

## 2 种微生态制剂对南美白对虾育苗的影响

姜松<sup>1</sup>,蒋华杰<sup>2</sup>,周发林<sup>1</sup>,黄建华<sup>1</sup>,杨其彬<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院 南海水产研究所/农业部南海渔业资源开发利用重点实验室,广东 广州 510300;

2. 河南师范大学 水产学院,河南 新乡 453007)

**摘要:**为了探究芽孢杆菌、乳酸菌在南美白对虾育苗生产中的应用效果,在南美白对虾育苗期间,定期向育苗水体添加不同剂量的芽孢杆菌制剂(活菌量为  $1.2 \times 10^9$  cfu/g)和乳酸菌制剂(活菌量为  $1.0 \times 10^8$  cfu/g)。试验设对照(C)组、添加不同剂量芽孢杆菌制剂处理(Y1、Y2、Y3)组和添加不同剂量乳酸菌制剂处理(R1、R2、R3)组等7个组,每隔5 d 分别向育苗水体添加芽孢杆菌、乳酸菌,Y1、Y2 和 Y3 组水体芽孢杆菌制剂分别达到  $10 \text{ g/m}^3$ 、 $15 \text{ g/m}^3$  和  $20 \text{ g/m}^3$ , R1、R2 和 R3 组水体乳酸菌制剂分别达到  $20 \text{ g/m}^3$ 、 $25 \text{ g/m}^3$  和  $30 \text{ g/m}^3$ , C 组不添加微生态制剂,测定不同微生态制剂对南美白对虾虾苗生长性能及抗逆性能的影响。结果显示:Y3 组的虾苗体质量最大,较 C 组显著提高 27.18%,R3 组次之;R3 组虾苗的出苗率最高,较 C 组显著提高 34.86%;R3 组虾苗在淡水中 60 min 的存活率和温度突变 5 ℃ 条件下的平均存活率均较高,较 C 组分别显著提高 14.88% 和 10.38%。综上,南美白对虾育苗期间,在育苗水体内适当添加微生态制剂,有利于提高虾苗的生长性能和抗逆性,以添加  $30 \text{ g/m}^3$  乳酸菌效果较好。

**关键词:**南美白对虾;微生态制剂;育苗;体质量;存活率;抗逆性

**中图分类号:**S968.22    **文献标志码:**A    **文章编号:**1004-3268(2018)04-0130-05

### Effects of Two Kinds of Microecological Preparation on Breeding of *Litopenaeus vannamei*

JIANG Song<sup>1</sup>, JIANG Huajie<sup>2</sup>, ZHOU Falin<sup>1</sup>, HUANG Jianhua<sup>1</sup>, YANG Qibin<sup>1\*</sup>

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of South China

Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** To explore the effects of adding microecological preparation on the growth and stress resistance of *Litopenaeus vannamei* larvae, different amount of bacillus and lactobacillus were added regularly to the breeding tanks during the breeding of *L. vannamei*. Seven groups including control group C, experiment groups Y1, Y2 and Y3 with different amount of bacillus, and R1, R2 and R3 with different amount of lactobacillus were set up and microecological preparation was added every 5 days. Amount of bacillus in Y1, Y2, Y3 was  $10 \text{ g/m}^3$ ,  $15 \text{ g/m}^3$ ,  $20 \text{ g/m}^3$  respectively and amount of lactobacillus in R1, R2, R3 was  $20 \text{ g/m}^3$ ,  $25 \text{ g/m}^3$ ,  $30 \text{ g/m}^3$  respectively, and  $0 \text{ g/m}^3$  microecological preparation was added to group C. The results showed that the body weight was the biggest in group Y3, which was 27.18% higher than that in the group C, and the second was in R3. The survival rate of *L. vannamei* larvae in R3 was the biggest, which was 34.86% higher than that in the group C. The adding of microecological preparation could also improve the stress resistance of *L. vannamei* larvae, and the survival rates of *L. vannamei* larvae in the test

收稿日期:2017-10-14

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2015TS10);三亚市专项科研试制项目(2014KS03)

