

芽孢杆菌菌剂在水产养殖中的应用初探

张克强, 李野, 李军幸

(农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 应用两种芽孢杆菌为主导菌, 对养殖水体中各项水质因子进行控制和处理。结果表明, 两种芽孢杆菌无论是与啤酒酵母菌混合发酵还是单独发酵后投加入养殖水体中水质各项指标均优于对照池, 达到养殖水体良好水质水平, $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, COD 等污染物浓度分别大约降低了 96.97%, 87.78%, 73.66%, 显著改善了养殖水体水质, 芽孢杆菌与啤酒酵母菌混合培养发酵液效果略好于芽孢杆菌单独发酵作用。

关键词: 芽孢杆菌; 养殖水体; 混合发酵; 水质净化

中图分类号: X835 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2006)09-0089-04

近几十年来,高密度、工厂化的水产养殖方式在世界各地得到了蓬勃发展,这在很大程度上满足了人们对水产品的需求,解决了自然渔业资源相对短缺的矛盾^[1],但养殖残饵、鱼虾粪便排泄物、生物残体、肥料等在池底积累起来,这些污染物是池塘水质恶化的源头和各种病菌、病毒系列的温床,也导致了养殖水体理化环境和生态环境的恶化^[2~4]。利用有益微生物对养殖水环境进行微生物调控,净化水质,越来越受到人们的重视^[5~7]。以芽孢杆菌为主导菌的微生物复合菌在改善养殖水体环境质量和维持养殖水生动物消化道微生境的生态平衡,提高养殖动物免疫力,降低发病率,促进动物生长等方面的作用引起了水产学界的关注^[8~11]。这类有益微生物具有促进对水产养殖中产生的有机污物的降解、能量转化、资源的再生利用以及高效、无污染、低成本的特点,在无公害水产品的生产、开发和生态环境保护中发挥着重要作用^[12, 13]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

微生物制剂菌种主要由枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、啤酒酵母菌组成。水样为模拟养殖水体。

1.2 方法

1.2.1 微生物制剂发酵液

分别接种枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、啤酒酵母菌及3种菌株混合接种于发酵培养基中,摇瓶培养18 h,制成发酵液。

1.2.2 模拟养殖水环境

在温室中采用3个水泥池为试验池塘,试验池长、宽、高分别为:2, 0.5, 1.5 m,其有效体积为750 L,分别配备增氧机。分别设一个为对照池(未加菌),两个试验池(一个作为3株菌株单独发酵后混合菌液,一个为3株菌株混合发酵菌液试验)。在整个试验过程中,中途不换水,只补充蒸发所损失的水分,保持固定水位,水体温度控制在18~20℃,每池投放鲫鱼20只,每天正常喂食。投放菌液及用量:按1 m³投放5 mL菌液,每10 d投一次。

1.2.3 水质指标测定^[14]

监测指标: pH, 溶解氧, COD, $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ 。

收稿日期: 2005-04-26; 修回日期: 2005-07-15

基金项目: 天津市科技发展计划项目(2003)

作者简介: 张克强(1968-),男,湖北武穴人,副研究员,博士,主要从事环境微生物及水污染控制理论与技术研究,电话: 022-23003859, E-mail: kqzhang68@126.com

测定方法: pH: pH计; COD: 酸性 KMnO₄法; 溶解氧: 碘量法; NH₃-N: 纳氏试剂比色法; NO₂⁻-N: 1-萘基-乙二胺光度法; 离水面 50 cm 处取样。

2 结果与讨论

2.1 微生物菌液对养殖水体 pH 的影响

微生物菌液对养殖水体 pH 的影响见表 1, 由表 1 可知, 在水温为 20 °C 条件下经过 30 d, 养殖水体的 pH 变化不是很大 (7.27~8.01), 对照组的 pH 值略高于试验组, 试验组 1, 2 的 pH 值变化幅度略小于对照组。

表 1 微生物菌液对 pH 的影响

Tab.1 Effect of tested strains on pH in water

时间 (月-日)	pH		
	对照组	试验组 1	试验组 2
11-22	7.82	7.60	7.71
11-29	7.65	7.73	7.65
12-03	7.93	7.69	7.86
12-06	8.01	7.98	7.82
12-13	7.80	7.65	7.68
12-17	7.96	7.68	7.55
12-20	7.27	7.67	7.63

