

复合微生物制剂在凡纳滨对虾育苗中的应用

刘建勇

(湛江海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要: 在凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei* Boon) 的种苗培育中, 试验使用复合微生物制剂——甘菌露(有益菌在水体中的含量为 $10^3 \sim 10^5$ 个/mL)。试验结果如下: 试验组成活率达 55.7%, 而药物组和对照组成活率分别为 30.5%, 15.5%; 把刚刚孵化出的凡纳滨对虾无节幼体培育至仔虾第一期幼体, 试验组所需时间为 230.9h, 分别比药物组和对照组提前 42.0h 和 24.0h; 整个育苗过程中, 试验组育苗水体的理、化、生物环境明显优于药物组和对照组: pH 值在 7.8~8.2 范围内波动, 且始终保持在较佳水平, DO 值在 7.55mg/L 以上, 保持了较高的水平, $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 COD 值分别为 0.16~0.25mg/L、3.95~5.81mg/L, 除在育苗初期高于试验组和对照组外, 育苗过程中均在正常范围内波动, 异养细菌的变化范围为 $2.1 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^6$ 个/mL, 弧菌数较低, 在 100 个/mL 以下; 且试验组培育的虾苗较药物组和对照组培育的虾苗整齐、活力好。

关键词: 复合微生物制剂; 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei* Boon); 成活率; 水质

中图分类号: S968 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2005)04-0036-05

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei* Boone) 自 1987 年引进中国, 已成为中国重要的养殖品种, 其苗种的培育日益受到重视。目前, 在各种对虾育苗过程中普遍存在大量使用抗菌素和化学试剂的无奈之举, 在疾病得到一定控制的同时, 这些药物的使用增加了细菌的耐药性、破坏和干扰了育苗水体的正常微生物区系。对于凡纳滨对虾幼体, 因其对水质要求较高, 对环境适应能力差, 特别是无节幼体期和蚤状幼体期个体相对较小、活动能力弱、对抗菌素及化学药物极为敏感, 在育苗过程中使用药物更容易导致幼体变态时间长、糠虾幼体前成活率低、种苗大小参差不齐、抗病力差、养殖过程中生长慢等问题。目前, 生态养殖模式即通过向养殖水体中加入有益微生物来调节和改善养殖生态环境, 控制和减少养殖动物病害的发生, 已成为一个新的研究热点, 并已取得了很大进展^[1]: 日本的芳苍太郎^[2]在 1997 年曾报道利用生物有机炭附着细菌分解有机质取得了很好的效果, 翟土军等^[3]报道利用玉垒菌对温室养鳖池水质进行净化, Douillet & Langdon^[4]将细菌 CA2 作为饲料添加剂投喂太平洋牡蛎幼虫, 促进了幼体的生长, Maeda & Liao^[5]报道利用细菌、硅藻、鞭毛藻为微生物食物团饲养蟹苗, 结果表

明蟹苗以微生物食物团为开口饵料。作者在南美白对虾的种苗培育中使用复合微生物制剂来调节和改善水环境, 研究有益微生物在南美白对虾育苗中的作用。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验场地

试验于 2003 年 3 月~6 月在湛江海洋大学种苗生产实习基地结合生产实习进行。所用的育苗设施、育苗用具、饵料、药品、幼体等均由本场提供。

1.1.2 复合微生态制剂

复合微生物制剂采用“甘菌露”。“甘菌露”为液体, 以芽孢杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、酵母菌为主导

收稿日期: 2004-08-26; 修回日期: 2004-12-16

作者简介: 刘建勇(1970-), 男, 河北唐山人, 工程师, 硕士, 主要从事海水养殖方面的教学和研究, 电话: 0759-2382109, E-mail: hdljyong@tom.com

菌,含菌量为 1×10^9 个/mL。

1.2 试验方法

1.2.1 试验分组

采用随机分组法将育苗池分为3组,即试验组、药物组和对照组。每一组均设有3个重复。试验组将甘菌露液体在无节幼体入池前加入育苗水体,使有益菌的浓度达到 10^3 个/mL,从蚤状幼体第一期开始每二天补充一次等剂量相应菌液;药物组分别在无节幼体入池前、糠虾一期、仔虾第一天加入 1×10^{-6} g/mL 的百炎净;对照组未加任何处理。

