

# 乳酸杆菌(*Lactobacillus* spp.) LH 对水产养殖污染物的降解研究

李卓佳<sup>1</sup>, 周海平<sup>1,2</sup>, 杨莺莺<sup>1</sup>, 洪敏娜<sup>1</sup>, 梁晓华<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; 2. 广东海洋大学, 广东 湛江 524000)

**摘要:**采用室内培养方法,对乳酸杆菌 LH 就养殖废水、饲料的降解作用进行了研究。在温度为 15~30 °C,乳酸杆菌浓度为  $10^3\sim 10^6$  cfu·mL<sup>-1</sup>,底物浓度为 50~150 mg·L<sup>-1</sup> 条件下,测定废水的 pH、NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P 和 COD。结果表明,与对照组相比,各个实验组养殖废水和饲料的 NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P 显著降低,而 NH<sub>3</sub>-N 则显著上升,COD 浓度没有明显变化。不同温度、菌接种量和底物浓度下,乳酸杆菌 LH 对养殖废水和饲料 NO<sub>2</sub>-N、NH<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、NO<sub>3</sub>-N 的降解率存在显著差异。这说明,乳酸杆菌 LH 能有效地降低养殖废水和饲料中的 NO<sub>2</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、NO<sub>3</sub>-N,而使 NH<sub>3</sub>-N 的浓度升高,对 COD 无明显作用。实际应用上,应把乳酸杆菌和芽孢杆菌、光合细菌等有益菌联用,以发挥各个菌株的不同功能。

**关键词:**乳酸杆菌; 水产养殖; 污染物; 降解

**中图分类号:**X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)01-0342-08

## The Degradation of Aquaculture Contaminants by LH (*Lactobacillus* spp.)

LI Zhuo-jia<sup>1</sup>, ZHOU Hai-ping<sup>1,2</sup>, YANG Ying-ying<sup>1</sup>, HONG Min-na<sup>1</sup>, LIANG Xiao-hua<sup>1</sup>

(1. South China Fisheries Institute, Guangzhou 510300, China; 2. Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524000, China)

**Abstract:** The degradation of NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, PO<sub>4</sub>-P and COD in aquaculture wastewater and feedstuff by *Lactobacillus* was studied. The factors such as temperature (15~30 °C), the concentration of *Lactobacillus* ( $10^3\sim 10^6$  cfu·mL<sup>-1</sup>) and feedstuff (50~150 mg·L<sup>-1</sup>) were considered. The results showed that compared with control groups, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P in treatment groups reduced significantly while NH<sub>3</sub>-N increased. The COD of all groups had no remarkable changes. There were significant differences among different treatments in the degradation rates of NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P in aquaculture wastewater and feedstuff. *Lactobacillus* exhibited significant effects on the removal of NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N and PO<sub>4</sub>-P in aquaculture wastewater and feedstuff, but made the concentration of NH<sub>3</sub>-N increase, while exhibited no obvious effects on COD. The application of *Lactobacillus* in aquaculture should associate other probiotics such as bacillus and photosynthetic bacteria to display their different functions.

**Keywords:** lactobacillus; aquaculture; contaminant; degradation

近 20 年来,水产养殖业在我国得到了迅猛的发展,随着集约化程度的提高,养殖密度的增大,代谢产物也大幅增加,养殖水体污染日益严重;同时工业废水、生活污水的排放也使养殖水域环境质量日益下

降。这不仅直接危害养殖对象,而且也是疾病频繁发生的主要诱因。因而,如何改善养殖水质成为水产养殖成败的关键问题之一<sup>[1]</sup>。无度地使用各种药物和无度、无序、无处理地换水、排污成了养殖者的常用手段和措施。最终,前者破坏了养殖动物、微生物和环境所构成的动态平衡,导致疾病的爆发,并且危及养殖产品的食用安全,后者既加大了外来风险又增加了水源的污染,增加病害交叉感染和流行的机率。近年来,微生物制剂在水产养殖中作为饲料添加剂、池塘水质净化剂得到了广泛的应用,应用结果表明,微生态制剂

收稿日期:2007-01-10

**基金项目:**国家“十五”科技攻关项目(2004BA526B0202);广东省重大科技专项(A30501001);重大科技兴渔项目(B200201A01);“十一五”国家支撑计划(2006BAD09A11;2006BAD09A07)

**作者简介:**李卓佳(1956—),女,广东揭阳人,研究员,主要从事对虾养殖和养殖水环境调控技术研究。

E-mail: zhuojiali609@163.com

不仅可以改善养殖水域环境,还可以提高养殖对象的机体免疫力,减少病害的发生,使养殖活动向着良性循环方向发展<sup>[2]</sup>。

乳酸菌是常用的有益菌,在水产养殖上的应用研究多集中在对病原体的抑制、提高水产动物免疫力、鱼类体内栖息情况等<sup>[3]</sup>,而在水质净化方面则鲜有报道。本文研究了不同温度、菌接种量和底物浓度下乳酸杆菌 LH 对养殖废水、饲料的降解作用,旨在探讨该菌株在水质净化方面的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种及培养基

中国水产科学院南海水产研究所健康养殖中心提供的菌种:乳酸杆菌 LH。采用 MRS 培养基:胰蛋白胨 10 g;酵母提取物 5 g;柠檬酸氢二铵 2 g;葡萄糖 20 g;NaAc·3H<sub>2</sub>O 5 g;吐温 80 1 mL;K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g;MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g;MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.25 g;蒸馏水 1 000 mL, pH (6.9±0.1),煮沸溶解,121 ℃高压灭菌 15 min。

### 1.2 实验用菌的准备

将斜面保种菌活化,接入液体培养基培养 24 h,经计数菌量达 1 010 cfu·mL<sup>-1</sup>。为了避免细菌培养基的带入,将菌液按实验所需的量离心(8 000 r·min<sup>-1</sup>) 20 min,弃掉上清液,再用无菌生理盐水冲洗,离心再弃掉上清液重复 2 次。

