

文章编号:1000-0615(2002)03-0231-06

耐盐红螺菌科细菌对淡水鱼池 水质及细菌类群的影响

邱宏端, 徐姗楠, 朱航, 王沁亦

(福州大学生物与食品科学工程系, 福建 福州 350002)

摘要:对耐盐红螺菌科光合细菌应用于淡水斑点叉尾鮰、彭泽鲫养殖后,水化学环境因子、细菌类群及养殖生物的变化进行了研究。结果表明,鱼池泼施光合细菌后,水体 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 COD 下降,溶解氧和 pH 上升;细菌类群及数量变化大致是:光合细菌提高 3~50 倍(多数在 15~20 倍),亚硝酸细菌提高 3 倍,硝酸细菌提高 4~5 倍;斑点叉尾鮰养殖池的主要异养细菌肠杆菌科细菌提高 9.4%,气单胞菌属降低 7.5%,彭泽鲫养殖池的主要异养细菌假单胞菌属降低 16%,肠杆菌科提高 21%;养殖生物的养殖效果是:斑点叉尾鮰鱼苗个体增重提高 15.7%,彭泽鲫苗个体增重提高 12.8%。

关键词:耐盐红螺菌;淡水养殖;水质;影响

中图分类号:S917:Q132.1 **文献标识码:**A

The influence of salt-resistant Rhodospirillaceae bacteria on the water quality and bacterial population in the freshwater fish ponds

QIU Hong-duan, XU Shan-nan, ZHU Hang, WANG Qin-yi

(Department of Biotechnology and Food Science, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The variation of chemical environmental factors in the water ecosystem, bacterial population and cultured organisms in the freshwater fishponds was studied after applying salt-resistant Rhodospirillaceae bacteria to culture *Ictalurus punctatus* and Pengze crucian. The results showed that the $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, $\text{NO}_2^- - \text{N}$, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and COD content decreased and dissolved oxygen and pH increased in the water ecosystem after sprinkling *Rhodospirillum rubrum* in the fishponds. The change of bacterial population and quantity was as follow: The amount of photosynthetic bacteria, nitrous bacteria and nitric bacteria rose 3 - 50 (majority 15 - 20 times), 3 and 4 - 5 times respectively. The amount of major heterotrophic bacteria — Enterobacteriaceae rose 9.4% and *Aeromonas* reduced 7.5% in the *Ictalurus punctatus* fishponds; *Pseudomonas* reduced 16% and Enterobacteriaceae rose 21% in the Pengze crucian fishponds. The cultured effect of the cultured organism was that the average increasing rate of weight of every *Ictalurus punctatus* fry and Pengze crucian fry rose 15.7% and 12.8% respectively.

Key words: salt-resistant Rhodospirillaceae bacteria; freshwater culture; water quality; influence

收稿日期:2001-12-25

基金项目:福建省教育厅项目(JB00074);福建省科技厅高新技术项目(200H021)

作者简介:邱宏端(1955-),女,福建连江人,副教授,主要从事微生物菌种选育及应用等研究。Tel:0591-7893046, E-mail:hongduanqiu@sina.com

近20年来,光合细菌在水产养殖中的应用报道较多,并多采用红螺菌科的一些种,如球形红假单胞菌(*Rps. Gelatatinose*)、沼泽红假单胞菌(*Rps. Palustuis*)、胶质红假单胞菌(*Rps. Gelatinose*)等单一菌株或混合菌株,并证实它们具有提高鱼虾等生物成活率、增重率和防病抗病能力,以及改善水质与净化水质的功能^[1-3]。光合细菌对养殖水体中生物群落的影响也有一些报道,如倪纯治等研究了光合细菌对养殖水体发光细菌、弧菌的消长^[4],王梦亮等研究了光合细菌对养殖水体异养细菌、浮游动物的消长及水质变化^[5]。本文研究荚膜红假单胞菌耐盐菌株应用于淡水鱼池后,水化学因子和异养细菌类群、光合细菌及硝化细菌等生物的消长变动。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

