

李高俊, 佟延南, 符一凡, 等. 有益微生物制剂对凡纳滨对虾育苗的应用效果[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(2): 288–290.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.085

有益微生物制剂对凡纳滨对虾育苗的应用效果

李高俊, 佟延南, 符一凡, 蒲利云, 杨明秋

(海南省海洋与渔业科学院, 海南海口 570100)

摘要: 研究百安威、乐多源活菌、EM 菌等 3 种有益微生物剂与凡纳滨对虾育苗效果的关系, 筛选育苗使用效果最佳的微生物制剂种类以及科学的使用方法。结果显示: 百安威最佳投放浓度为 6 mg/L, 成苗率达到 28.0%; 乐多源最佳投放浓度为 7 mg/L, 成苗率达到 24.8%; EM 菌最佳投放浓度为 7 mg/L, 成苗率达到 23.3%; 而对照组成苗率仅为 12.5%。与对照组相比, 投喂百安威、乐多源活菌、EM 菌等 3 种有益微生物剂的凡纳滨对虾成苗率分别提高 15.5%、12.3%、10.8%。其中, 投喂百安威的育苗效果最好。3 种微生物生物制剂在对虾育苗过程中投放 3~4 次效果较佳。

关键词: 凡纳滨对虾; 育苗; 有益微生物制剂; 百安威; 乐多源活菌; EM 菌; 成活率

中图分类号: S968.22+9.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0288-03

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 别称南美白对虾, 具有适应环境能力强、营养要求低、生长速度快、出肉率高、营养丰富和养殖产量高等优点。凡纳滨对虾苗种是海南省海水养殖的主要产业, 2012 年产凡纳滨对虾苗种约 599.79 亿尾, 年产值约 6 亿元, 其中 50% 苗种供应省外养殖场, 经济社会效益十分显著。

有益微生物制剂的应用, 不仅能保护沿海海洋环境, 而且能大幅提高对虾养殖经济效益。因此, 国家大力提倡水产品的绿色无公害养殖, 随着宣传力度的加大, 健康养殖的理念已深入人心, 由此涌现出生态养殖、生态控制、生物防治等一批新技术和新理念, 这其中使用最广泛的就是利用有益微生物制剂特别是有益微生物的一系列特性, 将其应用于水产养殖中的水质调控、营养添加、疾病防治等方面取得了显著效果^[1-2]。

当前, 海南省绝大多数对虾育苗场采用定期泼洒有益微生物调控水质, 但是使用有益微生物制剂种类多样化, 并且投放浓度与时间均不一致, 尚无标准化的使用方法。本研究选择当前较普遍使用的百安威、乐多源活菌、EM 菌等 3 种有益微生物剂, 分别观察不同浓度对育苗效果的影响, 筛选出每次泼洒的最佳浓度; 筛选 3 种有益微生物制剂最佳使用浓度之后, 在对虾育苗过程中使用最佳浓度进行不同投放次数比较试验, 探索有益微生物制剂的最佳使用次数。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 凡纳滨对虾幼体来源 亲虾为从美国夏威夷引进后繁育的子 1 代虾苗养成, 体长 18~20 cm、体质量 37~

41 g/尾。雌虾采取切除右侧眼球催熟, 催熟期间以沙蚕、鲢鱼和牡蛎为饵料, 调控水温为 30~32℃, 每天投饵 2 次、换水 1 次。当雌性背部出现桔黄色生殖腺, 雄性第 5 步足基部出现乳白色精荚时, 傍晚把雌虾与雄虾放进同一个交配池进行交配, 然后将已交配雌亲虾放于产卵池产卵, 受精卵孵化的无节幼体经抽样计数后, 放养于育苗水槽中育苗。幼体为从美国夏威夷引进亲虾的子 2 代无节幼体。

1.1.2 有益微生物制剂来源 选择当前海南省凡纳滨对虾育苗最常用的百安威活菌、乐多源活菌和 EM 菌等 3 种有益微生物制剂为试验材料。其中, 百安威为固体颗粒状, 主要成分以芽孢杆菌及其代谢物为主; 乐多源活菌为固体粉状, 主要成分为乳酸杆菌、枯草杆菌、乳酸球菌; EM 菌为稀释液体, 主要成分为双歧菌、乳酸菌、芽孢杆菌、光合细菌、酵母菌、放线菌、醋酸菌等。