### 1.3 分解对象

养殖废水:汕尾市红海湾湖东养殖场对虾养殖高位池排出的废水。

对虾饲料:市售南美白对虾配合饲料,粗蛋白含量 40%。

### 1.4 对废水的降解作用

选 16 个 1 000 mL 的三角瓶,各加入 500 mL 养殖废水,经高压灭菌处理后测定水中 pH 值及 NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD 含量后,取 12 瓶分为四组,每组 3 个平行,放入一定的 LH 菌,使加入的作用菌均匀地分布在瓶中,余下 4 瓶再经高压灭菌处理后测定 pH 值及 NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD 含量后作为对照组(CK)。分别就不同温度、菌浓度下乳酸杆菌对养殖废水的降解作用进行实验。其中,温度分 15 ℃、20 ℃、25 ℃、30 ℃ 4 组(菌浓度 10<sup>5</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>),菌浓度分 10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup> cfu·mL<sup>-1</sup> 4 组(温度 30 ℃)。每次取样前用灭菌海水补充至原来刻度,以补充挥发量,按一定的时间间隔,将溶液振荡均匀后取样,分别测定 pH、NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、

COD。

### 1.5 对饲料的降解作用

选 16(或 12)个 1 000 mL 的三角瓶,各加入 500 mL 陈海水和一定量的饲料,充分混匀,经高压灭菌处理后测定水中 pH 值及 NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD 含量后,取 12(或 9)瓶分为 4(或 3)组,每组 3 个平行,放入一定的 LH 菌,使加入的作用菌均匀地分布在瓶中,余下 4(或 3)瓶加入菌后再经高压灭菌处理后测定 pH 及 NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD 含量后作为对照组(CK)。分别就不同底物浓度、温度、菌浓度下乳酸杆菌对饲料的作用进行实验。其中,底物浓度分设 50、100、150 mg·L<sup>-1</sup> 3 组(菌浓度 10<sup>5</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>, 温度 30 ℃),温度分 15、20、25、30 ℃ 4 组(菌浓度 10<sup>5</sup> cfu·mL<sup>-1</sup>),菌浓度分 10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup> cfu·mL<sup>-1</sup> 4 组(温度 30 ℃)。每次取样前用灭菌海水补充至原来刻度,以补充挥发量,按一定的时间间隔,将溶液振荡均匀后取样,分别测定 pH、NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD。

### 1.6 测定方法

pH 用酸度计测定;NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、COD 分别用次溴酸盐氧化法、萘乙二胺分光光度法、锌-镉还原法、磷钼蓝分光光度法、碱性高锰酸钾法测定<sup>[4]</sup>,所用仪器为 UV-7504 紫外可见分光光度计。

### 1.7 降解率的计算方法<sup>[5]</sup>及分析方法

各个水质指标的降解率按下式计算:
$$R = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0}$$

×100%, 式中 R 为降解率, C<sub>0</sub> 为本底浓度, C<sub>t</sub> 为实验结束时的浓度。用 SPSS 统计软件对降解率进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 乳酸杆菌对废水的降解

#### 2.1.1 pH 的变化

各个实验组在整个实验过程中, pH 都处于下降的趋势, 15 ℃、20 ℃、25 ℃、30 ℃实验组的变化幅度分别为: 7.95~6.85、7.93~6.56、7.92~6.38、7.96~6.17; 10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup> cfu·mL<sup>-1</sup> 实验组变化幅度分别为 7.94~6.45、7.95~6.37、7.91~6.16、7.93~6.29。

#### 2.1.2 废水的降解变化

如图 1~10 所示, 与对照组相比, 不同温度下以及不同菌浓度下试验组废水的 NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P 浓度从第 1 d 到第 4 d 一直处于下降的趋势, NH<sub>3</sub>-N

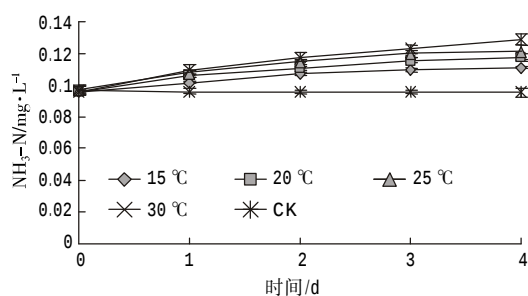
图 1 不同温度下 LH 对废水  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解

Figure 1 Degradation of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH at different temperatures

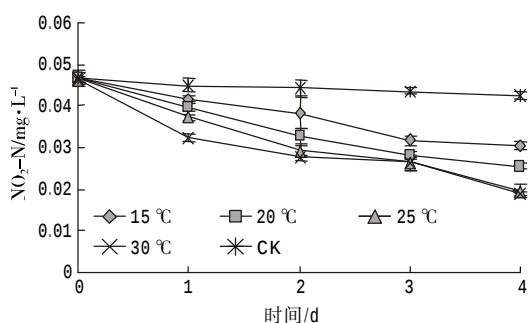
图 2 不同温度下 LH 对废水  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解

Figure 2 Degradation of  $\text{NO}_2\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH at different temperatures

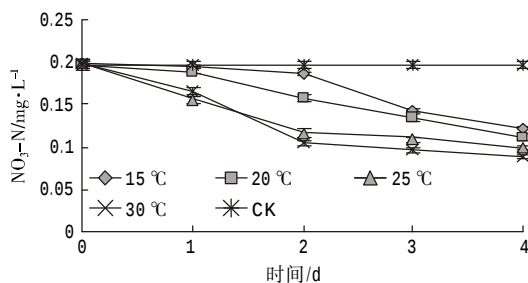
图 3 不同温度下 LH 对废水  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解

Figure 3 Degradation of  $\text{NO}_3\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH at different temperatures

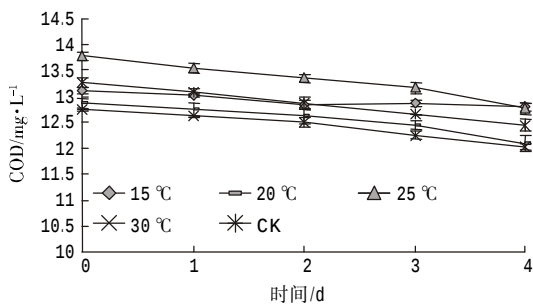


图 4 不同温度下 LH 对废水 COD 的降解

Figure 4 Degradation of COD in aquaculture wastewater by LH at different temperatures