1.2.2 水质及生化指标的测定

育苗过程中,定期对水环境情况进行测定,测定内容及方法见表1。

表1 水质及生化指标测定方法

Tab.1 The measurement of physical and chemical factors

测试内容	测试方法
COD	碱性高锰酸钾法
NH ₃ -N	纳氏试剂光度法
DO	碘量法
pH值	pH计及pH精密试纸
异养细菌总数	2216E培养基稀释平板法
弧菌总数	TCBS培养基稀释平板法

2 试验结果

2.1 不同处理条件下的育苗效果

由表2、表3可见,试验组育苗效果明显优于药物组和对照组。试验组的出苗率为55.7%,分别比药物组和对照组提高了25.2%、40.2%。药物组从N_I变态到P_I所需时间为230.9h,较药物组和对照组分别提前了42.0h,24.0h。

表2 不同处理组各期幼体的成活率

Tab.2 Influences of different treatment on survival rate of larvae of *Litopenaeus vannamei* Boon

分组情况	试验组	药物组	对照组
Z _I 期成活率(%)	95.7 ± 1.30	86.1 ± 2.90	96.8 ± 1.21
Z _{III} 期成活率(%)	90.2 ± 5.89	70.2 ± 2.92	79.6 ± 2.20
M _I 期成活率(%)	78.2 ± 3.80	50.6 ± 5.69	66.1 ± 2.83
M _{III} 期成活率(%)	77.0 ± 3.34	46.5 ± 4.60	49.7 ± 2.59
P _I 期成活率(%)	65.1 ± 5.23	33.3 ± 3.20	30.3 ± 2.28
出苗率(%)	55.7 ± 4.53	30.5 ± 3.18	15.5 ± 2.26

注:Z_I表示蚤状幼体第一期;Z_{III}表示蚤状幼体第三期;M_I表示糠虾幼体第一期;M_{III}表示糠虾幼体第三期;P_I表示仔虾第一天;出苗率为试验组变仔虾后第八天的成活率(以下同)。

表3 不同处理组对幼体变态时间(h)的影响

Tab.3 Influences of different treatment on metamorphic time of larvae of *Litopenaeus vannamei* Boon

变态期	试验组	药物组	对照组
N _I →Z _I	37.2 ± 0.00	37.3 ± 0.00	37.1 ± 0.00
Z _I →M _I	94.3 ± 0.75	119.3 ± 2.08	108.7 ± 2.00
M _I →P _I	99.4 ± .51	116.3 ± 0.66	109.1 ± 1.06
合计	230.9 ± 1.77	272.9 ± 3.72	254.9 ± 2.08

