微生物制剂对河蟹育苗水质控制作用的研究

李士虎[1,2], 阎斌伦[1], 王笃彩[1], 徐加涛[1,2]

(1. 淮海工学院海洋学院, 江苏 连云港　222005; 2. 上海海洋大学, 上海　201306)

摘要: 通过在河蟹 (*Eriocheir sinensis*)育苗池中添加微生物制剂调控水质, 降低育苗过程中的用药和换水量, 提高幼体的变态率。在试验组中分别添加光合细菌和芽孢杆菌及二者混合制剂, 与批次的对照池进行比较。试验组的水质状况均好于对照组, 幼体变态率平均提高了 20%, 抗生素等药品使用量平均减少 85%, 病害发生率平均降低 31%, 对照组的换水率为 485%, 而微生物制剂处理组均为 150%, 平均减少换水量 56%, 生产成本平均降低 21%。微生物制剂在河蟹育苗中能有效控制氨氮等有害物质, 降低换水成本, 减轻环境污染。

关键词: 微生物制剂; 河蟹; 水质控制

中图分类号: S942. 3　　文献标志码: A　　文章编号: 1674- 3075(2009) 03- 0022- 05

在河蟹 (*Eriocheir sinensis*)工厂化育苗过程中, 由于布苗密度大、水温高、周期长, 加上幼体排泄物、死亡个体及残饵的不断累积, 育苗水体一直处于高负载状态 (俞勇等, 2003)。针对这种状况, 育苗工作者通常采取加大换水量和施用消毒剂、抗生素等方法来改善水质。然而, 过量的换水会使育苗池水环境波动过大, 幼体对病原体的易感性提高; 药物虽能提高幼体的免疫力, 但滥用消毒剂和抗生素可使细菌耐药性增强, 幼体内药物残留问题严重 (战培荣等, 1997)。因此, 如何在减少换水量与消毒剂和抗生素使用量的同时, 维持育苗池水的清洁, 已成为河蟹育苗业可持续发展迫切需要解决的问题。

近年来, 学者们开始尝试使用微生物制剂如光合细菌 (*Photosynthetic bacteria*)和芽孢杆菌 (*Bacillus* sp)等来改善水质, 并在鱼类和虾类的工厂化育苗中取得了良好效果 (薛恒平和薛彦青, 1997; 王彦波和邓岳松, 2003; 吕军仪等, 2003), 但在蟹类的应用较少 (周刚等, 2003)。为此, 笔者探讨了在河蟹工厂化育苗水体中添加微生物制剂 (光合细菌、芽孢杆菌或光合细菌 + 芽孢杆菌)对水体中 pH 值、氨氮、亚硝酸氮和化学需氧量及幼体变态率的影响。

1　方法与步聚

1. 1　材料与方法

1. 1. 1　试验材料　试验用育苗池为赣榆县海洋源水产种苗有限公司育苗车间生产用池, 规格为 4. 0 m × 7. 0 m × 1. 5 m, 有效育苗水体 42 m^3, 共有 24个池子。试验用亲蟹购自阳澄湖, 规格为雌性最小 105 g, 最大 138 g, 平均 110 g; 雄蟹最小 130 g, 最大 178 g, 平均 145 g。微生物制剂为市售商品。饵料品种有 2大类, 一类是市售的冰冻轮虫、活体轮虫、冰冻卤虫成体、新鲜或冰冻的桡足类、枝角类及配合饲料; 另一类是人工培养的单细胞藻类、初孵的卤虫无节幼体及自制的蛋黄等。

1. 1. 2　试验方法　试验分 3组进行。第 1组 (B组)为单独施用光合细菌, 施用浓度为 5×10^3 个/mL; 第 2组 (C组)为单独施用芽孢杆菌, 剂量为 3×10^3 个/mL; 第 3组 (D组)为光合细菌加芽孢杆菌混合施用, 施用量为 3×10^3 个/mL + 2×10^3 个/mL; 每组设 3个平行。最后任选 3个常规方法的生产池做对照组 (A组)。

