

枯草芽孢杆菌水质净化作用的研究

张峰峰, 谢凤行, 赵玉洁, 周 可, 李亚玲

(天津市农业生物技术研究中心, 天津 300192)

摘要:为净化渔业养殖水质, 研究了从水产养殖水体及底泥中分离的枯草芽孢杆菌的水质净化作用。结果表明, 枯草芽孢杆菌可迅速有效的降低水体中的硝酸盐、亚硝酸盐含量, 4 d 去除率均达 99% 以上; 可有效降低水体的 pH 值; 对水体中溶氧和硫化物含量的影响较小。枯草芽孢杆菌能够在一定程度上改善养殖水体的水质状况, 对模拟养殖水体的水质具有一定的净化作用。

关键词:枯草芽孢杆菌; 水质; 净化; 水产养殖

中图分类号: S154.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2009)04-0218-04

Effect of *Bacillus subtilis* on Purification of Aquaculture Waste water

ZHANG Feng-feng, XIE Feng-xing, ZHAO Yu-jie, ZHOU Ke, LI Ya-ling

(Tianjin Research Center of Agricultural Biotechnology, Tianjin 300192, China)

Abstract: The *Bacillus subtilis*, isolated from the mud and water of shrimp ponds, was studied on purification of stimulant aquaculture wastewater. The results indicated that when the *B. subtilis* was applied in stimulant aquaculture wastewater, the removing rate of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen reached above 99% after four days, pH value obviously decreased, but dissolved oxygen content and S^{2-} content was changed indistinctively. Therefore, *B. subtilis* can improve water quality obviously on a certain extent.

Key words: *Bacillus subtilis*; Water quality; Purification; Aquaculture

随着水产养殖规模的不断扩大, 集约化养殖程度的不断提高, 水产养殖池的富营养化程度越来越高^[1]。池塘自净与调节能力并不能满足清除残饵、鱼虾排泄物等富营养因子的需要, 养殖水体中氨氮、硝酸盐、亚硝酸盐、硫化物等严重超标, 池塘水质恶化, 鱼虾病害频频发生^[2]。

抗生素和各种化学药剂在养殖池中的过量或频繁使用不仅会使有害微生物的耐药性增加, 破坏和干扰养殖环境的正常生物体系, 导致养殖水体中微生物的生态失调, 而且会产生二次污染, 农药残留超标, 严重影响水产品的品质。因此, 通过选育和培养高效安全的微生物菌剂^[3], 利用生物方法净化养殖水质, 改善和恢复养殖水体的生态环境, 被越来越多地应用于生产。枯草芽孢杆菌能产生许多胞外酶, 迅速分解水体中有机物, 促进硫化物和亚硝酸盐的氧化, 并且具有快速生长繁殖和适应环境的能力^[4]。熊伟等^[5]在海南斑节虾养殖池中使用枯草芽孢杆菌

制剂后, 养殖池中有害物质如亚硝酸盐、硫化氢显著减少, COD 较对照池大幅度下降。本研究以 3 株枯草芽孢杆菌处理模拟的污染水样, 测定其对水中不同水质指标的影响, 以期选育出效果较好的菌株应用于养殖水体的净化。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

水产养殖水体及底泥中分离的枯草芽孢杆菌菌株, 枯 H4, 枯 H462 (枯 H4 经过紫外诱变的菌株), 枯 C2, 由天津市农业生物技术中心分离纯化并提供^[6]。

光合细菌 (PSB) 为绿色嘉华生物科技北京有限公司市售产品。

1.2 模拟污染水样

在 3 L 的玻璃缸中装水 2 L, 分别加入豆粕粉和麦麸粉各 1.2 g, 硫酸铵 100 mg, 硝酸钾 600 mg, 硫化钠 1.0 mg, 海盐 0.6 mg, 配制好的模拟养殖水用 5%

收稿日期: 2008-10-24

基金项目: 天津市应用基础研究计划项目 (07JCZDJC03600); 天津市农业科学院院长基金项目 (07012)