经t检验,试验组成活率和变态时间与药物组、对照组比较差异显著(P<0.05);药物组成活率和变态时间与对照组比较差异显著(P<0.05)。

2.2 育苗过程中水环境变化情况

由图1~4可见,在整个育苗过程中,试验组的水环境指标明显优于药物组和对照组:试验组的pH

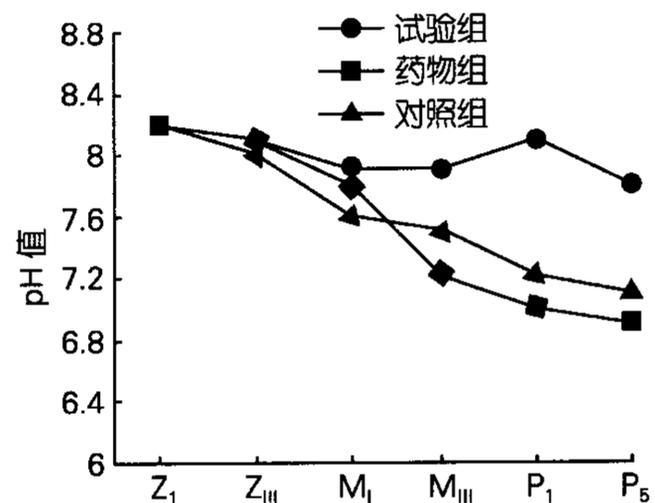


图1 育苗过程中各处理组 pH 变化

Fig.1 The value of pH of different treatment

在7.8~8.2范围内波动,始终保持在较佳范围;溶解氧值除在育苗开始时接近饱和外,到育苗后期也在7.55mg/L以上,保持了较高的水平。而药物组和试验组的pH育苗后期分别下降到6.9,7.1,低于正常范围;DO值到育苗后期也由育苗初期接近饱和和分别下降到4.01、3.99mg/L,明显低于试验组值。试验组的NH₃-N和COD值变化范围分别为0.16~0.25mg/L、3.97~5.81mg/L,除在育苗初期稍高于对照组和药物组外,育苗过程中均有所下降,并在正常范围内波动。而药物组和对照

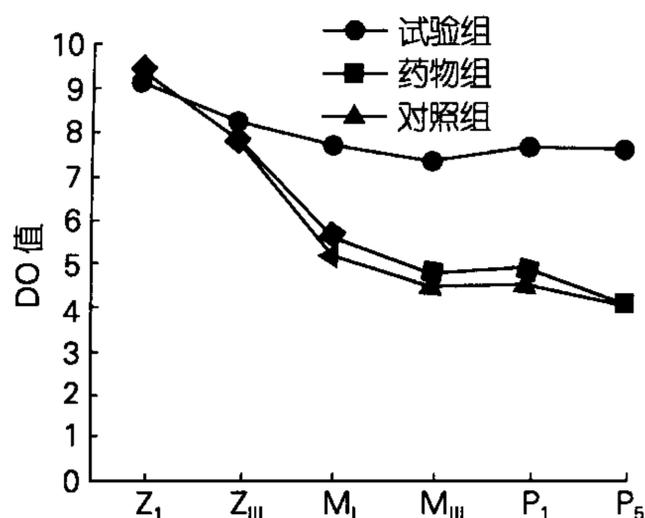


图2 育苗过程中各处理组 DO 变化
Fig. 2 The value of DO of different treatment

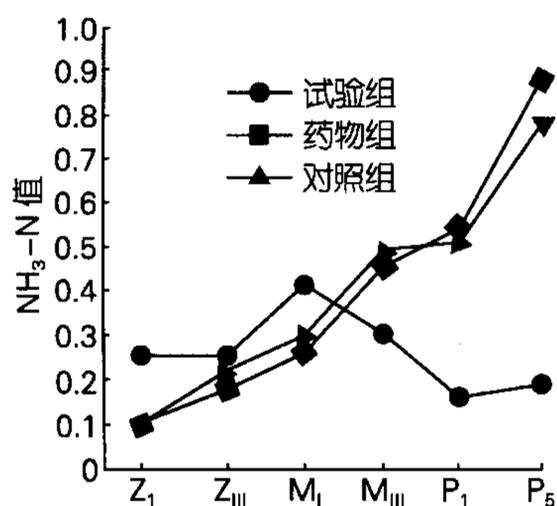


图3 育苗过程中各处理组 NH₃-N 变化
Fig. 3 The value of NH₃-N of different treatment

组随着育苗时间的延长, NH₃-N 和 COD 值逐渐升高, 后期明显高于试验组。

2.3 育苗水体中细菌总数和弧菌总数的变

表4 不同处理组异养细菌总数和弧菌总数计数结果

Tab.4 Measuring result of microbiotas quantity in each experimental group

期别	异养细菌总数(cells/mL)			弧菌总数(cells/mL)		
	试验组	药物组	对照组	试验组	药物组	对照组
Z _I	2.1×10^5	1.8×10^3	0.8×10^3	32	28	34
Z _{III}	3.8×10^5	2.4×10^5	2.6×10^5	28	153	310
M _I	7.1×10^5	3.6×10^5	7.1×10^5	100	150	1.5×10^3
M _{III}	1.9×10^6	2.5×10^5	1.3×10^6	36	1.3×10^2	5.1×10^3
P ₁	2.4×10^6	2.1×10^5	2.2×10^6	70	1.7×10^3	1.7×10^4
P ₅	5.4×10^5	1.6×10^5	4.1×10^6	96	7.1×10^3	5.1×10^4

