

養殖環境與產土味放線菌發生之關係

A Survey on the Culturing Environment and the Occurrence of Odor-Producing Actinomycetes in Cultured Fishponds

閻 立 平

東海大學食品科學系

ABSTRACT

A monthly survey (from July to December, 1985) was conducted to investigate the relationship between culturing environment and occurrence of odor-producing actinomycetes (OPA) in fishponds in Tainan and Hsinchu area. Among the nine fishponds investigated, two in Tainan area showed that the OPA number in pond soil increased with increased dissolved oxygen (DO) in pond water. In addition to DO, increased pH and ammonium ion concentration also caused an increase in OPA number in two fishponds of Hsinchu area, respectively. The OPA number decreased after spray of lime powder in one fishpond of Tainan area. Another fishpond of Hsinchu area showed the same tendency after change of pond water. No apparent relationship between culturing environment and OPA number was observed among the rest of fishponds investigated.

Eighty-two OPA colonies were isolated from pond soil. Thirty-three of them may likely belong to Streptomycetes due to their spiral-shaped, chained spores borne on aerial mycelia. Further study was needed to identify those isolates.

前 言

本省養殖魚類如虱目魚、吳郭魚等常因魚體帶有泥土味而影響其品質與銷售量⁽¹⁾。究其原因可能係由於養殖環境之控制不當而造成養殖池中某些能產生泥土異味之放線菌⁽²⁾或藻類⁽³⁾滋長所致

。根據國外許多研究報告指出，養殖環境中的放線菌如 *Streptomyces* 屬等常會因養殖環境中之有機質含量、氮磷比、溶氧量、溫度、酸鹼度等因素而促進其產生泥土異味之代謝物質如 geosmin, methylisoborneol, mucidone, isopropylmethoxypyrazine 等⁽³⁾，這些物質經溶入水中及魚體吸收至某一含量後，即會造成魚體帶有異味⁽¹²⁾。本省養殖魚類之泥土味問題事關廣大養殖戶之經濟收益，因此探討泥土味之發生與養殖池中放線菌及環境因素之關係，從而研擬防除之道，實為目前亟待解決之問題。

本研究之目的即在於：1. 分離及初步鑑定本省養殖池內產土味放線菌之種類；2. 探討養殖池內產土味放線菌之發生與養殖池水質之關係。

材 料 與 方 法

1. 採樣地區

本調查之採樣地區為台南及新竹地區之魚塢（表一），從74年7月至同年12月每個月採樣一次。台南地區共採樣6次，新竹地區採樣5次。樣品為池底或池邊之土壤。

表 一：採樣養殖池基本資料表

Table 1. Gross information on the sampled fishponds.

編 號	地 點	養 殖 戶	養 殖 魚 類	飼 養 方 式
T ₁	高 縣 茄 荳	大 連	虱 目 魚	人 工 飼 料
T ₂	高 縣 茄 荳	加 田	鱸 魚	下 雜 魚
T ₃	高 縣 茄 荳	王 家	虱 目 魚	人 工 飼 料
T ₄	南 縣 仁 德	王 家	吳 郭 魚	人 工 飼 料
T ₅	南 縣 新 化	蔡 家	吳 郭 魚	漁 牧 綜 合 (猪 糞)
S ₁	新 竹	徐 家 (大池)	吳 郭 魚	漁 牧 綜 合 (鴨 糞)
S ₂	新 竹	徐 家 (小池)	吳 郭 魚	漁 牧 綜 合 (鴨 糞)
S ₃	新 竹	謝 家	吳 郭 魚	人 工 飼 料
S ₄	新 竹	李 家	吳 郭 魚	人 工 飼 料

2. 產土味放射菌株之分離與培養

土樣經裝入 40 ml 無菌容器後，帶回實驗室先稀釋成 10^{-2} 倍 (0.5 g±50 ml 無菌水)，振盪 30分鐘 (100 r.p.m.) 後，青置 5分鐘，再取上層液，以 9 ml 無菌水稀釋成 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 三個濃度，每個濃度再取 0.1 ml 以 L 型玻璃棒表面接種 (spread plate) 於 stach agar (SA) 培養皿上，經 30C 培養 3~7 天後，再從 10^{-4} 培養皿上挑取疑似放線菌菌落，再接種於 SA 斜面培養

