

添加有益菌對蝦池水質及草蝦養成之影響

陳敏隆 郭世榮 吳豐成 丁雲源

摘要

本試驗係以 6 個 0.3 公頃的田間養殖池進行添加有益菌對草蝦養殖影響試驗。A 組定期添加光合菌與硝化菌，B 組定期添加酵母菌與乳酸菌，C 組不添加任何菌種作為對照。12 週養殖結果以 A 組成長最快，收成量與活存率也最好，每池平均收成量為 572 公斤、活存率為 73%。而 B 組最差，每池平均收成量僅 239 公斤、活存率為 58%。在水質方面添加有益菌有助於 pH 值之穩定及降低含氮廢物加速淨化作用之效果，試驗期間水溫分佈在 27.0-33.0°C 之間，透明度在 26-101 cm 之間，pH 在 7.94-9.56 之間，溶氧在 4.72-8.44 mg/l 之間，銨氮在 0.05-3.81 mg/l 之間，亞硝酸氮在 0.004-1.185 mg/l 之間，鹽度在 20.5-40.5 ppt 之間。結果顯示增加養蝦池的光合菌及硝化菌使其維持在 10^3 CFU/ml 以上，對增進草蝦成長，提高活存率可能有所助益。但 B 組池所用的酵母菌與乳酸菌菌種，因在養殖池無法存活，而且在養殖中期出現白點病變，造成池蝦死亡，以致池蝦成長率與活存率均低於對照組。

關鍵辭：有益菌、草蝦養殖、水質、成長

前言

近幾年來，造成本省養殖草蝦大量死亡的原因，除了白點病毒感染外，也有報告指出，在病毒流行期間，環境及水質等因子的急劇變化或不良造成蝦子免疫力下降，而病原性弧菌侵入蝦體，引發細菌性二次感染，進而造成敗血症(陳等, 1998)，所以在大量死亡的草蝦養殖檢體中經常可以發現白點病毒與弧菌的混合感染。陳(1996)將病毒溶液經餵食及皮下感染，引發白斑的發生，且有比控制組較高的死亡率，不過卻仍有約 20-30% 的蝦子在感染且出現白斑後，仍能存活良好，並可持續正常生長，甚至有

些檢體在脫殼後白斑會消失；但若將病原性弧菌感染於患有白斑症之蝦體時，其死亡率則達到百分之百，此表示細菌感染是不可忽略之養殖蝦大量死亡之因素之一。然而在天然水域或一些養殖草蝦，雖感染白點病毒仍可成長至上市甚至成為母蝦，因此，如能抑制蝦池中弧菌的孳生，應可避免病原性弧菌的二次感染，進而降低大量死亡的發生。

本試驗係利用生物防治的方法，於蝦池施放有機肥以增加營養鹽，經長時間做水，祈使水質與生態趨於穩定，製造環境以利池中有益微生物之

繁生，並於放養前與養殖期間添加另行培育之有益菌(光合菌、硝化菌、酵母菌及乳酸菌)，以達到提高養殖池中之有益菌，期能藉生物種間生存競爭及相互拮抗作用，來抑制蝦池中病原性弧菌的孳生，而達到病害防治效果。

材料與方法

利用本中心 6 個 3 分地的田間養殖池，分成 A、B、C 3 組進行草蝦養殖試驗。A 組包括 E1 池及 E2 池，放養前各添加魚粉 500 Kg、米糠 500 Kg 作為基肥，並於放養蝦苗前一週開始，固定每週添加光合菌 100 ppm、硝化菌 10 ppm。B 組包括 E3 池及 E4 池，於放養蝦苗放養後第 0、1、2、3、4、6、8、12 週，固定添加酵母菌與乳酸菌混合液 100 ppm。C 組包括 E5 池及 E6 池，作為對照組。以上 6 池各放養草蝦紅筋苗 6 萬尾，採雙重複試驗。

試驗所使用之光合菌群係取養殖池水以 PNSB (from Bergey' manual of systematic bacteriology) 培養基做富集培養，培養液顏色為紫紅色，以 PNSB 平板培養基計數生菌數達 10^8 CFU/ml 作為添加菌液。硝化菌群(包含亞硝酸菌與硝酸菌)係取養殖池水以 select

ammonia oxidation bacteria medium 與 select nitrite oxidation bacteria medium 分別做富集培養，以平板培養基檢測生菌數量達 10^5 CFU/ml 作為添加菌液。乳酸菌與酵母菌係使用生物科技公司所提供的微生物產品，以平板培養基測定原菌液生菌數達 10^8 CFU/ml。

