

水产养殖, 光合细菌, 培养应用 ⑨

S963.211

○综合利用○

# 光合细菌的培养及其在水产养殖中的应用

朱励华 韩茵 陈勃 吴雄飞

(宁波市水产研究所)

光合细菌简称 PSB, 是一群能在厌氧光照或好氧黑暗条件下利用有机物作供氧体兼碳源进行不放氧光合作用的细菌, 广泛分布于水田、湖沼、江河、海洋、活性污泥和土壤中。长期以来国内外许多学者对它进行多方面的基础和应用研究, 充分认识到光合细菌是一种能进行光合作用的有益微生物。近年来, 光合细胞应用于水产养殖业并取得显著效果, 被誉为养殖界的新型生物武器。我所自 1994 年开始光合细菌培养与应用研究, 三年来共培养光合细胞液 13 吨, 供宁波慈溪、象山和舟山市等地 500 余亩虾塘使用, 同时还在中华鳖养殖、对虾和泥蚶人工育苗中试用, 均取得较好的效果。本文根据我们的研究实践, 结合国内外有关文献, 介绍光合细胞的培养技术及其在水产养殖中的应用状况。

## 一、光合细菌的培养

### 1、菌种

要生产高质量的光合细菌, 首先必须要有优良的菌种。菌种可从采集的池塘底泥中重复富集、分离纯化获得。如采用保留下来的菌种, 在培养前必须提纯复壮, 才能有效地进行扩大培养。目前, 在水产养殖中使用的商品光合细胞多为红螺菌科和一部分着色菌科的复合菌株。因为复合型菌株能利用多种碳源, 易于培养, 有着更为广泛有效降解水种各低分子有机物的优势。

### 2、培养基

光合细菌培养中除碳、氮、磷等主要营养元素外, 还需要一定的镁、钙、钠及有关微量元素, 将所需的营养元素按一定的比例配成适应于菌体生长繁殖的培养基。基本配方为: 氯化铵 0.1%, 碳酸氢钠 0.1%, 醋酸钠 0.3%, 磷酸二氢钾 0.03%, 硫酸镁 0.01%, 酵母膏 0.05%, 蛋白胨 0.05%, 微量元素母液 0.1%。若需制成固体培养基, 再加 20% 琼脂。

### 3、培养生态条件

(1)pH 值: 光合细菌生长的酸碱度范围为微酸

性到中性, pH 值在 6.5-7.5, 在培养过程中, 需要定时测定培养液的 pH 值变化。

(2)光照: 室内用 25-60W 白炽灯作光源, 注意培养物不能离灯泡太近。光强度一般为 1000-2000LUX。

(3)温度: 光合细菌适应温度为 10-35℃, 最適 25℃-28℃。据我们观察, 光合细菌能耐较高温度, 在 40℃-42℃ 时仍生长正常。

### 4、培养方法

光合细菌的生产性培养一般采用三级培养法。

一般培养: 采用试管和小型盐水瓶, 其生产培养基需先经高压灭菌(温度 121℃, 压力 15 磅维持 20 分钟), 然后在无菌条件下, 按规程进行接种, 尤以试管种要求更严, 接种后于适宜温度与光照条件下进行培养。接种量 10%-20%。

二级培养: 采用 5000-20000ml 玻璃瓶: 生长培养基需煮沸消毒, 待冷却到 25℃ 左右接种。接种量 10%-20%。

三级培养: 采用 25-50kg 塑料桶或玻璃钢桶, 培养液用次氯酸钠消毒 12-24 小时, 再用硫代硫酸钠还原后接种培养。接种量随季节气温的不同而异, 一般为 20%-30%。

### 5、培养场所

一般在室内控温光照条件下培养, 一级试管种置于培养箱内, 试验显示: 当自然温度适宜时, 可采用尼龙薄膜大棚培养, 棚内白天能充分利用自然光, 塑料桶正好中和了强力的太阳光照射, 避免了光线过强的问题, 晚间光合细菌又有黑暗好氧生长的特性, 也不用增加光源。