作者简介: 张峰峰 (1983-), 男, 河南洛阳人, 硕士, 研究实习员, 主要从事微生物水质净化方面研究。

碳酸钠溶液和硫酸调节 pH 值至 8.0~8.5。

1.3 投菌量

水样配置 2 d 之后,对培养好的接种液进行计数,供试菌液的含菌量分别调整为枯草芽孢杆菌 13×10^8 个/mL,光合细菌 12.5×10^8 个/mL,每缸加入 90 mL 菌液,搅匀。每个菌株 3 次重复,以不加菌为对照。将水样靠窗放置,温度在 30 左右,尽量接近室外的养殖环境。每次测定后补水 100 mL (补充蒸发的量),分别在接种前及接种后 1,4,7,10 d 取样测水质指标。

1.4 测定项目及方法

溶氧,YSI 550A 便携式溶氧仪;pH,PHS-3C 型 pH 计;氨氮,纳氏试剂光度法^[7];硝酸盐,紫外分光光度法^[7];亚硝酸盐,N-(1-萘基)-乙二胺光度法^[7];硫化物,亚甲蓝法^[7]。

1.5 数据处理

采用统计软件 SPSS(Release 15.0)分析数据,单因素方差分析(ANOVA)用于分析测量日不同处理水质指标间的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 不同处理对溶氧含量的影响

从图 1 可以看出,接种前(0 d)模拟养殖水溶氧含量较低,仅为 0.06 mg/L。可能是由于水样中放入了麸皮和豆粕,导致水体发酵,使水中的溶氧含量降低。随着时间的延长,不同处理的水样溶氧含量都明显增高,但增高的时间不同,对照处理后 1 d 溶氧就开始直线上升,到第 7 天进入稳定期,第 10 天最高,达到 3.66 mg/L,而光合细菌在第 4 天才进入直线上升期,到第 10 天超过对照;枯 C2、枯 H462、枯 H4 处理都为第 7 天之后溶氧才直线上升,这可能是因为该菌能够在一定程度上消除水样中耗氧性的还原性物质,也就是降低了“水呼吸”,并超过了枯草芽孢杆菌自身的耗氧量,从而导致溶氧的小幅反弹。总体来说,接种后第 10 天各个枯草芽孢杆菌处理之间、对照与光合细菌之间、对照与枯草芽孢杆菌处理之间的溶氧含量均无显著差异($P > 0.05$),但光合细菌与枯草芽孢杆菌处理之间的溶氧差异显著($P < 0.05$)。可以看出,光合细菌可明显提高水中的溶氧含量,枯草芽孢杆菌为好氧生长过程,可能利用了水中的氧,使溶氧含量显著降低,这与汤保贵等^[8]的研究相同。因此,在养殖实践中应用枯草芽孢杆菌时,一定要注意该菌的耗氧特征,考虑其使用条件、时机和使用量,并注意开动增氧机。