试验组在幼体投放前 48 h 添加微生物制剂。从第 4天开始, 对照 A组每天换水 10% ~ 50%, B、C和 D试验组仅在第 5、7、9、13、16天各换水 1次, 换水量分别为 10%、20%、30%、40%和 50%, 换水后添加微生物制剂, 用量与开始相同。

1. 2　试验步骤

1. 2. 1　育苗用水　育苗用水为自然海水, 2004年 1月中旬进入蓄水池, 蓄水池为面积 6 hm^2 的养虾池, 进水前用 1 125 kg/hm^2 生石灰消毒处理, 蓄水池的水经砂滤进入预热池, 用 20 mg/L漂白粉消毒, 余氯消除后使用, 若急用则施用硫代硫酸钠中和。起始水质指标为: 盐度 22, pH 值 8. 0~ 8. 3, 氨氮 (NH_4^+ - N) 0. 2 mg/L, 亚硝酸氮 (NO_2^- - N) 0. 02 mg/L, 化学需氧量 (COD) 2. 25 mg/L。

1. 2. 2　育苗池　育苗池在进水前进行彻底洗刷, 再

收稿日期: 2008- 02- 20

作者简介: 李士虎, 1971年生, 男, 江苏响水人, 实验师, 在读硕士, 主要从事水产养殖及水生生物学研究。E- mail: hylsh2003@yahoo.com.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

用 20 mg/L漂白粉消毒,注意消毒要彻底,不留死角,调整好气石,检查好加热管道、进排水系统备用。将经过处理的海水用筛绢过滤加入育苗池,加至 75 cm深度,充气、加温至 18℃维持,加入 2 mg/L的乙二胺四乙酸钠(EDTANa2)消除重金属离子的影响,接种 5 cm单细胞藻液(主要品种为海链藻、骨条藻或扁藻,视单细胞藻的培养情况及自然水温等因素而定),使水深达 80 cm,试验组在布苗 48 h前加入微生物制剂。

1.2.3　布苗　精心挑选胚胎发育同步、原溞状幼体心跳频率达到 100次/min的抱卵亲蟹,按照每笼 10只的标准装入蟹笼,将蟹笼浸泡在温度为 18℃、浓度 100 mg/L的福尔马林溶液中 30~60 min进行消毒,消毒好的亲蟹连同蟹笼用干净的同温海水冲洗干净,然后挂入准备好的育苗池。抱卵亲蟹入池后定时检查排幼情况,开始每隔 30 min左右检查 1次,当出现排幼后则不断检查,当幼体密度达到布苗要求时(20万~25万尾/m^3)及时将亲蟹连同蟹笼移入下一个育苗池(表 1)。

表 1　河蟹幼体布苗密度

Tab. 1　The breeding density of Eriocheir sinensis

池号	组别	密度/万尾·m^{-3}	平均密度/万尾·m^{-3}
1	A_1	20.68	
2	A_2	21.25	21.32
3	A_3	22.02	
4	B_1	21.32	
5	B_2	20.86	21.20
6	B_3	21.42	
7	C_1	21.68	
8	C_2	20.88	21.56
9	C_3	22.12	
10	D_1	20.66	
11	D_2	21.50	21.09
12	D_3	21.12	

1.2.4　幼体培育　当幼体密度达到要求,抱卵亲蟹移走后即进入幼体培育阶段。隔天下午 2点测定水质相关指标,其主要管理内容如下。

1.2.4.1　水温控制　在排幼水温 18℃的基础上,每期升温 1℃左右,换水过程中温差控制在 ±1℃,至大眼幼体阶段水温升至 25℃左右,最高温度应保持在 26℃以下,并保持相对稳定,待大眼幼体出池时,根据外界水温状况决定出池时苗池水温。