## 二、光合细菌在水产养殖中的作用

光合细菌对水产养殖的作用主要在于其能改善和稳定养殖环境, 其高营养的菌体能作为饵料和饵料添加剂以及防治疾病等三方面, 从而能有效促进养殖动物生长, 提高成活率。不同种类的光合细菌

有着不同的生态生理特性,因此在水产养殖中须根据使用目的、环境、品种等不同条件来选择合适的菌株。

### 1、改善和稳定养殖环境

宜选用着色菌科和红螺菌科的复合菌株。着色菌科的光合细菌由于主要以  $H_2S$ 、硫代硫酸盐等作为供氢体及电子受体,且是专性厌氧细菌,应用于养殖水体后可增强对底泥中硫化物的降解。红螺菌科的光合细菌能利用有机物进行光能异养,无论在光照无氧或有氧或黑暗有氧无氧的环境条件下都能利用多种有机物。

在自然水域中,光合细菌是物质循环的重要环节之一,它能把水域中的残余有机物经异养菌分解后所产生的有机酸、硫化氢及氨等作为基质合成菌体而增殖,即参与了水质的净化,又可被其它动物所捕食(见图)在高密度的养殖条件下,养殖环境(包括水质和底质)不可避免地受到排泄物、残饵等有机物的污染,以往采用的换水或循环过滤的方法,并不是所有养殖池都能适用。同时,这些方法还难以保持水中最适的微生物群落,使养殖环境缺乏相对的稳定性,并且在低温季节换水也不能保持最适水温(如养蟹暖棚)。特别是近年为防止对虾爆发性疾病的发生须使虾塘环境保持相对稳定,不宜再采用大排大灌的换水方法,而采用添加水方式在高温季节水质难以控制。若在养殖池中投入适量的光合细菌,其脱氮作用就可随时把从池底产生的氮和有机物的初始分解物除去,不换水或少换水就能基本保持养殖池的良好环境。此外,光合细菌的加入,促进了养殖池的物质循环,提高了能量转化率,增加和改变了池中浮游植物、浮游动物生物量,并使为鱼虾类食用的饵料数量显著增加,从而稳定了养殖环境。

### 2、作为饵料及饵料添加剂

宜选用红螺菌科的复合菌。光合细菌菌体含蛋白质 60% 以上,每克干燥菌体相当于 5 千卡热量,作为蛋白质必需氨基酸,含有鱼虾类所需全部氨基酸,同时光合细胞含有丰富的维生素,特别是各种 B 族维生素几乎都有,还具有较高含量的对动物生长发育具有促进作用的生理活性物质辅酶 Q 等,是一种营养价值高且营养成分较全的细菌,可以作为鱼、虾、贝养殖中良好的饵料添加剂。同时,光合细菌绝

大多数种类为  $0.5 \sim 4 \mu m$  大小,仅相当于小球藻的二十分之一,因此是幼体最适宜的开口饵料,同时也是培养浮游动物如水蚤、轮虫、卤虫的良好饵料。但光合细胞  $\omega_3$  系列的 20 碳以上的高度不饱和脂肪酸 ( $\omega_3$ HUFA) 几乎没有,因此,单独使用光合细菌作为仔鱼虾类的初期饵料,则稍嫌不足,须与其它富含高度不饱和脂肪酸的饵料同时使用,则可大大提高其营养性,提高幼体培育的成活率。例如,金藻不饱和脂肪酸的含量很高,是泥蚶的良好饵料,但其蛋氨酸的含量较低,仅为  $0.54 \mu g/mg$  (干品),光合细菌则为  $0.8\% \sim 2.8\%$ ,二者混投可全面丰富幼虫或稚蚶的营养,提高生长发育速度,增强生理机能,提高变态和成活率。

