

改善虾池环境增强中国对虾抗病力的研究*

STUDY TO IMPROVE ENVIRONMENT OF SHRIMP POND AND STRENGTHEN ANTI-DISEASE ABILITY OF *Penaeus chinensis*

孙舰军 丁美丽

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

氨氮是养虾池中普遍存在的毒性物质。Chen 等 1989 年报道,在虾池中氨氮浓度随着养殖时间的延续会不断升高,即使在常换水的情况下也是这样,这是因为残饵、虾体排泄物等有机物在海水中经微生物分解后可产生大量氨氮,另一方面也与氨是甲壳类蛋白质分解代谢的主要终产物有关。Wickens 1976 年,Chen 等 1990 年报道,氨氮不仅在高浓度时对虾体有致死作用,Chen 和 Lin 1992 年、Chen 和 Nan 1992 年、Chen 和 Cheng 1993 年报道,即使在安全浓度范围内对虾体的生理功能也有显著影响,如增加对虾的氧耗,阻碍其氨排泄,降低其 ATPase 活性,破坏其渗透调节能力。更重要的是,对虾在氨氮的胁迫作用下,其抗病力下降,对病原的易感性增加,疾病更易发生。因此,降低氨氮浓度,提高对虾的抗病力,对预防疾病的发生具有重要的意义,本文为此开展了这方面的初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用虾 以中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 为试验材料,试验于 1996 年 9 月 4~25 日进行。中国对虾购于胶南市黄海盐场,平均体长 7.5 cm,健康无病。

1.1.2 试验海水与饵料 试验海水取自本所水族楼经沉淀过滤的海水;配合饵料,由高岛盐场养殖场提供。

1.1.3 光合细菌和吸附剂 光合细菌为本课题组分筛选的 4 株光合细菌的复合菌,吸附剂购于青岛市城阳区。

1.2 试验方法

试验是在水体为 0.9 m³ 的水族箱中进行。设置试验池和对照池各 1 个,每池放养中国对虾 12 尾。两池保持一致的养殖条件:连续通氧,日投饵 2 次,每隔

5 d 换水 1/7。不同之处在于试验池每次投饵时加入占饵料重量 0.5 % 的光合细菌(拌入饵料中),每隔 10 d 加入 30 g 吸附剂,对照池不加。定期测定两池氨氮及其他水质因子,试验进行到 22 d 时,取两组对虾的血或肌肉,利用对虾的血清或肌肉匀浆的上清液,测定中国对虾与抗病有关的一些因子。

水质因子的测定 氨氮,用次溴酸盐氧化法;溶解氧 DO,用碘量法;化学耗氧量 COD,用碱性高锰酸钾法。

中国对虾与抗病力有关的一些因子的测定 (1) 血细胞计数用注射器从对虾心脏取血,用 10 % 福尔马林做固定液(固定液:血=1:1),装入 Eppendorf 离心管后混匀,光镜下计数。(2) 与抗病力有关酶活性分析,取对虾 5 尾用注射器从对虾心脏取血,置于 Eppendorf 管中在 4 ℃ 静止数小时,取血清进行各项测定。或取对虾的肌肉加入 3 倍体积(ml)的, pH=6.4, 0.1 mol/L 的磷酸钾盐缓冲液,经匀浆器匀浆,然后在 0 ℃ 下,高速离心(15 000 r/min, 10 min),将上清液作为粗酶液进行各项试验。酚氧化酶(PO)活力,参照 Ashida 1971 年报道的方法进行;超氧化物歧化酶(SOD)活力,按照邓碧玉 1997 年改良的连苯三酚自氧化法进行;抗菌活力,采用 Hultmark 等 1980 年的改进方法;溶菌活力,以溶壁微球菌为底物,按 Hultmark 1980 年的改进方法进行。

2 结果

2.1 水质因子的检测结果

* 国家攀登计划 B 资助项目 PDB-6-7-2 号。

本试验所用大肠杆菌 (*Escherichia coli* HB101) 系山东大学微生物系提供,为抗链霉素菌种;弧菌 (*Vibrio* sp. C-25),由青岛海洋大学生命学院徐怀恕教授提供;溶壁微球菌 (*Micrococcus lysodeikticus*),购自中国科学院微生物研究所。

收稿日期:1998-02-13;修回日期:1998-03-18

试验于 9 月 4 日开始,定期取样分析水体中氨氮, COD, DO 的浓度,结果列于表 1。由表 1 可以看出,试验池经加入光合细菌和吸附剂后,氨氮和 COD 水平显著降低,分别比对照池降低 47.8 %和 25.4

%,而试验池 DO 却比对照池升高 17.9 %。这可能与吸附剂的吸附作用以及光合细菌降解有机质,利用氨有关。

表 1 试验过程中氨氮, COD, DO 的变化 (mg/L)

日期 (年.月.日)	氨氮		COD		DO		备注
	对照	试验	对照	试验	对照	试验	
1996.9.4	0.043 5		6.96		0.318		本底数值
9.11	1.180	1.015	/	/	/	/	加入吸附剂前
9.12	1.528	1.185	/	/	/	/	加入吸附剂后
9.19	1.146	1.264	3.43	3.03	6.94	7.71	加入吸附剂前
9.20	1.570	0.820	/	/	/	/	加入吸附剂后
9.24	1.625	0.955	4.49	3.35	7.49	8.83	/