养殖试验使用的光合细菌为荚膜红假单胞菌(*Rps. capsulata*)耐盐菌株(实验室选育保藏菌种)^[6];光合细菌基础培养液和应用型培养液参照文献^[7],异养细菌、硝化细菌和细菌生理生化鉴定培养基参照文献^[8-10];养殖试验地点为福州市(闽侯)淡水鱼苗养殖基地,4个水泥鱼池规格:2个为4.86m×2.55m×1.0m,另2个为2.15m×2.15m×1.4m。

1.2 试验方法

1.2.1 荚膜红假单胞菌应用型培养

将应用型培养基调配后(不灭菌)装入氧气袋中,装液量30L,接种10L荚膜红假单胞菌二级种子培养液,置于30℃温度1000~1500lx光照下培养3d(培养菌液呈红色,细胞数量达 10^9 个·mL⁻¹以上),作为菌剂使用。

1.2.2 荚膜红假单胞菌养殖试验

养殖试验时间:2001年3月13日至4月17日。3月13日在2个大池中各投150尾平均体重为3.83g的斑点叉尾鱼苗(*Ictalurus punctatus*),在2个小池中各投80尾平均体重为8.63g的彭泽鲫(*Pengze crucian*)鱼苗,以鳊鱼粉喂斑点叉尾鱼苗,以600目开口鱼饲料喂彭泽鲫鱼苗。4个鱼池中以1个斑点叉尾鱼池和1个彭泽鲫池作为实验池,剩余2个鱼池作为对照池。实验鱼池每隔3~5d添加 100×10^6 光合细菌。养殖过程中基本不换水不增氧,水温为14~19℃。

1.2.3 水化学指标检测

养殖过程中定期采集离水面50cm处水样,检测水质变化。其中氨氮采用纳氏比色法,亚硝基氮采用萘胺比色法,硝基氮采用酚二磺酸法,COD采用高锰酸钾氧化法,溶氧采用碘量法,pH采用pHs-3c酸度计法^[11]。

1.2.4 水体细菌类群及数量检测

异养细菌和光合细菌数量以定期采集水样,采用平板菌落计数法测定。异养细菌类群与硝化细菌数量在养殖最后1d采集水样,其中硝化细菌采集离池底10cm处水样,用MPN法测定^[8];异养细菌类群采集离水面50cm处水样,在平板菌落计数后,对菌落特征进行分类与显微镜检,并分别选取4个鱼池菌落数在200~300个的平板,随机挑取同一特征的单菌落和不同特征的单菌落斜面培养(同种特征的单菌落挑取3~5个),将单菌落纯化后进行形态与生理生化特征鉴定^[9,10]。

2 试验结果

2.1 荚膜红假单胞菌耐盐菌株对淡水鱼池水化学因子的影响

2.1.1 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$

图1是4个鱼池水体中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 变化。由图1看出,在荚膜红假单胞菌养殖水体中, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 均有不同程度的下降,其中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的下降幅度较大,

NO₃⁻ - N 下降幅度最小且有波动。F 检验表明,光合细菌养殖池(实验池)与对照池水体中,NO₂⁻ - N 差异高度显著 (P < 0.01),NH₄⁺ - N 和 NO₃⁻ - N 差异不显著 (P > 0.05)。

