

沼泽红假单胞菌在暗纹东方鲀育苗上的应用

许志强¹ 杨启银¹ 吴向华² 华元渝¹

(1. 南京师范大学生命科学学院 210097 江苏 南京)

(2. 南京晓庄学院生命科学系 210017 江苏 南京)

[摘要] 报导了沼泽红假单胞菌在暗纹东方鲀育苗中应用的初步研究. 试验过程中按水体 $50 \mu\text{g/L}$ 的浓度向试验池投放沼泽红假单胞菌, 研究该菌对育苗池水质、仔鱼育成率以及生长情况的影响. 结果表明 $50 \mu\text{g/L}$ 的沼泽红假单胞菌可以有效去除育苗池水的 COI (化学需氧量)、 N-NH_4^+ (氨氮) 以及 N-NO_2^- (亚硝氮), 从而显著改善育苗池水质. 稳定水体 DO (溶氧), 同时, 暗纹东方鲀仔鱼育成率以及生长都有了显著的提高.

[关键词] 光合细菌, 沼泽红假单胞菌, 暗纹东方鲀, 育苗

[中图分类号] Q959.9, [文献标识码] A, [文章编号] 1001-4616(2004)04-0085-04

光合细菌(Photosynthesis bacteria, PSB)是一类能够对养殖水体污染起净化作用的有益微生物, 它在厌氧有光或者黑暗有氧条件下均可以利用水体中的污染物生长繁殖^[1-2]. 自 20 世纪 80 年代以来, 光合细菌已经被我国水产界广泛应用于各种鱼、虾、贝类的养殖中^[2-4]. 沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*)是在水产领域应用较多的一种光合细菌, 该菌在养殖上的应用报道较多^[5], 但是其应用于暗纹东方鲀早期育苗在国内外尚未见报道.

暗纹东方鲀(*Takifugu fasciatus*)俗称河豚, 是一种营养价值和经济价值都很高的江海洄游性鱼类. 多年来, 育苗过程中育成率不高这个问题已经成为暗纹东方鲀产业化的瓶颈, 严重制约了暗纹东方鲀养殖业的发展. 在集约化育苗工作中, 常采用换水的方法来解决池水污染问题. 但是由于暗纹东方鲀初孵仔鱼个体小, 一般在 $2.0 \sim 2.6 \text{ mm}$ 间, 且生长极其缓慢(平均每 3 天才能生长 1 mm)^[6], 换水不仅难以实施操作, 而且又容易伤害鱼体. 因此, 换水法在暗纹东方鲀早期育苗中不宜采用. 由于沼泽红假单胞菌具有净水、洁水等诸多优点, 因此我们在暗纹东方鲀育苗中对沼泽红假单胞菌的作用进行了试验. 下面是初步研究的小结.

1 材料与方法

1.1 试验用菌种

沼泽红假单胞菌(*R. palustris*) 本校微生物工程实验室分离选育.

1.2 菌种分离及培养方法

(1) 从南京郊外水塘中采集富含有机物的淤泥, 放入具塞磨口瓶中, 加满 Van Niele 富集培养基后厌氧光照培养. 大约 10 d 后取底部微红培养物再次富集培养, 重复 3 次. 然后取红色生长物在厌氧光照条件下用 Van Niele 分离培养基进行多次划线分离, 从中分离出多株光合细菌菌株. 经过多代驯化选育后, 从中挑选出具有较强污染物降解能力的一株光合细菌, 菌种经鉴定为沼泽红假单胞菌.

(2) 按照刘如林等人报道^[5]的培养基经本实验室改良后培养, 用 12.5 L 透明塑料桶, 温度 30°C , 40 W 白炽灯(距离 20 cm)为光源. 培养液中的活菌采用 MPN 法计数^[7], 当菌体密度达到 $1.8 \times 10^9 \text{ cfu/mL}$ 以上时, 用于育苗池.

1.3 试验对象

暗纹东方鲀初孵仔鱼(全长约 2 mm).

1.4 试验期间和地点

2004 年 3 月 28 日至 6 月 30 日, 江苏中洋集团南通龙洋水产有限公司室内 3 个水泥育苗池. 各育苗池

收稿日期: 2004-06-09.

基金项目: 江苏省水产三项工程(PG2003-30)人工湿地系统在水产养殖中的开发应用(2003~2005), 江苏省教育厅高新技术产业化发展基金资助项目(2002WXTSJ3002).

作者简介: 许志强, 1978 - , 南京师范大学生命科学学院硕士研究生, 主要从事微生物学的学习和研究, E-mail: zhiqiangx@sina.com

通讯联系人: 杨启银, 1951 - , 南京师范大学生命科学学院副教授, 主要从事资源微生物的研究和教学.

