

有益微生物制剂及其在水产养殖中的应用

王玉堂 主编



海洋出版社

有益微生物制剂及其在 水产养殖中的应用

王玉堂 主编

海洋出版社

2018年·北京

图书在版编目 (CIP) 数据

有益微生物制剂及其在水产养殖中的应用/王玉堂主编. —北京: 海洋出版社, 2018. 7

ISBN 978-7-5210-0151-8

I. ①有… II. ①王… III. ①水生微生物-应用-水产养殖-研究
IV. ①S96

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 165172 号

责任编辑: 杨 明

责任印制: 赵麟苏

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

北京市海淀区大慧寺路 8 号 邮编: 100081

北京朝阳印刷厂有限责任公司印刷 新华书店发行所经销

2018 年 9 月第 1 版 2018 年 9 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 17.5

字数: 278 千字 定价: 60.00 元

发行部: 62132549 邮购部: 68038093 总编室: 62114335

海洋版图书印、装错误可随时退换

前 言

俗话说“养鱼先养水”。因为水是水产养殖动物的基本生活环境，水质的好坏直接影响到养殖水生动物的生存、生长和繁殖，制约着水产养殖管理技术的取向，从而影响养殖水生生物的生存安全、生产性能和产品质量。

近年来，我国水产养殖业的集约化水平不断提高，单产水平连年增加，不断挑战现有水产养殖技术与水产养殖管理水平的底线；养殖容量无节制地提高，使得内源性水质污染日趋严重，再加上外源性污染的日益加剧，使得水产养殖的水环境日益恶化，水产养殖病害呈逐年上升趋势，每年因水产养殖病害所造成的直接经济损失均在 100 亿~150 亿元之间，成为制约水产养殖业发展的瓶颈因素。为降低因水产养殖病害所造成的经济损失，养殖生产过程中大量使用渔药及一些化学物质。由于养殖生产者对渔药的使用知识没有完全掌握，不能完全遵守休药期和残留限量要求，甚至使用禁用药物，使得养殖水产品药物残留超标事件时有发生，在一定程度上影响了我国养殖水产品的质量安全水平以及国际竞争力。

伴随着我国农产品质量安全管理工作的日益加强和现代水产养殖业的加快发展，人们更加意识到养殖水质调节与控制、养殖水产品质量控制的重要性。因此，有益微生物制剂产业迅速崛起，有益微生物制剂的生产和应用技术迅速普及，已成为一个较大的水产养殖投入品产业，并仍呈继续扩大的趋势。有益微生物制剂在水产养殖上的应用具有治理养殖生态环境投入少、效益高，无

抗药性、无药物残留和绿色、环保的优点，这也适应了人们对养殖水产品质量的要求。然而，在有益微生物制剂的生产和使用上，目前还存在许多问题，如菌种选择问题、单一菌种制剂使用问题、多菌种使用配伍和脂性问题、测水施用问题、制剂质量问题、施用方法问题，等等。为此，我们收集了大量相关技术资料，加以归类和分析处理，汇总成此技术资料，希望为有益微生物制剂生产者和水产养殖生产者以及水产养殖科技工作者有所帮助。

目 录

第一篇 基础理论

第一章 绪论	(3)
一、有益微生物制剂	(3)
二、有益微生物制剂的科研与开发概况	(6)
三、有益微生物制剂与水产动物健康养殖	(7)
四、水产养殖业中应用的主要有益微生物制剂种类及用途	(7)
五、有益微生物制剂对水产养殖动物疾病防治作用机理	(13)
六、有益微生物在肠道内黏附机制的研究进展	(19)
七、存在的问题与待研究领域	(22)
八、加强有益微生物制剂生产与应用管理应采取的措施	(26)
九、有益微生物制剂的科学使用	(29)
第二章 有益微生物制剂工艺	(32)
第一节 概述	(32)
一、有益微生物制剂的概念与种类	(32)
二、有益微生物的作用机理和功能	(35)
三、有益微生物制剂分类	(37)
四、有益微生物制剂辅料	(39)
第二节 有益微生物菌种选育	(41)
一、培养基	(41)
二、菌种来源	(46)
三、菌种的鉴定与保存	(47)
第三节 有益微生物发酵工艺	(49)