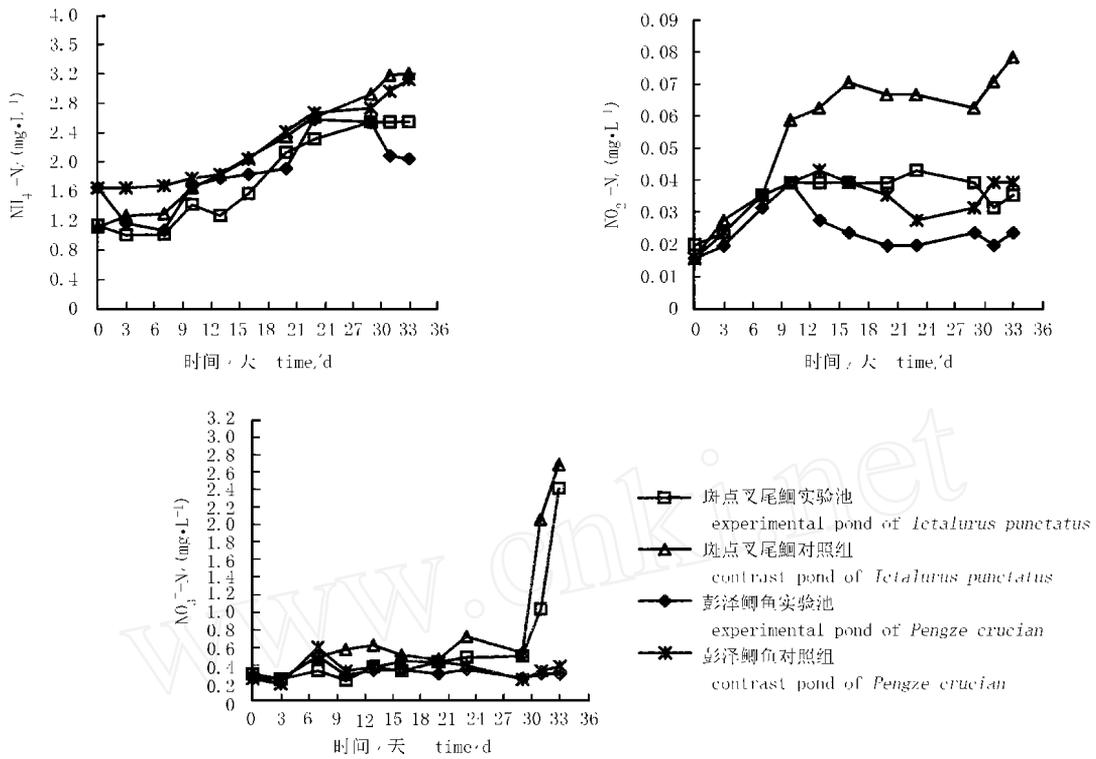


图 1 荚膜红假单胞菌对养殖水体氨氮、亚硝基氮和硝基氮的影响

Fig. 1 The influence of *Rho. capsulata* on NH₄⁺ - N, NO₂⁻ - N and NO₃⁻ - N in the cultured water

2.1.2 COD、溶氧和 pH

4 个鱼池水体中的 COD、溶氧和 pH 变化,见图 2、3、4。图 2 显示,养殖初期,光合细菌降低 COD 作用较小,15d 后降低 COD 作用增强。F 检验表明,养殖中后期光合细菌养殖池(实验池)与对照池的 COD 差异显著 (P < 0.05)。图 3 显示,养殖过程 4 个鱼池水体的溶解氧均呈波浪式下降,但在实验池水体中,溶解氧下降幅度较小。图 4 显示,光合细菌养殖池水体 pH 略有升高。

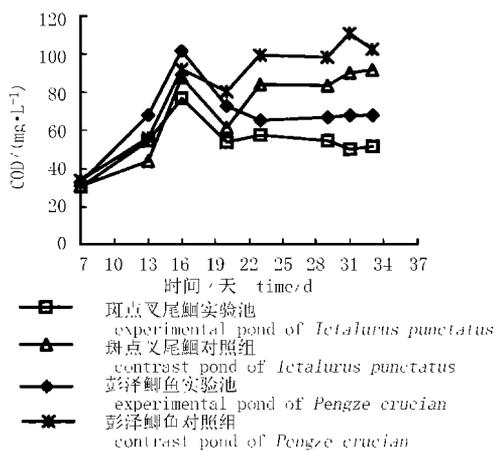


图 2 荚膜红假单胞菌对养殖水体 COD 的影响
Fig. 2 The influence of *Rho. capsulata* on COD in the cultured water

