

用褐色球形固氮菌混合飼料飼养魚类获得 高速增肉量的初步試驗

陳 鏡 声
(广东江門专署水产处)

引 言

固氮菌(*Azotobacter*)作为細菌肥料,供給植物对氮素的需要,在农业上已經久已普遍采用的施肥措施了。近年来,随着农业的大跃进和各方面技术革命的发展,曾有利用褐色球形固氮菌混合飼料养猪而获得高速增肉率的先进事例,如广东高鶴县鶴城紅旗人民公社細菌肥料厂,1958年10月采用土制褐色球形固氮菌混合飼料养猪,取得每头猪每日平均增肉3.3—4.2斤、鸡鴨每月增重1.5斤、鵝每月增重5.1斤的优良成績,受到中共高鶴县委的奖励,并通报全县大力推广使用。

我們从1959年2月1日至4月6日,前后以65天的時間,在广东肇庆市星湖水产試驗場进行試驗。經2个月来的冬春季飼育,結果魚类生长十分健壮,平均相对增肉率达一倍以上,与放养前体的重对比亦达到1:2倍。茲将初步試驗結果介紹于后,仅供各地参考,并希多加指正。

褐色球形固氮菌的特征与性质

褐色球形固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)是土壤中非共生性固氮微生物中之好气性固氮菌属(*Azotobacter*)的一种常見的代表种,褐色球形固氮菌是一种好气性不生孢子的杆菌,全身生有鞭毛。它的一昼夜培养体是 $1.5-2.5 \times 3-7 \mu$ 大小的杆菌,在較长時間的培养下,菌体多呈双球形。菌体的外部被有一层較厚的荚膜,时而形成細胞膜,这种較厚的細胞膜称为孢子。在培养基中,由于它的細胞膜較厚,因此菌落的粘性很强,呈圓形。初培养为灰白色,較久則变为黄色、褐色以至黑褐色,色素不扩散到細胞基質中。

褐色球形固氮菌乃非耐盐性固氮菌,革兰氏染色呈阴性反应。在不含氮素培养基中,它每消耗1克碳水化合物,可以固定10—15毫克氮。在含有无机或有机氮的培养基中也可以生长。对氧的要求非常严格,在适当通气的情況下繁殖很高,氧的过多或过少均会受到抑制。褐色球形固氮菌是中温类型的細菌,生长适宜温度是25—30℃,最适温度为28℃,最低不能低于10℃,最高不能超过40℃。控制适宜温度幅度,則固

氮力增强。它喜接近于中性液体中生长。pH7.0—7.4最适合。因此在一般中性或接近中性的土壤中均能分离出菌种来。

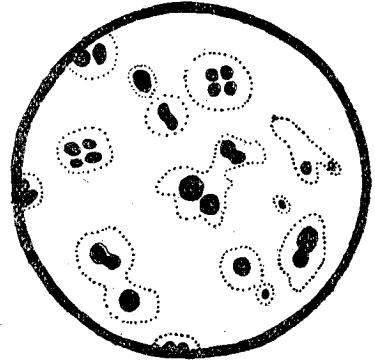


图1 褐色球形固氮菌
(*Azotobacter chroococcum*)

試驗目的与要求

根据畜牧业上这一成就,利用褐色球形固氮菌的发酵混合飼料来飼养魚类,从而达到使魚快速增肉的目的,并提出以下几个要求:

1. 增进魚体快速生长,达到有效的增肉率。
2. 在冬季(广东这时天气較冷)水温較低,魚类摄食較少的情況下,以褐色球形固氮菌发酵飼料养魚,可帮助其对飼料的消化,并促进其食欲,从而加速非生长季节的快速生长。因为固氮菌喜与纖維素分解細菌(*Sporocystophaga*)共生,两者相互帮助,一方面加强固氮强度,另一方面也使纖維素分解細菌,加强对发酵飼料来分解纖維的分解力,从而帮助魚体对飼料的消化。
3. 在冬末春初,浮游生物还未大量繁殖的时候,使用褐色球形固氮菌发酵粪类,作为魚池的底质基肥,可以补充植物对氮素的不断需要和抑制一部分耗氮菌对氮的消耗。
4. 魚塘中之浮游植物,如綠藻类和其他的藍綠藻类的外壁細胞鞘中,含有大量的固氮菌,对浮游植物的生长繁殖,起着很大的作用。因此,在池塘中施用褐色球形固氮菌飼料,可以使两者更好地結合。一方面增