一、液态发酵	(49)
二、固态(半固态)发酵	(56)
第三章 有益微生物制剂	(58)
第一节 渔业水环境与微生物类型	(58)
一、渔业水环境与微生物	(58)
二、微生物类型与益生菌的作用机理	(59)
第二节 光合细菌等各种益生菌的分类与功能	(62)
一、芽孢杆菌类制剂	(62)
二、乳酸菌类制剂	(63)
三、酵母菌类制剂	(63)
四、光合细菌(PSB)制剂	(63)
五、蛭弧菌制剂	(64)
六、硝化细菌制剂	(64)
第三节 发酵工艺技术	(64)
一、液态发酵和固态发酵工艺流程	(64)
二、培养基及培养基配制	(66)
三、菌种活化与发酵培养	(67)
四、有益微生物菌种选择	(68)
第四节 渔用有益微生物制剂产品标准与质量控制	(70)
一、渔用有益微生物制剂质量要求与产品标准	(70)
二、有益微生物制剂质量控制	(94)

第二篇 应用实例

第四章 蛭弧菌	(99)
一、蛭弧菌的生物学	(100)
二、蛭弧菌的科研现状	(108)
三、蛭弧菌在水产养殖业的应用前景	(111)
四、蛭弧菌在水产养殖业的应用	(112)
五、蛭弧菌在水产养殖业中的临床应用及其生态效应	(115)

六、对蛭弧菌或其作用的影响因素	(116)
七、制剂与菌种选择	(118)
八、噬菌蛭弧菌制剂对乌鳢养殖水质的影响	(121)
九、“噬菌 28”简介	(123)
十、利用蛭弧菌防病实例	(124)
第五章 光合细菌	(127)
一、光合细菌的特性	(127)
二、利用光合细菌处理有机废水的原理	(135)
三、光合细菌菌体的营养成分	(136)
四、光合细菌在水产养殖业中的应用	(138)
五、光合细菌的分离培养与鉴定	(144)
六、沼泽红假单胞菌的鉴别与检测	(147)
七、荚膜红假单胞菌的扩大培养	(149)
第六章 硝化细菌与反硝化细菌	(154)
一、硝化细菌及其生物学	(154)
二、硝化细菌制剂的制备技术	(156)
三、硝化细菌的作用机理	(157)
四、硝化细菌施用注意事项	(159)
五、硝化细菌在水产养殖业上的应用	(160)
六、反硝化细菌	(161)
第七章 芽孢杆菌	(167)
一、芽孢杆菌在水产养殖业中的应用	(167)
二、枯草芽孢杆菌培养基配方的优化	(180)
三、枯草芽孢杆菌的固态发酵工艺	(184)
四、枯草芽孢杆菌 B115 株杆菌	(188)
五、枯草芽孢杆菌 ZJU-1 株	(193)
六、蜡状芽孢杆菌	(197)
第八章 乳酸菌	(203)
一、丁酸梭菌	(203)
二、嗜乳酸杆菌	(229)

三、乳酸菌的应用研究概况	(230)
第九章 酵母菌和放线菌群	(232)
一、酵母菌的生物学特性	(232)
二、放线菌群	(233)
第十章 复合有益微生物	(238)
一、复合有益微生物及其分类	(238)
二、复合有益微生物的作用机理	(239)
三、复合有益微生物菌种的选择	(246)
四、复合有益微生物的加工保存	(247)
五、影响复合有益微生物使用效果的因素	(247)
六、常用复合有益微生物制剂种类	(250)
七、EM 菌对大口鲶血液学指标影响的研究	(252)
八、复合微生态制剂对花鲢非特异性免疫力及抗病力的影响 ..	(257)
第十一章 有益微生物制剂在水产养殖业应用问题探讨	(264)
一、有益微生物制剂通过繁殖才起作用	(264)
二、微生物的繁殖与起效时间的关系	(264)
三、以预防原则使用有益微生物制剂	(265)
四、根据水产养殖动物病因使用有益微生物制剂	(265)
五、根据最佳效应时间使用有益微生物制剂	(266)
六、根据水质状况使用有益微生物制剂	(267)
七、根据不同微生物特点搭配使用有益微生物制剂	(267)