基上，30C 培養 3 ~ 7 後，以嗅覺評定會產生泥土味之分離株，給予 +，++ 及 +++ 三個等級。

3. 產生土味放線菌株之形態觀察

凡能產生泥土味之分離株均經純化培養於 SA 培養皿上做形態上之觀察，包括革氏染色 (Gram stain)，抗酸染色 (Acid-Fast stain) 及直接鏡檢。

4. 養殖池水質資料

每次採樣養殖池之池水由台南及竹北兩水試分所携回做水質成份分析，檢驗項目包括水溫、水色、透明度、溶氧量、氧化還元電位、pH、NH₄⁺ 濃度、氮磷比、鹽度等項。

結 果

1. 養殖環境與產土味放線菌數之關係

(1) 台南地區

台南地區計調查高縣茄苳鄉大連等五戶養殖戶，結果如表二所示。其中以茄苳大連 (T1) 及茄田 (T2) 兩戶進行了六次較有系統之觀察。每個魚塢內分離出之產土味放線菌數與台南水試所之水質資料配合分析結果 (圖一、圖二) 顯示，該兩魚塢內產土味放線菌數與池內溶氧量有

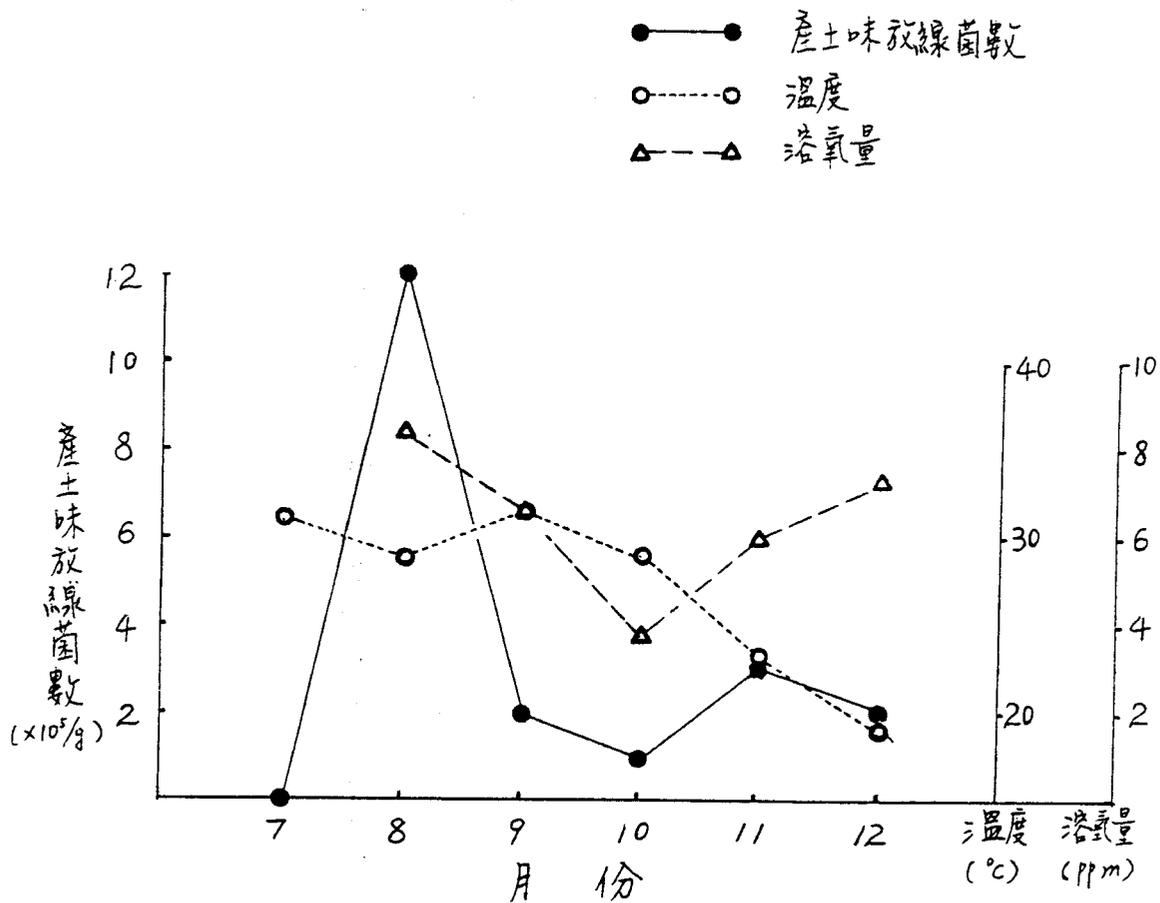


圖 一：T₁ 養殖池中產土味放線菌數與溫度及溶氧量之關係

Fig. 1. Occurrence of odor-producing actinomycetes in relation to temperature and dissolved oxygen in T₁ fishpond.

關，即溶氧量高，產土味放線菌數亦高。其它之水質因素（未列）則觀察不出其關連性。其它如 T4 魚塢於 8 月 20 日分離出產土味放線菌後，經撒石灰處理，於 9 月 17 日之採樣中，並未分離出產土味放線菌（表二）。