长 20 m,宽 15 m,水深约 60 cm.

1.5 实验方法

1.5.1 试验设计

人工繁殖共进行 3 批,依据仔鱼出膜时序,育苗试验共进行 3 次.每次育苗工作 22 d,每次在各池中均投放初孵仔鱼 30 万尾.3 个育苗池中选择 1 个作为对照池,另外 2 个作为试验池按水体 50 $\mu\text{g/L}$ 浓度投放沼泽红假单胞菌(试验 10 d 后,再向水中添加适量菌液,保持菌体浓度).为保证育苗池溶氧,在每个育苗池底部每平方米放置气泡石 1 个.试验过程中及时向育苗池中补充萼花臂尾轮虫,使轮虫数量维持在每毫升养殖水 10 个以上.

1.5.2 水质检测

试验期内每 2 d 取水样 1 000 mL,测量其 COD、 N-NH_4^+ 、 N-NO_2^- 以及 DO 变化.COD 采用重铬酸钾法, N-NH_4^+ 采用纳氏比色法, N-NO_2^- 采用 α -萘胺比色法,DO 值采用碘量法^[8].

1.5.3 仔、稚鱼计数

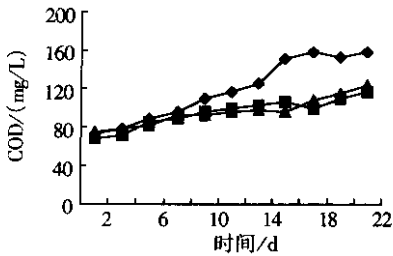
试验开始和结束时,用 1 000 mL 采水器在育苗池中随机选五点采集水样,用目数法对其中仔、稚鱼计数,进而推算出育苗池中的仔、稚鱼数量,同时随机取仔、稚鱼 10 尾,在解剖镜下测量全长的增长情况.

2 结果与分析

2.1 沼泽红假单胞菌对育苗池水质的影响

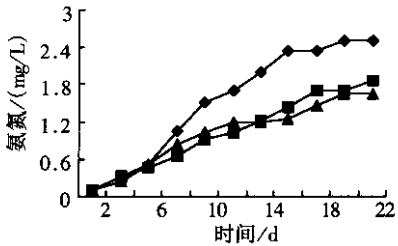
在整个育苗过程中由于投放沼泽红假单胞菌,试验池养殖水的 COD 上升速度缓慢,而且在试验过程中能一直维持在一个较低的范围之内,而对照池 COD 上升速度明显较快,在试验结束时达到了 158 mg/L(图 1).

据有关资料表明,暗纹东方鲀初孵仔鱼育苗池水质要求为氨氮 1 mg/L 以下、亚硝氮 0.1 mg/L 以下、溶氧大于 6 mg/L^[6].由图 2 可知,试验第 8 d,对照池氨氮含量就超过了 1 mg/L,试验结束时超过了 2.5 mg/L,而试验池氨氮在整个试验过程中上升速度较缓,虽然最终含量超过了 1 mg/L,但是和对照池相比优势明显.沼泽红假单胞菌对亚硝氮的去除效果显著(图 3),育苗过程中试验池亚硝氮均没有超过 0.05 mg/L,而对照池在试验结束时达到了 0.109 mg/L,超出了暗纹东方鲀仔鱼的最适生长范围.



—●— 对照池, —■— 试验池 1, —▲— 试验池 2

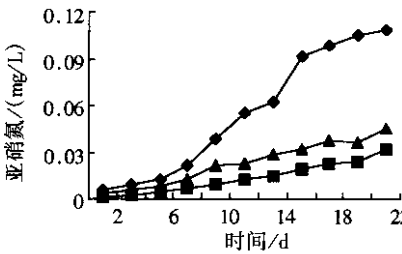
图 1 沼泽红假单胞菌对养殖水 COD 的影响



—●— 对照池, —■— 试验池 1, —▲— 试验池 2

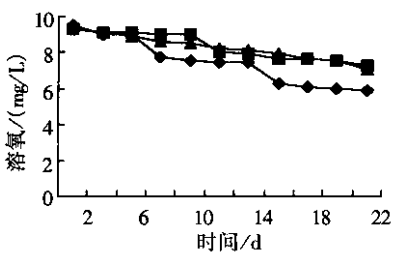
图 2 沼泽红假单胞菌对养殖水 N-NH_4^+ 的影响

为了保证育苗池中的溶氧,通过气泡石不断给对照池和试验池充氧.从图 4 可知,在氧气补充相同的情况下,试验池溶氧水平一直高于对照池,而且在试验过程中能够保持在一个较理想的范围.