第一篇 基础理论

第一章 绪 论

随着我国工农业生产的快速发展，水产养殖的污染日趋严重，加上养殖容量的日益加大，养殖投入品（饲料、渔药等）的大量增加，致使我国水产养殖水质不断恶化，养殖品种的病害频发、多发、大范围发、长时间发，由病害所造成的经济损失也越来越大。为减少因病害造成的经济损失，养殖生产者不得不大量用药，从而也引发了我国养殖水产品的药残超标等一系列质量安全问题，并成为当前国外限制我国养殖水产品进口的一个重要借口（即技术壁垒或绿色壁垒）。为解决上述矛盾，水产养殖用有益微生物制剂产业应运而生，从 20 世纪 80 年代的尝试性经营发展为目前的规模化经营，而且近几年发展非常迅速。据调查了解，目前我国已有 150 多个水产养殖用有益微生物制剂生产企业，年产万吨以上的规模化生产企业有 30 多家，年销售量（包括添加剂类和生物肥料类）在 20 万吨以上，销售额达 15 亿元以上，已成为我国水产养殖投入品行业新生的重要产业群，并将对今后我国无公害水产养殖业或水产健康养殖业的发展产生不可估量的促进作用。

然而，迄今为止关于水产养殖用有益微生物制剂的研究仅限于产品开发和效果使用方面，后续的精确定施用或测水施用技术、产品质量及应用基础理论等问题还没有开展深入研究工作；在各种形式的宣传中也只见其利，不见其害。诚然，有益微生物制剂对养殖水产品具有无毒副作用、无药物残留、无抗药性等优点，可广泛使用来改善养殖生态环境、净化水质、作为饲料添加剂等，但在不同种类合理配伍、测水施用技术、抑制与清除技术等许多方面问题还有待研究，以确保其使用的安全性和有效性。

一、有益微生物制剂

有益微生物制剂，又称有益微生物、益生菌、微生物生态调节剂、益生

菌、利生菌、活菌制剂等，产品已大行其道，并在实际生产中广泛使用，但目前尚无公认、统一和确切的定义。有益微生物制剂是从天然环境中提取分离出来的微生物，经培养扩增后形成的含有大量有益菌的制剂。广义上讲，包括益生菌、益生元和合生元，也可以说是在微生态理论的指导下，改善和调理微生态，保持微生态平衡，调试水产养殖微生物环境，提高养殖水生动物健康水平或增进健康状态的益生菌（微生物）及其代谢产物和生长促进物质的制品。养殖生产上实际应用的有益微生物制剂包括活菌体、死菌体、菌体成分、代谢产物及具有活性生长促进物质等。

概括起来，有益微生物制剂是指在微生态理论的指导下，运用微生物学原理，利用对宿主有益的活的正常微生物或正常微生物产生的促生长物质，经特殊工艺制成的制剂，目的是调整微生态平衡或调节与控制养殖水质（包括底质）。微生物制剂应用于畜牧业、水产业均具有很多优点：一是可提高养殖对象的健康水平，达到防病治病目的；二是在水体中调节菌相、藻相平衡，通过水体进入养殖对象肠道，提供酵素、维生素；三是抑制病原菌生长、减少疾病发生等。

（一）相关概念

1. 微生态

研究微生物的结构、特性、功能及其相互依赖和相互制约关系的科学称为微生态学。20世纪70年代，德国汉堡成立了第一所微生态学研究所，其后，微生态学逐渐发展为一门新兴学科而令人瞩目。人类医学经历了医学和预防医学，正在向健康医学迈进，微生态学则是健康医学理论和实践应用的基础学科。

2. 益生菌

益生菌，最早来源于希腊语，意思是“对生命有益”，可改善宿主肠道内微生态的平衡，并对宿主有正面效应的活体微生物。目前，益生菌的主要范畴包括光合细菌、芽孢杆菌的一些种属和乳酸菌、放线菌、酵母菌等，其产品被广泛应用于生物工程、生物农业、食品以及医药和生命健康领域。

3. 益生元

益生元，是通过选择性地刺激少数种群细菌的生长与活性、对宿主产生有益影响，从而改善宿主健康的、不被消化的营养成分。最基本的益生元包括碳水化合物和非碳水化合物。理论上讲，任何可以减少有害菌种而促进益生菌生长的都称为益生元。

4. 合生元

合生元，是益生元的混合制品，或再加入维生素和微量元素等。其既可发挥益生菌的生理性细菌活性，又可选择性地增加益生菌的数量，是一种使益生菌作用更加显著、更加持久的混合物质。

