

小球藻和光合细菌在大菱鲆育苗中 对水质调节作用的研究

朱建新 曲克明 刘慧 徐勇
(中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

摘要 在大菱鲆苗种培育池中添加小球藻和光合细菌,通过测定开口后 0~16d 以及第 8 天全池水中氨氮和亚硝酸盐浓度的变化,证明小球藻和光合细菌能显著吸收和抑制这两种营养盐,净化苗池水质;而小球藻对这两种营养盐的抑制作用更为明显。同时,在苗池中添加小球藻和光合细菌也能满足仔鱼及其活饵料的营养需求,促进仔鱼生长发育,是一种值得推广应用的方法。

关键词 苗种培育 小球藻 光合细菌

中图分类号 S965.3 文献标识码 文章编号 1000-7075(2008)06-0116-06

Study on *Chlorella pyrenoidosa* and photosynthetic bacteria as water quality modulator in turbot larvae culture

ZHU Jian-xin QU Ke-ming LIU Hui XU Yong

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT *Chlorella pyrenoidosa* was added separately or in combination with photosynthetic bacteria (PSB) *Rhodobacter sphaeroides* to larvae rearing tanks for turbot *Scophthalmus maximus*, and the concentrations of NH_4^+ and NO_2^- were measured every two days during 0~16d and every two hours on day 8. It was found that *Chlorella* and PSB assimilated and thus suppressed the increase of these two nutrients, so that the water quality of the treatment tanks was improved. And it was found that *Chlorella* played a major role in absorbing these two nutrients. At the same time, these microalgae and microbes were good nutritional supplements for the fish larvae or their live feed, and would duly improve the growth performance of the larvae. It is suggested that *Chlorella* and PSB are effective in water quality control and should be widely applied in hatchery.

KEY WORDS Larvae culture *Chlorella pyrenoidosa* Chick
Photosynthetic bacteria(PSB)

大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 自 1992 年被引入我国以来,以其肉质鲜美、营养丰富、生长速度快和抗病能力强而深受我国广大消费者和养殖业者的喜爱,迅速发展成为我国北方沿海的重要养殖品种,2007 年养殖

国家高技术研究发展计划项目(2006AA100305)、国家科技支撑计划项目(2006BAD09A03)和农业科技成果转化资金项目(2007GB23260387)共同资助

收稿日期:2008-04-29;接受日期:2008-06-20

作者简介:朱建新(1966-),男,助理研究员,主要从事海水经济动植物养殖和苗种培育技术研究。E-mail: zhuix@ysfri.ac.cn Tel: 13864248839

规模超过 500 万 m^3 , 产量达 50 000 t 余, 产值超过 45 亿元。大菱鲆的苗种繁育自 1999 年取得突破以来, 技术日臻完善, 目前年生产能力超过 1 亿尾。中国的大菱鲆养殖模式以“温室大棚+深井海水”开放式工厂化为主, 应用比例约占 80% 以上(雷霖霖等 2006)。在大菱鲆苗种生产过程中, 营养调控和保持水质稳定是提高仔鱼成活率的关键因素之一。大量研究表明, 氨氮和亚硝酸盐对水产养殖动物的生长发育有负面影响(彭自然等 2004, 徐勇等 2006, 王娟等 2007); 因此, 降低或控制这些代谢废物的浓度, 改善和调节水质, 就成为保证高密度工厂化育苗成功的关键环节之一。

小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* Chick 是海水鱼类苗种繁育过程中的常用藻类。小球藻与其他藻类相比不但具有生长速度快、抗污染能力强、容易培养等优点, 更为重要的是, 其不饱和脂肪酸 DHA (二十二碳六烯酸) 的含量比较高, 能满足鱼苗的营养需求。因此, 在海水鱼类育苗中, 普遍把小球藻作为仔鱼开口饵料——轮虫以及虫无节幼体的营养强化剂, 而它对水质的调节作用往往容易被人忽视。