补氮素,另一方面使浮游生物能加速繁殖,以增长天然饵料供鱼类需要。

土法进行菌剂培制的操作程序

1. 菌种分离 菌种可以直接在中性土壤中或高产田泥土中直接分离;分离纯种亦可利用农业上已分离出的纯种,进行接种培养。

2. 菌种培养

(1) 培养基:一般常用的固氮菌培养基,多采用阿希貝氏(Ashby)无氮培养基作实验室内菌种分离或接种培养。

a. 阿希貝固体培养基:

甘露蜜糖(或葡萄糖、白糖)	10 克
KH_2PO_4	0.2 克
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 克
NaCl	0.2 克
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0.1 克
(或 $CaCO_3$)	5.0 克
50% 硼钼元素剂(硼酸 5 克,钼酸铵 5 克溶于 100 毫升水)	3 滴
蒸馏水	1000 毫升
琼脂	15—18 克

b. 阿希貝液体培养基:培养基药品成份与固体一样,但不加琼脂,以 30—50 毫升置于 100 毫升容积的三角锥形瓶中,经灭菌、接种,在 28℃ 温箱中培养一星期,液面就有灰白色菌膜出现。

(2) 操作程序:将以上药品混合后,分别倒入试管,成斜面,或倒入培养皿中,进行高压灭菌。无设备时,可放入蒸笼内作 2 至 3 次间歇杀菌。灭菌后,冷却至 25—28℃ 时,即可用白金丝接种菌种。无白金丝棒时,可用坏电灯泡内之钨丝支柱烧红代替。接种后,在 28℃ 温度下培养 4—5 日,即有菌落产生。

(3) 菌剂培制:大规模培制前的种剂培制:

a. 培养基:其成份相同,但数量增多:

葡萄糖或白糖、红糖 150—200 克

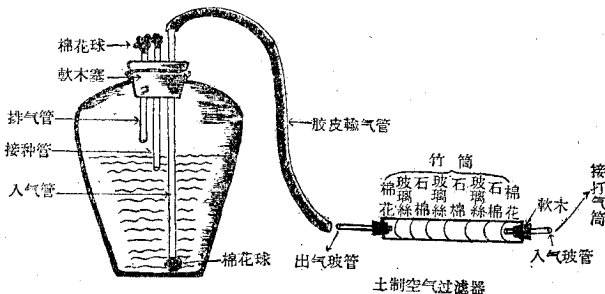


图 2 菌 剂 培 制 罐

$KH_2PO_4 \cdot 7H_2O$	5 克
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2 克
$CaCO_3$	25 克
$CaSO_3$	25 克
NaCl	5 克
干酵母粉	16% 克
5% 硼钼元素剂	10 毫升
蒸馏水	10,000 毫升

b. 操作程序:将以上药品混合后,用盐酸或氢氧化钠将 pH 调至 7.0—7.4,然后倒入培制瓦罉中(见图 2),用蒸笼或隔水蒸煮 8 小时进行灭菌,冷却至 25—28℃ 时,将已培养好的 10 只菌种试管倒入罉中。用打气筒注气入罉,一般连续注气三昼夜,生长较好。在保证无杂菌掺入的情况下,亦可以搅拌进行注气,但效果不佳。

(4) 生产培制:以上(3)所培制出的菌剂作大规模生产培制的母剂,不作为大量生产用。假若试管液体培养基可以供大规模生产培制的种剂使用时,可以省去菌剂培养过程,直接进行生产培养。一次菌剂培养后,可供多次生产培制的母剂用。

a. 培养基:

白糖	360 克
KH_2PO_4	10 克
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	4 克
$CaCO_3$	50 克
NaCl	2—5 克
4% 干酵母粉溶液	800 毫升
5% 硼钼元素剂	20 毫升
蒸馏水或自来水、井水	20,000 毫升

b. 操作程序:将上述药品混合后,倒入培养罉中(与制作菌剂用者相同,其装置见图 2),然后加上软木塞盖住。在软木盖上装不同长度之三条玻管,作出、入气和接种用。然后放入大蒸笼或水锅内,蒸气杀菌消毒 4 至 8 小时。待罉内温度降低至 25—28℃ 时,用注射器吸入菌剂 20—30 毫升,由接种玻管注入罉内,然后立即进行注气。空气的注入,必须滤过,经过土制竹管空气过滤器,以除去杂菌。这样需注气 3 日,就可培制出生产用的菌剂了。