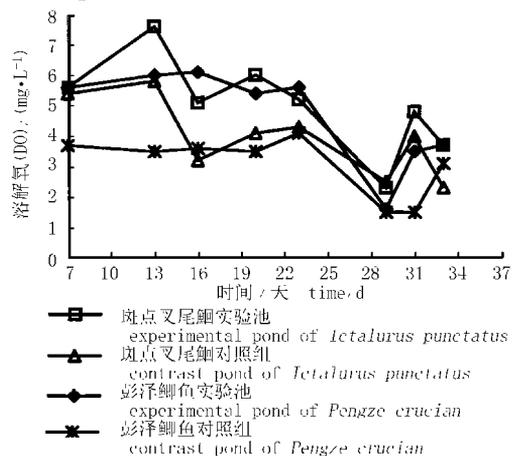


图 3 荚膜红假单胞菌对养殖水体溶解氧的影响
Fig. 3 The influence of *Rho. capsulata* on dissolved oxygen in the cultured water

2.2 耐盐荚膜红假单胞菌对淡水鱼池中细菌类群及数量的影响

2.2.1 异养细菌、光合细菌和硝化细菌数量

由图5可以看出,斑点叉尾鮰实验池中异养细菌数量呈下降趋势(养殖后期下降明显),彭泽鲫实验池中异养细菌数量还略有增加;彭泽鲫池中异养细菌的数量多于斑点叉尾鮰鱼池。由图6看出,荚膜红假单胞菌养殖水体中,光合细菌密度显著提高,但不随着时间延长与添加次数增多,而呈有规律性的上升。图7显示,添加荚膜红假单胞菌的养殖水体,亚硝酸细菌提高3倍,硝酸细菌提高4~5倍;养殖水体中亚硝酸细菌的密度大于硝酸细菌。

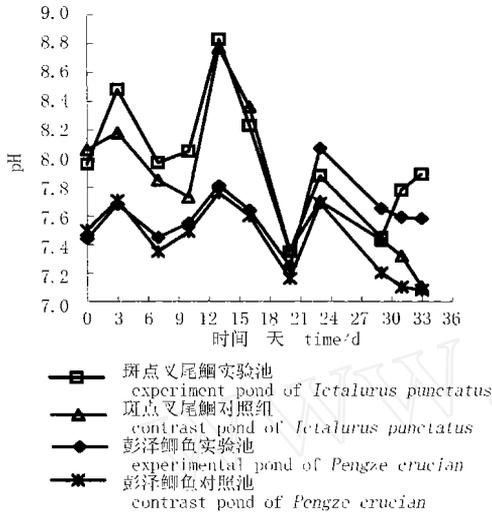


图4 荚膜红假单胞菌对养殖水体 pH 的影响

Fig. 4 The influence of *Rho. capsulata* on pH in the cultured water

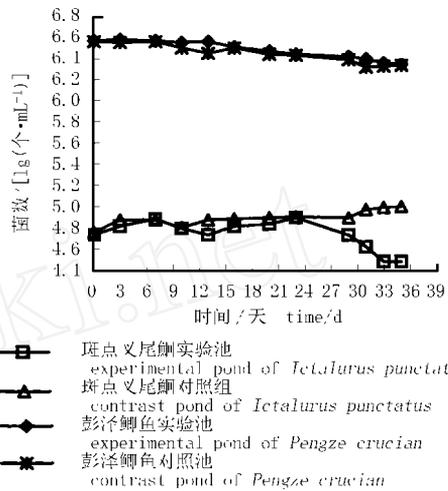


图5 养殖水体异养细菌数量比较

Fig. 5 The comparison of the amount of heterotrophic bacteria in the cultured water