### 3、防治疾病,提高成活率

光合细菌对水产动物疾病防治作用主要在于:一是有效地改善了养殖池的微生态环境,对鱼虾无害的光合细菌投入养殖池后,占优势的光合细菌抑制并替代了病原菌,从而减少或阻止了病原体的感染;二是光合细菌有效地改善了养殖环境,尤其净化了水质,减少了病害发生的机会。三据介绍,荚膜红假单胞菌细胞壁中所含的多糖类为广谱的非特异性免疫激活剂,营养丰富,增加了鱼虾体质和抗病力,减少了疾病的发生,从而提高了成活率,起到了防治病害的作用。

### 三、光合细菌在水产养殖中的应用

国内外许多学者和单位,在海水鱼类、虾类及贝类等养殖与苗种培育,蟹、鳖、鳊鱼等特种水产养殖和轮虫等饵料生物培养中应用光合细菌进行了有益的尝试,取得了良好的效果。

#### 1、对虾养殖

在对虾养殖中使用光合细菌,根据具体情况主要有三种用法。(1)拌沙:以每亩 1kg 用量,拌沙泼洒于虾池有机物、硫化氢含量多的黑泥和换水死角的池底,以改善虾池底质。(2)用每亩 5kg 菌液全池泼洒,每 10 天一次。(3)作饵料添加剂按 5% 比例均匀喷洒于配合饵料上投喂。我们的试验表明:光合细菌应用于对虾养殖,在前期具有明显的促进对虾生长作用,在养殖中后期能有效改善养殖池的水质及底质环境,明显促进养殖池中混养贝类的生长,同时,还能延缓对虾爆发性疾病的发生。

1994年于宁海大佳河育苗厂,在室内水泥池用光合细菌投喂幼虾(体长0.7~5cm)试验,经70天饲养,试验池比对照池体长平均增长13.2%;体重增加85.96%;溶解氧试验池(3.5~4.0mg/L)高于对照池(3.0~3.5mg/L)0.5~1.0mg/L,氨氮试验池(0.2~0.3mg/L)低于对照池(0.35mg/L)0.15~0.05mg/L。

1995年5~7

月,在慈溪推广站试验塘(20亩)试用光合细菌,每亩5kg,隔15天投一次,养殖前期试验塘对虾体长增长快于对照塘,整个养殖期水色微绿,透明度适中,至7月份起捕,试验塘产量每亩增产6kg,亩增效益200元。

慈溪庵东王庆利30亩虾塘从5月30日开始使用光合细菌较临近虾塘迟发病50多天,7月底起捕。

1996年6~9月,在象山大目涂的28号、38号、39号、40号虾塘总面积为120亩的虾贝混养塘中(长毛对虾或日本对虾与缢蛭混养)使用光合细菌,从6月中旬开始每15天每亩投放菌液5kg。养殖期间虾塘水质明显改善。见表。

表1 养殖效果对照表 单位:mg/l

| 项目  | 氨氮          | 溶解氧       | 耗氧量         |
|-----|-------------|-----------|-------------|
| 试验塘 | 0.015~0.040 | 5.95~6.10 | 1.068~1.246 |
| 对照塘 | 0.023~0.140 | 4.51~5.74 | 1.424~1.417 |

至7月中旬,对照塘和附近的虾塘对虾发病死亡,当时起捕的对虾体长仅4~5cm,4只试验塘结合其他综合防病措施,延缓了虾病的发生;一直养到10月份起捕,亩产日本对虾41.1kg,长毛对虾43.5kg,蟹25.8kg,缢蛭97.1kg。试验塘混养的缢蛭生