光合细菌 Photosynthetic bacteria (PSB) 是水环境中一种重要的微生物类群, 在好氧和厌氧条件下都能生长。类球红光合细菌 *Rhodobacter sphaeroides*, 也叫红假单胞菌, 是水产养殖和苗种培育中常用的光合细菌。光合细菌以光为能源, 利用有机物、硫化氢、氨等作为供氢体而进行光合作用。光合细菌营养非常丰富, 不仅粗蛋白、氨基酸含量高, 而且富含各种 B 族维生素、辅酶 Q、叶酸、生物素及其他未知的多种生物活性物质, 还含有丰富的类胡萝卜素, 是一种营养价值高且营养成分较全的细菌, 被广泛应用于动物饲料、农作物的生物肥料(沈锦玉 2004)。近年来, 光合细菌作为水质改良剂在对虾苗种培育(王志敏等 1992, 张道南等 1988)、贝类苗种生产(薛超波等 2004)和海参育苗(王立超等 2005)等方面得到广泛的应用(董闻琦等 2003)。

本实验研究了大菱鲆育苗中单独或同时添加小球藻和光合细菌对育苗池水质的调节作用, 通过测定氨氮和亚硝酸盐浓度的变化, 分析了二者调节水质的机理。本实验的结果是对对虾类及其他海水鱼类育苗技术体系的充实; 尤其是对于工厂化高密度养殖和育苗条件下水质的控制具有重要的指导作用。

1 材料与方法

1.1 光合细菌的培养

1.1.1 来源

实验所用类球红光合细菌 HZPSB 菌种来自中国海洋大学生命科学学院微生物实验室。

1.1.2 营养盐配方

乙酸钠 5g/L, 磷酸二氢钾 0.6g/L, 磷酸氢二钾 0.4g/L, 酵母膏 0.1g/L。

1.1.3 培养方法

海水经煮沸消毒后按上述比例加入营养盐, 再按 1:3 的比例接种菌种。培养温度 25℃, 光照强度为 20 000 lx。密闭培养, 定时摇瓶以使各部位受光均匀。当细菌密度达到 1×10^9 cell/ml 时即可进行扩种。

1.2 小球藻的培养

(1) 藻种来源。实验藻种来自中国水产科学研究院黄海水产研究所生态室藻种库。

(2) 营养盐配方。尿素 0.02g/L, 硫酸铵 0.06g/L, 磷酸二氢钾 0.01g/L, 柠檬酸铁胶 0.001g/L。

(3) 培养方法。一级培养在玻璃瓶中进行, 海水用煮沸法消毒, 按 1:5 的比例接种藻种。二级培养在水泥池中进行, 海水用 100×10^{-6} 的次氯酸钠消毒, 再用硫代硫酸钠中和, 按 1:10 的比例接种。培养温度 16~20℃, 光照强度 10 000lx 左右。

1.3 实验方法

1.3.1 实验设施与条件

实验在山东省莱州市日通水产养殖场大菱鲆育苗车间进行。育苗池为 15 m^3 的圆形水泥池, 池深 1m, 共 9 个。育苗使用海水经过沉淀、砂滤和紫外线消毒处理。海水的理化指标为: 盐度 31, pH 7.8, 氨氮浓度 0.32

mg/L, 硫化氢浓度 0.01 mg/L, 悬浮颗粒浓度 15 mg/L。育苗室光照控制在 3 000 lx 左右, 光照时间 18 h/d。实验期间苗池连续微量充气, 使溶氧保持 6 mg/L 以上; 育苗水温 18 ℃。实验进行期间不换水, 静水培养。

1.3.2 实验方法

将 9 个实验池分为 3 组, 其中 1~3 号池为对照, 在实验过程中不添加光合细菌和小球藻; 4~6 号池只加入小球藻; 7~9 号池同时加入小球藻和光合细菌。在仔鱼开口前一天, 将 1~9 号育苗池加满过滤和消毒处理过的新鲜海水。同时, 向 4~9 号育苗池内加入小球藻, 使水中藻细胞浓度达到 1.0×10^6 cell/ml; 另外, 在 7~9 号 3 个培育池中按 1.0×10^4 cell/ml 加入光合细菌。将尚未开口的仔鱼移入苗池, 布苗密度为 8 000 尾/m³。1~3 号育苗池为对照, 实验期间不添加小球藻和光合细菌, 只布苗和投喂饵料。