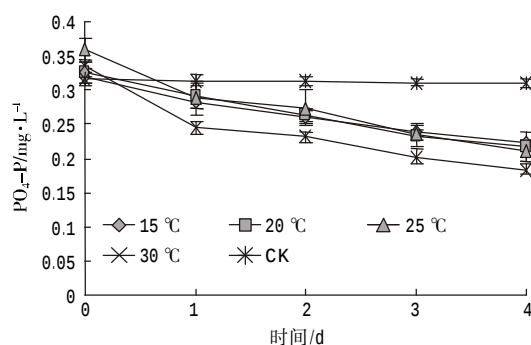
图 5 不同温度下 LH 对废水  $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解

Figure 5 Degradation of  $\text{PO}_4\text{-P}$  in aquaculture wastewater by LH at different temperatures

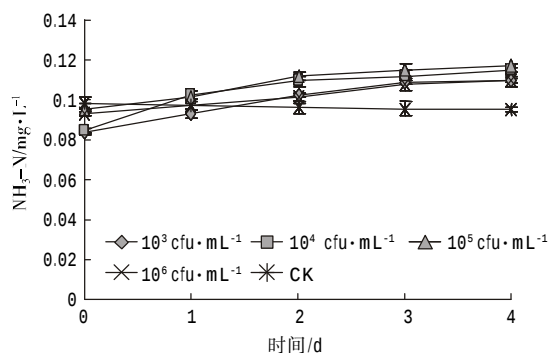
图 6 不同菌浓度 LH 对废水  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解

Figure 6 Degradation of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH with different concentrations

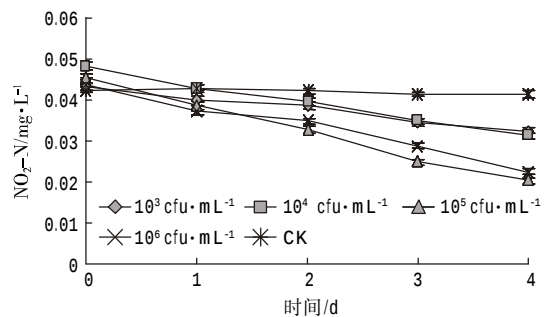
图 7 不同菌浓度下 LH 对废水  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解

Figure 7 Degradation of  $\text{NO}_2\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH with different concentrations

的浓度呈上升的趋势, COD 的浓度则未显示出变化的趋势。

### 2.1.3 废水的降解率

不同温度条件下乳酸杆菌对养殖废水的降解率见表 1。 $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解率与温度呈正相关,各温度下除 25 °C 与 30 °C 之间外都存在极其显著的差异; $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解率与  $\text{PO}_4\text{-P}$  的相似,与温度呈正相关,并且各温度间都有极其显著的差异; $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解率则

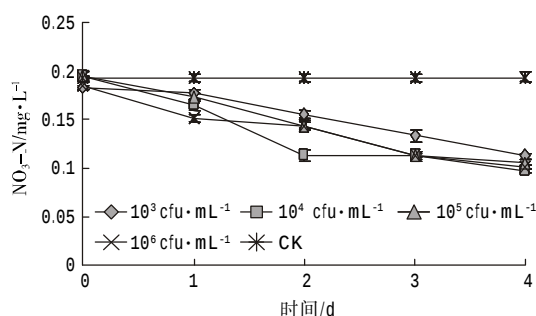
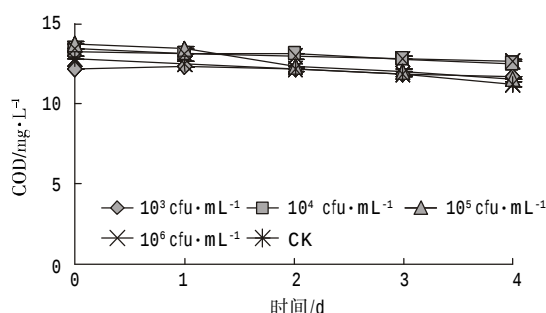
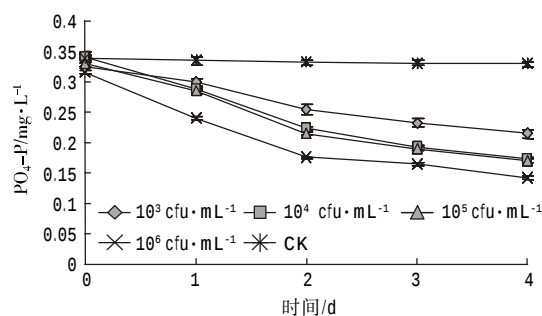
图 8 不同菌浓度 LH 对废水  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解Figure 8 Degradation of  $\text{NO}_3\text{-N}$  in aquaculture wastewater by LH with different concentrations

图 9 不同菌浓度下 LH 对废水 COD 的降解

Figure 9 Degradation of COD in aquaculture wastewater by LH with different concentrations

为负值,表明在实验过程中浓度呈上升趋势,并且各组之间都有极其显著的差异。

不同乳酸杆菌使用浓度下对养殖废水的降解率见表 1。对  $\text{NO}_2\text{-N}$  降解率随菌浓度的升高而上升,但  $10^5$ 、 $10^6$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  之间不存在显著的差异; $\text{NH}_3\text{-N}$  的浓度在实验过程中呈上升趋势,以  $10^4$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组的上升幅度最大, $10^3$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组的次之, $10^6$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组的上升幅度最小; $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解率则以  $10^4$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$

图 10 不同菌浓度 LH 对废水  $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解Figure 10 Degradation of  $\text{PO}_4\text{-P}$  in aquaculture wastewater by LH with different concentrations

组最高, $10^3$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组的最低,而  $10^5$ 、 $10^6$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组之间不存在显著的差异。 $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解率随菌浓度的升高而升高,但  $10^4$ 、 $10^5$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组之间不存在显著的差异。