1.1.3 育苗设施 蓝色不透光的孵化桶为育苗容器, 容积约为 0.5 m³。孵化桶上方有塑料板顶棚遮雨设施, 每个孵化桶放置 1 个散气石充气。

1.1.4 育苗用水 水源水质应符合 GB 11607—1989《渔业水质标准》的规定, 育苗使用的海水应经沉淀、沙滤净化处理后使用。海水盐度 2.8‰~3.5‰, pH 值 7.8~8.5, 化学耗氧量 1 mg/L 以下, 氨态氮含量 0.05 mg/L 以下, 溶解氧含量 5 mg/L 以上。

1.2 试验方法

1.2.1 试验分组

1.2.1.1 不同浓度微生物制剂对凡纳滨对虾育苗效果试验 3 种有益微生物制剂各设立 4、5、6、7、8 mg/L 等 5 个试验浓度, 每个浓度设 2 组平行试验组, 以未投放微生物制剂为对照组。微生物制剂在育苗阶段投放 3 次[试验组投放微生物制剂的是根据虾苗变态来决定的, 投放时间是在幼体入池前、蚤状幼体Ⅲ期(Z₃)和糠虾幼体Ⅲ期(M₃)]。观察各试验组对虾各个发育阶段的成活率, 培育仔虾 5 期(P₅)成苗数量。

1.2.1.2 不同投放次数微生物制剂对凡纳滨对虾育苗效果试验 以筛选出的 3 种微生物制剂最佳使用浓度为投放浓度, 设立 3 种不同的投放次数[试验 1 是育苗过程中幼体入池

收稿日期: 2014-12-29

基金项目: 海南省科学事业费项目(编号: KYYS-2014-51、KYYs-2013-23); 海南省重大科技项目。

作者简介: 李高俊(1982—), 男, 海南万宁人, 硕士, 助理工程师, 主要从事水生动物增殖养殖研究。E-mail: tyn171575140@163.com。

通信作者: 佟延南, 硕士, 工程师, 主要从事水生动物增殖养殖、病害研究。E-mail: 150599790@qq.com。

前和蚤状幼体Ⅲ期时投放微生物制剂,共 2 次;试验 2 是育苗过程中幼体入池前、蚤状幼体Ⅲ期和糠虾幼体Ⅲ期时投放微生物制剂,共 3 次;试验 3 是育苗过程中幼体入池前、蚤状幼体Ⅲ期、糠虾幼体Ⅲ期及仔虾Ⅰ期(P₁)时投放微生物制剂,共 4 次],每种投放次数设 2 组平行试验。

1.2.2 苗种培育方法

1.2.2.1 育苗水槽消毒 育苗水槽采用 60 mg/L 高锰酸钾消毒,然后用干净淡水洗干净。

1.2.2.2 育苗用水 育苗用水为沙滤池过滤的海水,海水盐度 3.2‰。

1.2.2.3 温度调控 育苗水体用加热棒控温,无节幼体(N 期)调控水温 30.0 ~ 30.5℃,蚤状幼体期(Z 期)30.5 ~ 31.0℃,糠虾幼体期(M 期)31.0 ~ 32.0℃,仔虾期(P 期)31.0 ~ 32.0℃。

1.2.2.4 充气 无节幼体培育充气状态水体呈微波状,蚤状幼体培育充气状态水体呈弱沸腾状,糠虾幼体培育充气状态水体呈沸腾状,仔虾培育充气状态水体呈强沸腾状。

1.2.2.5 光照条件 采用遮阳网调节光照度,无节幼体和蚤状幼体平共处阶段调控光照度为 500 lx,糠虾幼体光照度为 1 000 lx,仔虾为 5 000 lx。

1.2.2.6 水质调控 无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体不加水、不换水,仔虾Ⅰ期(P₁)加水 10 cm,仔虾Ⅱ期(P₂)开始换水,每天换水 1 次,每次换 10% 左右。育苗期间水质指标变化情况:氨态氮(NH₃-N)浓度 0.7 ~ 3.2 mg/L,亚硝态氮(NO₂-N)浓度 0.06 ~ 0.16 mg/L,pH 值 7.4 ~ 8.2,溶氧量 6 ~ 9 mg/L。

1.2.2.7 饵料及其投喂 蚤状幼体Ⅰ期开始投饵,每天分别于 00:00、06:00、11:00、15:00、19:00 投饵 5 次。(1)蚤状幼体投饵。以螺旋藻为主,虾片、黑粒、ZM(海水类蛋白质和脂类)和 BP 为辅。每次投饵量如下:蚤状幼体Ⅰ期,螺旋藻 1 mg/L,虾片、黑粒、ZM 各 0.5 mg/L;蚤状幼体Ⅱ期,螺旋藻 2 ~ 3 mg/L,虾片和黑粒各 1 mg/L,ZM 和 BP 各 0.5 mg/L;蚤状幼体Ⅲ期,螺旋藻 2 ~ 3 mg/L,虾片 1 mg/L,黑粒、ZM 和 BP