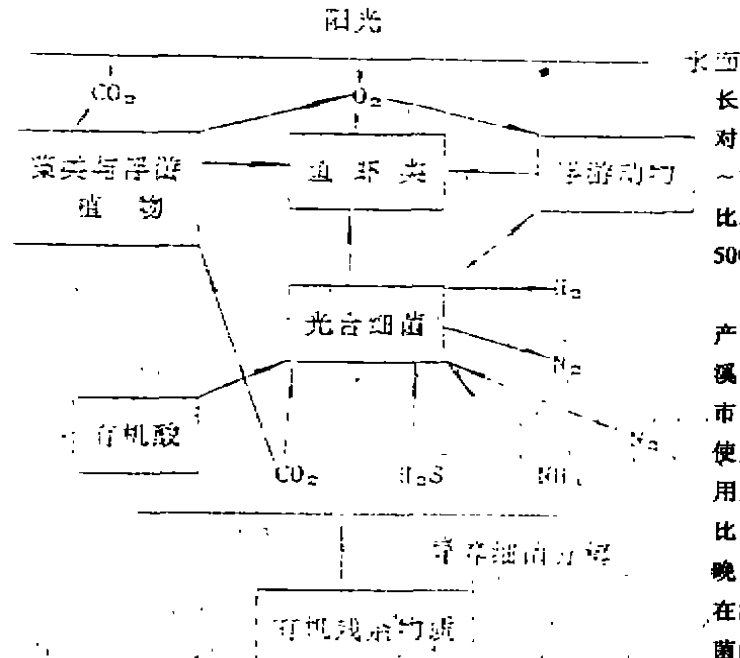


图1 光合细菌在水产养殖环境中的作用

长明显加快,壳长比对照塘平均增加0.5~1cm。总效益每亩比对照塘增加200~500元。

三年来,我们生产的光合细菌在慈溪、奉化、象山、舟山市共500余亩虾塘使用的结果显示,使用光合细菌的虾塘比临近不使用的塘晚发病15~20天。在温岭使用光合细菌的虾塘,虾病发生也推迟20~30天,且对虾病情有所减轻。

轻。

由此,我们认为光合细菌在对虾养殖中应用效果是明显的,应加大力度推广。同时,光合细菌的生产单位应在保证产品质量的前提下,降低生产成本,以利于进一步推广。

## 2、水产苗种培育中的应用

光合细菌在虾、鱼、贝育苗中,既可作为开口饵料,又可净化水质。

(1)贝类育苗。我们在1995年泥蚶人工育苗中,在以单胞藻为基础饵料上添加25ppm光合细菌;D型幼体比对照池变态提前1天,个体增大,变态率提高12%。1996年本所苗种基地在泥蚶人工育苗中,对将附着的匍匐幼体添加光合细菌试验,结果显示:延缓了底泥的污染,一般育苗池4天换一次泥,试验池7天换一次。经17天培养,普通育苗池稚蚶壳长500~600μ,试验池稚蚶达700~800μ,个体明显增大,并提高了成活率。同时,增加了经济效益。

宫庆礼等(1995)在海湾扇贝育苗中,以单胞藻为基础饵料,适当添加光合细菌,促进了亲贝性腺发育,提高了幼虫生长率,亲贝性腺指数平均日增长达2%以上,幼虫平均增长13.8μm,同时,光合细菌可降低育苗水体中的氨氮,提高溶解氧,明显改善了水

质。

(2)对虾育苗。在中国对虾育苗中,投放组与对照组管理条件相同情况下,单位水体出苗量提高5.1万尾,蚤状幼体提高成活率20%,糠虾幼体提高22%。山东荣成某育苗场,育苗期间投放PSB3~5ppm,氨氮由180PPb降为60PPb,硝酸氮降为0;在斑节对虾、日本对虾育苗中添加5ppm PSB,提高成活率76.4%;脊尾白虾育苗中每天添加PSB,成活率提高19.3%~19.5%;罗氏沼育苗中添加PSB1~1.5ppm,提高成活率24%~26.8%。

(3)鱼类育苗。日本东京大学农学系(1981)曾以光合细菌的培养液饲养孵化出三日后的鳃鱼苗经50天,实验组平均体长为21.08mm,而对照组则平均体长17.04mm,同时实验组增重与成活率也优于对照组。