試驗期間為了解水質狀況，每日測定水溫、溶氧、pH 值、透明度(以 20 cm 透明度板測定)、鹽度、銨氮(Nessler 法)及亞硝酸氮(Griess-Romijn 法)。

為了解試驗池中微生物增殖情形，每隔 1-2 週以標準平板培養基稀釋法測定養殖池水中各微生物群的生菌數量，總生菌數測定(以 3.0%NaCl 之 TSA 平板培養基分析)，光合細菌測定(以 3.0%NaCl 之 PNSB 平板培養基分析測定)，硝化菌群測定(以 select ammonia oxidation bacteria medium & select nitrite oxidation bacteria medium 平板培養基測定)，乳酸菌測定(以 3.0 % NaCl MRS agar 平板培養基分析)，酵母菌測定(以 3.0% NaCl SDA 平板培養基分析)，蝦類病原性弧菌測定(以 3.0% NaCl TCBS 平板培養基分析)。

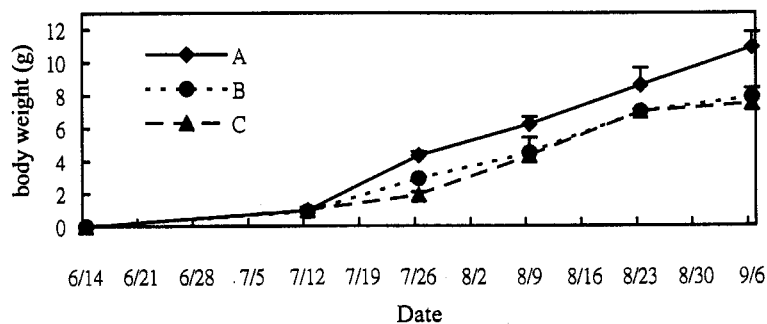


Fig. 1. The mean body weight of *Penaeus monodon* during the culture period.

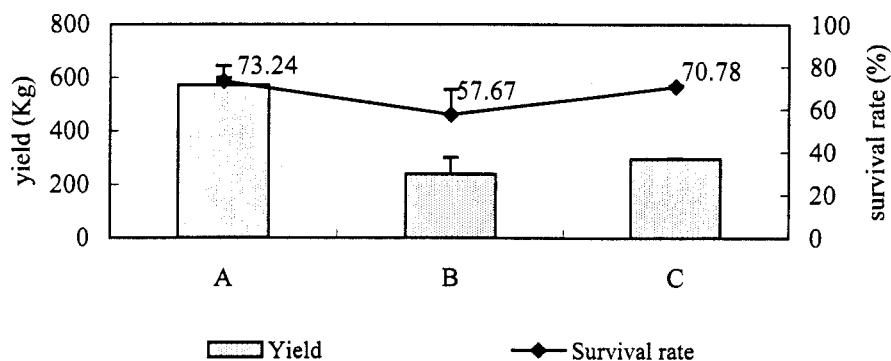


Fig. 2. Shrimp yield and survival rate at harvest.

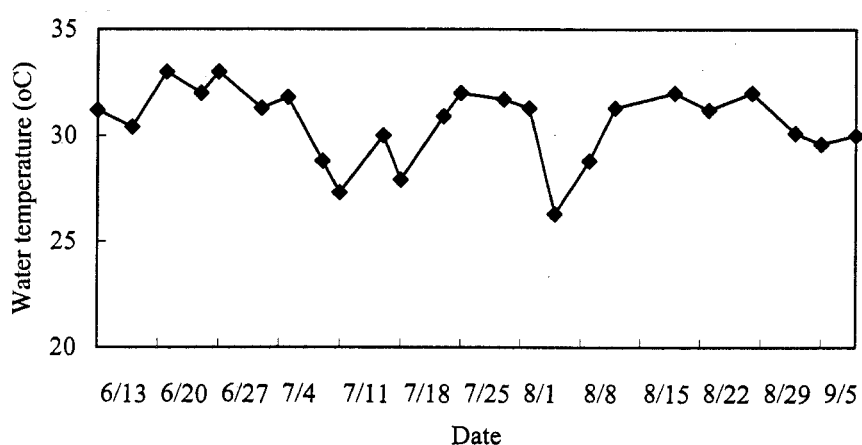


Fig. 3. The variation of water temperature in the pond E1.

