验结束时养殖池藻类组成

Table 1 Algae composition in culture pond at the end of experiment			%
种类 Species	试验池 Experiment pond	对照池 Control pond	
绿藻 <i>Chlorophyta</i>	68.98	13.13	
硅藻 <i>Bacillariophyta</i>	26.84	9.00	
甲藻 <i>Pyrrophyta</i>	0.92	22.35	
蓝藻 <i>Cyanophyta</i>	1.34	35.28	
隐藻 <i>Cryptophyta</i>	1.92	19.65	

系,降解养殖水体中的有机残余物,并迅速转化为无机物,有效促进养殖水体的生态良性循环^[3]。试验证明,有益微生物在自然水体或养殖水体中含量较低^[1],所以难以把养殖过程中大量残留有机物及时降解,引起有机耗氧量增大、溶解氧降低,造成厌氧微生物繁殖加快,物质循环向还原反应进行,进一步恶化水质,有害因子增多,抑制好氧菌的生长,甚至引起病害暴发。弧菌是一种引起养殖生物发病的病原体^[8],是常见的条件致病菌。在富营养化的水体中,成为优势菌,其数量达到一定的临界值,引起养殖动物发病^[4]。虽然芽孢杆菌等有益微生物不是养殖水体的优势菌群,但可以通过定期或不定期使用,在养殖水体中则可以繁殖成为优势菌群,能有效抑制弧菌类等病原生物的繁殖与滋生,改善水体中的菌相结构,为养殖动物营造一个良性的微生物环境。

3.2 有益微生物对养殖水体藻相的影响

藻相的稳定性和藻类多样性指数是衡量养殖水质的标准之一,多样性指数可以衡量养殖水体藻类群落的异质性与稳定性^[6],多样性指数越大,表明养殖水体生态系统的信息量越高。试验池中有有益微生物及时将水中的有机物分解为无机盐类,为有益藻类如绿藻类、硅藻类的均衡生长提供营养,维持水色和透明度的稳定,减少有机耗氧量,提高水体溶解氧。而对照池的藻类是以蓝藻和甲藻为优势种,不少蓝藻较难被鱼类消化,而且蓝藻和甲藻比例增加也反映水质较差^[17]。

3.3 有益微生物对养殖水体理化因子的影响

试验证明,养殖水体中的有益微生物进行物质

转换的主要制约因素是水中的溶解氧^[3],溶解氧充足时,物质转换迅速而彻底,产物无毒;氧气不足或缺乏时,物质转换速度慢,且形成有毒的中间产物。对这些有害中间产物的传统处理方法,是通过大量的换水来解决。从维持生态系统的可持续发展角度来看,这种方法不可取。因此,有益微生物在养殖水体中使用,应该保证水体中有充足的溶解氧,才能显著的降低水体中有害因子的含量。

3.4 有益微生物对养殖动物生长的影响

有益微生物在水产养殖中的投放,改善了水质的理化因子、菌相和藻相,为养殖动物创造了一个相对良好的生态环境;而水生动物消化道的微生态与水生环境的生态系统有着密切关系^[11],当这些菌类随着食物进入养殖动物消化道后,其丰富的必需氨基酸、B族维生素具有极高的营养价值,对养殖动物的生长、发育和成活率起到一定的作用;芽孢杆菌中的许多菌株都能分泌高活性的胞外酶系,其胞外消化酶有帮助消化、促进吸收的作用^[2]。有关芽孢杆菌在水生动物消化道中的作用效果和机理有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 翁舜颖. 环境微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 15-35.
- [2] 朱振琴, 谢骏, 潘德博, 等. 精养虾池浮游植物、理化因子与虾病的关系[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(4): 304-308.
- [3] 戴刚, 国际翔, 王振堂, 等. 对虾杆状病毒暴发式大流行的生态机理初步研究[J]. 生态学报, 1999, 19(2): 283-286.
- [4] 高尚德, 陈旭仁, 吴以平. 中国对虾养殖期间虾池水体和底质中细菌含量的变化[J]. 水产学报, 1994, 18(2): 138-142.
- [5] 薛恒平. 微生物生态制剂在水产养殖中的应用[J]. 中国饲料, 1997(5): 30-32.
- [6] 李卓佳, 张庆, 陈康德. 复合微生物在水产池塘养殖中的应用[J]. 饲料研究, 1999(1): 5-8.
- [7] 吴伟. 应用复合微生物制剂控制养殖水体水质因子初探[J]. 湛江海洋大学学报, 1997, 17(1): 16-20.
- [8] 汪锦邦. 增菌素的开发及应用[J]. 饲料研究, 1994, (5): 15-16.
- [9] 李卓佳, 张庆, 陈康德. 有益微生物改善养殖生态研究 I. 复合微生物分解有机底泥及对鱼类的促生长效应[J]. 湛江海洋大学学报, 1998, 18(1): 5-8.
- [10] 佐贺新闻. 用枯草菌净化海底堆物[J]. 养殖, 1994, 31(7): 135-140.
- [11] 张庆, 李卓佳, 陈康德. 复合微生物对养殖水体生态因子的影响[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(1): 43-47.
- [12] 刘春潮, 欧阳藩, 王继坤, 等. 光合细菌在水产养殖中应用现状及作用机理探讨[J]. 中国饲料, 1996(5): 25-27.
- [13] 莫照兰, 徐怀恕. 益生菌在水产养殖中的应用[J]. 海洋科学,