1.2.4.2　饵料与投喂　在抱卵亲蟹移走后,一次性投喂 5 mg/L的蛋黄,根据幼体摄食及水体中单细胞藻类的密度、蛋黄颗粒等情况,每 4 h确定 1次投喂量,24 h之内使投饵总量达到 15 mg/L,24 h以后加投适量卤虫"灯笼幼体",并开始投喂轮虫。每次投喂前都要认真检查幼体健康状况、摄食及排便情况、剩余饵料等来调整投饵量。变态为溞状幼体Ⅱ期后,饵料以轮虫为主,投喂适量卤虫初孵无节幼体,蛋黄投喂量较前期减少 1/4。溞状幼体Ⅲ期的饵料以卤虫无节幼体为主,辅助适量轮虫,蛋黄投喂量较前一期减少 1/3。Ⅳ期时开始投喂桡足类,适当补充少量轮虫和卤虫无节幼体,蛋黄投喂量为前一期幼体的 1/3。Ⅴ期时全部投喂桡足类、枝角类。大眼幼体初期阶段为了减少其相互残食,投饵以冰冻卤虫成体为主,2 d以后主要投喂桡足类、枝角类。

1.2.4.3　水质管理　在抱卵亲蟹移走后的次日开始添加经过处理的海水,每天加水 1~2次,加水幅度以每次 10 cm为宜,各池一致,待池水深度加至 150 cm时为止。此后,试验组仅在第 5、7、9、13、16天各换水 1次,换水幅度分别为 10%、20%、30%、40%、50%,对照组则从第 5天开始每天换水 1次,换水幅度从 10%逐渐加大,最大幅度达 150%,并且有时 1 d换水 2次。幼体变态为大眼幼体以后,由于淡化的需要,试验组和对照组的换水量完全相同。换水时间都在水质最差的凌晨进行。

1.2.4.4　水温的测定　用铁壳温度计每 2 h测定 1次池水温度并做好记录,对照控温要求决定加热阀门的开关,要求每日池水温差控制在 ±1℃范围内,特殊情况下池水温差以不超过 ±3℃为宜。

1.2.4.5　pH值的测定　使用 WS型袖珍数字显示酸度计每天测量 1次,并做记录。酸度计在使用前必须进行校对,使用后用蒸馏水冲洗干净。

1.2.4.6　氨氮(NH_4^+-N)和亚硝酸氮(NO_2^--N)的测定　使用美国产 DREL/2010便携式水质分析仪现场测定,每 2 d测定 1次并记录。

1.2.4.7　化学需氧量(COD)的测定　采用重铬酸钾法测量 COD含量。

1.2.4.8　溶解氧(DO)　由于采用连续充气措施,溶氧含量始终保持在 5 mg/L以上,因此在试验过程中该指标未作监测。

1.2.4.9　硫化氢(H_2S)　采用碘量法测量 H_2S含量,试验中未测出。

2　试验结果

2005年 3月 10日开始,至 5月 18日结束,共进行了 4个批次生产规模的试验,其综合结果为:试验池较对照池幼体变态率平均提高了 20%,抗生素等药品使用量平均减少 85%,病害发生率平均降低 31%。对照组的换水率为 485%,而 B、C和 D微生物

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

制剂处理组均为 150%, 试验组的水质状况均好于对照组, 降低了换水成本, 减轻了环境污染。平均减少换水量 56%, 生产成本平均降低 21%。

2 1 微生物制剂对育苗水体 pH 值的影响

育苗水体在连续充气并随着幼体的发育逐渐加大充气量的前提下, 对照 A组与 B、C和 D微生物制剂处理组的 pH 值的变化规律基本一致, 均呈下降趋势, 而且组间无明显差异。在布苗初期, 各组 pH 值高达 8 6, 随着育苗时间的延长, 到后期已降至 7. 2左右。结果见图 1。