結果

養殖試驗 12 週結果分析池蝦成長速率(Fig. 1)，以 A 組添加光合菌與硝化菌試驗組池蝦平均體重為 10.895 ± 0.935 g 成長最快，其次為 B 組添加酵母菌與乳酸菌試驗組平均體重為 7.880 ± 0.08 g，C 組無添加有益微生物之對照組平均體重為 7.505 ± 0.925 g 成長較差。另在收成量和活存率方面(Fig. 2)，A 組平均收成量為 572 Kg、活存率為 73%，B 組每池平均收成量為 239 Kg、活存率為 58%，C 組每池平均收成量為 296 Kg、活存率為 71%，其中仍以 A 組表現最佳，在蝦體總收成量高出其他各組約 1 倍左右，而試驗 B

組因其添加之酵母菌與乳酸菌在養殖池中無法存活導致效果不佳，比較其存活率與收成量均為最差。

養殖試驗期間測定水質之結果如下：在水溫變化方面(Fig. 3)，整個試驗期間水溫範圍 $26.3 \sim 33^{\circ}\text{C}$ ，由於屬於夏季，除了雨水水溫降到 30°C 以下外，通常水溫均在 30°C 以上。鹽度變化範圍在 $20.5 \sim 40.5$ ppt 之間(Fig. 4)，初期較高隨養殖期間受天候降雨影響而有降低之趨勢，各組間之差距均維持在 5 ppt 之內。在透明度的變化(Fig. 5)，A 組變化範圍 $27 \sim 101$ cm，因有施肥培育有利於有益微生物之生態環境之影響，在養殖試驗初期透明度較

低，至中期因肥育之關係有利於浮游性動物孳生，消耗大部分微細藻類使水色透明度增加，到後期又因浮游動物為池蝦攝食利用，透明度逐漸降低。B 組變化範圍 28~68 cm、C 組變化範圍 27.5~84 cm，兩組同為試驗放養初期透明度較高，但隨養殖時期增加而透明度亦隨逐漸降低之趨勢。在 pH 之分析結果(Fig. 6)，A 組變化範圍 8.065~9.25、B 組變化範圍 8.37~9.135、C 組變化範圍 7.94~9.565，以對照組 C 變化差距較大，顯示有益微生物之添加有助於 pH 之穩定效果。試驗期間溶氧變化(Fig. 7)，A 組溶氧分佈在 4.395-7.85 ppm 之間、B 組溶氧分佈在 5.5-7.96 ppm 之間、C 組溶氧分佈在 5.91-8.435 ppm 之間，在養殖試驗前半段顯示 A 組溶氧量有較其他各組偏低之情況，推斷原因可能微浮游動物生物量較高，消耗部分溶氧所致，於各組再加裝水車供氧設備，因此於養殖試驗後半段各組間溶氧量的差異性便獲得改善，均可維持在 6 ppm 以上。試驗養殖期間銨氮之變化(Fig. 8)，最高量 3.81 ppm 出現於 A 組試驗初期，由於 A 組使用大量肥料導致銨氮含量偏高，但配合光合菌與硝化菌的使用添加，產生微生物代謝淨化效果，迅速降低銨氮含量，未到一個月時間銨氮含量即與其他各組相近，顯示光合菌與硝化菌可有效去除水中銨氮含量，淨化水質。另亞硝酸氮之變化(Fig. 9)，相同銨氮含量之情形，最高值 1.185 ppm 仍出現於 A 組，但高峰期則較銨氮為稍遲慢，此結果應與含氮物先轉化為銨鹽再轉化為亞硝酸鹽之代謝途徑有關，但相同之情形經光合菌與硝化菌的使