各 0.5 mg/L。(2)糠虾幼体投饵。当蚤状幼体变态为糠虾幼体后停止投喂螺旋藻,改为以虾片、车元(日本对仔虾配合饲料)、ZM 和 BP 等为饵料,投喂过程中逐步增加虾片、车元和 BP 的投喂量,ZM 则减少。每次投饵量如下:糠虾幼体Ⅰ期,虾片、车元和 ZM 各 2 mg/L,BP 1 mg/L;糠虾幼体Ⅱ期,虾片和 BP 各 2 mg/L,车元 2 ~ 3 mg/L,ZM 1 mg/L;糠虾幼体Ⅲ期,虾片 3 mg/L,BP 2 mg/L,车元 2 ~ 4 mg/L,ZM 1 mg/L。(3)仔虾投饵。从糠虾变态为仔虾后停止投喂 ZM,以虾片、车元、BP 和卤虫无节幼体为饵料,仔虾时的虾苗已经具备了成虾的基本特征,可以自主游动和用附肢抓住食物觅食,每天 09:00、21:00 投喂活体卤虫无节幼体。每次投饵量如下:仔虾期,虾片 4 ~ 6 mg/L、车元 3 ~ 5 mg/L、BP 2 mg/L 及卤虫无节幼体 6 ~ 10 mg/L。

1.2.3 幼体、对虾成活率的计算方法 计算各阶段幼体、仔虾成活率时,在育苗水槽中稍加大充气量,使幼体或仔虾均匀分布于水槽中,用 250 mL 烧杯在水槽不同位置取样 5 次,计算平均数量,然后根据育苗水体计算出成活率:成活率 = 成活幼体或仔虾数量/投放幼体数量 × 100%。

2 结果与分析

2.1 不同浓度微生物制剂对凡纳滨对虾育苗效果

由表 1 可以看出,使用百安威微生物制剂后,试验组的对虾仔虾(P₃期,下同)成活率比对照组都有不同程度的提高,且差异显著(P<0.05)。因为百安威的主要成分是芽孢杆菌,试验的结果与 Rengpipat 等在斑节对虾(*Penaeus monodon*)饵料中添加芽孢杆菌制剂,提高其成活率的结果^[3]一致。其中,浓度为 4.5 mg/L 的仔虾成活率较对照组分别提高 12.4、13.3 百分点,但 2 个浓度之间的成活率差异不显著(P>0.05);浓度为 6、7、8 mg/L 仔虾成活率较对照组分别提高 15.5、15.3、15.6 百分点,但 3 个浓度之间的成活率差异不显著(P>0.05)。建议选用浓度为 6 mg/L 百安威。