## 2.2 乳酸杆菌对饲料的降解效果

### 2.2.1 pH 的变化

各个实验组在整个实验过程中,pH 都处于下降的趋势,15℃、20℃、25℃、30℃实验组的变化幅度分别为:8.09~6.75、8.05~6.43、8.07~6.31、8.07~6.12; $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$   $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  实验组变化幅度分别为 8.07~6.41、8.08~6.28、8.09~6.13、8.06~6.15;50、100、150  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  实验组的变化幅度分别为 8.01~6.21、8.08~6.17、8.12~6.18。

### 2.2.2 饲料的降解变化

如图 11~25 所示,与对照组相比,不同温度下、不同菌浓度以及不同底物浓度下试验组饲料的  $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$  浓度从第 1 d 到第 4 d 一直处于下降的趋势, $\text{NH}_3\text{-N}$  的浓度呈上升的趋势,COD 的浓度则未显示出变化的趋势。

表 1 乳酸杆菌 LH 对养殖废水的降解率(平均值±标准误)

Table 1 Influence of LH on the degradation rates of the aquaculture wastewater (Mean±SE)

|     |                                        | $\text{NO}_2\text{-N}$ | $\text{NH}_3\text{-N}$ | $\text{NO}_3\text{-N}$ | $\text{PO}_4\text{-P}$ |
|-----|----------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 温度  | 15℃                                    | $0.3447 \pm 0.0185^a$  | $-0.1540 \pm 0.0138^a$ | $0.3812 \pm 0.0140^a$  | $0.3024 \pm 0.0197^a$  |
|     | 20℃                                    | $0.4495 \pm 0.0123^b$  | $-0.2244 \pm 0.0259^b$ | $0.431 \pm 0.0154^b$   | $0.3335 \pm 0.0186^b$  |
|     | 25℃                                    | $0.5861 \pm 0.0203^c$  | $-0.2594 \pm 0.0186^c$ | $0.5037 \pm 0.0132^c$  | $0.4099 \pm 0.0205^c$  |
|     | 30℃                                    | $0.5878 \pm 0.0168^c$  | $-0.3518 \pm 0.0233^d$ | $0.5531 \pm 0.0179^d$  | $0.4496 \pm 0.0191^d$  |
|     | CK                                     | $0.0897 \pm 0.0085^d$  | $0.0124 \pm 0.0106^e$  | $0.0058 \pm 0.0147^e$  | $0.0128 \pm 0.0124^e$  |
| 菌浓度 | $10^3$ $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ | $0.2457 \pm 0.0138^a$  | $-0.3089 \pm 0.0112^a$ | $0.3846 \pm 0.0129^a$  | $0.3410 \pm 0.0118^a$  |
|     | $10^4$ $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ | $0.3528 \pm 0.0236^b$  | $-0.3518 \pm 0.0147^b$ | $0.4971 \pm 0.0187^b$  | $0.4819 \pm 0.0139^b$  |
|     | $10^5$ $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ | $0.4699 \pm 0.0173^c$  | $-0.2410 \pm 0.0129^c$ | $0.455 \pm 0.0213^c$   | $0.4897 \pm 0.0125^b$  |
|     | $10^6$ $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ | $0.4849 \pm 0.0215^c$  | $-0.1786 \pm 0.0187^d$ | $0.4517 \pm 0.0129^c$  | $0.5505 \pm 0.0163^c$  |
|     | CK                                     | $0.0296 \pm 0.0120^d$  | $0.0276 \pm 0.0136^c$  | $0.0084 \pm 0.0143^d$  | $0.0293 \pm 0.0110^d$  |

注:同一列中具有不同字母的平均值(n=3)之间统计差异极其显著( $P<0.01$ )。下同。

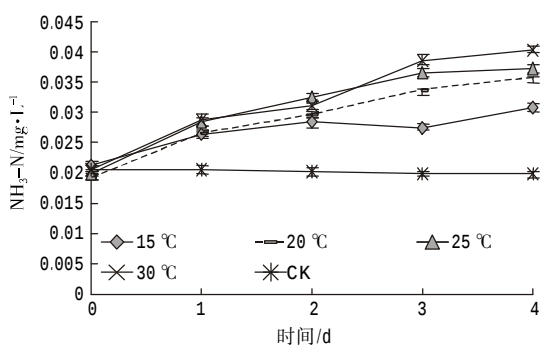


图 11 不同温度下 LH 对饲料  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解  
Figure 11 Degradation of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH at different temperatures

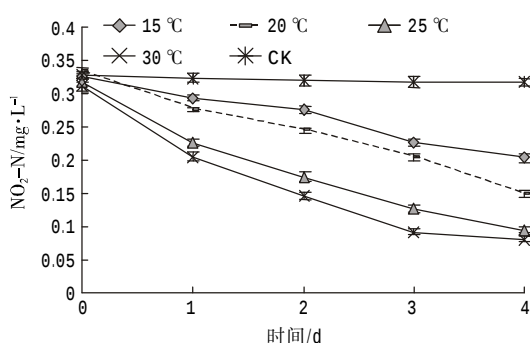


图 12 不同温度下 LH 对饲料  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解  
Figure 12 Degradation of  $\text{NO}_2\text{-N}$  in feedstuff by LH at different temperatures

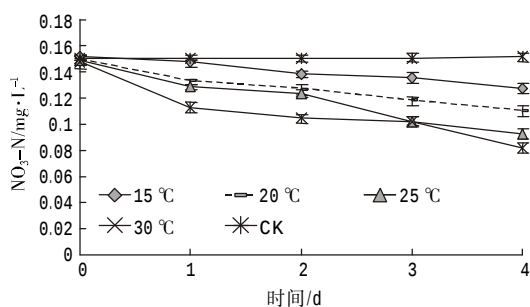


图 13 不同温度下 LH 对饲料  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解  
Figure 13 Degradation of  $\text{NO}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH at different temperatures