作者简介:姜松(1987-),男,河北沧州人,助理研究员,硕士,主要从事水产动物遗传育种研究。

E-mail:tojiangsong@163.com

\* 通讯作者:杨其彬(1972-),男,海南三亚人,副研究员,主要从事水产动物遗传育种研究。E-mail:515641795@qq.com

group R3 were significantly higher than that in group C by 14.88% and 10.38%, respectively, in the condition of fresh water for 60 min and water temperature changing 5 °C in a sudden. The results demonstrate that the microecological preparation can enhance the growth and improve the stress resistance of *L. vannamei* larvae and the adding 30 g/m<sup>3</sup> of lactobacillus could achieve the best breeding effect.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; Microecological preparation; Breeding; Body weight; Survival rate; Stress resistance

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)又称南美白对虾,自20世纪90年代引进我国以来,其养殖产业得到迅速发展<sup>[1]</sup>。然而,发展是粗放式的,为了控制大规模高密度养殖带来的环境压力,许多养殖户选择在苗种培育过程中向养殖水体中投放大量的化学添加剂,对生态环境产生了不可逆转的影响。同时,这种“亡羊补牢”式的养殖方式,也使得南美白对虾苗种的抗逆性能越来越差。此外,近年来,以白斑综合症、急性肝胰腺坏死症为代表的对虾病害的大规模暴发,对南美白对虾养殖产业造成重大的损失。因此,生态养殖越来越受到人们的关注<sup>[2-7]</sup>。有研究表明,在中国对虾(*Penaeus chinensis*)的育苗过程中使用微生态制剂,可明显改善育苗水体水质,并能显著提高虾苗的出苗率<sup>[8]</sup>。

微生态制剂是益生菌的统称,是可用于水产养殖中的活菌制剂<sup>[9]</sup>。芽孢杆菌(*Bacillus*)和乳酸菌(*Lactobacillus*)是水产养殖和育苗过程中经常使用的2种益生菌<sup>[10]</sup>。研究表明,芽孢杆菌能产生多种消化酶,帮助动物对营养物质进行消化吸收,从而促进动物的生长和存活<sup>[11-13]</sup>;乳酸菌是可发酵糖类且主要产物为乳酸的一类无芽孢、革兰氏染色阳性细菌的总称<sup>[14]</sup>,乳酸菌可以降低水中氨氮的含量,分解养殖水体底质的腐败物质,有效地调控水质<sup>[15-16]</sup>。目前,针对微生态制剂在南美白对虾养殖应用的研究主要集中在商品虾养殖中<sup>[2-3,10]</sup>,而在南美白对虾苗期的应用及用量研究相对较少。鉴于此,本试验在南美白对虾整个育苗过程中定期添加

芽孢杆菌和乳酸菌,研究益生菌对南美白对虾育苗效果的影响,旨在为南美白对虾的生态育苗提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试芽孢杆菌制剂由中国水产科学研究院南海水产研究所自行分离、筛选、培养的菌株培养,活菌量为 $1.2 \times 10^9$  cfu/g;乳酸菌制剂购自广州市欣海利生生物科技有限公司,呈液体状,活菌量为 $1.0 \times 10^8$  cfu/g;供试南美白对虾的无节幼体购自深圳环球集团。

### 1.2 试验设计

南美白对虾无节幼体养殖于室内玻璃纤维水桶(300 L)中,每桶放幼体20 000尾。将南美白对虾无节幼体随机分为7组,包括对照(C)组和试验(Y1、Y2、Y3和R1、R2、R3)组,每组设3个重复。试验期21 d(2016年8月28日—9月18日)。育苗过程中的饲养管理方法见表1,Y1、Y2、Y3等3个试验组分别在0 d(放入无节幼体的前1 d)、1 d、6 d、11 d和16 d添加芽孢杆菌制剂,使育苗水体芽孢杆菌制剂分别达到10 g/m<sup>3</sup>、15 g/m<sup>3</sup>和20 g/m<sup>3</sup>;R1、R2、R3等3个试验组在0 d、1 d、6 d、11 d和16 d添加乳酸菌制剂,使育苗水体乳酸菌制剂分别达到20 g/m<sup>3</sup>、25 g/m<sup>3</sup>和30 g/m<sup>3</sup>;C组不添加任何微生态制剂。试验期间不换水,所用海水盐度为30‰~32‰,pH值为7.5~8.0,24 h不间断充气,溶解氧保持在5.0 mg/L以上。