实验从仔鱼开口第 1 天开始, 共进行 16 d。每 4 d 向 4~9 号育苗池补充添加 1 次小球藻, 使育苗池水中的小球藻浓度始终保持在 1.0×10^6 cell/ml 以上。光合细菌只在布苗前一次性添加, 实验期间不再补充。

在实验开始后的 1~16 d, 日投喂轮虫两次, 投喂量根据摄食情况而定; 水体中的轮虫密度大致保持在 1.3~3 个/ml。在第 6~16 天, 每日 3 次投喂卤虫无节幼体; 按育苗水体计算, 日投喂量为 0.1~0.8 个/ml。

从开口第 1 天开始, 隔日上午 8:00 从每个实验苗池取得水样, 并测定其氨氮和亚硝酸盐浓度。在实验第 8 天每两小时测 1 次氨氮和亚硝酸盐的全日浓度变化。取水样方法: 从每个育苗池的池边和中间部位各取得水样两个, 混合后作为该池的水样。

1.3.3 水质因子的检测方法

氨氮用纳氏试剂光度法 (GB7479-87); 亚硝酸盐用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法 (GB7493-87)。

1.4 数据分析

对于每天和每小时取样测定的氨氮和亚硝氮浓度计算平均值和标准误差, 并利用单因素方差分析和 Tukey 多重比较进行差异显著性检验 (ANOVA)。全部统计分析都用 Minitab14 分析软件完成, 并用 Sigma-plot 9.0 绘制统计图形。

2 结果与讨论

2.1 添加小球藻和光合细菌对鱼苗活力的影响

在单独添加小球藻以及同时添加小球藻和光合细菌的水池中, 鱼苗活力强, 反应机敏, 集群好; 鱼苗摄食旺盛, 肠胃饱满, 大多体色金黄。空白对照组 1~3 号池的仔鱼表现不活跃, 始终在水体的中下层活动, 每天清晨都会在池角水流形成漩涡处聚集。鱼苗大多摄食不好, 体色发黑, 头大、消瘦。在实验进行到第 12 天时死亡率高达 97% 以上; 对照池的实验随即终止。

上述实验结果, 特别是对开口初期的仔鱼的观察表明, 添加小球藻和光合细菌在仔鱼营养强化方面发挥了一定的作用。小球藻含有丰富的不饱和脂肪酸, 可作为仔鱼开口饵料轮虫的营养强化剂。池中投放大量小球藻, 能保证池水中轮虫的摄食和营养, 因而有利于仔鱼的健康生长。光合细菌营养丰富, 体内含有丰富的氨基酸、蛋白质、叶酸和 B 族维生素, 是一种比较理想的育苗饵料。光合细菌可同时作为仔鱼和轮虫的饵料, 从而促进仔鱼的生长。

另外, 添加小球藻可降低池水透明度, 利于仔鱼的隐蔽和活动, 减少应激反应, 因而利于仔鱼的生长。

2.2 添加小球藻和光合细菌对整个育苗期间水质指标的影响

各实验组氨氮和亚硝酸盐检测结果见表 1。从第 6~12 天, 对照池中两种营养盐的浓度都显著高于两个处理组 ($P < 0.05$), 而在第 12~16 天, 同时添加小球藻和光合细菌的 7~9 号池中的氨氮浓度显著低于只添加小球藻的水池; 在第 16 天, 前者的亚硝酸盐浓度也显著低于后者。上述实验结果表明, 小球藻对氨氮和亚硝酸盐的吸收和利用十分明显, 显著地抑制了 4~9 号池中这两种营养盐的积累。同时, 光合细菌也能大量吸收氨氮和亚硝酸盐, 并且对氨氮的吸收能力更强; 随着光合细菌的生长繁殖, 其对氨氮和亚硝酸盐的抑制作用也越