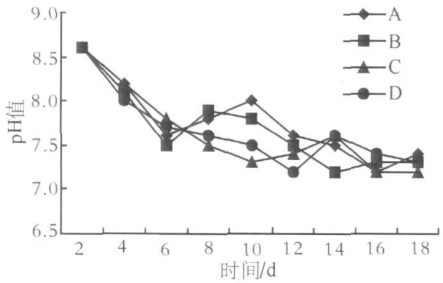

图 1 微生物制剂对育苗水体 pH 值的影响

Fig 1 The effect of microbial agents on pH of breeding waters

2 2 微生物制剂对育苗水体氨氮 ($NH_4^+ - N$)含量的影响

在幼体发育开始的第 2~ 6天, 各处理组水体中氨氮的含量基本接近; 但随着幼体的发育, B、C和 D微生物制剂处理组的氨氮含量开始明显低于对照组, 其中光合细菌处理组的氨氮含量最低, 并一直保持到试验结束。结果见图 2。

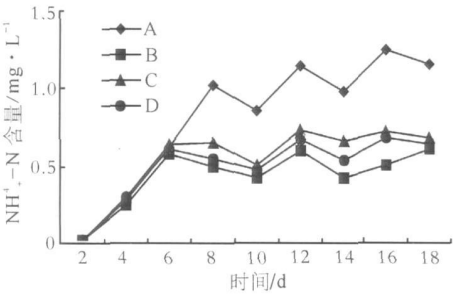

图 2 微生物制剂对育苗水体氨氮 ($NH_4^+ - N$)含量的影响

Fig 2 The effect of microbial agents on $NH_4^+ - N$ of breeding waters

2 3 微生物制剂对育苗水体亚硝酸氮 ($NO_2^- - N$)含量的影响

在幼体发育开始的头 2 d, 各处理水体中亚硝酸氮的含量基本接近; 但随着幼体的发育, B、C和 D微生物制剂处理组的亚硝酸氮含量开始明显低于对照组, 其中芽孢杆菌处理组的亚硝酸氮含量最低, 并一直保持到试验结束。结果见图 3。

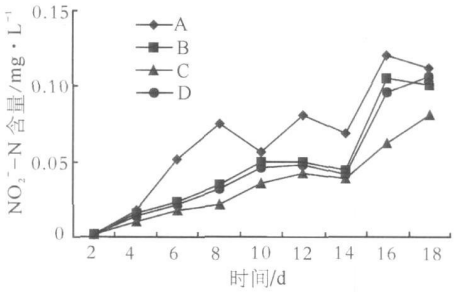

图 3 微生物制剂对育苗水体亚硝酸氮 ($NO_2^- - N$)含量的影响

Fig 3 The effect of microbial agents on $NO_2^- - N$ of breeding waters

2 4 微生物制剂对育苗水体化学需氧量 (COD)的影响

在幼体发育开始的第 2~ 6天, 各处理组水体的化学需氧量基本接近; 但随着幼体的发育, B、C和 D微生物制剂处理组的化学需氧量开始明显低于对照组, 但 B、C和 D处理间差异不明显。结果见图 4。

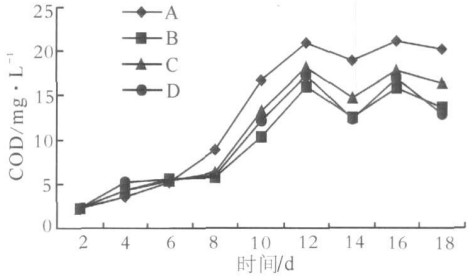

图 4 微生物制剂对育苗水体化学需氧量 (COD)的影响

Fig 4 The effect of microbial agents on COD of breeding waters

2 5 微生物制剂对各期幼体变态率的影响

在 $Z_1 \sim Z_2$ 期, 幼体变态率以对照组最高, 其次是光合细菌处理组, 而芽孢杆菌处理组最低; 在 Z_2 以后各期, 幼体变态率均以光合细菌 + 芽孢杆菌处理组最高, 其次是光合细菌和芽孢杆菌单独处理组, 而对照组最低。结果见图 5。