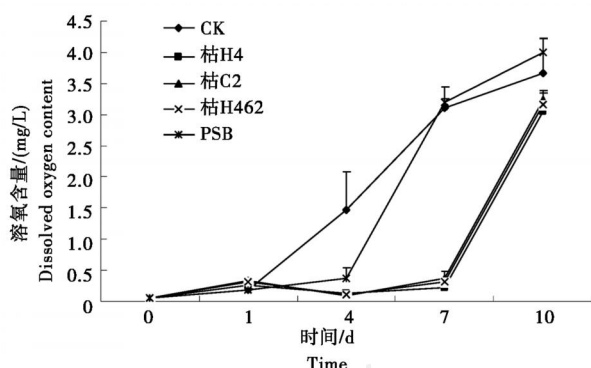


图 1 不同处理对水中溶氧含量的影响

Fig.1 Effect of different treatments on water dissolves oxygen

2.2 不同处理对水样 pH 值的影响

由图 2 可以看出,处理水样的初始 pH 值为 8.21,为偏碱性,随着时间的推移而逐渐升高,原因可能是因为发酵产生的污染物提高了水体的 pH 值,总体的升高量为 0.4~0.6。在接种枯草芽孢杆菌 4 d 后水样的 pH 值都低于对照,方差分析表明,在第 4 天和第 7 天间与对照的差异达极显著水平($P < 0.01$),第 10 天时对照的 pH 值下降,与枯 C2、枯 H4 间差异不显著($P > 0.05$),而枯 H462 下降幅度更大,与对照间差异仍达极显著水平;光合细菌处理在第 4 天和第 7 天的 pH 值低于对照,差异极显著($P < 0.01$),而第 10 天的 pH 值超过对照,但与对照、枯 H4、枯 C2 无显著差异($P > 0.05$)。总体来说,在此次水质净化过程中,无论对照还是菌体处理,水体的 pH 值基本呈升高趋势,不利于养殖水体中生物的生长,但是枯草芽孢杆菌处理后水体 pH 值低于对照,说明其在一定程度上可以起到调节 pH 值的作用。

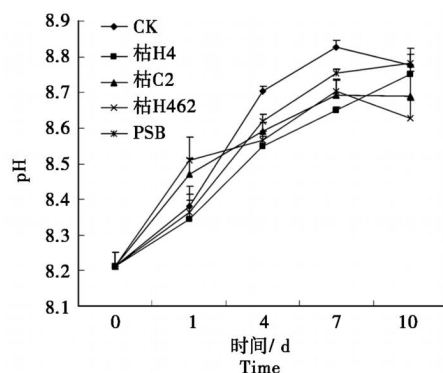


图 2 不同处理对水体 pH 的影响

Fig.2 Effect of different treatments on pH

2.3 不同处理对水样氨氮含量的影响

由图 3 可以看出,各个菌种处理的水样中的氨氮含量都出现先上升后下降的趋势,可能由于菌种的发酵导致水体中氨氮的升高,特别是接种后 1 d,3

株枯草芽孢杆菌处理的水样中氨氮升高的幅度最大,可达到 1.5 mg/L 以上,显著 ($P < 0.05$) 高于对照和光合细菌处理的水样,说明枯草芽孢杆菌没有降低水体氨氮的作用。光合细菌处理水样在处理后的第 1 天 仅仅升高 0.07 mg/L,但随后出现下降的趋势,与对照相同,但在处理后第 4 天到第 10 天光合细菌处理的水样的氨氮含量都低于对照,但差异不显著 ($P > 0.05$)。

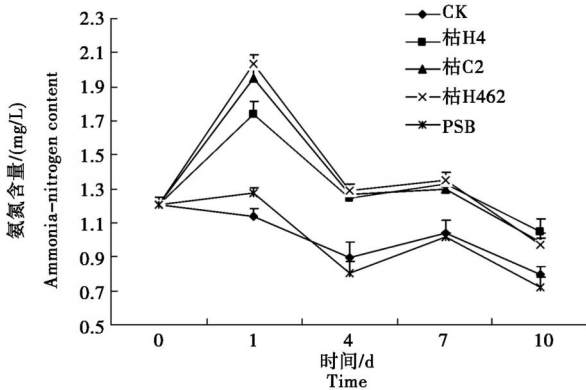


图 3 不同处理对水中氨氮含量的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on ammonia nitrogen

2.4 不同处理对水样硝酸盐含量的影响

由图 4 可以看出,各个处理水样的硝酸盐的含量基本都有降低的趋势,特别是处理后的第 1 天硝酸盐的降低幅度最大,在处理后的第 4 天,枯草芽孢杆菌处理的硝酸盐的含量基本为 0,并一直保持不变;而对照水样的最终硝酸盐浓度为 21.63 mg/L,光合细菌处理为 18.82 mg/L,与枯草芽孢杆菌处理间均呈极显著差异 ($P < 0.01$)。说明这 3 株枯草芽孢杆菌可有效快速地降解水体中的硝酸盐。光合细菌处理与对照之间硝酸盐含量无显著差异 ($P > 0.05$),说明该株光合细菌降解硝酸盐的能力较弱。