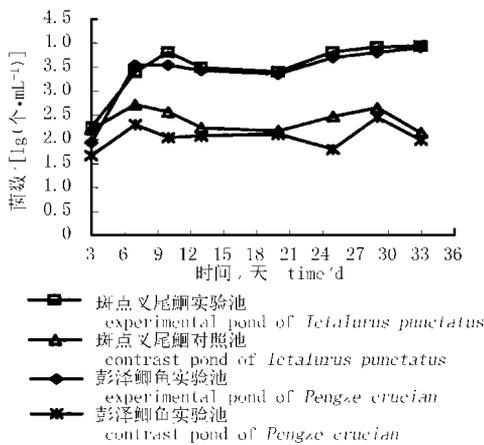


图6 养殖水体光合细菌数量比较

Fig. 6 The comparison of the amount of photosynthetic bacteria in the cultured water

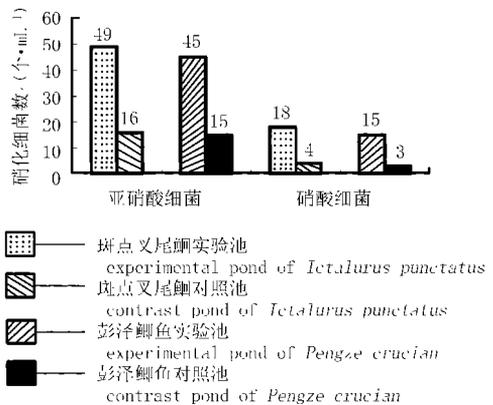


图7 养殖水体硝化细菌数量比较

Fig. 7 The comparison of the amount of nitro bacteria in the cultured water

2.2.2 异养细菌类群

从表1可以看出,斑点叉尾鮰池水体中主要细菌类群是肠杆菌科(Enterobacteriaceae),其次是黄杆菌属(*Flavobacterium*)和气单胞菌属(*Aeromonas*);彭泽鲫鱼池水体中主要菌群是假单胞菌属(*Pseudomonas*),其次是肠杆菌科和气单胞菌属;而添加光合细菌养殖后,两种鱼池中的细菌类群发生了较大的变化:斑

斑点叉尾鮰鱼池水体肠杆菌科提高 9.4%,气单胞菌属下降 7.5%;彭泽鲫池水体的假单胞菌属下降 16%,肠杆菌科提高 21%。

表 1 荚膜红假单胞菌对养殖水体细菌类群的影响

Tab.1 The influence of *Rho. capsulata* on the bacterial population in the cultured water (%)

细菌类群 bacterial population	斑点叉尾鮰 <i>Ictalurus punctatus</i>		彭泽鲫 <i>Pengze crucian</i>	
	实验池 experimental pond	对照池 contrast pond	实验池 experimental pond	对照池 contrast pond
肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	50.5	41.1	37.3	16.1
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0	1.02	31.0	47.0
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	9.08	16.6	7.72	8.53
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	29.7	31.4	0.45	0.68
微球菌属 <i>Micrococcus</i>	2.93	5.18	7.19	2.44
棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	1.52	0	1.6	7.75
产碱菌属 <i>Alcaligenes</i>	4.55	3.67	0	7.82
奈瑟氏球菌属 <i>Neisseria</i>	0.39	0.85	3.36	0
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	0	0.16	0	0
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0	0	2.4	2.55
黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i>	0	0	8.04	2.18
不动细菌属 <i>Acinetobacter</i>	0	0	0.48	0.03

2.3 耐盐荚膜红假单胞菌用于淡水鱼池的养殖效果

荚膜红假单胞菌用于斑点叉尾鮰和彭泽鲫养殖,以收苗时称量鱼苗重量等指标衡量其效果,结果如下:斑点叉尾鮰实验池鱼苗平均重量为 6.6g,较投苗时增重 72.3%,对照池鱼苗平均重量 6.0g,较投苗时增重 56.6%,实验池较对照池鱼苗增重率提高 15.7%;彭泽鲫实验池鱼苗平均重量 15.1g,较投苗时增重 74.9%,对照池鱼苗平均重量 14.0g,较投苗时增重 62.2%,实验池较对照池鱼苗增重率提高 12.8%。