(5) 注意事项:

a. 作菌种用之固氮菌,必须经过显微镜的检查与鉴定,以防杂菌掺入。镜检时一般放大 1000 倍可以看得很清楚。

b. 操作手续必须尽可能的、严格的做到无菌操作。培养液酸碱度必须保持中性。

c. 用水最好用蒸馏水,条件不许可时可用自来水或井水。不可用池塘水。

d. 菌剂质量要求每毫升含固氮菌 5000 万至

10,000 万个为标准,菌剂中菌数可用显微镜计数。

e. 固氮剂中常杂有毛霉菌、腐败菌和酵母菌等,由于杂菌的混入,抑制和影响固氮菌的繁殖与固氮作用。除酵母菌外,其他杂菌不能超过其含量的 10%,超过此数,必须废弃,从新增制。

f. 若缺少磷酸二氢钾时,可用过磷酸钙和硫酸钾各 16 克溶于水,过滤,用滤液代之,效果亦相当好;碳酸钙可用白石粉代替。

試驗材料与方法

褐色球形固氮菌菌剂是一种液体,与饲料混合后即可喂饲。我們这次試驗还以金霉素混合饲料喂鱼作为对照。

用二口 0.4 亩水深 2 市尺的試驗鱼池作为試驗池,水质肥效适中,浮游生物含量少,水色淡,水温较低,由于天气关系,最高不超过 16°C,最低为 8°C,幅差为 ±3—6°C。于 1959 年 2 月 1 日落种,投放大小不同规格的 6 种家鱼,每口塘 620 尾,放养规格为 11 朝五寸,最小体重 0.5 两/尾,最大体重 5.1 两/尾。鱼类放养密度为 1 尾:0.2867 立方米。

从 2 月 1 日开始,每日分别以发酵粪类(猪、牛粪)或少量米糠作基础饲料,以每尾鱼作投放菌剂的单位,混合菌剂投放饲喂。每日喂二次,其用量为每次每尾施以固氮菌剂 2 毫升,含一亿至二亿个固氮菌。对照試驗的粗制金霉素饲料,是以大米饭作发酵培养的。每次喂给粗制金霉素饲料一市两,每日喂二次。金霉素饲料的投放,是加水拌匀成糊状,全塘泼洒;而固氮菌剂则是放在发酵粪类或米糠中,同样拌匀泼洒。这样大小鱼类均有机会吃到。在試驗期間,我們根据天气的变化和一般养鱼的經驗,注意水质的肥瘦,适当施放一些一般发酵粪类和草料,以补充饲料的不足。同时

每半月用竹箔踢起密集鍛鍊一次,以加速其生长。在試驗期間,鱼体体重的计算,是依同一种类不同规格的体重平均计算的。其绝对增肉率是以换算成一个月的绝对增肉率。菌剂增肉量,是以绝对增肉量而计算的。

經過与收获

从 1959 年 2 月 1 日至 4 月 6 日共 65 天的試驗期中,实际使用固氮菌剂是从 3 月 6 日至 4 月 6 日的一个月。同时在 3 月 18 日至 3 月 29 日这 8 天中,因为菌剂生产中斷,所以实际用菌剂喂鱼只有 23 天。而粗制金霉素饲料则定期完整的进行了 65 天。

經過 2 个月的試喂、飼养和对照,在不同的時間里,其增肉情况就显得更加明显(見表 1、2、3)。

根据表 1 的原始记录,我們发现在用褐色球形固氮菌剂飼育幼体鱼种,能高速的增肉。在經過 23 天的連續喂養,6 种家鱼体重分别从 0.85—5.4 市两增长到 1.4—9.0 市两。以放养体重为 100% 计算,經過試驗,其增肉率平均达到 162—382%。从表 1 和表 3 的推算,其中每尾每月绝对增肉量,鲢鱼为 2.26 市两/尾月,为放养体重的 261.2%; 鳊鱼绝对增肉量为 2.80 市两/尾月,为放养体重的 179%; 青鱼绝对增肉量为 2.421 市两/尾月,为放养体重的 382%; 鳙鱼绝对增肉量为 4.36 市两/尾月,为放养体重的 192.4%; 鲤鱼绝对增肉量为 5.8 市两/尾月,为放养体重的 200%; 鲫鱼绝对增肉量为 0.587 市两/尾月,为放养体重的 162.3%。6 种鱼类的平均单位增肉量则为 3.03 市两/尾月,为原放养单位体重的 202%。从表 2 的粗制金霉素饲料对照試驗中可以看到,在經過为多 3 倍的 65 天的連續試驗,其绝对增肉率还不及固氮菌剂仅以 23 天飼喂所获得的效果。从表 3 的推算,施用固氮菌剂的鱼类与同规格、同时放养而施用粗制金霉素飼