用添加，短時間內亞硝酸含量即與其他各組相近，至試驗結束並無顯著差異存在。

在試驗期間有益菌添加之結果，總生菌數之變化(Fig.10)各組間變化型態均不相同，其中 A 組變化範圍 $1.1 \times 10^5 \sim 3.3 \times 10^3$ CFU/ml，以放養前之總生菌數最高，而後逐漸降低，B 組變化範圍 $3.3 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^3$ CFU/ml，試驗初期總生菌數有降低之趨勢，然而中後期則逐漸升高，一直維持較高之總生菌數量，而對照 C 組則維持最低之總生菌數，變化範圍 $1.2 \times 10^4 \sim 8.0 \times 10^2$ CFU/ml。試驗菌種光合菌在蝦池環境中之生菌數量變化(Fig.11)，以有添加菌種試驗 A 組最高，生菌數範圍再 $3.8 \times 10^4 \sim 2.4 \times 10^3$ CFU/ml 之間，顯著高於其他各組，其餘各組光合菌生菌數量普遍只維持在 10^2 CFU/ml 左右。而試驗菌種硝化菌在蝦池添加後之變化(Fig.12)與光合菌變化類似，以有添加菌種 A 組硝化菌生菌數量顯著高於其他各組，變化範圍 $2.5 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^4$ CFU/ml，而 B 組硝化菌生菌數量維持在 10^4 CFU/ml 左右，C 組硝化菌生菌數量最低維持在 10^3 CFU/ml 左右。以酵母菌及乳酸菌作為有益菌添加於蝦池效果並不理想，於試驗期間測定蝦池酵母菌生菌數量結果(Fig. 13)，B 組有定期添加期酵母菌生菌數與無添加任何有益菌之對照 C 組相近，維持數量在 $10^1 \sim 10^2$ CFU/ml，反而於 A 組初期因有施肥培育有益菌生長環境而自然產生較高數量之酵母菌，足可見添加酵母菌在蝦池適應生長情形不良，另乳酸菌不論有無添加在各組間均無法檢測出生菌數量。病原性弧菌於試驗期間測定各組生菌數均未

超過 10^3 CFU/ml 以上，最高值出現於放養前 B 組 6.2×10^2 CFU/ml，而 A 組以颱風大雨後之測定點較高 2.5×10^2 CFU/ml，但一週後再測定即降低至 10 CFU/ml。

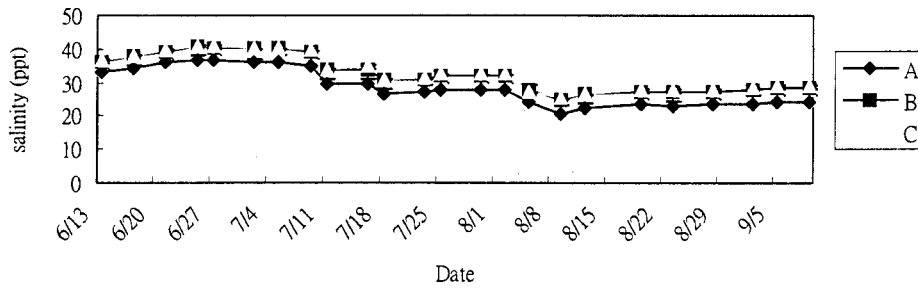


Fig. 4. The variation of salinity during the culture period.

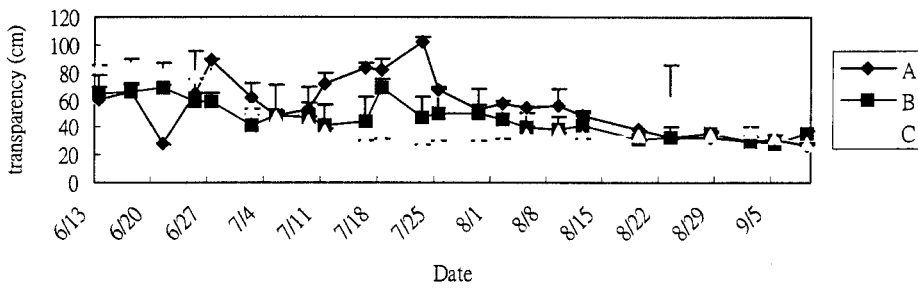


Fig. 5. The variation of transparency during the culture period

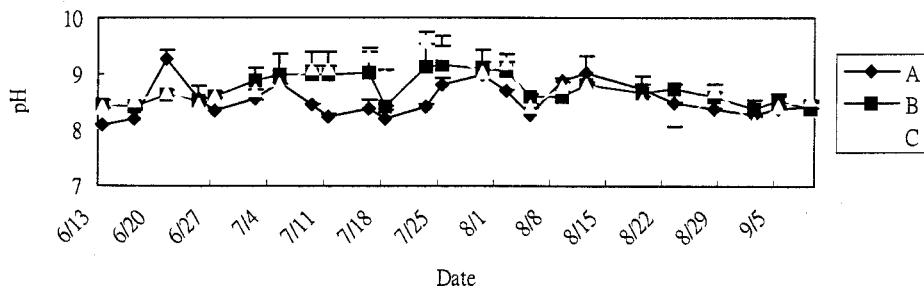


Fig. 6. The variation of pH during the culture period.