3 讨论

3.1 荚膜红假单胞菌耐盐菌株对淡水鱼池水化学的影响

荚膜红假单胞菌耐盐菌株能有效降低斑点叉尾鮰和彭泽鲫养殖水体中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 COD,提高溶氧,表明荚膜红假单胞菌耐盐菌株具有改善水体水质的作用^[6,12]。本次养殖试验,荚膜红假单胞菌降低 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的作用强于 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,这种结果与菌种的功能特征($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 下降率 33%~43%, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 下降率 90%~95%)相似^[6]。但差距在于菌种用于养殖后,降低氨氮、亚硝基氮的功能作用均较小($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 下降率约为 25%, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 下降率约为 70%左右),这可能是自然养殖条件下,水体生物与环境因素综合影响的结果。如实验池中鱼苗的生长与代谢速度加快,向水体排出较多的废氮,以及饵料、温度等因素的影响,都将使荚膜红假单胞菌的功能作用表征降低。

3.2 耐盐荚膜红假单胞菌对淡水鱼池水体细菌类群及数量的影响

淡水鱼池添加耐盐荚膜红假单胞菌养殖后,水体中光合细菌的密度提高 3~50 倍(多数提高 15~20 倍),细胞数量维持在较高的水平波动(2000~8000 个 mL^{-1}),这是由于生态系统中生物的数量达到较高密度时,会在一定的区域值稳定下来;同时,光合细菌的数量受阴雨天降低、晴天光照下增多的波动,以及光合细菌还被作为养殖生物及浮游动物的饵料^[5],因此,其数量不会不断提高;另一方面,荚膜红假单胞菌养殖水体中,硝化细菌提高 3~5 倍,硝化细菌是代谢氨产生硝酸盐的一类化能自养型细菌,该类细菌增多对养殖水体中的氨氮和亚硝基氮降解起到了积极的作用;细菌类群的初步鉴定发现,斑点叉尾

实验池水体的主要异养细菌肠杆菌科提高 9.4%,气单胞菌属降低 7.5%,彭泽鲫实验池的主要异养细菌假单胞菌属降低 16%,肠杆菌科提高 21%。假单胞菌属、气单胞菌属是水产养殖的主要病害菌,可引起多种鱼类等养殖生物产生败血症、出血、体表发炎等^[4,13,14],这表明光合细菌在养殖水体中能较有效地降低病害细菌—假单胞菌属、气单胞菌属的数量(该结果与倪纯治等^[4]报道的光合细菌可减少养殖池中有害细菌—弧菌、发光细菌数量的结果一致),提高硝化细菌等有益菌群的密度和改善养殖水体中细菌类群的结构。

3.3 荚膜红假单胞菌耐盐菌株对养殖生物的促生长作用

光合细菌养殖池中,斑点叉尾鮰和彭泽鲫苗月个体增重率分别提高 15.7%和 12.8%,表明耐盐荚膜红假单胞菌对养殖生物具有良好的促进生长作用。这是由于光合细菌优化了养殖生态环境,改善了水质和细菌菌群结构,以及细胞所具有的优质蛋白源等功能作用的结果。从两种鱼苗的养殖效果看,光合细菌对斑点叉尾鮰的养殖效果较优于彭泽鲫,这与彭泽鲫喂 600 目开口饲料(粗蛋白含量 38%),斑点叉尾鮰喂鳊鱼粉饲料(粗蛋白含量 45%)有着较大的关系,也与彭泽鲫养殖水体水质较差(COD 和异养细菌数量等较高)有关。此外,养殖生物的个体生长速率差异也是影响光合细菌对水产动物养殖效果的重要因素。