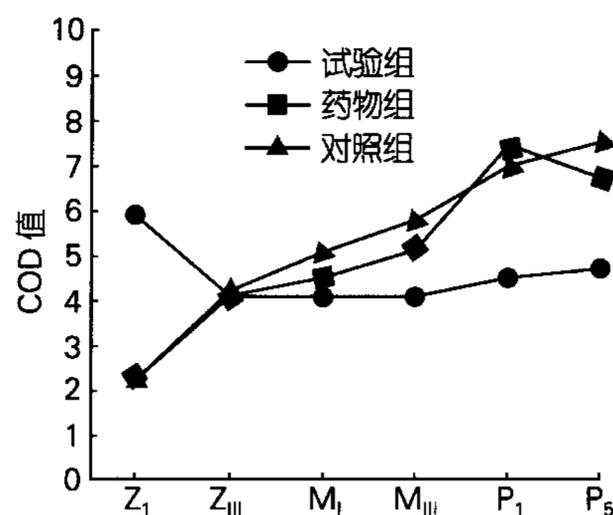


图4 育苗过程中各处理组 COD 变化
Fig. 4 The value of COD of different treatment

化情况

按一定时间取试验水样 50mL, 分析水体中的异养细菌总数和弧菌总数, 计数结果见表 4。由表 4 可见, 试验组异养细菌总数的变化范围为 $2.1 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^6$ 个/mL 较稳定, 弧菌数较低, 在 100 个/mL 以下。药物组异养细菌总数的变化范围为 $1.8 \times 10^3 \sim 3.6 \times 10^5$ 个/mL, 弧菌数在 7.1×10^3 个/mL 以下。对照组异养细菌总数的变化范围为 $0.8 \times 10^3 \sim 4.1 \times 10^6$ 个/mL, 弧菌数在对虾育苗后期达到 5.1×10^4 个/mL。

3 讨论

3.1 微生物制剂对各期幼体的成活率及变态时间的影响

由试验结果可见: 在凡纳滨对虾种苗培育过程中使用微生态制剂, 可缩短幼体变态时间, 促进幼体生长, 提高育苗成活率。Meada 和 Nogami^[6]报道了对虾育苗养殖水体中分离的有益菌 PM-4 加入到虾蟹育苗水体中, 抑制弧菌和某些真菌, 并促进其幼稚体的生长, 提高其成活率。李健、孙修涛等^[7]在河蟹育苗中

使用微生物制剂, 试验组比对照组成活率提高了 27.78%。崔竞进、丁美丽等^[8]用光合细菌进行中国对虾育苗, 取得了明显效果。Uma A^[9]等将酵母菌与乳酸菌混合饲喂印度对虾 (*Penaeus indicus* H. Milne Edwards) 幼苗, 可明显提高其生长率和成活率。本实验结果和他们的结果是一致的。以芽孢杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、酵母菌等为主导菌的复合微生物制剂, 其在改善育苗水环境的同时, 还可为幼体发育提供必需的营养成份, 改善幼体代谢机能, 提高饵料转化率, 促进幼体的变态发育。芽孢杆菌, 能使肠内的 pH 值下降, 氨浓度降低, 并产生淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶等消化酶类, 协助动物消化饵料, 同时还有产生 B 族维生素, 加强营养代谢, 提高饵料转化率等作用。乳酸杆菌在进入幼体肠道后, 会产生乳酸, 使肠道内容物 pH 值下降, 而乳酸、丙酸、乙酸的含量上升, 使肠道酸化, 从而有利于铁、钙及维生素 D 等的吸收, 有利于水产动物的生长。