表 1 不同浓度微生物制剂对不同发育期幼虾存活率的影响

发育期	微生物制剂	不同浓度微生物制剂下的成活率(%)					
		0 mg/L(对照组)	4 mg/L	5 mg/L	6 mg/L	7 mg/L	8 mg/L
Z1	百安威	90.5 ± 0.31a	92.5 ± 0.14a	92.5 ± 0.14a	92.5 ± 0.14a	92.5 ± 0.14a	92.5 ± 0.14a
	乐多源	90.5 ± 0.31a	92.5 ± 0.11a	92.5 ± 0.12a	92.5 ± 0.11a	92.5 ± 0.13a	92.5 ± 0.12a
	EM 菌	90.5 ± 0.31a	91.6 ± 0.12a	91.6 ± 0.11a	91.6 ± 0.11a	91.6 ± 0.09a	91.6 ± 0.10a
Z3	百安威	80.8 ± 0.92a	87.3 ± 0.23b	87.3 ± 0.23b	87.3 ± 0.23b	87.3 ± 0.23b	87.3 ± 0.23b
	乐多源	80.8 ± 0.92a	85.5 ± 0.42b	85.5 ± 0.42b	85.5 ± 0.42b	85.5 ± 0.42b	85.5 ± 0.42b
	EM 菌	80.8 ± 0.92a	82.6 ± 0.42b	82.6 ± 0.42b	82.6 ± 0.42b	82.6 ± 0.42b	82.6 ± 0.42b
M1	百安威	69.4 ± 1.20a	75.2 ± 0.31b	75.3 ± 0.24b	75.5 ± 0.24b	75.6 ± 0.18b	75.2 ± 0.20b
	乐多源	69.4 ± 1.20a	73.8 ± 1.06a	73.1 ± 0.71a	73.6 ± 0.85a	73.4 ± 1.27a	74.6 ± 2.47a
	EM 菌	69.4 ± 1.20a	68.5 ± 1.06a	68.4 ± 0.71a	68.3 ± 0.85a	68.4 ± 1.27a	68.3 ± 2.47a
M3	百安威	43.4 ± 1.20a	61.9 ± 0.42b	61.8 ± 0.21b	62.9 ± 1.20b	63.0 ± 0.00b	63.1 ± 0.14b
	乐多源	43.4 ± 1.20a	58.5 ± 0.07b	58.7 ± 0.71b	59.2 ± 1.34b	61.5 ± 1.63b	61.7 ± 0.92b
	EM 菌	43.4 ± 1.20a	51.4 ± 0.07b	51.1 ± 0.71b	51.4 ± 1.34b	52.0 ± 1.63b	52.4 ± 0.92b
P1	百安威	23.0 ± 0.85a	31.5 ± 1.27b	31.5 ± 0.92b	33.0 ± 0.71b	33.2 ± 0.78b	33.3 ± 0.14b
	乐多源	23.0 ± 0.85a	28.4 ± 0.06b	28.9 ± 0.42b	30.3 ± 0.92bc	32.1 ± 0.71cd	32.9 ± 0.35d
	EM 菌	23.0 ± 0.85a	25.9 ± 0.06b	27.7 ± 0.42bc	28.4 ± 0.92cd	29.8 ± 0.71cd	30.3 ± 0.35d
P5	百安威	12.5 ± 0.35a	24.9 ± 0.28b	25.8 ± 0.78b	28.0 ± 0.49c	27.8 ± 0.57c	28.1 ± 0.21c
	乐多源	12.5 ± 0.35a	17.8 ± 0.78b	17.9 ± 0.42b	20.9 ± 0.78c	24.8 ± 0.42d	24.6 ± 0.65d
	EM 菌	12.5 ± 0.35a	15.9 ± 0.78ab	17.2 ± 0.42b	17.5 ± 0.78b	23.3 ± 0.42c	23.2 ± 0.34c

注:同行数据后不同字母表示差异显著(P<0.05),相同字母表示差异不显著(P>0.05)。

使用乐多源微生物制剂后,试验组的对虾仔虾成活率比对照组都有不同程度的提高,且差异显著($P < 0.05$)。乐多源的主要成分是乳酸杆菌、枯草杆菌等,而朱学芝等发现,在饵料中添加乳酸杆菌、枯草杆菌等制剂均可促进对虾显著生长($P < 0.05$)^[4-5]。在本试验中,浓度为 4、5 mg/L 仔虾成活率较对照组分别提高 5.3、5.4 百分点,但 2 个浓度之间差异不显著($P > 0.05$);浓度为 6 mg/L 的仔虾成活率较对照组提高 8.4 百分点;浓度为 7、8 mg/L 仔虾成活率较对照组分别提高 12.3、12.1 百分点,2 个浓度之间差异不显著($P > 0.05$)。建议凡纳滨对虾育苗过程投放浓度为 7 mg/L 的乐多源较适宜。

使用 EM 菌微生物制剂后,试验组的对虾仔虾成活率比对照组都有不同程度的提高,且差异显著($P < 0.05$)。肖珊等在饲料中添加 EM 菌,使有益菌定植在对虾消化道内并形成优势种群,排斥病原菌,降低发病率,提高仔虾成活率^[6]。在本试验中,浓度为 7、8 mg/L 的仔虾成活率提高率较大,较对照组分别提高 10.8、10.7 百分点,但 2 个浓度之间差异不显著($P > 0.05$)。建议选用浓度为 7 mg/L 的 EM 菌。

2.2 不同投放次数微生物制剂对凡纳滨对虾育苗效果观察

由表 2 可以看出,在投喂不同次数的试验中,3 种微生物制剂的试验 2 和试验 3 较试验 1 差异显著($P < 0.05$),但试验 2 和试验 3 差异不显著($P > 0.05$)。建议凡纳滨对虾育苗过程投放微生物制剂 3~4 次较适宜,可达到提高幼体育苗成苗率的目的。