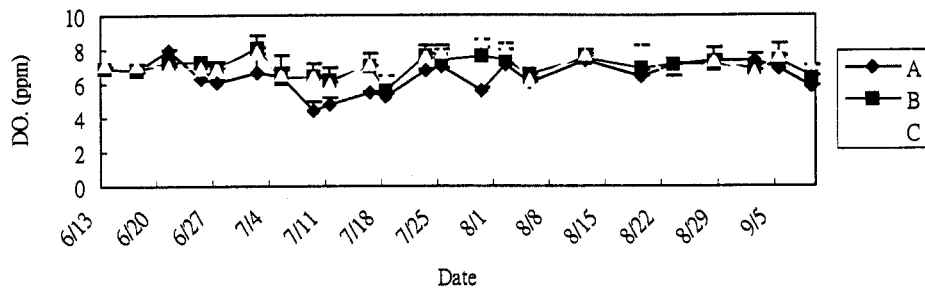


Fig. 7. The variation of DO during the culture period.

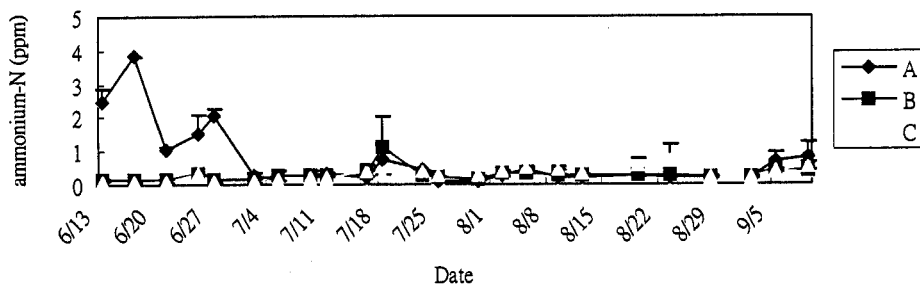


Fig. 8. The variation of ammonium-N during the culture period.

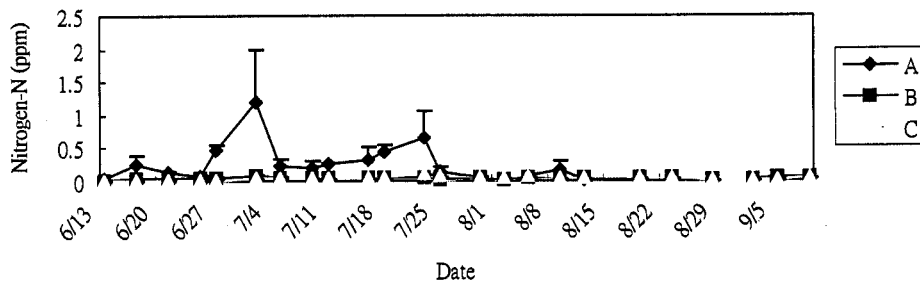


Fig. 9. The variation of nitrite-N during the culture period.

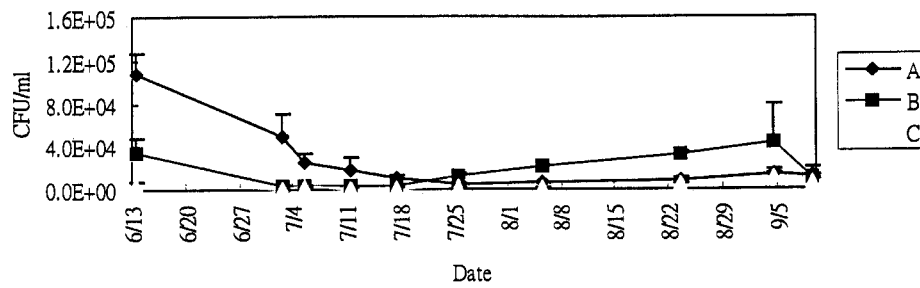


Fig.10. The amount of total counts in the shrimp ponds.