注: 对照组为未投加菌液; 试验组 1 为单独投加蜡样芽孢杆菌菌液和枯草芽孢杆菌菌液混合液; 试验组 2 为蜡样菌与酵母菌混合发酵液+枯草菌与酵母菌混合发酵液 (表 2, 3, 4 同)

2.2 微生物菌液对养殖水体 NH₃-N 的影响

氨氮是养殖水体的污染的重要因素之一, 其危害的具体表现为: 大量消耗水体溶解氧使水体缺氧, 与氯作用生成氯胺, 从而增加氯的消耗量, 会影响鱼鳃的氧传递, 浓度较高时甚至使鱼类死亡, 有可能形成亚硝胺, 而亚硝胺是致癌、致变和致畸物质, 对人体有潜在威胁, 另外还会加速水体的富营养化过程。

微生物菌液对 NH₃-N 的影响见表 2, 由表 2 可以看出, 在试验过程中 NH₃-N 变化程度较大, 试验组与对照组相比变化显著。试验组 1 和 2 相对于对照组的 NH₃-N 去除率分别为 96.97%, 97.35%, 经 30 d 处理后, 试验组 1, 2 的 NH₃-N 值均达到良好水质标准 (NH₃-N 的质量浓度小于 0.6 mg/L)。对照组与试验组 1 经 *t*-检验, *t* = 3.719 大于 *t*_{0.01}(6), 因此 *P* < 0.01,

表明试验组 1 与对照组差异极显著; 对照组与试验组 2 经 *t*-检验, *t* = 2.703 大于 *t*_{0.05}(6), 因此 *P* < 0.05, 表明试验组 2 与对照组差异显著, 而试验组 1 与试验组 2 间不存在显著差异。这些数据表明此微生物菌液对养殖水体 NH₃-N 的去除有明显的功效。

表 2 微生物菌液对 NH₃-N 的影响

Tab. 2 Effect of tested strains on NH₃-N in water

时间 (月-日)	NH ₃ -N 的质量浓度(mg/L)		
	对照组	试验组 1	试验组 2
11-22	8.885	8.238	8.652
11-29	11.271	9.815	10.745
12-03	10.816	8.759	11.053
12-06	14.760	7.951	11.187
12-13	10.338	0.769	6.501
12-17	8.187	0.423	1.023
12-20	6.593	0.200	0.175

由表 2 还可以看出, 在投加菌液后对照组的 NH₃-N 质量浓度明显高于试验组, 而试验组 1 和 2 NH₃-N 质量浓度先稍有增加后显著降低, 其原因是芽孢杆菌菌液在养殖水体中繁殖为优势菌群需要一段时间适应新的环境。试验组 2 的最终 NH₃-N 质量浓度略小于试验组 1 (试验组 2 为: 0.175 mg/L, 试验组 1 为: 0.200 mg/L), 其原因可能是试验组 2 是两种芽孢杆菌与啤酒酵母菌混合发酵的协同作用形成共同的生长优势, 保证了发酵液的功能作用, 在其发酵可能中由于啤酒酵母的作用, 发酵液 pH 值维持在中性范围, 有利于各种酶类物质的形成。

2.3 微生物菌液对养殖水体 NO₂⁻-N 的影响

亚硝酸盐对养殖生物具有很强的毒性, 能把血红蛋白中的二价铁氧化为三价铁, 使得血红蛋白失去运输氧的努力, 亚硝酸盐还能氧化其它重要的化合物, 高浓度的亚硝酸盐还对养殖生物的器官造成损害, 严重影响养殖生物的生长、发育。

根据 1.2.3 方法定时测定投放微生物菌液后养殖水体的 NO₂⁻-N 变化, 混合微生物菌液对养殖水体 NO₂⁻-N 的影响见表 3, 由表 3 可知: 对照组 NO₂⁻-N 质量浓度一直快速上并维持在较高浓度趋势, 而试验组 2 NO₂⁻-N 质量浓度开始略有升高, 而后一直维持