来越显著。由于光合细菌的初始浓度较低,同时因仔鱼和轮虫的摄食限制了其繁殖速度,光合细菌对氨氮和亚硝酸盐的吸收和利用效果在第 10 天才开始显现。

表 1 仔鱼培育期 0~16d 对实验池氨氮及亚硝酸盐的检测结果

Table 1 NH_4^+ and NO_2^- test for the larvae rearing tanks during 0~16d (mean \pm SE)

天数 Day	氨氮 NH_4^+ (mg/L)			亚硝酸盐 NO_2^- (mg/L)		
	对照 Control	小球藻 <i>Chlorella</i>	小球藻+光合细菌 <i>Chlorella</i> + PSB	对照 Control	小球藻 <i>Chlorella</i>	小球藻+光合细菌 <i>Chlorella</i> + PSB
0	0.41 \pm 0.01	0.41 \pm 0.01	0.41 \pm 0.00	0.17 \pm 0.00	0.16 \pm 0.00	0.16 \pm 0.00
2	0.61 \pm 0.02	0.79 \pm 0.06	0.83 \pm 0.02	0.17 \pm 0.01	0.17 \pm 0.00	0.17 \pm 0.01
4	1.18 \pm 0.08	1.09 \pm 0.01	1.23 \pm 0.04	0.19 \pm 0.01	0.19 \pm 0.00	0.18 \pm 0.01
6	3.45 \pm 0.10 ^a	1.61 \pm 0.06	1.74 \pm 0.04	0.31 \pm 0.02 ^a	0.23 \pm 0.01	0.21 \pm 0.02
8	6.16 \pm 0.18 ^a	2.66 \pm 0.09	2.84 \pm 0.08	0.57 \pm 0.02 ^a	0.26 \pm 0.01	0.25 \pm 0.02
10	9.28 \pm 0.23 ^a	3.75 \pm 0.09	3.60 \pm 0.07	0.79 \pm 0.03 ^a	0.33 \pm 0.01	0.31 \pm 0.02
12	13.53 \pm 0.25 ^a	5.13 \pm 0.15 ^b	4.27 \pm 0.05	0.98 \pm 0.03 ^a	0.45 \pm 0.02	0.38 \pm 0.02
14		6.26 \pm 0.15 ^b	4.63 \pm 0.03		0.57 \pm 0.03	0.50 \pm 0.02
16		7.56 \pm 0.19 ^b	4.89 \pm 0.09		0.71 \pm 0.02 ^b	0.59 \pm 0.03

注: 不同的字母标志表示差异显著($P < 0.05$)

各实验水池中的氨氮和亚硝酸盐浓度的变化趋势见图 1 和图 2。从仔鱼开口后第 4 天开始,对照池氨氮和亚硝酸盐浓度上升的速度明显快于两个处理组。在育苗期间,培育池中氨氮和亚硝酸盐浓度总体呈上升趋势,表明这两种水质指标的变化跟鱼苗的摄食量有关。随着摄食量的显著增加,饵料的日投喂量也相应增加;苗池中的生物代谢量亦随之逐渐加大。由于育苗期间不换水,鱼苗的代谢废物如氨氮和亚硝酸盐等都会在水中积累,这种情况在没有添加小球藻和光合细菌的对照池中显得尤其突出。