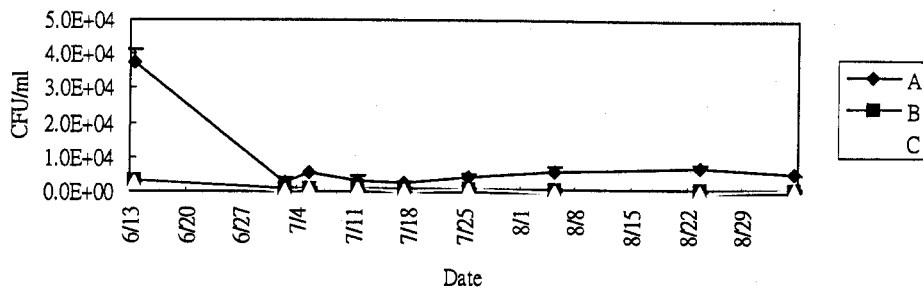


Fig.11. The amount of photosynthetic bacteria in the shrimp ponds

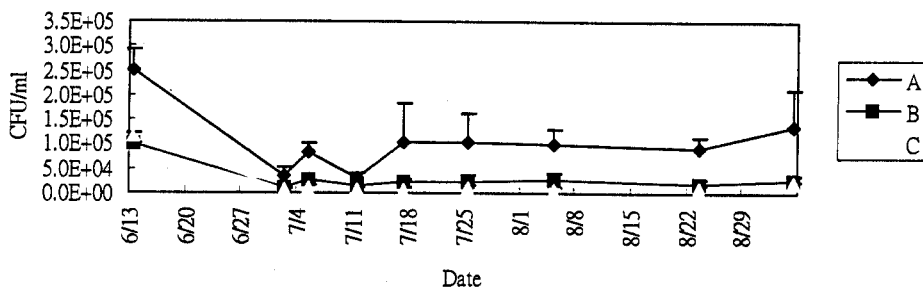


Fig.12. The amount of nitrifying bacteria in the shrimp ponds

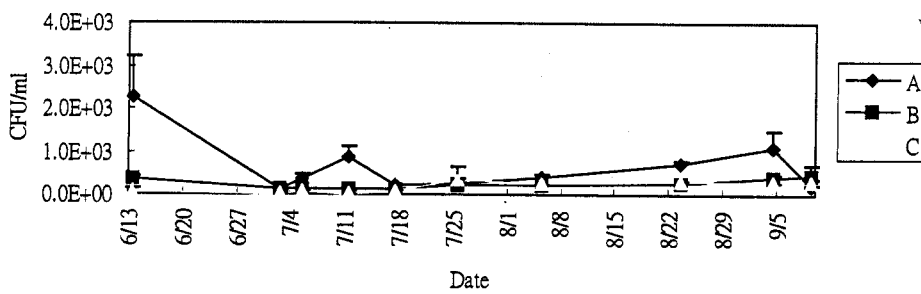


Fig.13. The amounts of yeasts in the shrimp ponds.

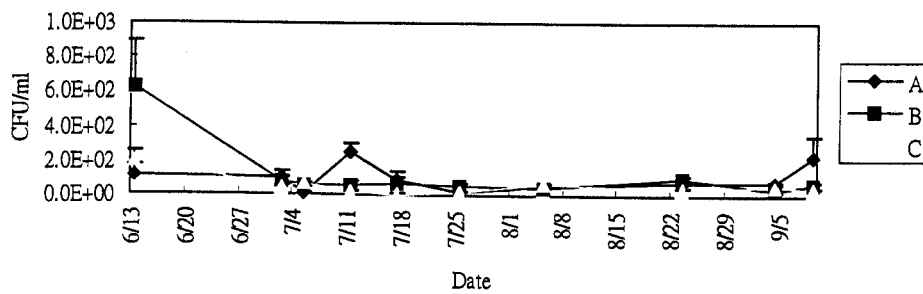


Fig. 14. The amounts of pathogenic *Vibrio* in the shrimp ponds.