在较低水平趋势,在监测时间范围内最终降低到 0.235 mg/L, 已达到良好水质标准 ($\text{NO}_2^- \text{-N} < 0.6 \text{ mg/L}$), $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 质量浓度相对于对照组去除率达到 96.25%。而试验组 1 的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 质量浓度上升幅度显著高于试验组 2, 两试验组均在一定范围内升高, 其可能原因是: 芽孢杆菌是一类类似硝化细菌的功能的菌株, 首先将 $\text{NH}_3 \text{-N}$ 转化成为 $\text{NO}_2^- \text{-N}$, 从而导致前期试验组 1 和 2 的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 质量浓度升高, 且伴随着大量菌体的代谢、降解, 势必会造成 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量的暂时积累。试验组 1 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 质量浓度去除率达到 87.78%, 略小于试验组 2, 说明两株芽孢杆菌分别与啤酒酵母混合培养发酵的共生菌株, 需氧代谢和厌氧代谢并存, 在池底氧气不好的状态下, 仍能分泌很强的胞外酶系, 迅速降解进入养殖池的有机物, 对养殖水体中 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的去除效果要好于单独发酵。

表 3 微生物菌液 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 对的影响

Tab. 3 Effect of tested strains on $\text{NO}_2^- \text{-N}$ in water

时间 (月-日)	$\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的质量浓度(mg/L)		
	对照组	试验组 1	试验组 2
11-22	0.179	0.287	0.221
11-29	0.190	0.304	0.267
12-03	0.444	0.814	0.585
12-06	0.560	1.443	1.119
12-13	2.242	3.323	0.897
12-17	3.743	2.157	0.567
12-20	6.259	0.765	0.235

2.4 微生物菌液对养殖水体 COD 的影响

根据 1.2.3 方法定时测定投放微生物菌液后养殖水体 COD 的变化, 微生物菌液对 COD 影响如表 4 所示, 从表 4 可以看出养殖池中 COD 的变化趋势都有一个由低到高的阶段, 体现了污染物在养殖池中的积累过程。对照组的 COD 值则一直处于显著升高的状态, 而试验组 1 和 2 均由短暂升高后逐渐降低, 在监测时间范围内最终分别降低到 5.30 mg/L, 6.03 mg/L, 基本均达到良好水质标准 ($\text{COD} < 6 \text{ mg/L}$)。由表 4 可以得到: 试验组 1, 2 相对于对照组的 COD 去除率分别为 76.84%, 73.66%, 对照组与试验组 1 经 t -检验, $t=3.527$ 大于 $t_{0.05}(6)$, 因此 $P < 0.05$, 表明试验组 1 与对照组差异显著; 对照组与试验组 2 经 t -检验, $t=3.943$

大于 $t_{0.01}(6)$, 因此 $P < 0.01$, 表明试验组 2 与对照组差异极显著, 而试验组 1 与试验组 2 间不存在显著差异。这些数据表明此微生物菌液无论是混合培养发酵还是单独培养发酵菌液对养殖水体 COD 的去除都有明显的功效。

表 4 微生物菌液 COD 对的影响

Tab. 4 Effect of tested strains on COD in water

时间 (月-日)	COD 的质量浓度(mg/L)		
	对照组	试验组 1	试验组 2
11-22	10.21	10.73	10.04
11-29	13.77	11.15	10.19
12-03	18.41	10.42	12.40
12-06	20.06	13.82	10.70
12-13	19.65	7.89	8.96
12-17	20.91	6.74	7.54
12-20	22.89	5.30	6.03

2.5 微生物菌液对养殖水体溶解氧及藻类的影响

试验还测定了试验池 DO 值, 但对照组和试验组 1 和 2 差异不明显, 主要原因可能为此微生物菌液为好氧微生物, 在作用过程中会消耗掉一部分溶解氧, 试验组 1 的 DO 值有先上升后下降的趋势, 结合 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 质量浓度的变化, 可能是 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的过程中也消耗了一部分溶解氧。由于采用连续暴气, 所以从 DO 值的变化不能很好地说明微生物菌液对 DO 值的影响。此外, 试验中还观察到微生物菌液对水体蓝藻有一定抑制作用, 虽然没有定性检测, 但是可以观察到对照组水体较绿, 试验组 1 早期出现水体变绿, 经过一段时间恢复正常, 而试验组 2 则一直没出现这种情况。其作用原因可能是微生物菌液能够降低水中 C, N, P 等元素的含量, 使得蓝藻因缺乏营养元素而无法大量生长繁殖, 从而达到控制水中藻类的目的。所以此微生物菌液对防治养殖水体的富营养化具有一定作用。