药物组的成活率在 M₁ 前已明显低于试验组和对照组。这一方面是由于凡纳滨对虾前期幼体本身的特殊性: 对水质要求较高, 对环境适应能力差, 特别是无节幼体期和蚤状幼体期个体相对较小、活动能力弱、对抗菌素及化学药物极为敏感。另一方面, 常规的育苗方法施用抗生素来控制水环境, 但大量的施用抗生素对幼苗的发育有负面效应, 会造成生物自身抵抗力下降, 一旦遇到不良环境很易大量死亡, 而且, 抗生素和一些化学试剂不仅增加了细菌的耐药性, 也破坏和干扰了养殖环境中正常微生物区系, 导致微生态平衡失调。所以在凡纳滨对虾育苗中前期施用抗生素要特别慎重。药物组最后的出苗率高于对照组是由于对照组后期水环境变差, 病原菌等大量滋生, 造成对照组到了仔虾后大量死亡。药物组幼体每一个变态期均长于试验组和对照组, 可能是因为抗菌素的投入对幼体的生长产生了负面影响。

3.2 微生物制剂对育苗水质的影响

由试验过程中水化指标的变化情况(图 1~4)可以看出, 复合微生物制剂具有明显改善水质的作用。但在育苗初期, 试验组的 COD 和 NH₃-N 水平高于对照组和药物组。这可能的原因是: 一方面添加的微生物制剂无法进行菌体和培养液的分离, 大量的培养液随着微生物进入育苗池, 而培养液中含有的有机物及一些有害的代谢产物会对水质产生不利影响。类似的情况张道南^[10]曾报道过, 他在有效体积为 0.1m³ 的水槽中投入光合细菌菌液 140mL, 由于其带入的培养液对水质产生的不良影响, 在试验初期氨氮含量平均值要比空白对照组高出 30% 左右, COD 值高出 4% 左

右; 另一方面, 加入水体中的大量微生物快速分解水体中的有机物, 大量的有机氮迅速转化为氨氮进入水体中。从氨氮转化为硝态氮主要靠硝化细菌, 而硝化细菌是自养型微生物, 它对环境的适应、生长、代谢速度都较慢, 起初硝化作用尚未发挥出来, 故试验池的氨氮在初始期较对照组高。而随着育苗时间的延长, 各种菌株协同作用并进入良性循环, 育苗水体中的 NH₃-N 值及 COD 值保持平稳并趋下降势。

为解决微生物制剂对前期育苗水体的影响, 笔者认为可在生产中采取以下的措施; 一是提前加入生物制剂, 并强烈充气, 等水质稳定后再放入无节幼体; 二是与光合细菌合用, 发挥光合细菌易于利用低分子量的有机物, 迅速消除水里的 NH₃-N、H₂S 等有害物质的作用; 三是利用固定化混合细菌细胞处理技术, 通过包埋剂对细菌的包埋来提高混和细菌对环境的适应性, 消除培养液或培养基对水环境的影响。近年来, 随着固定化技术的逐渐成熟, 已有越来越多的人将这一技术应用到水产养殖中。

3.3 微生物制剂对育苗水体中弧菌数量变化的影响

由表 4 可见, 整个育苗过程中, 试验组弧菌总数始终保持在 100 个/mL 以下, 明显低于药物组和对照组。通常疾病的发生不是由特定专一病原菌引起的, 而是条件致病菌的增殖造成的。条件致病菌是海水中的常见菌, 各种人为因素如化学药物和抗生素等会干扰水体中的正常细菌区系^[11,12], 加上高密度育苗水体中高负荷的有机环境, 促使池中大量有害细菌的生长繁殖。因此, 对于免疫系统还不完善的对虾幼体来说, 利用有益菌来抑制条件致病菌和专性致病菌的生长和繁殖, 是相当重要的^[13]。王祥红等^[14]在扇贝育苗中添加有益菌 A18 明显地降低养殖水体中细菌总数和弧菌数, Nogomi 和 Maeda^[6]把分离到的细菌 PM-4 加入虾蟹幼体养殖池中, 结果表明该菌可竞争排斥水体中的致病性弧菌和气单胞菌, 并认为其可能分泌抑菌物质, 竞争生态位来抑制病原菌的生长。