表1 南美白对虾育苗期间饲养管理

生长阶段	投喂饵料	投喂时间	温度/℃	充气量	光照强度
无节幼体	不投喂,利用自身卵黄营养生长		30	微波状	忌强光
蚤状幼体	开口饵料(单细胞藻类、虾片)	每隔3 h投喂1次	30	微沸状	忌强光
糠虾初期	轮虫、虾片	每隔4 h投喂1次	30	沸腾状	加强光照
糠虾中期、仔虾	增投丰年虫幼体	每隔6 h投喂1次	30	强沸腾状	增强亮度

### 1.3 测定指标

1.3.1 生长指标 在无节幼体变态至糠虾幼体后,用1 L的采水器分别在桶的4个角落的上层和底层以及桶的中心取9个点,统计1 L水中糠虾幼体数

量的平均值,重复3次,计算出水桶中糠虾幼体的数量。在幼体变态至仔虾后,用同样的方法统计桶中虾苗的数量。在试验结束时,将每个桶中的虾苗收集至滤网中称取总质量( $W_1$ ,精确至0.001 g),再于

每个桶中取 100 ind 虾苗,称取其质量( $W_2$ ),计算每尾虾苗的平均质量( $W$ )及虾苗的成活率( $SR$ )。计算公式如下:

$$W = W_2 / 100 \quad (1)$$

$$SR = [(W_1/W)/20\,000] \times 100\% \quad (2)$$

1.3.2 虾苗抗逆性 淡水存活率:每桶随机取虾苗 100 ind,放入盐度为 0 的水中,分别在 30 min 和 60 min 时统计存活虾苗的数量。

温度突变存活率:每桶随机取虾苗 100 ind,放入低于养殖桶温度 5 ℃的同盐度水中 2 min,立刻全部捞出放至原养殖桶水中,15 min 后统计虾苗的数量。

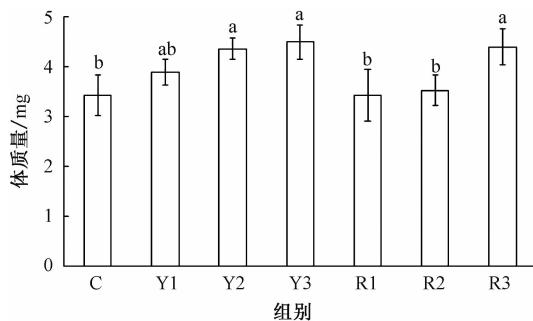
#### 1.4 数据分析

采用 Excel 对虾苗各个阶段的成活率、体质量以及抗逆性等进行样本频率的假设检验,以此来统计各组间的差异性。采用 SPSS 19.0 软件的 One-way ANOVA 分析进行差异性比较,并利用 Duncan's 多重比较法分析不同组之间的差异显著性,数据用平均数 ± 标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同微生态制剂对南美白对虾虾苗体质量的影响

从图 1 可知,C 组虾苗的体质量最小,Y3 组的虾苗体质量最大,较 C 组显著提高 27.18%,R3 组次之。



不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同

图 1 不同微生态制剂对南美白对虾虾苗体质量的影响

### 2.2 不同微生态制剂对南美白对虾各个变态阶段成活率的影响

当南美白对虾虾苗变态至糠虾阶段时,各组之间的糠虾幼体成活率差异均不显著,成活率为 70% ~ 80% (图 2)。当虾苗变态至仔虾幼体后,虾苗成活率差异整体显著,其中对照组的成活率显著低于试验组,R3 组的仔虾幼体成活率最高,较 C 组显著提高 10.45%。且芽孢杆菌组虾苗成活率均低于乳酸菌组。虾苗出苗时,R3 组虾苗的成活率最高,较 C