表 1 褐色球形固氮菌混合饲料喂鱼試驗

(单位:市两·毫升)

类 别	鱼池号: A.01		試驗日期: 1959.3.6—4.6/23 日		固氮菌剂用量: 40,000 毫升		补助饲料: 米糠 62 斤, 发酵粪类 5200 斤,草料 30 斤	
	試 驗 前				試 驗 后			
	規 格	数 量	每尾平均体重	平均总体重	成活率(%)	每尾平均体重	平均总体重	固氮菌剂用量
青	12—3 寸	30	0.85	25.5	100	2.70	81	1935.3
鳊	3—4 寸	100	1.40	140	100	3.13	313	6451.0
鳊	4—5 寸	20	4.15	83	100	6.30	126	1292.2
鳊	4—5 寸	20	4.60	92	100	7.90	158	1292.2
鲤	3—5 寸	50	5.10	255	100	9.00	450	3225.5
鲫	3—4 寸	400	0.95	380	100	1.40	560	25804
		620			100			

表2 粗制金霉素混合饲料喂鱼对照试验

(单位:市两)

类 别	鱼池号: B.01		试验日期: 1959.2.1—4.3/65 日		金霉素饲料用量: 4560 市两		补助饲料: 米糠 62 斤, 发酵粪类 6500 斤, 草料 50 斤		
	试 验 前				试 验 后				
	规 格	数 量	每尾平均体重	平均总体重	成活率(%)	每尾平均体重	平均总体重	金霉素饲料 用 量	
青	11—12朝	30	1.15	34.5	100	2.70	81	220.65	
鳊	11—12朝	100	0.80	80.0	100	1.72	172	735.48	
鳊	4—5 寸	20	3.90	78.0	100	7.00	140	147.09	
鳊	4—5 寸	20	4.00	80.0	100	7.00	140	147.09	
鳊	3—5 寸	50	2.15	107.5	100	4.60	230	367.74	
鳊	3—4 寸	400	0.50	200	100	1.30	520	2942	
		620			100				

表3 试验效果推算

(单位:市两)

类 别	每月平均总增肉率					每月每尾平均增肉率					每百毫 升菌剂 相当月 增肉量		
	固 氮 菌		金 霉 素		固氮菌与金霉素对比	固 氮 菌		金 霉 素		固氮菌与金霉素对比			
	实增重	增肉率 (%)	实增重	增肉率 (%)		实增重	增肉率 (%)	实增重	增肉率 (%)				
青	72.65	382	21.46	163.06	+ 51.19	+338	2.421	382	0.713	163.06	+1.708	+338	2.88
鳊	226	261.2	42.50	131.5	+183.5	+534	2.260	261.2	0.425	131.50	+1.835	+534	2.68
鳊	56.09	179.2	28.61	138.5	+ 27.48	+168	2.804	179.2	1.460	138.50	+1.344	+168	3.33
鳊	86.09	192.4	27.70	165.6	+ 58.39	+310	4.304	192.4	1.380	165.60	+2.965	+310	3.92
鳊	254	200	58.33	154.3	+195.67	+435	5.80	200	1.166	154.30	+4.63	+435	6.06
鳊	234	162.8	147.7	173.8	+ 87.10	+160	0.587	162.3	0.365	173.80	+0.222	+160	0.708

注:表中数值以下列公式计算:

- 1) 实增重(每月绝对增肉量) = $\frac{\text{试验期间绝对增肉量} \times 30}{\text{试验日期}}$
- 2) 增肉率(%) = $\frac{\text{每月绝对增肉量} + \text{放养时体重}}{\text{放养时体重}} \times 100\%$
- 3) 100毫升菌剂相当月增肉量 = $\frac{\text{每月绝对增肉量} \times 100 \text{毫升}}{\text{每月增肉量所需之菌剂}}$
- 4) 每月增肉量所需之菌剂 = $\frac{\text{试验期间所用之菌剂数} \times \text{每月绝对增肉量}}{\text{试验期间绝对增肉量}}$