2.5 不同处理对水样亚硝酸盐氮含量的影响

由图 5 可以看出,各个处理初始试样亚硝酸盐含量为 0,在处理后的第 1 天都不同程度出现亚硝酸盐,可能是由于菌体的作用或水体化学作用将硝酸盐分解为亚硝酸盐,各个菌种处理与对照相比差异均不显著 ($P > 0.05$),但是枯草 H4 处理水体的亚硝酸盐的含量显著 ($P < 0.05$) 高于枯草 H462 和枯草 C2。之后,各处理亚硝酸盐都出现了降低的趋势,特别是 3 株枯草芽孢杆菌在第 4 天就降低为 0,并一直保持为 0,与光合细菌及对照间达极显著差异 ($P < 0.01$)。光合细菌也存在先升高后降低的趋势,但到第 10 天降低为 4.1 mg/L,显著 ($P < 0.05$) 低于对照 (7.2 mg/L),说明光合细菌也具有一定的降解水体中亚硝酸盐的能力。

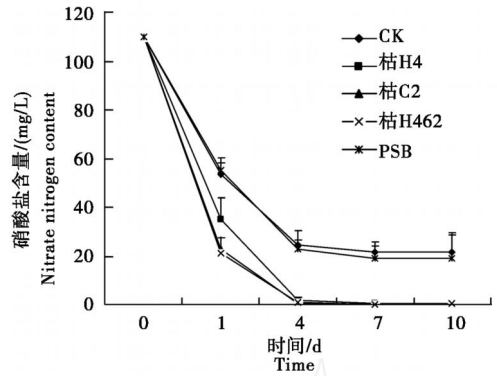


图 4 不同处理对水中硝酸盐含量的影响

Fig. 4 Effect of different treatments on nitrate nitrogen

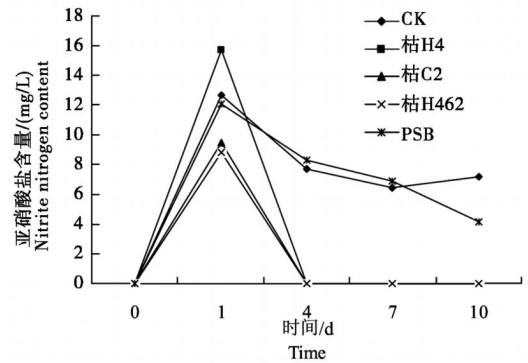


图 5 不同处理对水中亚硝酸盐含量的影响

Fig. 5 Effect of different treatments on nitrite nitrogen

2.6 不同处理对水样硫化物含量的影响

从图 6 可以看出,除 H4 在第 4 天有一个突升突降过程外,各个处理的硫化物含量随着时间的变化都有所降低,但始终高于对照,说明各供试菌种不具备降低水中硫化物含量的作用。

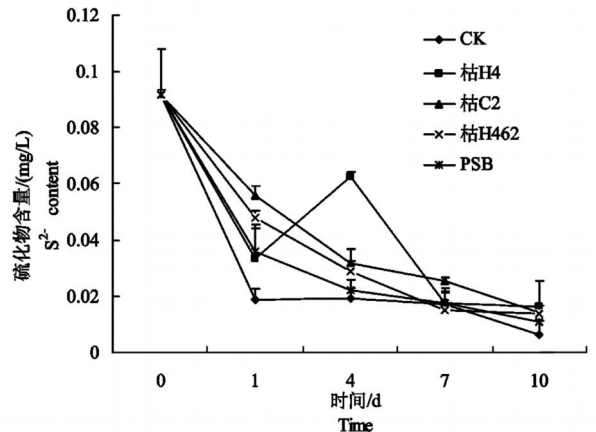


图 6 不同处理对水中硫化物含量的影响

Fig. 6 Effect of different treatments on S^{2-}

3 结论

近年来,有多种微生物制剂用于调控渔业养殖水质,并取得良好的使用效果,如光合细菌^[9]、玉垒菌^[10]、复合 EM 菌^[11]、蜡样芽孢杆菌^[12]等制剂。但有些菌种组成较为复杂,对产品的质量监控及稳定