(二) 相关理论

1. 微生物制剂的生态平衡理论

根据微生态学理论，在人体、动植物体表及体内、水体、池塘底泥等生活着大量的微生物所构成的微生态系统。正常情况下，这个系统处于动态平衡。一旦由于某些条件的改变而使这个动态平衡遭到破坏，就会失去优势种群，微生物群落就会解体；优势种群就会更替，改变微生态系统，达到新的平衡。例如，由于压力、温度、抗生素、水体中残饵积累、药物使用等因素，致使种群变化，微生态平衡遭到破坏，生态菌群失调，会引起一系列问题。而利用益生菌制成的微生态制剂可以调节失调的菌群，恢复宿主体内环境的正常微生态平衡，达到防病治病的目的。

2. 微生态制剂的生物屏障理论

肠道正常菌群直接参与宿主机体内的生物防御作用，包括化学屏障和生物屏障，可以阻止或杀灭病原微生物，阻止其定植。生物屏障是指定植于黏膜或皮肤上皮细胞、水体、鱼鳃、养殖对象体表等部位的益生菌所形成的生物膜结构，具有占位、生长和繁殖作用。

3. 生物夺氧理论

根据微生物群落定植规律，人或动物出生时肠道内是无菌的，出生后几小时就会被一系列的微生物定植。首先是需氧菌，随后是兼性厌氧菌，

最后是厌氧菌。厌氧菌之所以不能先定植，是由于环境中有氧气的存在。在有氧状态下，兼性厌氧菌生长一段时间后，氧气被消耗，给厌氧菌提供了一个无氧环境条件，厌氧菌才能定植和生长。厌氧菌虽然不能先定植，但在整个微生态平衡系统中占绝大多数，并对整个微生物平衡起着重要作用。利用非病原微生物在肠道内定植，使局部环境中氧分子浓度降低，氧化还原电位下降，造成适合厌氧菌生长的微生态环境，促进厌氧菌繁殖生长，最终达到微生态平衡。

4. 微生态制剂促进“三流”循环理论

微生态系统中的能量流、物质流和基因流的运转体系称为“三流”循环。很多微生物与宿主细胞通过降解、吸收、合成代谢进行物质交换。细胞裂解成分或胞外酶可被微生物利用，而微生物产生的酶、维生素等以及微生物降解的细胞成分也可为宿主细胞利用，如此反复进行物质交换，不仅可以抑制致病菌的生长，还可促进有毒物质代谢，增加肠蠕动和消化吸收能力，从而促进了微生态系统中能量流、物质流和基因流的正常运转。

二、有益微生物制剂的科研与开发概况

有益微生物制剂的研究起始于1905年，当时，梅奇尼科夫（Elie Metchnikoff）用酸奶（乳酸杆菌）治疗幼畜腹泻，并研究得出乳酸杆菌具有抑制大肠杆菌的结论。此后，有关有益微生物制剂的研究引起了社会各界的广泛关注。1978年，卡特（Carter）和柯林斯（Colins）实验证明，10个肠炎沙门氏菌（*Salmonella enteritidis*）可以杀死1头无菌豚鼠，但要杀死1头携带完整的正常菌群的普通豚鼠却需要 1×10^9 个菌群。这就引起了人们对正常肠道菌群应有的重视，此试验也带动了有益微生物制剂产品的研究；其后，有益微生物制剂在人类医学、畜牧业、农业等方面的应用研究取得较快发展。

我国有益微生物制剂在水产养殖业中的应用研究始于20世纪80年代初期，最早应用于水产养殖业的有益微生物制剂是“光合细菌”，主要用于调节养殖水质；同时，也在光合细菌的培养扩增技术、干法和湿法保存技术及应用效果方面做了大量的研究工作。其后，水产养殖用有益微生物

制剂的研究和开发领域与内容也更加广泛。到目前为止,已有乳酸杆菌属、双歧杆菌属、弧菌属、假单孢菌属、芽孢杆菌属的众多种类及硝化细菌、光合细菌等应用于水产养殖业。这些有益微生物制剂主要包括医用有益微生物制剂、动物用有益微生物制剂、生物农药、生物肥料与环境净化剂。用途包括预防疾病、净化水质及作为饲料添加剂等。我国农业部于1999年公布了12种可以直接饲喂动物的微生物菌种。