### 2.2.3 饲料的降解率

不同温度下乳酸杆菌对饲料的降解率见表 2。乳酸杆菌对  $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解率规律相似,与温度呈正相关,各温度组之间都存在极其显著的差异( $P<0.01$ ); $\text{NH}_3\text{-N}$  在实验过程中呈上升趋势,温度越高越明显,各温度组之间存在极其显著的差异( $P<0.01$ )。

不同乳酸杆菌使用浓度下对饲料的降解率见表 2。乳酸杆菌对  $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解率规律相似,菌

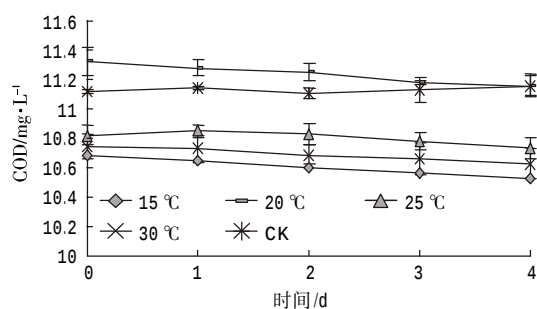


图 14 不同温度下 LH 对饲料 COD 的降解  
Figure 14 Degradation of COD in feedstuff by LH at different temperatures

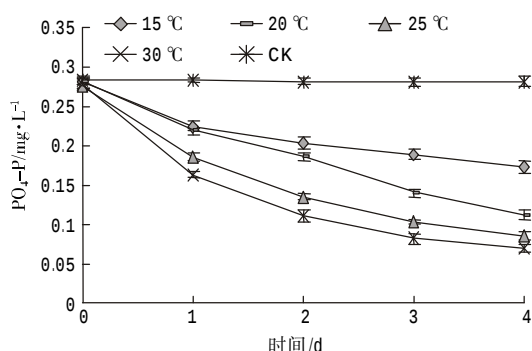


图 15 不同温度下 LH 对饲料  $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解  
Figure 15 Degradation of  $\text{PO}_4\text{-P}$  in feedstuff by LH at different temperatures

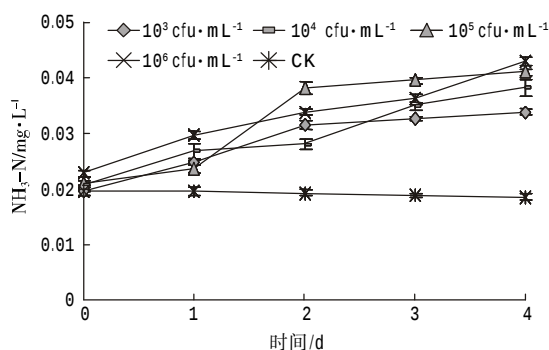


图 16 不同菌浓度下 LH 对饲料  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解  
Figure 16 Degradation of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH with different concentrations

浓度越高去除效果越明显,各实验组之间都存在极其显著的差异( $P<0.01$ );对  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解率为负值,以  $10^5\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组最明显、 $10^6\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组次之, $10^3\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  组最不明显;对  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解率从  $10^3\sim 10^5\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  上升,而从  $10^5\sim 10^6\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$  却下降。

不同底物浓度下的降解率见表 2,对  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解率随底物浓度的升高而升高,并且它们之间有极其显著的差异( $P<0.01$ );对  $\text{NH}_3\text{-N}$  的浓度呈上升趋势并与底物浓度呈负相关;对  $\text{NO}_3\text{-N}$  降解率以 100

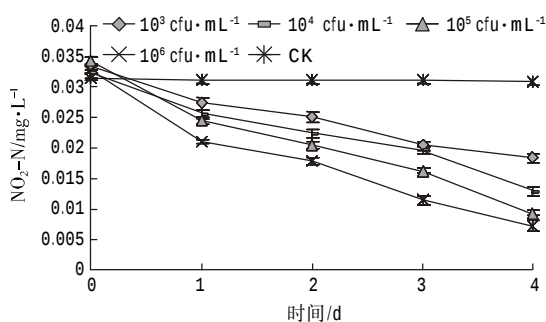
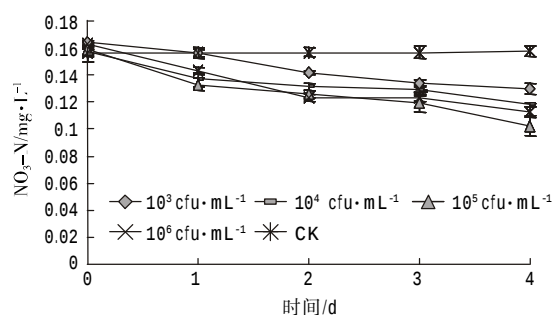
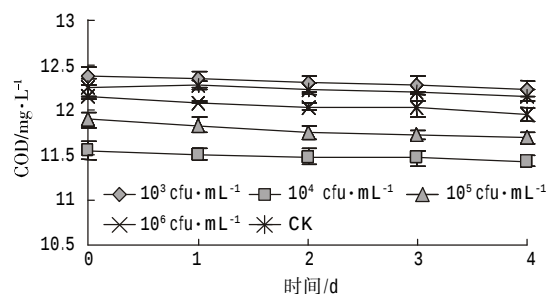
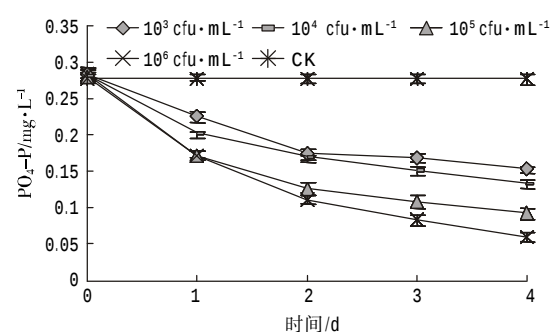
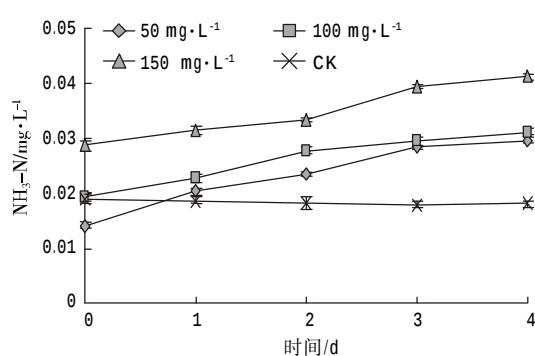
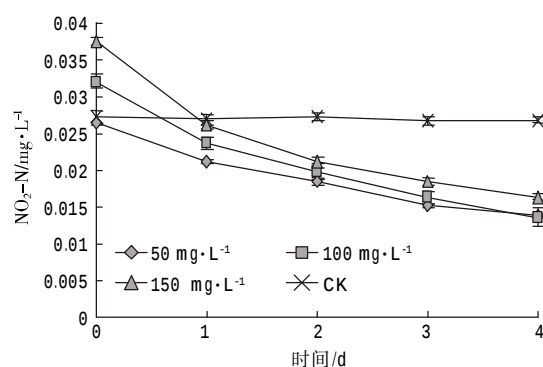
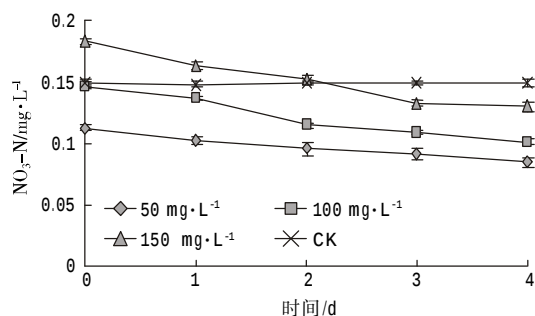
图 17 不同菌浓度下 LH 对饲料  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解Figure 17 Degradation of  $\text{NO}_2\text{-N}$  in feedstuff by LH with different concentrations图 18 不同菌浓度下 LH 对饲料  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解Figure 18 Degradation of  $\text{NO}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH with different concentrations