组提高 34.86%。

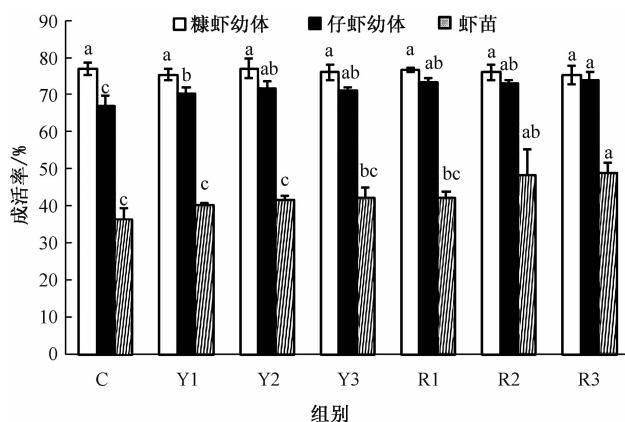


图 2 不同微生态制剂对南美白对虾各变态阶段成活率的影响

### 2.3 不同微生态制剂对南美白对虾虾苗抗逆性的影响

由图 3 可见,将虾苗放至淡水中 30 min 后,存活率均约为 100%,且各组之间无显著性差异。放置在淡水中的时间延长至 60 min 后,试验组的存活率均显著高于对照组,与对照组相比,Y1 组、Y2 组、Y3 组、R1 组、R2 组和 R3 组的存活率分别提高 14.05%、16.53%、14.05%、13.22%、14.05% 和 14.88%,各试验组之间差异不显著。

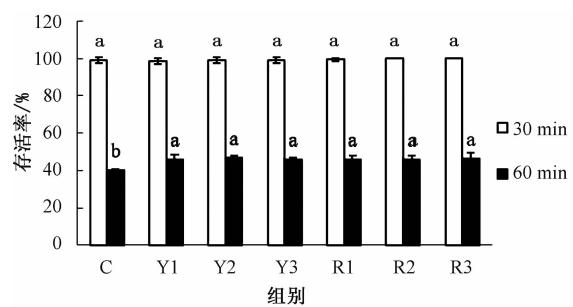


图 3 淡水试验中虾苗的存活率

温度突变试验结果显示,与对照组相比,Y1 组、Y2 组、Y3 组、R1 组、R2 组和 R3 组的存活率分别显著提高 9.29%、9.84%、10.38%、8.74%、9.29% 和 10.38%,各试验组之间差异不显著(图 4)。

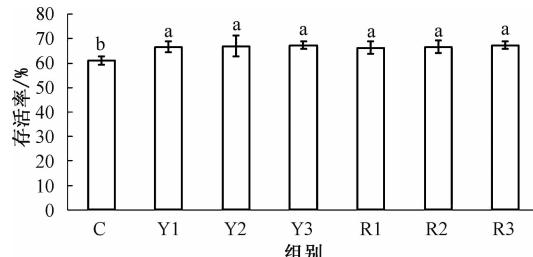


图 4 温度突变后虾苗的存活率

### 3 结论与讨论

#### 3.1 微生态制剂对虾苗生长性能的影响

20世纪90年代,微生态制剂开始逐渐应用于水产养殖中<sup>[17]</sup>。微生态制剂主要有以下2种作用机制:一是直接作用于养殖动物本身,可作为养殖动物的饵料被其直接利用,从而促进养殖动物的生长以及提高养殖动物的消化机能和对饲料的利用率<sup>[18-20]</sup>;二是作用于养殖水体,通过对养殖水体环境的改善,使养殖生物有一个良好的生存环境,从而达到生态养殖、健康养殖的效果<sup>[10,21-22]</sup>。研究表明,芽孢杆菌可以提高水产养殖动物消化酶活性,增加动物机体对饲料的消化利用率,从而提高摄入营养物质的转化率<sup>[23]</sup>;乳酸菌可以降低水中氨氮的含量,分解养殖水体底质的腐败物质,有效地调控水质<sup>[8-9]</sup>。本试验中,在南美白对虾育苗期间定期添加芽孢杆菌和乳酸菌,可不同程度提高虾苗的体质质量,这一结果与袁成玉等<sup>[24]</sup>在刺参上的研究结果一致。芽孢杆菌能够分解有机物,改良育苗水体水质<sup>[25]</sup>,本试验中,添加芽孢杆菌的试验组可观察到絮状物质,虾苗可以将这些絮状物质作为食物进行摄食,因此,添加适量的芽孢杆菌可明显提高虾苗的体质质量。乳酸菌的主要作用是调控水质,抑制有害菌类的生长和繁殖<sup>[12]</sup>,因此,添加相对少量的乳酸菌的试验组在提高虾苗体质质量方面无明显作用,而高剂量组作用显著。