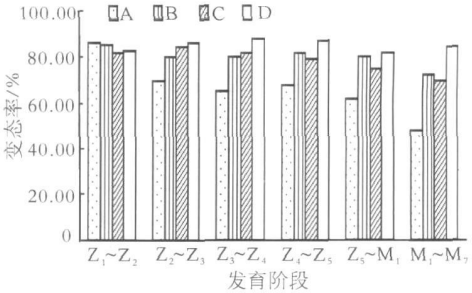

图 5 微生物制剂对各期幼体变态率的影响

Fig 5 The effect of microbial agents on metamorphosis rate of larvae

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

3 1 微生物制剂的作用机理

作为添加到育苗水体中的微生物制剂, 必须具备 2个条件: 一是 “无害 ”, 即不会对原来的微生态系统造成破坏; 二是 “有益 ”, 即接种的微生物能够清除水体中的有害物质, 改善微生态环境 (周刚等, 2003), 光合细菌和芽孢杆菌恰好能满足这 2个条件。光合细菌是一类能在厌氧或好氧条件下利用有机酸、氨和硫化氢等作供氢体进行不放氧光合作用的细菌, 可参与水体中污染物的降解过程 (计新丽等, 2000; Claude E Boyd & Jason W Clay, 1998); 与光合细菌相似, 芽孢杆菌是一类具有高活性的消化酶系、耐高温、抗应激的异养细菌, 能发挥氧化、氨化、硝化、反硝化、解硫、硫化、固氮等作用, 将水体中的污染物迅速降解成二氧化碳 (CO_2)、硝酸盐、磷酸盐、硫酸盐等无害物质 (薛恒平和薛彦青, 1997)。李秋芬等 (2002)等研究发现, 当光合细菌或芽孢杆菌接种到育苗水体后, 能迅速繁殖成优势菌群, 吸收水体中的有害物质, 净化水质; 同时占优势的微生物菌群能竞争性抑制并代替病原菌群, 切断病原菌的营养源, 从而减少或阻止了有害病原体的感染。

3 2 微生物制剂对水体氨氮和亚硝酸氮的影响

本试验在幼体发育开始的第 2~ 4天, 各处理组的氨氮和亚硝酸氮含量基本接近, 表明育苗水体中的光合细菌或芽孢杆菌还没繁殖成优势菌群; 但随着育苗时间的延长, B、C和 D微生物制剂处理组的氨氮和亚硝酸氮含量开始明显低于对照组, 并一直保持到试验结束 (图 2和图 3)。这表明当微生物制剂在水体中大量繁殖成优势菌群后, 能发挥其吸收和降解氨氮、亚硝酸氮的作用, 使水质得以净化 (刘波和刘斌, 2003); 即使在换水量比对照组少 (试验结束时, 对照组的换水率为 485%, 而 B、C和 D微生物制剂处理组均为 150%)的情况下, 试验组的水质状况均好于对照组, 既降低了换水成本, 又减轻了对环境的污染。

从图 2和图 3还可以看出, 光合细菌降解氨氮的能力较芽孢杆菌要强一些, 而芽孢杆菌降解亚硝酸氮的能力较光合细菌强一些, 这与陈红菊等 (2003)研究结果是一致的。不过, 两者又存在协同效应, 这可以从微生物制剂对幼体变态率的影响反映出来 (图 5), 即随着接种的微生物发展成优势菌落, 即在 Z_2 以后各期, 幼体变态率均以光合细菌 + 芽孢杆菌处理组最高, 其次是光合细菌和芽孢杆菌单独处理组, 而对照组最低。

3 3 微生物制剂对水体化学需氧量的影响

化学需氧量 (COD) 是衡量水体中还原性物质如有机酸、亚硝酸盐、亚铁盐、硫化物等多寡的一个重要指标; 当其数值过高时, 会因还原性物质的氧化分解作用而降低水体的溶解氧含量, 从而影响到水生动物的摄食及生长。从图 4可以看出, 在幼体发育开始的第 2~ 6天, 各处理水体的 COD基本接近; 但随着育苗时间的延长, 对照组的 COD开始明显高于 B、C和 D各微生物制剂处理组。这表明微生物制剂在不中断育苗过程的情况下, 可利用水体的还原性物质作为自身繁殖的营养源, 使水体中的有机负荷降低, 幼体变态率提高 (图 5), 从而达到减少换水量和生物防病的目的。