2.2 中国对虾与抗病力有关的一些因子测定结果

试验进行到 22 d 时,对虾心脏取血或取对虾肌肉匀浆,测定与抗病有关的因子。由表 2 的结果可以看出,试验组对虾与抗病有关的酶活力比对照组有明显的提高,试验组 PO, SOD, 溶菌和抗菌活力分别比对照高 102.2 %, 22.1 %, 53.4 %和 14.0 %,血细胞数目高 67.2 %。

表 2 中国对虾与抗病力有关的一些因子测定结果

组别	PO 活力 (U)	SOD 活力 (U)	溶菌 活力	抗菌 活力	血细胞数目 ($\times 10^6$ 个/ml)
对照组	0.44	85.2	0.065 5	0.386	2.5
试验组	0.89	104	0.100 5	0.440	4.18

3 讨论与结语

本试验的结果表明,加入光合细菌和吸附剂后,可明显降低虾池的氨氮水平并提高对虾的抗病力。兆村博等 1984 年报道,在 60 年代,日本学者就发现光合细菌对有机废水具有分解净化作用,光合细菌可吸收 H_2S 、胺类,钝化和消除水中的致病病毒,并有明显的除臭作用。在饵料中加入 0.5 %的光合细菌,光合细菌利用饵料中有机物并同化氨氮,因而可有效地降低氨氮及 COD 的浓度。另外,小村正泰 1984 年报道,光合细菌吸收利用水体中的有机质,降低了水体中有机质浓度,也显著减少了异养菌的数量,进而降低了氧的消耗,间接起到增加溶解氧的作用。试验过程中两次 DO 的检测结果,试验池比对照池分别提高 11.1 %和 17.9 %,就说明了这一点。

本试验所用的吸附剂的主要成分为麦饭石,其颗粒内部有为数众多的孔道互相联通,这种结构决定了它具有很强的润水性和吸附能力。试验池定期加入吸附剂,不仅可以大幅度降低氨氮,而且可以大量吸附其他有害物质和有害微生物。表 1 中两次加入吸附剂前后,与对照池相比,试验池氨氮的降低幅度分别从 14.0 %上升至 22.4 %和从 10.7 %上升至 47.8 %,说明吸附剂降氨的效果还是很显著的。其次,吸附剂所含化学成分比较丰富,如氧化硅、氧化铝、氧化钙、氧化锰、氧化铁等,而这些物质在养殖水环境中具有不可忽视的作用。例如氧化铁可以消解 H_2S ,防止池底变黑,而 CaO 是水体厌氧菌群对有机质进行矿化作用的促进剂。

试验结果显示,中国对虾抗病力的增强与氨氮的降低密切相关,但可能也与光合细菌和吸附剂所含的生理活性物质和生长因子有关。光合细菌蛋白质含量高,氨基酸种类齐全,尤其含有丰富的、对维持生物正常生理功能所必需的多种维生素。据张道南等 1988 年;翁苏颖等 1982 年;魏志荣等 1988 年;金森正雄 1978 年;Kara 1989 年等;丁美丽等^[1]的报道,光合细菌中有参与糖、脂、蛋白质代谢的重要辅酶——维生素 H;与呼吸作用有关的辅酶 Q;维生素 B_6 是参与蛋白质代谢的多种酶的辅酶成分;叶酸参与一碳单位的转移,能促进具有吞噬异物功能的血细胞成熟;叶酸与维生素 B_{12} 还能促进胆碱与核酸的合成;类胡萝卜素等色素具有抗氧化和抗病变作用,能消除生物体内自由基起到防病效果。以光合细菌作为饵料添加剂,可提高饵料效率,增强对虾体质和对不良环境的抵抗力。吸附剂在水中可溶出偏硅酸盐、镉、锌、铜、硒、锗等 50 多种元素和化合物,许多元素像 Cu, P, Fe, Co,

Zn 是合成蛋白质和氨基酸所必需的,一些元素则是生物体内酶的活化剂,在水生生物的新陈代谢中扮演重要的角色。

试验中采用光合细菌作为饵料添加剂并辅之以吸附剂,结果证明其降氨及增强对虾抗病力的效果还是很明显的。光合细菌的大量使用,例如菌液泼洒,可起到很好的改善水质的作用;但用量大,这给一些养殖场带来应用上的困难。而作为饵料添加剂,光合细菌的用量很少,养殖场比较容易办到,比较适合我国的养殖现状。但是,试验中光合细菌的使用量只占饵料的 0.5 %,虽然能起到补充营养和部分改善水质的

作用,但在实际应用中,由于虾池中氨氮浓度在不断升高,特别在换水条件较差的养殖池,仅仅依靠这些量的光合细菌显得有些不足,而吸附剂可快速地降低氨氮而且其来源广泛,价格较低。当养殖池中氨氮浓度偏高时,如及时加入吸附剂,它能迅速降低氨氮。因此,作者在试验时采用了光合细菌和吸附剂联用的方法。实践证明,利用光合细菌和吸附剂是消除氨氮胁迫,防止虾病发生的可行之路。

参考文献

- 1 丁美丽、李光友等。海洋学报,1995,17(4):118~120