表 2 不同投放次数的微生物制剂对不同发育期幼虾存活率的影响

发育期	微生物制剂	不同投放次数下的成活率(%)		
		投放 2 次 (试验 1)	投放 3 次 (试验 2)	投放 4 次 (试验 3)
Z1	百安威	92.5 ± 0.04a	92.5 ± 0.03a	92.5 ± 0.03a
	乐多源	92.5 ± 0.05a	92.5 ± 0.02a	92.5 ± 0.03a
	EM 菌	91.6 ± 0.06a	91.6 ± 0.11a	91.6 ± 0.09a
Z3	百安威	87.4 ± 0.14a	87.4 ± 0.14b	87.4 ± 0.14b
	乐多源	85.3 ± 0.07a	85.3 ± 0.07a	85.3 ± 0.07a
	EM 菌	82.2 ± 0.23a	82.2 ± 0.21a	82.2 ± 0.24a
M1	百安威	72.3 ± 1.34a	76.0 ± 0.71a	76.0 ± 0.28a
	乐多源	70.8 ± 0.64a	73.7 ± 0.99b	74.0 ± 0.00b
	EM 菌	63.4 ± 0.57a	67.6 ± 0.57b	65.6 ± 0.85b
M3	百安威	55.7 ± 0.57a	62.9 ± 0.78b	63.2 ± 1.34b
	乐多源	50.7 ± 0.64b	60.4 ± 0.07b	60.4 ± 0.14b
	EM 菌	43.9 ± 1.06b	54.1 ± 0.35b	54.1 ± 0.07b
P1	百安威	28.9 ± 0.35a	34.4 ± 2.62b	34.8 ± 2.76b
	乐多源	28.7 ± 0.14a	33.2 ± 1.63a	33.9 ± 2.40a
	EM 菌	24.8 ± 0.42a	32.0 ± 0.07a	31.9 ± 0.42a
P5	百安威	22.5 ± 0.21a	29.4 ± 1.56b	29.5 ± 1.48b
	乐多源	15.8 ± 0.42a	25.3 ± 1.77b	25.4 ± 1.91b
	EM 菌	13.4 ± 0.21a	22.4 ± 0.14b	22.4 ± 0.14b

注同表 1。

3 结论与讨论

3.1 有益微生物制剂有利于减少对虾育苗的病害

微生物制剂的成分包含蛋白质、多种氨基酸、维生素及一些微量元素,本身就具有对虾幼体所需的很高的营养价值。投放有益微生物制剂,由于有益微生物与病原体间有拮抗作用,一方面有益微生物在育苗水体中大量繁殖,可有效抑制病原体的繁殖;另一方面虾苗摄取了水体中的微生物制剂后,有益微生物在对虾幼体、仔虾消化道中繁殖,可抑制幼体、仔虾体内的有害菌群的繁殖,从而减少和预防疾病的发生。

众所周知,在水产养殖中水质的好坏严重影响水产生物的成活率,而幼体在变态成长过程中一定会有相当的代谢物,而且投喂饵料的过程中也会有一定的饵料残留,这些都会对水体造成一定程度上的污染,使水环境恶化(最基本和常见的就是 pH 值和 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 浓度),导致对虾幼体、仔虾出现病害甚至死亡。而投放有益、有利于分解育苗水体有机物,缓解了 pH 值的降低,有效地抑制了 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 浓度升高。可见,对虾对减少对虾育苗病害和提高虾苗质量具有积极作用。

3.2 微生物制剂对保护海洋生态与提高养殖效益的作用

对虾育苗泼洒有益微生物制剂,利用有益微生物分解育苗水体的残饵、粪便等有机物,净化育苗水体质量,大量减少对虾育苗的换水量,从而大幅减少育苗废水排入海区。泼洒有益微生物对育苗水体病原细菌繁殖具有较好的抑制作用,减少育苗病害的发生,提高对虾幼体培育成活率和虾苗质量,为海南省内外对虾养殖户提供优质养殖苗种,大量减少养殖病害,同时大幅减少因对虾养殖病害的发生而造成的“排塘”现象,对保护海洋生态与提高养殖效益均具有积极作用。

参考文献:

[1] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture [J]. Aquaculture, 1999, 180(1/2): 147-165.

[2] Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 655-671.

[3] Rengpipat S, Phianphak W, Piyatiratitivorakul S, et al. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth [J]. Aquaculture, 1998, 167(3/4): 301-313.

[4] 朱学芝, 郑石轩, 潘庆军, 等. 微生态制剂对凡纳滨对虾生长及水质的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2008, 47(增刊 1): 58-62.

[5] 王国霞, 黄燕华, 黄文庆, 等. 乳酸菌对南美白对虾生长、饲料利用和体组成的影响[J]. 中国饲料, 2010(12): 24-26, 32.

[6] 肖珊, 彭敏, 李咏梅. BLCS、EM 对南美白对虾养殖池塘水质的调控效应及生长的影响[J]. 中国水产, 2010(8): 50-52.