討論

本試驗以光合菌、硝化菌，以及酵母菌、乳酸菌等有益菌定期添加於養殖池中，預期能改善草蝦養殖之水質環境與蝦體防禦能力進而提高成長與育成率，其結果以添加光合菌、硝化菌之試驗組表現最佳，陳等(2002)利用 *Photosynthetic bacteria* 及 *Bacillus spp.* 之生物製劑，每天添加 10~20 ppm 於草蝦及白蝦苗繁殖池中，可有效降低病原性細菌的滋生，並可以提升存活率為 80~85%，相對地未使用生物製劑者存活率為 0%，相同地本試驗以養殖池水培育之光合菌、硝化菌做為生物製劑施放至蝦池中適應性佳，在草蝦養殖過程中顯示出其成長率與收成量均表現良好，而添加酵母菌、乳酸菌之試驗組結果不如預期，反而較對照組為差，推測其因為酵母菌、乳酸菌在蝦池中適應不良無法存活，致使 B 組在養殖中期便出現白點病變，發生池蝦死亡，造成池蝦成長率與存活率均低於對照組，無法表現其效果。據了解試驗用之酵母菌及乳酸菌是由動物胃分離培養而得來，其繁生之 pH 值較低無法適應草蝦養殖環境較高之 pH 值。試驗期間生菌數量測定結果：總生菌數 A>B>C、光合細菌 A>B=C、硝化細菌 A>B>C、酵母菌 A>B=C，由於 A 組施肥製造有利於微生物生長之環境，造成各生菌數量高於其他各組是可預期之必然結果。又 B 組及 C 組均未添加硝化細菌，但 B 組檢測數量卻產生較 C 組為高，推測可能因 B 組添加酵母菌及乳酸菌液 100 ppm，因菌種無法適應存活反而增加池中氮源污染物質，促進硝化細菌之增生所致。

光合細菌可把廢水中的有機物轉化為新的微生物細胞及簡單的無機物，能降低化學需氧量 COD、生物耗氧量 BOD，減少水體污染改善水質，吉及李(1997)應用光合細菌處理有機廢水，發現 BOD 與 COD 的降低去除率可達 90~98%，相對提高水中溶氧。本試驗為製造有利於光合菌與硝化菌之生態環境，於養殖前做水期大量施用肥料，致使在本試驗養殖期間，3 組溶氧變化在 4.72-8.44 mg/l 之間，其中以 A 組略低，據丁(1970)報告，草蝦的致死溶氧量最低可耐至 0.3499 cc/l，而在 1.2 cc/l 時，草蝦就不會因氧氣不夠而死亡，顯示溶氧變化均在合理的範圍內，溶氧是蝦池水質中一個很重要的項目，因為平常測定時間均在上午 9 點左右，無法測得一天中溶氧的最低點，所以在 8 月 18 日及 25 日，另測上午 5:30-6:00 時的溶氧，測得 A 組溶氧分佈在 3.08-3.75 mg/l 之間，B 組在 2.65-3.41 mg/l 之間，C 組在 3.04-4.89 mg/l 之間，所以 A 組之水中溶氧在此試驗中並未較其他各組為差，表示施用肥料後使用光合細菌對水中溶氧之維持穩定有相當效果。

氨是草蝦的排泄物和殘餌等被分解所產生的，主要以氨的水合物、離子態的銨和分子態的氨等三種形式存在，其中以分子態的氨具有較高的毒性。據 Chin and Chen (1987)以草蝦幼苗實驗結果，推薦 0.1mg/l NH₃-N 為氨對草蝦幼苗的安全濃度。本試驗除了 A 組在養殖前期銨氮較高以外，其餘測得的銨氮大致均在 1 mg/l NH₄⁺-N 以下，換算成 NH₃-N，均未超過 0.1 mg/l NH₃-N 的安全濃度標準。至於養殖前期最高的 3.81 mg/l NH₄⁺-N，換算為

0.44 mg/l NH₃-N, 由於有益菌光合菌與硝化菌的使用於短期間內便使氨氮濃度降至安全範圍內, 但造成本試驗使用光合菌與硝化菌試驗組存活率 73.24% 與對照組存活率 70.78% 差異不大, 可能為光合菌與硝化菌試驗組大量施肥後蝦苗放養時較高濃度之氨氮量所導致之影響結果, 而光合細菌的使用可迅速有效的降低水中氨氮的含量(劉等, 1997), 因此若能加長蝦苗放養前之做水祈使水質環境更穩定後再行放養, 應可提升草蝦存活效果。

pH 值是養殖池水質一個很好的指標。在本試驗中, B 組及 C 組的 pH, 大致上隨著養殖期間的推移而逐漸升高, 至試驗中期達到最高點, 然後再逐漸降低。前半段 pH 逐漸升高, 可能是因池中藻類逐漸增多、光合作用增強之故; 後半段 pH 逐漸降低, 則可能是池中有機物逐漸累積的緣故。A 組則看不出有上述的變動性, 可證實有益菌光合菌與硝化菌可達到穩定池水 pH 值之功效。