不同微生态制剂对南美白对虾各个变态阶段成活率有不同的影响。当南美白对虾变态至糠虾幼体时,试验组和对照组糠虾幼体成活率无明显差异,这一结果与杨章武等<sup>[25]</sup>的研究结果一致,这是由于育苗期前期水质状况相对良好,在饵料充足、条件适宜的情况下,健康的虾苗均可变态至糠虾幼体。当糠虾幼体变态至仔虾幼体时,由于投喂的虾片等高蛋白残饵的积累分解,加之粪便的积累,水质发生一定程度的恶化。益生菌的使用,可在一定程度上调节水质,因此,试验组虾苗在变态至仔虾幼体时的成活率显著高于对照组。在试验组中, R3 组变态至仔虾幼体的成活率最高,且芽孢杆菌组成活率均低于乳酸菌组,这可能由于乳酸菌对水质的调节能力优于芽孢杆菌,也可能是由于乳酸菌在育苗水体的繁殖速度大于芽孢杆菌,因此,下一步还需要对育苗水体水质指标及不同细菌总数加以测量。

#### 3.2 微生态制剂对虾苗抗逆性的影响

抗逆性是动物对环境突然变化的适应能力的衡量指标,当遇到环境温度、盐度的突然升高或降低、

细菌病菌感染、饲料的突然变化等状况时,动物都会产生应激反应,而抗逆性的大小既与遗传有关,也受动物本身健康状况的影响<sup>[16,26]</sup>。水温、盐度突变是养殖过程中常见的胁迫因子<sup>[16]</sup>,虾苗抗逆性的强弱是对胁迫因子耐受性的关键,因此,对于虾苗抗逆性的探究非常必要。本试验中,将各组虾苗置于盐度为0的水中30 min后,虾苗几乎无死亡现象;随着在淡水中时间的延长,对照组虾苗的存活率明显低于试验组,而各试验组之间差异不明显,温度突变试验也得到了相同的结果。以上结果表明,在南美白对虾育苗过程中少量添加微生态制剂可显著提高虾苗的抗逆性能。芽孢杆菌作为虾苗的饵料,可增强虾苗的消化机能,同时可以提高苗体蛋白酶活力;而乳酸菌对育苗水环境的改良作用则可以为虾苗提供适宜的生存生长环境。因此,在南美白对虾育苗过程应添加微生态制剂,以提高虾苗的抗逆能力,从而降低虾苗运输过程及下塘后的死亡率。

综上,南美白对虾育苗过程中定期添加一定量的微生态制剂能够提高虾苗的成活率及个体体质质量,同时可增强虾苗的抗逆性能,以泼洒乳酸菌效果较好。微生态制剂的泼洒周期以及泼洒量与苗池负载量、水源情况等因素密切相关,施用时应按照各种微生态制剂的有效微生物含量、生理活性、生态特点进行调整,以达到最佳效果。