性带来较大的困难。枯草芽孢杆菌制剂能有效地对养殖环境进行调控,及时分解有害污染物质,净化、稳定水质,减少换水量和次数,节省能源,同时减少抗生素等药品的使用剂量和频度,节约养殖成本^[13]。更重要的是能减少抗生素及重金属在水产动物体内的残留,提高水产品品质。枯草芽孢杆菌制剂具有菌种单一、适于大规模生产、成本低廉、产品质量相对稳定等优点,相比其他种类微生态水质改良剂更值得推广使用。

本试验通过在玻璃缸中加入了麸子和豆粕粉,模拟喂养的剩余物,加入不同的污染物,模拟了水产养殖的真实环境,通过比较枯草芽孢杆菌和市售光合细菌的对水体各种污染指标的影响,确定不同菌种的水体净化作用,总体来说,3株枯草芽孢杆菌在提高水体中溶氧含量,降低硫化物含量的方面并没有明显的效果,甚至显著提高了水体中的氨氮含量,但是在降低水体 pH 值,水中硝酸盐和亚硝酸盐含量方面效果显著,说明枯草芽孢杆菌具有一定的净化水体的能力,而市售的光合细菌可提高水体中的溶氧含量和降低水体中的氨氮含量。试验结果证明,单一的依靠某一类菌种净化水体是比较困难的,只有综合利用不同菌种的不同的降解净化作用,互为补充,才能达到最好的效果,这也是我们在下步试验中主要考虑的问题。

参考文献:

- [1] 王琳,王迎春,李季,等.微生物菌剂处理富营养化景观水体的室内试验研究[J].农业环境科学学报,2007,26(1):88-91.
- [2] 王兴礼,叶志慧.鱼类健康养殖的技术措施[J].内陆水

产,2008,33(6):8-9.

- [3] 王亚敏,王印庚.微生态制剂在水产养殖中的作用机理及应用研究进展[J].动物医学进展,2008,29(6):72-75.
- [4] 熊伟,梁运祥,戴经元,等.枯草芽孢杆菌对斑节对虾饲养池水净化作用的初步研究[J].华中农业大学学报,2003,22(3):247-250.
- [5] Vaseeharan B, Ramasamy P. Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2003, 36(2): 83-87.
- [6] 谢风行,赵玉洁,周可,等.产胞外淀粉酶枯草芽孢杆菌的分离筛选及紫外诱变育种[J].华北农学报,2009,24(3):78-82.
- [7] 国家环境保护总局编委会.水和废水检测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社,2002.
- [8] 汤宝贵,徐中文,张金燕,等.枯草芽孢杆菌的培养条件及对水质的净化作用[J].淡水渔业,2007,37(3):45-48.
- [9] 张信娣,金叶飞,陈瑛.光合细菌对鱼病原细菌生长的影响[J].中国生态农业学报,2008,16(3):659-663.
- [10] 宫兴文,蔡完其,马江耀.玉垒菌(S30)和光合细菌(PSB)对温室养鳖池水质改良作用的研究[J].水产科学,2000,7(2):116-118.
- [11] 宋凤敏,呼世斌.EM菌活性污泥系统对皂素废水的深度处理试验[J].工业用水与废水,2008,39(2):39-41.
- [12] Grommen R, Hauteghem I V, Wambeke M V, et al. An improved nitrifying enrichment to remove ammonium and nitrite from freshwater aquaria systems[J]. Aquaculture, 2002, 211: 115-124.
- [13] Vezzulli L, Pruzzo C, Fabiano M. Response of the bacterial community to in situ bioremediation of organic-rich sediments[J]. Marine Pollution Bulletin, 2004, 49: 740-751.