图 19 不同菌浓度下 LH 对饲料 COD 的降解

Figure 19 Degradation of COD in feedstuff by LH with different concentrations

图 20 不同菌浓度下 LH 对饲料  $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解Figure 20 Degradation of  $\text{PO}_4\text{-P}$  in feedstuff by LH with different concentrations图 21 不同底物浓度下 LH 对饲料  $\text{NH}_3\text{-N}$  的降解Figure 21 Degradation of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH at different amounts of feedstuff图 22 不同底物浓度下 LH 对饲料  $\text{NO}_2\text{-N}$  的降解Figure 22 Degradation of  $\text{NO}_2\text{-N}$  in feedstuff by LH at different amounts of feedstuff图 23 不同底物浓度下 LH 对饲料  $\text{NO}_3\text{-N}$  的降解Figure 23 Degradation of  $\text{NO}_3\text{-N}$  in feedstuff by LH at different amounts of feedstuff

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  最高, 但与  $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  组没有显著差异; 对  $\text{PO}_4\text{-P}$  的降解率以  $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  组的效果最好,  $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  组的次之,  $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  组的最低, 它们之间存在极其显著的差异 ( $P<0.01$ )。

### 3 讨论

水质条件的好坏是养殖成败的关键, 在养殖过程中各种残饵和排泄物影响水质, 引起动物大批死亡。

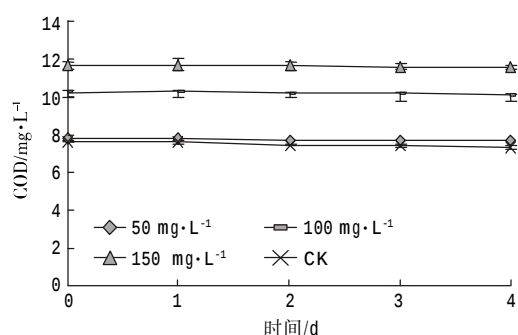
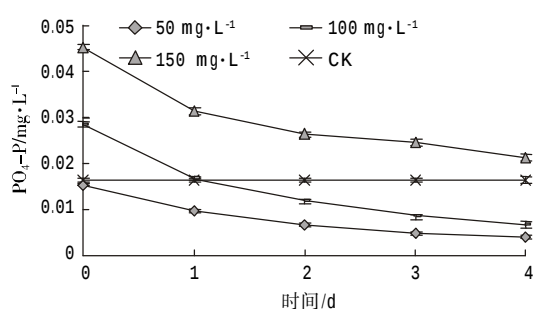


图 24 不同底物浓度下 LH 对饲料 COD 的降解

Figure 24 Degradation of COD in feedstuff by LH at different amounts of feedstuff

图 25 不同底物浓度下 LH 对饲料 PO<sub>4</sub>-P 的降解Figure 25 Degradation of PO<sub>4</sub>-P in feedstuff by LH at different amounts of feedstuff

使用微生态制剂,利用有益微生物菌群的各种生理生化作用,分解、合成或转化水中的有害物质,从而调节和净化水质。

亚硝酸盐是对鱼类毒害作用较强的物质。本试验表明,使用 LH 菌株对降低养殖废水、饲料的 NO<sub>2</sub>-N

非常显著的,各个试验组的降解率从 24.57% 到 78.01% 不等,且对饲料的去除效果要好于对废水的,这可能是 LH 在以饲料培养基中能更好地发酵的缘故。冯俊荣等<sup>[6]</sup>研究发现从微生态制剂对亚硝酸盐含量的作用效果来看,在试验前期,最佳间隔时间是两周,最佳使用浓度是 10<sup>4</sup> 个·mL<sup>-1</sup> 水体。吴伟等<sup>[7]</sup>在研究假丝酵母对 NO<sub>2</sub>-N 降解作用时发现水中有有机物、微生物的含量及 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 的比例对降解作用有一定的影响。从本文来看,NO<sub>2</sub>-N 的降解效果与温度、菌的使用浓度关系较大,在试验所设的温度、浓度范围内,总体上降解率与它们呈正相关,但更高的温度、菌浓度效果如何有待进一步研究,而底物浓度并非越高降解率越高,至于其他因素对 NO<sub>2</sub>-N 降解的影响还需进一步探讨。杨洁彬等<sup>[8]</sup>指出植物乳杆菌经亚硝酸盐的诱导,能产生亚硝酸盐还原酶。张庆芳等<sup>[9]</sup>指出乳酸菌对亚硝酸盐的降解分为酶降解和酸降解两个阶段,而 pH>4.5 时酸降解的贡献不大,并发现不同的乳酸菌菌株间的降解能力有显著的差异。在本文中,各组的 pH 都在 6.0 以上,从而推断对 NO<sub>2</sub>-N 的降解作用是以酶降解为主。