用光合细菌作为刚孵出还不能捕食轮虫的仔鱼的开口饵料最为合适。泥鳅、香鱼等仔鱼还不能捕食时,饵料通过鳃在呼吸时进入体内,食入光合细菌后,从外面就能看到红色的消化管。特别是泥鳅,在自然条件下,从孵化后直到能捕食轮虫时,大约要死亡99%,因而成为养殖泥鳅的大关,但使用光合细菌可获得60%的成活率,而且幼鱼生长整齐划一。

### 3、海淡水鱼类养殖

(1)海水鱼类养殖。据介绍,在海水池水质恶化时,按5~10ppm浓度加入光合细菌原液,一般情况下加入3小时左右即可恢复正常。

(2)淡水鱼类养殖。王育峰等在培育淡水鲢、鳙、草、鲂的夏花鱼种时,光合细菌以添加剂的形式(每千克饲料用6ml光合细菌液)拌于饲料中投喂,并一日一次用4ppm浓度全池泼洒光合细菌液,结果鱼池水质明显好于对照池。培育成活率比对照池提高了27.8%,亩产增产11.8cm左右的鱼种12.25kg,使每千克鱼种的生产成本降低6.96%。

(3)鱼病防治。据日本有关资料介绍,光合细菌对一些鱼病具有预防和治疗作用,对于粘细菌引起的鲤鱼粘细菌病,用病原菌攻击后,均引起发病,不加光合细菌的4天内全部死亡,而加光合细菌(400ml/0.054m<sup>2</sup>)的,7天内死亡4尾,另外6尾(60%)存活,而且症状消失,恢复正常。

(4)鳊鱼养殖。应用光合细菌养殖鳊鱼时,每半月按5~10ppm向池中均匀泼洒光合细菌一次,每天按投饵量的2%~5%添加在鳊鱼饲料中投喂,即可促进鳊鱼的增产和增收,而且,池水中氨和亚硝酸盐的浓度下降,起到改善水质的作用。

4、用光合细菌混以藻类培养轮虫,轮虫增殖率明显高于藻类、酵母培养的轮虫速度。利用光合细菌培养丰年虫卵,可提高孵化率,一个月后可产卵繁殖,从而为增殖再利用提供可能性,节约成本。用光合细菌培养的水蚤、轮虫,它们的氨基酸含量都明显提高,蛋白质含量也有较大幅度地提高,可有效地预防油香鱼的夜盲症。可见用光合细菌作为浮游动物的饵料是十分合适的。

综上所述,光合细菌因其独特的生理生化特性,在水产养殖的应用中显示了巨大的潜力,前景十分广阔。

### 四、光合细菌在水产养殖中的使用方法

光合细菌在水产养殖中应用,应根据不同的使用目的,不同的养殖品种和养殖环境选择适宜的使用方法和正确的使用量。

#### 1、作鱼、虾、贝、蟹幼体开口饵料及添加剂

宜选择红螺菌科复合菌株。液体菌液或浓缩菌液,使用方法为全池泼撒。作开口饵料起始浓度50~100ppm(菌液浓度8~10亿/ml,吸光值>1.6),作饲料添加剂10~20ppm,隔2~3天投放一次。

#### 2、鱼、虾成体养殖饲料添加剂

选择红螺菌科复合菌株,液体菌液、浓缩菌液或菌粉。添加量为饲料的0.2%~2%(按8~10亿/ml菌液浓度),稀释500~100倍后拌入饲料。

#### 3、在鱼、虾、贝、蟹水泥池育苗及养殖中作为水质改良剂

使用时选择红螺菌科及着色菌科(红硫菌)复合菌株。液体菌液或浓缩菌液,5~10ppm全池泼洒(菌液浓度8~10亿/ml),隔2~3天一次。

#### 4、鱼、虾、蟹池塘养殖

选择红螺菌科及着色菌科复合菌株。液体菌液或浓缩菌液,5ppm全池泼撒或拌入细沙或粘土中撒入池底(8~10亿/ml浓度),隔7~10天一次。