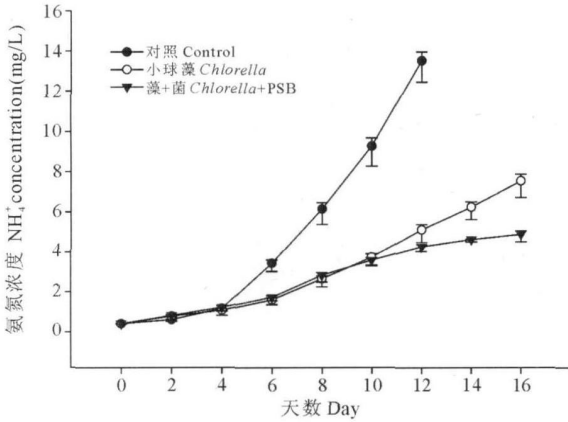
2.3 第 8 天实验池氨氮和亚硝酸盐的昼夜变化规律

在实验进行的第 8 天,对各苗池的氨氮和亚硝酸盐进行了 24h 监测,结果见表 2。对照组从 0 :00 到 22 :00 的氨氮和亚硝酸盐浓度快速上升,不同时间的浓度指标多呈显著性差异,并始终高于两个处理组。统计分析表明,从 4 :00 开始对照组的氨氮浓度即比初始浓度有显著升高,从 6 :00 开始对照组的亚硝酸盐浓度也比初始浓度有显著升高($P < 0.05$)。

两个处理组的氨氮和亚硝酸盐浓度的全天波动趋势相似(图 3 和图 4),再次说明小球藻在抑制这两种营养盐时起主导作用。其中,亚硝酸盐浓度全天波动不大,只有添加小球藻组在 20 :00 和 22 :00 时浓度有显著升高($P < 0.05$),而同时添加小球藻和光合细菌组全天没有显著变化。不过,两个处理组的氨氮浓度波动较大,其初始(0 :00)浓度和最终(22 :00)浓度都有显著差异;其中,添加小球藻组的氨氮浓度变化幅度大于同时添加小球藻和光合细菌组,并且在 16 :00 和 18 :00 前者的氨氮浓度显著高于后者($P < 0.05$)。

水中氨氮和亚硝酸盐浓度会随着鱼苗摄食和排泄的增加而升高,同时还会随着小球藻和光合细菌的光合作用及其对营养盐的吸收而降低,而后者又容易受到光照、水温等物理因素的影响,因而这两种营养盐在水中浓度的变化又呈现出一定的周期性。本实验中,氨氮和亚硝酸盐的昼夜变化规律表明,小球藻和光合细菌对这两种营养盐的吸收利用十分明显,从而有效地避免了二者在苗池中的积累,对保持良好的水质条件发挥了重要作用。另外,添加小球藻和光合细菌组的氨氮浓度在 16 :00 和 18 :00 显著低于只添加小球藻的苗池($P <$

0.05), 进一步证明光合细菌对氨氮有显著的吸收。实验结果表明, 在没有小球藻和光合细菌调节水质的情况下(对照组), 鱼苗的代谢废物会在水中逐渐积累, 其浓度呈单边上升的趋势(图3和图4)。

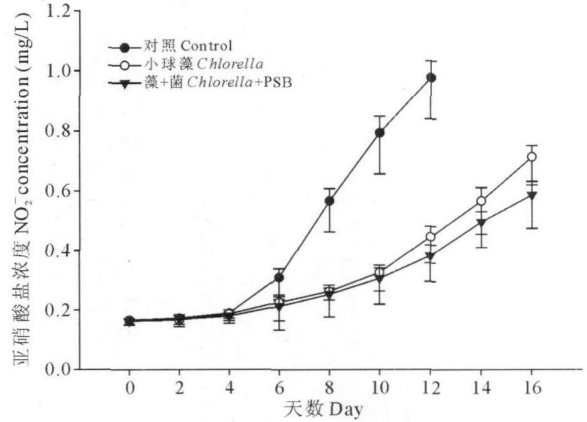


数值为3个重复的均值, 上侧误差标记代表标准差, 下侧标记代表95%置信区间
Mean values for NH₄⁺ concentration in replicate tanks are presented

Positive error bars represent standard deviation and negative error bars represent 95% confidence limits

图1 实验期间苗池氨氮浓度的变化

Fig. 1 NH₄⁺ concentration in the experiment tanks for turbot larvae rearing



数值为3个重复的均值, 上侧误差标记代表标准差, 下侧标记代表95%置信区间
Mean values for NO₂⁻ concentration in replicate tanks are presented

Positive error bars represent standard deviation and negative error bars represent 95% confidence limits