本课题研究得到福州市淡水鱼苗养殖基地林本兴场长的大力支持,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] Isamu Maeda, Tadashi Mizoguchi, Yoshiharu Miura, et al. Influence of sulfate-reducing bacteria on outdoor hydrogen production by photosynthetic bacterium with seawater[J]. *Current Microbiology*, 2001, 40(3): 210 - 213.
- [2] Li Q S, Wang Y Q. *Aquaculture and Microorganism*[M]. Wuhan: Wuhan Press, 2000. 53 - 133. [李勤生,王业勤. 水产养殖与微生物[M]. 武汉:武汉出版社,2000. 53 - 133.]
- [3] Shipman R H, Fan L, Kao I C. Single cell protein production by photosynthetic bacteria[J]. *Adv Appl Microb*, 1977, 21:161 - 183.
- [4] Ni C Z, Ye D Z, Zhou Z C, et al. Microecological regulation of photosynthetic bacteria in maricultural pond waters [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1997, 16(3):265 - 269. [倪纯治,叶得赞,周宗澄,等. 光合细菌对养殖水体的生态调控作用[J]. 台湾海峡,1997,16(3):265 - 269.]
- [5] Wang M L, Ma Q R, Liang S K, The effect of photosynthetic bacteria on aquatic ecosystem of carps production[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(1):98 - 101. [王梦亮,马瑞清,罗生康. 光合细菌对鲤鱼养殖水体生态系统的影响[J]. 水生生物学报, 2001, 25(1):98 - 101.]
- [6] Qiu H D, Shi X A, Guo Y H, et al. The breeding and application of salt-resistant and high NH_4^+ or NO_2^- reducible bacteria of rhodospirillaceae[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1999, 23(suppl): 92 - 96. [邱宏端,石贤爱,郭养浩,等. 耐盐和降低 NH_4^+ 、 NO_2^- 红螺菌科细菌的选育及应用[J]. 水产学报,1999,23(增刊):92 - 96.]
- [7] Qiu H D, Teng R, Chen L M, et al. Optimizing test of a scale-up medium of rhodospseudomona capsulata[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2001, 16(1): 29 - 33. [邱宏端,滕蓉,陈雷鸣,等. 荚膜红假单胞菌应用型扩大培养液的优化实验[J]. 大连水产学院学报,2001,16(1):29 - 33.]
- [8] Yu Y X, Guan G Q, Men X T. *Manual of Environmental Microbial Examination* [M]. Beijing: China Science Press, 1990. [俞毓馨,关国庆,孟宪庭. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京:中国科学出版社,1990.]
- [9] Dong X Z, Cai M Y. *Manual of Systematic Identification to Familiar Bacterial*[M]. Beijing: China Science Press, 1999. [东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,1999.]
- [10] Bacterial Classification Group of Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science. *The Familiar Identification Methods of General Bacterial*[M]. Beijing: China Science Press, 1978. [中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京:科学出版社,1978.]
- [11] Zhang Z Y, Gu Z N, Wang W Y, et al. *Standard Verification Method of Water and Waste Water*[M]. Beijing: China Architecture Industry Press, 1978. [张曾,顾泽南,王维一,等(译). 水和废水标准检验法[M]. 北京:中国建筑工业出版社,1978:318 - 352.]
- [12] Joong Kyun Kim, BumKyu Lee, SangHee Kim, et al. Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from photosynthetic sludge[J]. *Aquacultural Engineering*, 1999, 19(3): 179 - 194.
- [13] Wang X J. Progress of aeromonad bacteriology and their significance[J]. *Journal of Xinyong Teachers College*, 1997, 10(4): 89 - 91. [王小君. 关于气单胞菌的研究进展及意义[J]. 信阳师范学院学报,1997,10(4):89 - 91.]
- [14] Yin Z, Xu B H. Studies on the bacteriosis of fishes[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1995, 19(1): 76 - 83. [殷战,徐伯亥. 鱼类细菌性疾病的研究[J]. 水生生物学报,1995,19(1):76 - 83.]