自然水体中存在一定的细菌生态平衡系统, 施用微生物活菌制剂是人为改变条件, 定向培育优势菌群并发挥其作用, 形成新的动态平衡。应用微生物制剂来净化水质, 其作用机理是通过微生物的生长代谢而达到去除水体中 C、N、P等元素的目的。因此, 这种作用并非立竿见影, 微生物首先须对作用水域环境有一个适应的过程, 同时微生物的量也必须达到一定的密度, 才能发挥其作用。另外, 通过使用微生物制剂, 使其在育苗水体中成为优势种群, 抑制病原微生物的繁殖, 达到生物防病的目的。由于所施用的微生物制剂均为活菌, 对抗菌素敏感, 因此在使用微生物活菌制剂的同时, 禁止使用任何抗菌素药物, 否则将没有效果。

参考文献:

陈红菊, 岳永生, 丁雷, 等. 2003. 生物净化剂对养殖水体亚硝酸盐含量影响的研究 [J]. 淡水渔业, 33(1): 16– 18.

计新丽, 林小涛, 许忠能, 等. 2000. 海水养殖自身污染机制及其对环境的影响 [J]. 海洋环境科学, 19(4): 66– 71.

李秋芬, 曲克明, 陈碧娟, 等. 2002. 老化虾池生态系中几类主要细菌的季节变化特征 [J]. 海洋水产研究, 23 (2): 12 – 18.

刘波, 刘斌. 2003. 微生物对水产养殖环境的生物修复作用 [J]. 淡水渔业, 33(1): 50– 53.

吕军仪, 孙燕燕, 李秉记, 等. 2003. 有益微生物在大海马健康养殖中的应用研究 [J]. 中国水产科学, 10(1): 46 – 50.

王彦波, 邓岳松. 2003. 微生态制剂对虾池水质影响的研究 [J]. 水利渔业, 23(2): 16– 17.

薛恒平, 薛彦青. 1997. 水产养殖同微生态与微生物生态之间关系初探 [J]. 饲料工业, 18(2): 23– 26.

俞勇, 李会荣, 李筠, 等. 2003. 虾池养殖环境有机污染物降解细菌的筛选 [J]. 青岛海洋大学学报, 33(1): 65– 70.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

战培荣, 王丽华, 于沛芬, 等. 1997. 光合细菌固化及其净化养殖水质的研究 [J]. 水产学报, 21(1): 97-100.
周刚, 张胴晴, 朱清顺, 等. 2003. EM(有益微生物菌群)调节蟹池水质的试验研究 [J]. 淡水养殖, 24(3): 36-38.
Claude E Boyd & Jason W Clay. 1998. 养虾与环境 [J]. Scientific American(中文版), (9): 15-23.

(责任编辑 万月华)

The Research of Microbial Agents to Control of Water Quality in Factory Breeding of *Eriocheir sinensis*

LI Shi-hu[1,2], YAN Bin-lun[1], WANG Du-cai[1], XU Jia-tao[1,2]

(1. Huaihai Institute of Technology, Lianyungang Jiangsu 222005, China;
2. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract The experiment was conducted to determine the supplement of microbial agents (*Photosynthetic bacteria*, *Bacillus* sp. or *Photosynthetic bacteria* + *Bacillus* sp.) on controlling water quality, reducing drug and water amount and improving metamorphosis rate of larvae in factory breeding of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. The results showed that the supplement of microbial agents had no obvious effect on pH, but with the development of larvae, the ammonia-N, nitrate-N or chemical oxygen demand was significantly decreased and metamorphosis rate was significantly increased by the supplement of microbial agents.

Key words Microbial agents; *Eriocheir sinensis*; Control of water quality

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net