各魚塢之產土味放線菌量最高期間皆在 8 月份水溫水溫在 30C 左右時，12 月份後水溫降低至 20C 左右後，產土味放線菌量有減少之趨（圖一、圖二）。

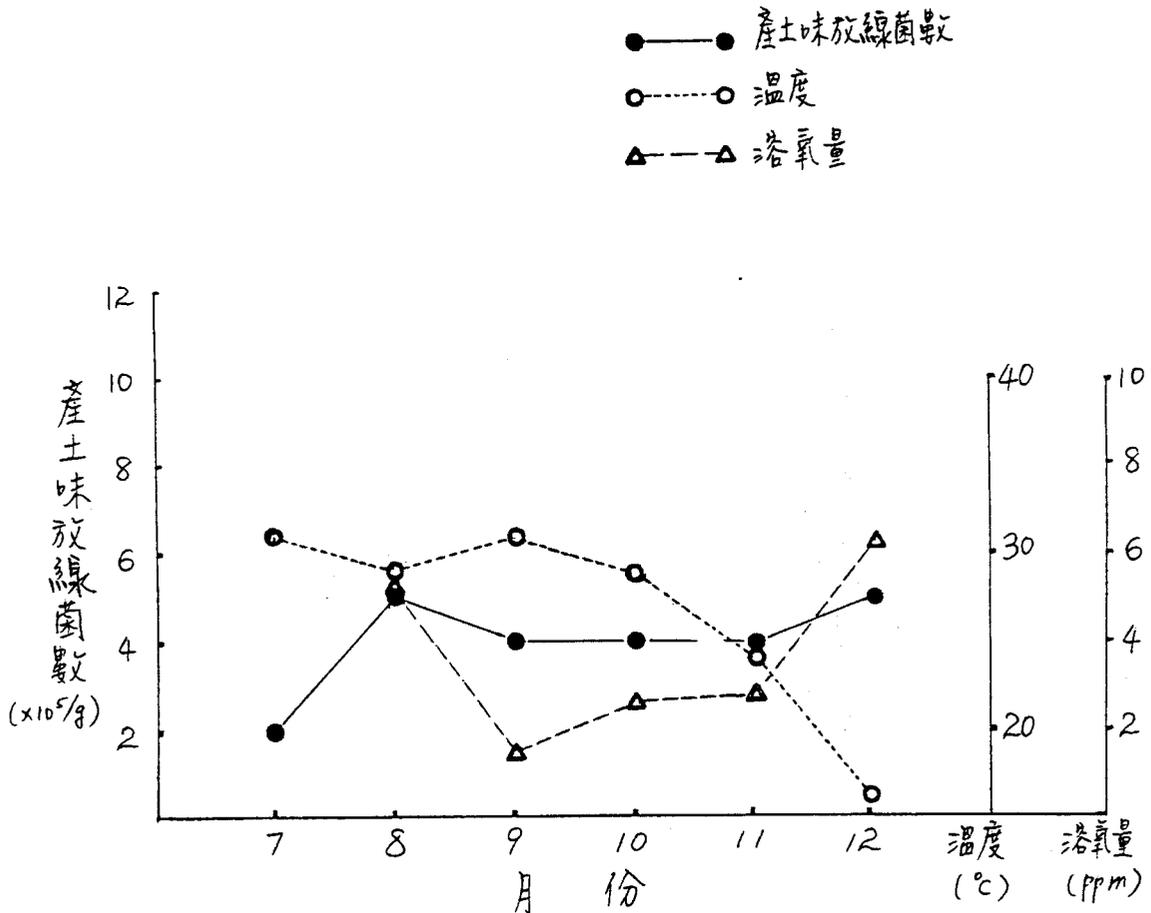


圖 二：T₂ 養殖池中產土味放線菌數與溫度及溶氧量之關係

Fig. 2. Occurrence of odor-producing actinomycetes in relation to temperature and dissolved oxygen in T₂ fishpond.

(2)新竹地區

新竹地區計調查徐家等三戶共 4 個養殖池（表三），每個魚塢所分離出之產土味放線菌數與竹北水試分所之水質檢驗資料配合分析，結果顯示 S₁ 魚塢（圖三）內產土味放線菌數隨溶氧量及銨離子濃度之增加而增加，其它水質因素（未列）則觀察不出其關連性。S₂ 魚塢（圖四）內之產土味放線菌數亦隨溶氧量及 pH 升高而增加之趨，其它水質因素（未列），則未見其關連性。S₄ 魚塢（圖五）之調查結果似與水質因素無關，但 S₄ 及 S₅ 兩魚塢分別於 10 月及 11 月換池水後，產土味放線菌數均有下降之情形。

2. 產土味放線菌分離株之形態觀察

本次從台南及新竹地區魚塢土壤中共分離出 102 個產土味放線菌株，經純化培養成功者計 82 株。染色觀察皆屬革氏陽性菌，且都具有分枝狀菌體，在 SA 培養基上都有分解澱粉之能力，可確

表 二：台南地區養殖池產土味放線菌調查結果

Table 2. Isolation of odor-producing actinomycetes from fishponds in Tainan area.