光合細菌等有益菌可穩定水質、降低病原滋生、增加營養物質增強蝦體抗病力, 可有效防治草蝦病害(專, 1997; 王等, 1999)。由本試驗得知在蝦苗放養前先經池塘施肥, 給于光合菌及硝化菌良好的生長環境, 再加上定期添加光合菌與硝化菌培養菌液, 使光合菌與硝化菌能夠在蝦池中生長良好, 進而達到促進草蝦成長、提高存活率及草蝦產量的目的。

謝辭

本試驗承蒙本中心林研究員明男博士提供許多寶貴的經驗及理念, 及本中心同仁張丁仁、杜家州、柯進輝

先生協助養殖現場工作, 得以順利完成, 在此謹致最大謝忱。

參考文獻

- 丁明儒 (1987) 水質分析與管理。在: 養蝦總覽。養魚世界雜誌出版社, 台北, pp.124-128。
- 丁雲源 (1970) 草蝦、沙蝦氧消耗量之研究。台灣省水產試驗所試驗報告, 16: 111-118。
- 王祥紅、李軍、紀傳尚、徐懷恕、楊學宋 (1999) 有益微生物在水產養殖中的應用。歐盟歐洲委員會資助項目研究論文集, 海洋出版社, 北京, pp.121-126。
- 吉海平、李君 (1997) 光合細菌應用動態。生物工程進展, 17(4): 46-50。
- 專受慶 (1997) 光合細菌對防治斑節對蝦病害的作用。海洋通報, 16(3): 91-96。
- 郭世榮、丁雲源 (1991) 台灣西南部草蝦池水質之研究。農委會漁業特刊, 28: 135-172。
- 陳弘成 (1989) 蝦池水色與作水的方法。國立台灣大學動物所與漁試所, 台北, 38 pp。
- 陳弘成 (1995) 水質管理。農委會漁業特刊, 51: 1-5。
- 陳秀男 (1994) 蝦病之管理對策。農委會漁業特刊, 49: 1-151。
- 陳秀男 (1996) 蝦病之管理對策(二)。養魚世界, 226: 46-51。
- 陳秀男、冉繁華、黎錦超、呂仲倫、洪明欣、張景盛、劉育霖、廖述育、施亞男、張簡子輝 (2002) 白蝦養殖技術手冊。台灣省漁會漁業推廣叢書第 055 號, pp. 25-33。
- 陳敏隆、吳豐成、丁雲源 (1998) 白點病毒症草蝦之細菌學研究。台灣省水產試驗所台南分所研究報告, 2: 9-17。
- 黃本 (1979) 草蝦池之生態研究。中國文化學院海洋研究所碩士論文。台北, 41 pp。
- 劉文準、倪純治、葉德贊、周宗澄、林燕順、陳慶輝、姚瑞梅、曾活水、顧靜瑜 (1997) 光細菌淨化對蝦養殖水質的研究。台灣海峽, 16: 455-457。
- Chen, J. C. and T. S. Chin (1988) Acute

- toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodon*, larvae. Aquaculture, 69: 253-262.
- Chin, T. S. and J. C. Chen (1987) Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*, Aquaculture, 66: 247-253.
- Wickins, J. F. and T. W. Beard (1978) Prawn culture research. MAFF. Lab. Leaf., 42:13-14.

Effects of probiotics on the water quality and the production of cultured
Penaeus monodon

Min-Lung Chen, Shih-Rong Kuo, Feng-Cheng Wu and Yun-Yuan Ting

Abstract

Six 0.3 ha earthen ponds were divided into three groups. We regularly added photosynthetic bacteria and nitrifying bacteria to group A, and regularly added yeast and lactic acid bacteria to group B, but added nothing to group C which was served as control. Throughout 12 weeks culture period, group A got the best growth rate, the best yield of 572 kg/pond and the best survival rate of 73% at harvest. However, group B got the worst yield of 239 kg/pond and the worst survival rate of 58%. Water quality of the shrimp ponds have following features during experimental period : 27.0-33.0°C water temperature, 26-101 cm transparency level, 7.94-9.56 pH level, containing 4.72-8.44 mg/l of dissolved oxygen, 0.05-3.81 mg/l of ammonium-N, 0.004-1.185 mg/l of nitrite-N, and a level of 20.5-40.5 ppt salinity. As to bacterial flora, the results showed we can see that photosynthetic bacteria and nitrifying bacteria can live well in *Penaeus monodon* ponds, but yeast and lactic acid bacteria can't.

Keywords: Probiotics, *Penaeus monodon* culture, water quality, growth.