- 1998 (6): 6-9.
- [14] 陈绍铭, 郑福寿. 水生微生物学实验法[M]. 北京: 海洋出版社, 1985. 22-36, 68-250.
- [15] 吴金英, 吕军仪, 曾 华, 等. 鲇鱼寄生蠕虫群落生态研究[J]. 生态学报, 2001, 21(6): 1003-1008.
- [16] 李春喜, 王文林. 生物统计学[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 70-104.
- [17] 雷慧僧, 姜仁良, 王道尊, 等. 池塘养鱼学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1981. 38-45.

Application of profitable microbe in healthy cultivation of *Hippocampus kuda*

LU Jun-yi¹, SUN Yan-yan¹, LI Bing-ji², WU Jin-ying¹, HUANG Ke², CHEN Lin²

(1. Key Laboratory of Guangdong for Improved Variety Reproduction of Aquatic Economic Animals, School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Zhongda Richvast Biological Science & Technology Corporation, Lufeng 516500, China)

Abstract: *Bacillus* spp., *Rhodospirillum* spp., *Nitrobacter* spp. and *Thiobacillus* spp. were employed as mixed profitable microbe and the composition was 61.5%, 27.3%, 5.8% and 5.4%, respectively. The water temperature was kept at 23-26 °C. The mixed microbe was applied to the culture water of *Hippocampus kuda* each time in ten days intervals and the density was $(2.0-2.5) \times 10^9/\text{mL}$ and the trial period was one month. The results showed that the DO in the experiment ponds increased by 32.7% compared with the control (without adding the mixed microbe), and the concentrations of NH_4^+-N , NO_2^--N and sulfide decreased by 76.9%, 97.1% and 93.3%, respectively. Meanwhile, the predominant species of algae in the control pond were *Cyanophyta* (35.3%), *Pyrrophyta* (22.3%) and *Cryptophyta* (19.6%) while in the experiment ponds were *Chlorophyta* (69.0%) and *Bacillariophyta* (26.8%) and the diversity index of algae increased to 1.2 times of the control. The growth rate of heterotrophic microbe in the experiment ponds was only 55.3% but in the control that was 274.6%. With the use of profitable microbe the number of *Bacillus* spp. increased rapidly from $0.15 \times 10^3 \text{ CFU/mL}$ to $55.63 \times 10^3 \text{ CFU/mL}$ while that in the control still remained at $(0.13-0.38) \times 10^3 \text{ CFU/mL}$. The total number of *Vibrio* spp. in the experiment ponds reduced by 10^2 times. The growth rates of body length and body weight and the survival rate of *H. kuda* in the experiment ponds increased by 64.9%, 72.3% and 78.8%, respectively, compared with the control.

Key words: profitable microbe; *Hippocampus kuda*; healthy cultivation

中国水产科学研究院首席科学家简介

金显仕,男,1963年3月出生,博士,研究员,博士生导师,海洋生物资源专家。现任中国水产科学研究院黄海水产研究所海洋生物资源研究室主任。主要从事黄渤海渔业资源和渔业生态学方面以及北太平洋狭鳕资源和生物学的研究。获国家科技进步二等奖和三等奖各1项,中国水产科学研究院科技进步一等奖1项。多次参加国际学术会议和国际合作调查与研究工作。发表论文报告50余篇,其中国际会议、国际期刊及国内学报级论文30余篇(SCI论文2篇)。获第七届中国农学会青年科技奖,农业部有突出贡献中青年专家等荣誉称号。