氨氮(NH<sub>3</sub>-N)是水体中无机氮的主要存在形式,以离子氨(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)和分子氨(NH<sub>3</sub>)的形式存在。其中分子氨对水产养殖动物有毒,浓度过高会抑制养殖动物的生长,甚至死亡,即使在安全浓度范围内,对养殖动物的生理功能也有显著的影响,因此控制氨氮是健康养殖的关键措施之一。在本文中,各实验组的 NH<sub>3</sub>-N 呈上升的趋势,这可能是亚硝酸盐的还原产物中含有 NH<sub>3</sub>-N,导致了 NH<sub>3</sub>-N 的积累。乔顺风等<sup>[10]</sup>指出亚硝

表 2 乳酸杆菌 LH 对饲料的降解率(平均值±标准误)

Table 2 Effects of LH on the degradation rates of feedstuff (Mean±SE)

|      |                                      | NO <sub>2</sub> -N           | NH <sub>3</sub> -N            | NO <sub>3</sub> -N           | PO <sub>4</sub> -P           |
|------|--------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 温度   | 15 °C                                | 0.373 8±0.019 4 <sup>a</sup> | -0.448 1±0.011 7 <sup>a</sup> | 0.156 6±0.024 3 <sup>a</sup> | 0.388 1±0.023 6 <sup>a</sup> |
|      | 20 °C                                | 0.553 5±0.021 5 <sup>b</sup> | -0.834 2±0.010 6 <sup>b</sup> | 0.258 4±0.028 3 <sup>b</sup> | 0.473 4±0.019 8 <sup>b</sup> |
|      | 25 °C                                | 0.702 4±0.018 3 <sup>c</sup> | -0.878 7±0.012 8 <sup>c</sup> | 0.378 4±0.021 6 <sup>c</sup> | 0.692 9±0.025 9 <sup>c</sup> |
|      | 30 °C                                | 0.742 1±0.016 2 <sup>d</sup> | -0.965 8±0.014 1 <sup>d</sup> | 0.446 0±0.025 8 <sup>d</sup> | 0.749 9±0.014 2 <sup>d</sup> |
|      | CK                                   | 0.033 6±0.019 8 <sup>e</sup> | 0.051 3±0.012 6 <sup>e</sup>  | 0.071 2±0.023 8 <sup>e</sup> | 0.012 1±0.001 3 <sup>e</sup> |
| 菌浓度  | 10 <sup>3</sup> cfu·mL <sup>-1</sup> | 0.450 4±0.017 9 <sup>a</sup> | -0.733 3±0.013 0 <sup>a</sup> | 0.205 1±0.020 8 <sup>a</sup> | 0.461 5±0.021 7 <sup>a</sup> |
|      | 10 <sup>4</sup> cfu·mL <sup>-1</sup> | 0.602 4±0.016 4 <sup>b</sup> | -0.849 5±0.014 5 <sup>b</sup> | 0.236 5±0.023 4 <sup>b</sup> | 0.525 4±0.027 8 <sup>b</sup> |
|      | 10 <sup>5</sup> cfu·mL <sup>-1</sup> | 0.727 5±0.018 7 <sup>c</sup> | -0.938 6±0.016 2 <sup>c</sup> | 0.354 5±0.021 7 <sup>c</sup> | 0.670 9±0.025 4 <sup>c</sup> |
|      | 10 <sup>6</sup> cfu·mL <sup>-1</sup> | 0.780 1±0.017 1 <sup>d</sup> | -0.881 5±0.017 8 <sup>d</sup> | 0.305 2±0.022 6 <sup>d</sup> | 0.784 5±0.019 5 <sup>d</sup> |
|      | CK                                   | 0.023 4±0.014 5 <sup>e</sup> | 0.052 4±0.012 1 <sup>e</sup>  | 0.026 2±0.010 3 <sup>e</sup> | 0.016 1±0.009 7 <sup>e</sup> |
| 底物浓度 | 50 mg·L <sup>-1</sup>                | 0.474 3±0.020 4 <sup>a</sup> | -0.691 5±0.025 3 <sup>a</sup> | 0.247 3±0.014 5 <sup>a</sup> | 0.733 3±0.026 7 <sup>a</sup> |
|      | 100 mg·L <sup>-1</sup>               | 0.523 2±0.019 6 <sup>b</sup> | -0.616 5±0.021 2 <sup>b</sup> | 0.308 2±0.020 4 <sup>b</sup> | 0.760 4±0.021 3 <sup>b</sup> |
|      | 150 mg·L <sup>-1</sup>               | 0.576 7±0.022 8 <sup>c</sup> | -0.440 5±0.027 6 <sup>c</sup> | 0.287 1±0.023 5 <sup>b</sup> | 0.527 7±0.024 6 <sup>c</sup> |
|      | CK                                   | 0.015 7±0.010 4 <sup>d</sup> | 0.050 2±0.022 5 <sup>d</sup>  | 0.087 8±0.014 5 <sup>c</sup> | 0.018 3±0.008 7 <sup>d</sup> |

酸盐的还原产物为氨氮或游离氨或氮气。张庆芳等<sup>[9]</sup>也证实了乳酸发酵过程中有氨的生成。据报道,许多有益微生物都能明显地降解水体中的  $\text{NH}_3\text{-N}$ , 如假丝酵母<sup>[7]</sup>、芽孢杆菌<sup>[11]</sup>、光合细菌<sup>[12]</sup>等。