料的鱼,每月平均单位增肉量多 2.118 市两,其中鳊鱼多增肉 1.835 市两,为金霉素饲料绝对增肉量的 534%;青鱼多 1.708 市两为 338%;鳊鱼多 1.344 市两为 168%;鳊鱼多 2.965 市两为 310%;鳊鱼多 4.634 市两为 435%;鳊鱼多 0.222 市两为 160%。

根据以上的试验数据,一般鱼种养殖对照池塘的增肉量与粗制金霉素饲料和褐色球形固氮菌剂的增肉量相比,它们的绝对增肉倍数比例大约是 1—1.5:1.5—2.5:2.5—5。

根据试验中增肉的计算,固氮菌剂每百毫升每月可使鳊鱼产肉 2.68 市两,青鱼 2.88 市两,鳊鱼 3.33 市两,鳊鱼 3.92 市两,鳊鱼 6.06 市两,鳊鱼 0.708 市

两,平均每百毫升菌剂可产肉 3.263 市两,而粗制金霉素饲料在与固氮菌剂生产力相等的换算下,每 2 两只相当产肉 0.5372 市两。同时,金霉素饲料不论在成本或生产操作上都比前者高出数倍,并且还需用大量的粮食或代用品。因此固氮菌剂饲料比粗制金霉素饲料较为优异。以上的试验,由于缺乏仪器设备、无力进行完整系统的水化学分析和浮游生物分析的情况下,凭经验观察,发现以固氮菌剂作试验的 A.01 号池水色变化较为稳定,水色的变化没有施用金霉素饲料的 B.01 号池池水变化大。前者在同一时间,水色保持较久,与 B.01 号池对比,则较浓,通常保持在绿—淡褐—褐的色变范围内。从而说明了固氮菌剂对浮游生物的

作用，特別对水中植物所必須的氮素肥效的增长可能比金霉素飼料好。与此同时，一般池水在这种較低水温的情况下，水色的变浓是較困难的，只有施以大量高速效肥才行。

在試驗中魚体健康状况，前者效果的确沒有施用金霉素者好，特別是在鮭魚的鰓病反应和体質健康方面表現得較为明显。

討 論 与 总 結

1. 通过用褐色球形固氮菌剂混合飼料喂养魚类的試驗，可以使当齡魚高速的增肉。經過 23 天飼喂，6 种家魚体重分別从 0.85—5.4 市两而增至 1.4—9.0 市两，平均增肉率为 162—382%。6 种家魚的单位体重，每月的絕對增肉量为 3.03 市两/尾月，为放养单位体重的 202%。

2. 固氮菌剂混合飼料比金霉素混合飼料好，施用固氮菌剂的魚种比同規格、同时放养而施用粗制金霉素混合飼料的魚种，每月平均单位絕對增肉量多 2.118 市两/尾月，单位体重絕對增肉率，平均为粗制金霉素的 324%，与原始对照魚种的增肉倍数大約是 1—1.5: 1.5—2.5: 2.5—5。

3. 固氮菌剂混合飼料养魚而获得增肉率的大小，是随着放养規格的大小成正比的。如鯉魚放养时規格为 5.1 市两，經過 1 个月飼养后为 10.9 市两，絕對增肉是 5.8 市两；而鮭魚放养时为 0.95 市两，收获时为 1.4 市两，絕對增肉量却只有 0.58 市两。

4. 固氮菌剂混合飼料能使鯉魚和鱸、鯪魚获得較大的增肉率。

5. 固氮菌剂混合飼料对池水中的浮游生物有促使其加快繁殖的作用。特別是在冬季水温低的情况下，能加速浮游植物的繁殖；同时能使水色稳定，逐步轉肥。在作为一种飼料的同时，还可以作为一种池塘基肥，以增强池塘底质基肥的氮素含量，从而刺激天然餌料的增长。

6. 固氮菌剂的施用，沒有金霉素飼料那样具有抑制魚病的有效能，但能帮助魚体对粗纖維的消化作用。

7. 在成本和生产操作程序上，比粗制金霉素飼料低而易行。

8. 褐色球形固氮菌剂作为一种細菌飼料，在池塘养魚业中虽然获得了初步良好的成效，但对魚类生理的生物学因素方面，还有待进一步研究。