三、有益微生物制剂与水产动物健康养殖

“健康养殖”,是指以保护养殖动物健康、保护水产品消费者健康、生产出安全营养的水产品为目的,最终以无公害养殖生产为目标。

无公害水产品,是指产地环境、生产过程和产品质量符合国家有关标准和规范要求,经认证合格并获得认证证书,并允许使用无公害农产品标志的未经过加工或初加工的水产品。

所谓动物有益微生物制剂,是指利用动物体内正常微生物或生长促进物质,经特殊加工工艺而制成的活菌剂。它具有补充、调整或维持特定动物肠道内微生态平衡,达到防治疾病、促进养殖动物健康生长和增重的目的;而就水产养殖业而言,还应包括调节养殖环境,消除或降低养殖环境中的有毒有害物质含量,确保养殖环境优良。

随着人们对动物源性食品质量要求的不断提高,消费者对使用抗生素药物及化学物质生产出的产品质量表现出极大忧虑,因此,高效、无毒、无毒副作用和环保型的酶制剂及有益微生物制剂已经开始在养殖生产上大面积应用,并随着生物技术的发展而不断发展,有益微生物制剂和酶制剂便成为新型绿色饲料添加剂及水质底质改良剂中优选产品,其应用前景会更加广泛。

四、水产养殖业中应用的主要有益微生物制剂种类及用途

1989年,美国FDA、美国饲料协会公布了乳酸杆菌、粪链球菌、双歧杆菌、酵母菌、蜡样芽孢杆菌等42种菌可直接用于饲喂动物。其中包括:嗜乳酸杆菌、短乳杆菌、保加利亚乳杆菌、干酪杆菌、纤维二糖乳杆菌、弯曲乳杆菌、德氏乳杆菌、发酵乳杆菌、乳酸乳杆菌、植物乳杆菌、罗特

氏乳杆菌、乳脂链球菌、米曲霉、双歧杆菌、二丁酮链球菌、屎链球菌、中间型链球菌、乳链球菌、嗜热链球菌、凝结芽孢杆菌、缓慢芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、嗜淀粉似杆菌、瘤胃生拟杆菌、猪拟杆菌、地衣芽孢杆菌、酿酒酵母、青春双歧杆菌、动物双歧杆菌、幼儿双歧杆菌、长双歧杆菌、嗜热双歧杆菌、肠膜明串珠菌、乳酸片球菌、啤酒片球菌、戊糖片球菌、多毛拟杆菌、费氏内酸杆菌、谢氏丙酸杆菌、黑曲霉、短小芽孢杆菌、噬菌蛭弧菌。

目前，我国农业部批准的微生物生态制剂有嗜酸乳杆菌微生物生态制剂、蜡样芽孢杆菌微生物生态制剂、枯草杆菌（只限于不产生耐抗生素的菌株）微生物生态制剂、粪链球菌微生物生态制剂、噬菌蛭弧菌微生物生态制剂、嗜酸乳杆菌+粪链球菌+枯草杆菌混合微生物生态制剂、脆弱拟杆菌+蜡样芽孢杆菌混合微生物生态制剂、酵母菌微生物生态制剂等8个品种。凡农业部批准的微生物生态制剂品种，这些微生物生态制剂均已制定了制造和检验规程，并建立了国家标准，而且均已编入我国兽药品种编号目录。除此以外的所有所谓微生物生态制剂均没有获得国家批准。兽用生物制品包括微生物生态制剂，国家严禁任何单位和个人生产、经营未经批准的微生物生态制剂，未经批准擅自进行微生物生态制剂田间试验、区域试验的或者田间试验、区域试验的范围，限期不符合规定的或田间试验、区域试验收取费用的均属违法。

（一）单一菌群微生物制剂

1. 光合细菌

到目前为止，在水产养殖业中研究得较多、应用较广泛的有益微生物制剂是光合细菌（BBS）。光合细菌是地球上最早出现的具有原始光合体系的原核生物，是在厌氧条件下进行不放氧光合作用的细菌的总称。根据《伯杰细菌鉴定手册》（第九版）可分为6个类群，即着色菌科、外硫红螺菌科、红色非硫细菌、绿硫细菌、多细胞绿丝菌和盐杆菌。目前在水产养殖业中应用的是科研人员利用生物工程技术，从土壤中分离出来、经过人工选育和繁殖扩增制成的液体或固体微生物制剂。