#### 参考文献:

- [1] 姚雪梅,黄勃,张继涛,等. SPF 凡纳滨对虾 F1、F2 及杂交代生长和存活比较研究 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(2):326-330.
- [2] 武广,张超峰,吕军,等. 光合细菌在对虾养殖中的应用 [J]. 中国水产, 2006(10):74-77.
- [3] Moss M, Arce M, Argue J, et al. Greening of the blue revolution: Efforts toward environmentally responsible shrimp culture [J]. World Aquaculture Society, 2001, 25 (1): 1-19.
- [4] 黄建华,李永,杨其彬,等. 斑节对虾家系氨氮耐受性的比较 [J]. 南方水产科学, 2012, 8(6):37-43.
- [5] Moss R, Arce M, Otoshi A, et al. Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2007, 272(1):30-37.
- [6] Moss R, Arce A, Otoshi A, et al. Shrimp breeding for resistance to *Taura syndrome virus* [J]. Global Aquaculture Advocate, 2011, 36(2):40-41.
- [7] Argue J, Arce M, Lotz M, et al. Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to *Taura syndrome virus* [J]. Aquaculture, 2002, 204(3/4):447-460.

- [8] 李晓英,董志国,阎斌伦,等.复合微生态制剂对中国对虾养殖池塘水质和生长性能的影响[J].中国饲料,2007(19):27-29.
- [9] 姜松,范嗣刚,温为庚,等.微生态制剂对糙海参生长、消化酶活性及水质的影响[J].海洋渔业,2014,36(4):335-341.
- [10] 曾地刚,雷爱莹,马宁.固定化枯草芽孢杆菌净化养殖水体试验[J].广西农业科学,2007,36(6):685-687.
- [11] 胡晓娟,李卓佳,曹煜成,等.强天气干扰条件下粤西凡纳滨对虾养殖池塘细菌群落动态特征[J].南方水产科学,2012,8(5):52-59.
- [12] Samocha T, Davis A, Saoud P, et al. Substitution of fish meal by co-extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2004, 231 (1/2/3/4): 197-203.
- [13] Gong H, Jiang D, Alig F, et al. Effects of dietary protein level and source on the growth and survival of two genetic lines of specific-pathogen-free Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2012, 338-341(4): 118-123.
- [14] 邱德全,杨世平.对虾高密度养殖水体中有机物含量的变化[J].水产科学,2005,24(10):12-14.
- [15] 沈文英,胡洪国,潘雅娟,等.温度和 pH 值对南美白对虾(*Penaeus vannamei*)消化酶活性的影响[J].海洋与湖沼,2004,35(6):543-548.
- [16] 杨章武,李世威.南美白对虾仔虾对低盐度环境的耐受力试验[J].海洋科学,2001,25(8):12-13.
- [17] 姜松,王军红,范嗣刚,等.添加光合细菌对糙海参幼苗培育阶段的影响研究[J].南方水产科学,2014,11(6):78-82.
- [18] 王金和,韩广浩,雷连成.富锌益生菌对蛋鸡抗氧化机能及抗病能力的影响[J].河南农业科学,2017,46(11):133-137,147.
- [19] 梁兴龙,杨晋青,张洁,等.仔猪保育料中添加益生素和酶制剂的应用研究[J].山西农业科学,2016,44(11):1699-1701.
- [20] 王芳,张变英,武霞,等.复合益生素对蛋鸡生产性能及肠道菌群的影响[J].山西农业科学,2012,40(3):276-279.
- [21] 陈树河,陈秋,常云胜,等.复合益生菌在水产养殖中的作用机制研究进展[J].河南农业科学,2016,45(4):12-18.
- [22] 赖凯昭,吕逸欢,梁明振,等.饵料中添加益生菌对奥尼罗非鱼生长性能和肠道蛋白酶活性的影响[J].南方农业学报,2012,43(11):1769-1774.
- [23] Amaya E, Davis D, Rouse D. Alternative diets for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2007, 262(2):419-425.
- [24] 袁成玉,张洪,吴垠,等.微生态制剂对幼刺参生长及消化酶活性的影响[J].水产科学,2006,25(12):612-615.
- [25] 杨章武,卢小宁,郑雅友,等.温度对凡纳滨对虾幼体生长、变态和存活率的影响[J].台湾海峡,2011,30(1):81-85.
- [26] 彭自然,臧维玲,高杨,等.氨和亚硝酸盐对凡纳滨对虾幼虾的毒性影响[J].上海水产大学学报,2004,13(3):274-278.