一般认为硝酸盐对水生动物没有不良影响,但过高的硝态氮对养殖动物也有毒性,硝态氮主要是通过影响养殖动物渗透作用和对氧的运输来影响养殖动物的生长<sup>[13]</sup>。较高浓度的硝酸态氮,如果不能及时被微生物或植物吸收转化为其他形式带走,一直会处于三态氮的动态循环中,一旦水体溶氧不足,随时都会转入反硝化过程,又以氨氮、亚硝酸盐的形式危害水生动物,而且浓度太高也会引起水体的富营养化。本试验表明,  $\text{NO}_3\text{-N}$  的含量显著下降。有研究表明,乳酸杆菌在 pH 最终平衡在 6.0 以上时可还原硝酸盐<sup>[14]</sup>。试验中各组的 pH 都在 6.0 以上,从而推断在试验中也发生了硝酸盐的还原反应。李士虎等<sup>[15]</sup>的研究表明,光合细菌、硝化细菌、硫化细菌都能有效地分解硝酸盐氮,说明许多有益菌能分解  $\text{NO}_3\text{-N}$ 。

无机磷是浮游植物繁殖生长最重要的三大营养盐之一,也是水产动物生长发育所必需的重要营养元素。由于饵料和对虾排泄物的溶出在系统中的积累,在高密度、高投饵的对虾工厂化养殖水体中,作为主要营养元素的无机磷含量普遍较高,而且具有随时间增加而升高的规律,易造成养殖水体的富营养化。无机磷酸盐的阴离子有  $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{HPO}_4^{2-}$ 、 $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , 这些形态存在于水溶液中,其相对浓度取决于水的 pH 值。在本研究中,  $\text{PO}_4\text{-P}$  的浓度呈下降的趋势。有研究表明不动杆菌(*Acinetobacter* SPP) 在环境中有短链挥发性脂肪酸特别是乙酸时, 它们可在细胞中积累过量的磷<sup>[16]</sup>, 乳酸杆菌 LH 是否有这方面的功能或是通过其他机制降低  $\text{PO}_4\text{-P}$  的浓度,有待进一步研究。周刚等<sup>[17]</sup>用 EM 调节蟹池水质,结果表明能显著地降低  $\text{PO}_4\text{-P}$  的浓度,但未对其中的机制作进一步的研究。

有机物污染是导致病害发生的另一个重要的原因,有机物污染促使各类微生物大量繁殖,微生物分解有机物不仅消耗大量的溶解氧,同时产生许多有害的代谢产物如氨氮、亚硝酸盐、硫化氢等。何本茂等<sup>[18]</sup>指出高密度养殖水体中硝酸盐和亚硝酸盐含量普遍很高,并与 COD 呈显著的正相关。而试验中,乳酸杆菌 LH 未能起到降解 COD 的作用,但乳酸杆菌能分解蛋白质、碳水化合物等生物大分子,对于水体的物质循环是有好处的。

## 4 结论

乳酸杆菌 LH 能有效地降低养殖废水和饲料中的  $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ , 而使  $\text{NH}_3\text{-N}$  的浓度升高,对 COD 无明显作用。实际应用上,应把乳酸杆菌和芽孢杆菌、光合细菌等有益菌联用,以发挥各个菌株的不同功能,起到协同作用,克服单一品种适应性差、应用面狭窄的不足的缺陷。本试验只是在实验室条件下对乳酸杆菌 LH 的降解作用进行研究,在养殖水体中的作用效果如何,有待进一步的研究。

## 参考文献:

- [1] 丁彦文, 艾红. 微生物在水产养殖中的应用[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 2(1): 36-38.
- [2] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture [J]. Aquacult, 1999, 180(1): 147-155.
- [3] Ringø E, Gatesoupe F. Lactic acid bacteria in fish: a review[J]. Aquaculture, 1998, 160(1): 177-203.
- [4] GB 17378.4-1998, 海洋监测规范[S].
- [5] 谢航, 邱宏端, 林娟, 等. 假丝酵母菌降解养殖水体氨氮的特性研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(8): 142-145.
- [6] 冯俊荣, 陈营, 付学军, 等. 微生物制剂对养殖水体水质条件的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2005, 4(40): 104-108.
- [7] 吴伟, 余晓丽, 李咏梅. 假丝酵母对养殖水体中亚硝酸盐的降解特性[J]. 中国环境科学, 2001, 21(1): 8-11.
- [8] 杨洁彬, 郭兴华, 张篪, 等. 乳酸菌-生物学基础及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996. 4.
- [9] 张庆芳, 迟乃玉, 郑燕, 等. 乳酸菌降解亚硝酸盐机理的研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(8): 27-31.
- [10] 乔顺风, 刘恒义, 靳秀云, 等. 养殖水体氨氮积累危害与生物利用[J]. 河北渔业, 2006, 1: 20-22.
- [11] 郑虹, 施巧琴, 施碧红, 等. 芽孢杆菌对养殖水体净化作用的比较研究[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(6): 41-44.
- [12] 田景波, 宋德敬. 用光合细菌改善微生态环境培育健康虾苗的研究[J]. 海洋水产研究, 1998, 19(2): 19-26.
- [13] 葛国昌. 海水鱼类增殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991. 28-30.
- [14] 凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 15.
- [15] 李士虎, 阎斌伦, 徐加涛, 等. 三种微生物水质净化剂试验效果比较[J]. 水产养殖, 2004, 25(6): 37-39.
- [16] 张伟, 杨秀山. 水体的富营养化及其治理[J]. 生物学通报, 2001, 36(11): 20-22.
- [17] 周刚, 张彤晴, 朱清顺, 等. EM(有益微生物菌群)调节蟹池水质的试验研究[J]. 水产养殖, 2003, 24(3): 36-38.
- [18] 何本茂, 童万平, 韦蔓新. 不同模式对虾养殖水体中硝酸盐和亚硝酸盐的变化特征及其影响因素[J]. 广西科学, 2005, 12(1): 76-79.