图2 实验期间苗池亚硝酸盐浓度的变化

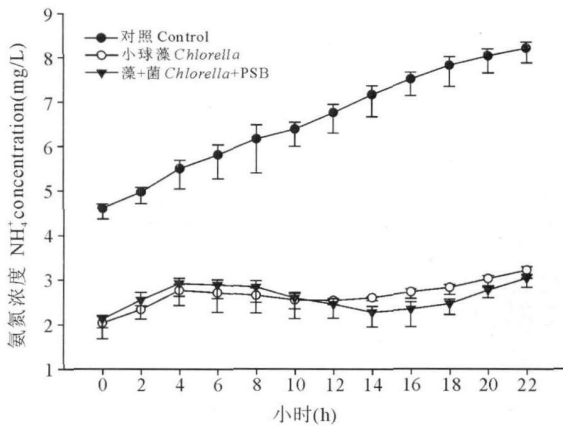
Fig. 2 NO₂⁻ concentration in the experiment tanks for turbot larvae rearing

表2 实验第8天苗池氨氮及亚硝酸盐的监测结果

Table 2 NH₄⁺ and NO₂⁻ test for the larvae rearing tanks on day 8 (mean±SE)

小时 (h)	氨氮 NH ₄ ⁺ (mg/L)			亚硝酸盐 NO ₂ ⁻ (mg/L)		
	对照 Control	小球藻 <i>Chlorella</i>	小球藻+光合细菌 <i>Chlorella</i> +PSB	对照 Control	小球藻 <i>Chlorella</i>	小球藻+光合细菌 <i>Chlorella</i> +PSB
0	4.61±0.06 ^a	2.03±0.08	2.12±0.05	0.40±0.01 ^a	0.24±0.01	0.23±0.02
2	4.97±0.06 ^a	2.33±0.05	2.55±0.10 [*]	0.44±0.01 ^a	0.24±0.01	0.24±0.01
4	5.50±0.11 ^{a*}	2.77±0.08 ^{**}	2.92±0.07 ^{**}	0.51±0.02 ^a	0.26±0.01	0.24±0.02
6	5.81±0.13 ^{a**}	2.72±0.10 ^{**}	2.89±0.07 [*]	0.54±0.02 ^{a*}	0.26±0.01	0.25±0.02
8	6.16±0.18 ^{a***}	2.66±0.09 [*]	2.84±0.08 [*]	0.57±0.02 ^{a*}	0.26±0.01	0.25±0.02
10	6.38±0.09 ^{a****}	2.55±0.10 [*]	2.60±0.06 [*]	0.60±0.03 ^{a**}	0.26±0.01	0.25±0.02
12	6.76±0.11 ^{a*****}	2.54±0.02 [*]	2.46±0.07	0.64±0.03 ^{a***}	0.26±0.01	0.25±0.02
14	7.16±0.12 ^{a*****}	2.60±0.01 [*]	2.27±0.08	0.69±0.04 ^{a****}	0.26±0.01	0.25±0.02
16	7.51±0.09 ^{a*****}	2.73±0.03 ^{b**}	2.35±0.09	0.73±0.03 ^{a****}	0.27±0.01	0.26±0.02
18	7.82±0.11 ^{a*****}	2.83±0.04 ^{b**}	2.47±0.06	0.77±0.03 ^{a*****}	0.28±0.01	0.26±0.02
20	8.03±0.09 ^{a*****}	3.03±0.04 ^{***}	2.77±0.04 [*]	0.78±0.03 ^{a*****}	0.28±0.01 [*]	0.27±0.02
22	8.21±0.08 ^{a*****}	3.22±0.04 ^{***}	3.04±0.05 ^{**}	0.81±0.02 ^{a*****}	0.29±0.01 [*]	0.27±0.02

注: 不同的字母标志表示处理间差异显著, 不同数量的*号表示同一处理组在不同时间差异显著(P<0.05)