—●— 对照池, —■— 试验池 1, —▲— 试验池 2

图 3 沼泽红假单胞菌对养殖水 N-NO_2^- 的影响



—■— 试验池 1, —▲— 试验池 2, —●— 对照池

图 4 沼泽红假单胞菌对养殖水 DO 的影响

2.2 沼泽红假单胞菌对暗纹东方鲀仔鱼成活率以及生长的影响

在育苗的不同批次中,不同育苗池出苗情况以及仔鱼全长变化情况见表 1.在试验过程中,试验池仔鱼育成率显著高于对照池,试验池仔鱼生长速度也明显快于对照池,经统计分析仔鱼全长增加情况差异极显著($P < 0.01$).

表 1 沼泽红假单胞菌对仔鱼育成率和全长增长的影响

组别	批次	出苗量及育成率比较			仔鱼体长增加情况/mm		
		投放尾数	出苗尾数	育成率	测量尾数	初孵仔鱼体长	试验后体长
对照池	第 1 批	30 万	7 万	23%	10	2.02±0.12	7.12±0.31
	第 2 批	30 万	8 万	27%	10	2.06±0.09	7.08±0.24
	第 3 批	30 万	7 万	23%	10	2.03±0.11	7.13±0.35
试验池 1	第 1 批	30 万	18 万	60%	10	2.06±0.12	**7.98±0.16
	第 2 批	30 万	19 万	63%	10	2.03±0.09	**8.10±0.22
	第 3 批	30 万	18 万	60%	10	1.98±0.11	**8.13±0.29
试验池 2	第 1 批	30 万	18 万	60%	10	2.05±0.12	**7.99±0.29
	第 2 批	30 万	17 万	57%	10	2.01±0.09	**8.11±0.16
	第 3 批	30 万	16 万	53%	10	2.03±0.11	**8.15±0.15

注: * * $P < 0.01$ 和对照池相比较

3 讨论

(1)由试验结果可知,试验池仔鱼育成率以及仔鱼生长情况和对照池相比差异显著(表 1).沼泽红假单胞菌投放以后,可以有效分解育苗池底的有机污物,改善育苗池水质,从而解决了育苗早期存在的不宜换水和水质污染之间的矛盾,显著提高了仔鱼育成率.由于暗纹东方鲀早期育苗过程中不宜换水,大量残留饵料以及仔鱼排泄物滞留于育苗池底部,底层污染的加剧易造成有害微生物大量繁殖.这些有害微生物在分解底层污物时,一方面会产生对仔鱼有害的物质如有机酸、氨氮、亚硝氮等,另外一方面也要消耗大量的水体溶解氧^[9].沼泽红假单胞菌在育苗池中生长繁殖以后,在分解育苗池水体污物的同时,还能有效抑制底层有害微生物的生长繁殖,从而改善了水质.氨氮和亚硝氮是养殖水中最常见的污染物,高浓度的氨氮和亚硝氮不仅直接危害仔鱼,同时也是仔鱼暴发性病害发生的直接或间接因素^[2].因此,氨氮和亚硝氮的降低对育苗工作有很重要的意义.通过试验可知,沼泽红假单胞菌在去除育苗池水体的 COD 以及亚硝氮方面效果显著,虽然试验池中氨氮超过了 1 mg/L,但仔鱼经过 10 d 的生长已渡过了育苗的危险期(图 2~3).

在江苏中洋集团龙洋水产有限公司养殖场的成鱼养殖试验中发现 50 μg/L 以上浓度的沼泽红假单胞菌对各项污染物的去除率比较好(表 2).本试验表明,50 μg/L 浓度的沼泽红假单胞菌用于暗纹东方鲀育苗同样是合适的,但是 50 μg/L 的浓度是否为最佳,还需要做进一步的探讨.

表 2 不同浓度沼泽红假单胞菌对暗纹东方鲀养殖池水质的作用

投放浓度/(μg/L)	养殖池	试验前/(mg/L)			试验后/(mg/L)		
		COD	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻	COD	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₂ ⁻
0	对照	89	0.351	0.227	347	1.861	0.159
10	试验 1	85	0.361	0.224	150	1.342	0.099
50	试验 2	83	0.355	0.232	118	1.264	0.055
100	试验 3	89	0.345	0.237	106	1.135	0.051
200	试验 4	86	0.356	0.206	97	0.934	0.053

生产实践中不同养殖场对光合细菌的净水效果褒贬不一,我们认为光合细菌的净水效果是优异的,之所以在某些情况下表现不佳,其主要原因在于光合细菌的菌种问题及浓度不足.光合细菌浓度不足时,不能在水体中形成优势菌群,难以充分发挥其净水作用.当前,对光合细菌的使用大多还停留于游离细胞阶段,通过这种方式投放的光合细菌比较均匀的分布于水体中.而育苗过程中产生的残留饵料以及排泄物大量滞留于池底,这样就产生了光合细菌的均匀分布与污物的不均匀分布之间的矛盾,底层光合细菌浓度的不足使该菌不能充分发挥其净水作用.为了解决这一矛盾,打算在以后的工作中尝试沼泽红假单胞菌的固定化工作以增加育苗池底层的光合细菌浓度,从而有效解决育苗工作中的底层污染问题.