3 结论

综上所述, 此微生物菌液对养殖水体净化上有一定功效, 能有效地降低养殖水体中 $\text{NH}_3 \text{-N}$, $\text{NO}_2^- \text{-N}$, COD 含量, 混合发酵菌液通过细菌的共生或互生作

用,而迅速降解水体中的有害成分(如 NO_2^- -N, COD)。虽然芽孢杆菌不是养殖水体的优势菌群,但是可以通过定期或不定期地使用高密度的高效菌液,使其在养殖水体中形成优势菌群。但微生物对养殖水体的净化作用并非立竿见影的,微生物对水域环境肯定有一个适应过程,这样就会使作用效果与作用时间出现一定的滞后关系,一般在投加10 d后开始作用。由于时间及条件的限制就芽孢杆菌与啤酒酵母菌混合发酵液各菌种间的在净水过程中的相互作用还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈海敏,陈声明.工厂化水产养殖废水菌藻联合处理模式研究[J].浙江树人大学学报,2002, 12(4): 64-68.
- [2] Col T J E, Amsrongd A. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs [A]. Allen L J, Kinney E C. Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture [C]. Bethesda, MD: American Fisheries Society and Northeast Society of Conservation Engineers, 1981.34 - 47.
- [3] 余林娟.固定化芽孢杆菌对鱼虾池亚硝酸盐的控制[J].渔业现代化,2004, 2: 9-11.
- [4] 李勤生.光合细菌的基本特性及其在水产养殖中的应用研究概况[J].水利渔业,1995, 1: 3-7.
- [5] 薛恒平,薛彦青.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,1997,18(2): 23-26.
- [6] 王彦波,邓岳松.微生态制剂对虾池水质影响的研究[J].水利渔业,2003, 23(2): 16-17.
- [7] 侯树宇,张清敏.微生态复合制剂在对虾养殖中的应用研究[J].农业环境科学学报,2004,23(25):904-907.
- [8] 吴伟.应用复合微生物制剂控制养殖水体水质因子初探[J].湛江海洋大学学报,1997, 17(1): 16-20.
- [9] 汪锦邦.增菌素的开发及应用[J].饲料研究,1994, 5: 15-16.
- [10] 李卓佳,张庆,陈康德.有益微生物改善养殖生态研究 I.复合微生物分解有机底泥及对鱼类的促生长效应[J].湛江海洋大学学报,1998,18(1):5-8.
- [11] 佐贺新闻.用枯草菌净化海底堆物[J].养殖,1994,31(7):135-140.
- [12] 张庆,李卓佳,陈康德.复合微生物对养殖水体生态因子的影响[J].上海水产大学学报,1999,1:43-47.
- [13] 刘春潮,欧阳藩,王继坤,等.光合细菌在水产养殖中应用现状及作用机理探讨[J].中国饲料,1996, 5:25-27.
- [14] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法(第四版)[M].北京:中国环境科学出版社,2002.243-286.

Application of the compound microbiological preparation in fish pond

ZHANG Ke-qiang, LI Ye, LI Jun-xing

(Agro-Environmental Protection Institute of Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Received: Apr.,26,2005

Key words: *Bacillus*; pond water; mixed fermentation; water purification

Abstract: A preparation of micro-ecological system in which *Bacillus*. is chief microbe was used to control and treat the water quality in fish pond. The result shows the experimental groups could efficiently decompose pollutant and the organic substances NH_3 -N, NO_2^- -N, COD are reduced by up to 96.97%, 87.78%, 73.66% respectively. Compared to the controlling group, those experimental groups (mixed culture or single culture) could better effect on the water.

(本文编辑: 刘珊珊)