参考文献:

- [1] 王祥丘, 李军. 有益微生物在水产养殖中的应用, 海洋湖沼报[J]. 1998, 1: 33-37.
- [2] 芳苍太郎, 西尾孝之, 北野雅昭. 用生物活性炭附着细菌分解河水中的有机物[J]. 用水と水, 1997, 39(2): 19-26.
- [3] 翟士军, 朱选才. 玉垒菌对温室养鳖池水质优化效果的试验[J]. 水产科技情报, 1996, 23(3): 121.
- [4] Douillet P A, C J Langdon. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg)

- [J]. *Aquaculture*, 1994, 119: 25 - 40.
- [5] Maeda M, I C Liao. Microbial processes in aquaculture environment and their importance for increasing crustacean production[J]. *JARQ*, 1994, 28(4): 283 - 288.
- [6] Nogami K, M Maeda. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab portunus trituberculatus[J]. *Can J Fish Aquatic Sci*, 1992, 49(11): 2 373 - 2 376.
- [7] 李健, 孙修涛. 微生态制剂在甲壳动物养殖中的应用研究. 海洋水产研究[J]. 2001, 22(2): 26 - 31.
- [8] 崔竞进, 丁美丽. 光合细菌在对虾育苗生产中的应用[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(2): 191 - 194.
- [9] Uma A, Abraham T J, Jeyaseelan M J, *et al*. Effect of probiotic feed supplement on performance and resistance of indian white shrimp pensous indicus H. Milne Edwards [J]. *J Aqua*, 1994, 14(2): 159 - 164.
- [10] 张道南, 孙其焕, 陈万松. 红螺菌科光合细菌的分离、培养及其作为鱼虾类饵料添加剂的初步研究[J]. 水产学报, 1988, 12(4): 357 - 370.
- [11] Olafsen J A. The microbial ecology of fish aquaculture. In: *Salmon Aquaculture*, (Eds K Heen, T L Monahan, F Utter), Fishing New Books, Oxford, 1993, 166 - 175.
- [12] Vadstein O, Gøe, Y Olsen, *et al*. A strategy to obtain microbial control during larval development of marine fish. In: *Fish Farming Technology*. (Eds. H. Reinertsen, L. A. Dahle, L. Jorgensen, K. Tvinnereim), A. A. [J]. **Balkema Publishers, Rotterdam**, 1993, 69 - 75.
- [13] Vanbelle M, E Teller, M Focant. Probiotics in animal nutrition, a review[J]. *Arch Anim Nutr*, 1990, 40: 543 - 567.
- [14] 王祥红, 杜宗军. 有益菌 A18 在扇贝育苗中的应用[J]. 高技术通讯, 2002, 8: 84 - 88.

Effect of microecological compound agent on breeding of *Litopenaeus vannamei* Boon

LIU Jian - yong

(Fisheries College of Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Received: Dec., 16, 2004

Key words: Compound microecological agent; *Litopenaeus vannamei* Boon; livability; water quality

Abstract: A microecological compound agent Ganjunlu (GJL for short) was used in junior breeding experiment. The results showed that: the livability of the experiment group was 55.7%, while the medicine group and the control group were 30.5%, 15.5% respectively; the time that the larva grew up to the junior no. 1 stage was 230.9h in the experiment group, that was 42.0h less than that of medicine group; 24.0h shorter than that in control group. All the physiochemical and biological indicators of the water in experiment group were better than other two groups in: pH value of 7.8~8.2, DO over 7.55mg/L, NH₃-N content of 0.16~0.25mg/L, and COD of 3.95~5.81mg/L, these indicators fluctuated in normal range but higher in the early stage. The anaerobe content varied in the range of $2.1 \times 10^5 \sim 1.9 \times 10^6$ cfu/mL and the *Vibro* sp. remained below 100 cfu/mL. The shrimp in the experiment group were evener and more vigorous than in other two groups.

(本文编辑:谭雪静)