(2)在育苗过程中,观察到使用沼泽红假单胞菌的试验组仔鱼生长速度显著快于对照组(表 1),而且仔鱼个体整齐、健壮、活泼,体色鲜艳,发病较少.出现这种情况的原因除了在于沼泽红假单胞菌对水质的改善作用外,可能还在于其部分解决了仔鱼的饵料问题以及病害问题.暗纹东方鲀仔鱼口裂较小且生长速度缓慢,在育苗前期,可以作为其饵料的生物种类相对较少,饵料不足会引起仔鱼互相残食,严重影响仔鱼育成率^[10].据刘如林等人报道,光合细菌中不仅富含蛋白质(65%左右),还含有对动物生长发育起促进作用的生理活性物质(β -胡萝卜素和 B 族维生素).因此,光合细菌用于鱼虾初孵幼苗的早期饵料,具有明显促进生长和提高幼苗抗病能力的作用^[5].此外,光合细菌在育苗池中生长繁殖以后,还可以形成优势菌群以抑制有害微生物的生长繁殖^[4].据张道南等报道^[5],在对虾育苗工作中使用光合细菌,虾苗成活率可以有较大提高,同时幼体肠胃均出现红色,证明光合细菌在虾类育苗过程中可以起强化营养的作用.在暗纹东方鲀育苗过程中,沼泽红假单胞菌是否具有同样的饵料价值还有待进一步研究.

[参考文献]

- [1] Kodayasi M. Utilization and disposal of water by photosynthetic bacteria[J]. Peramanpress ,1997 22(17) 39—45.
- [2] Liu S J , Sun Y , Chen Y H , *et al.* Biological control of nitrite in fish farming ponds by Photosynthetic Nonsulfur Bacteria[J]. Environ Sci ,1995 ,16(6) 21—23.
- [3] 李勤生. PSB 的基本特征及其在水产养殖中的应用研究概况[J]. 水利渔业 ,1995 ,15(1) 3—5.
- [4] 张满隆,杨绍斌,潘玉. 光合细菌及其在鱼类养殖中的应用[J]. 水利渔业 ,2002 22(3) 6—7.
- [5] 刘如林. 光合细菌及其应用[M]. 北京:中国农业科技出版社,1991. 71—81.
- [6] 华元渝. 暗纹东方鲀健康养殖及安全利用[M]. 北京:中国农业出版社,2004. 1—95.
- [7] 中华人民共和国农业部. NY 527-2002,中华人民共和国农业行业标准 光合细菌菌剂量[S].
- [8] 国家环保局. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京:中国环境科学出版社,1997.
- [9] 卢敏德. 淡水生物学[M]. 苏州:苏州大学出版社,2002. 100—101.
- [10] 华元渝. 暗纹东方鲀苗种同类相残的研究[J]. 水产生物学报,1998 22(2) :195—197.

The Utilization of *Rhodopseudomonas palustris* on the Cultivating of *Takifugu fasciatus* Fry

Xu Zhiqiang¹, Yang Qiying¹, Wu Xianghua², Hua Yuanyu¹

(1. School of Life Science, Nanjing Normal University, 210097, Nanjing, China)

(2. Department of Life Science, Nanjing Xiaozhuang College, 210017, Nanjing, China)

Abstract :The utilization of *R. palustris* on the cultivating of *T. fasciatus* fry was studied. During the experiment, we added *R. palustris* to the fish farming ponds with the concentration of 50 $\mu\text{g/L}$. Then we studied the effect of *R. palustris* on the water quality, livability and the length of the fry. The experiment showed that *R. palustris* with the concentration of 50 $\mu\text{g/L}$ could efficiently move the COD, N-NH_4^+ and N-NO_2^- away from the water of the fish farming ponds. Consequently, the quality of the water could be improved. At the same time, the livability and the quality of the fry could be efficiently enhanced.

Key words :Photosynthetic bacteria, *Rhodopseudomonas palustris*, *Takifugu fasciatus*, cultivate

[责任编辑:孙德泉]