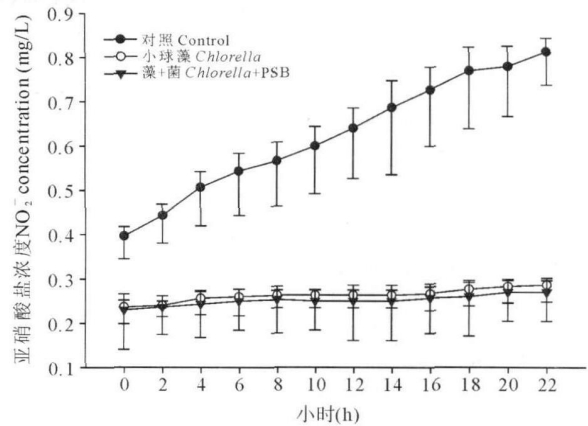


数值为3个重复的均值, 上侧误差标记代表标准差,
下侧标记代表95%置信区间

Mean values for NH_4^+ concentration in replicate tanks are presented. Positive error bars represent standard deviation and negative error bars represent 95% confidence limits.

图3 实验第8天苗池氨氮浓度的昼夜变化

Fig. 3 NH_4^+ concentration in the experiment tanks for turbot larvae rearing on day 8



数值为3个重复的均值, 上侧误差标记代表标准差,
下侧标记代表95%置信区间

Mean values for NO_2^- concentration in replicate tanks are presented. Positive error bars represent standard deviation and negative error bars represent 95% confidence limits

图4 实验第8天苗池亚硝酸盐浓度的昼夜变化

Fig. 4 NO_2^- concentration in the experiment tanks for turbot larvae rearing on day 8

3 结论

实验表明, 小球藻和光合细菌能利用苗种培育池水中的氨氮和亚硝酸盐作为营养源, 合成自身营养, 净化养殖池水质。其中, 小球藻对这两种营养盐的吸收作用更为明显。同时, 从同时添加藻和菌组的氨氮水平在实验后期得到明显抑制这一结果来看, 光合细菌对氨氮的吸收能力有可能强于对亚硝酸盐的吸收。同时, 作为开口饵料之一, 光合细菌可以为鱼苗提供营养; 并与小球藻一起作为强化剂提高池中轮虫等活饵料的营养价值。小球藻和光合细菌同时添加到苗池中, 可以更加明显地抑制池中的氨氮和亚硝酸盐浓度, 并为鱼苗提供综合营养, 因而是一种值得推广应用的的做法。

参 考 文 献

- 王立超, 孙德华, 刘 瑶. 2005. 光合细菌在刺参育苗中的应用. 齐鲁渔业, 22(12): 26~27
- 王志敏, 王六顺, 郑锦雄, 王瑞典, 王玉梅, 于存忠, 汉汉柱, 陈亚关. 1992. 光合细菌在对虾苗种生产中的应用. 河北渔业, 1: 18~21
- 王 娟, 曲克明, 刘海英, 李 健, 马德林. 2007. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对中国对虾的急性毒性效应. 海洋水产研究, 28(6): 1~6
- 沈锦玉, 尹文林, 刘 问, 沈智华, 钱 冬, 曹 铮, 吴颖蕾. 2004. 光合细菌 HZPSB 对水产养殖水质的改良和对鱼类促生长作用. 科技通报, 20(6): 481~484
- 张道南, 孙其焕, 陈乃松, 乔振国. 1988. 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. 水产学报, 12(4): 367~369
- 徐 勇, 张修峰, 曲克明, 马绍赛, 李 健, 宋德敬. 2006. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对半滑舌鲷的急性毒性效应. 海洋水产研究, 27(5): 28~33
- 彭自然, 藏维玲, 高 杨, 江 敏, 徐桂荣, 丁福江. 2004. 氨和亚硝酸盐对凡纳滨对虾幼虾的毒性影响. 上海水产大学学报, 13(3): 274~278
- 雷霖霖, 马爱军, 陈 超, 庄志猛. 2006. 大菱鲆 *Scophthalmus maximus* L. 养殖现状与可持续发展. 中国工程科学, 7(5): 30~34
- 董闻琦, 刘必谦. 2003. 光合细菌在水产动物苗种培育中的应用. 水产养殖, 24(2): 40~43
- 薛超波, 王国良, 金 珊, 王一农. 2004. 光合细菌在贝类育苗中的应用. 水产科学, 23(3): 41~42