養殖池	採樣日期	土 味 程 度*				重要水質資料		備 註
		十	廿	卅	合 計**	溫 度 (C)	由 氧 量 (ppm)	
T ₁	7/18	0	0	0	0	31	—	
	8/20	5	7	0	12	29	8.3	
	9/17	1	0	1	2	31.5	6.6	
	10/15	0	1	0	1	29	3.7	
	11/13	0	2	1	3	23	6.0	
	12/10	1	0	1	2	19	7.2	
T ₂	7/18	0	0	2	2	31	—	
	8/20	2	2	1	5	29	5.2	
	9/17	2	1	1	4	31	1.4	
	10/15	2	1	1	4	29	2.6	
	11/13	2	2	0	4	24	2.8	
	12/10	3	2	0	5	19	6.2	
T ₃	7/18	0	0	1	1	31	—	
T ₄	8/20	0	1	0	1	35	—	
	9/17	0	0	0	0	32	7.0	撒石灰
T ₅	11/13	1	1	2	4	24.5	6.5	
	12/10	0	2	0	2	20	7.8	
合 計		19	22	11	52			

* 註：十<廿<卅

** 註：放線菌數 ($\times 10^5$ /g 土樣)

表 三：新竹地區養殖池產土味放線菌調查結果

Table 3. Isolation of odor-producing actinomycetes from fishponds in Hsinchu area.

養殖池	採樣日期	土 味 程 度*				重 要 水 質 資 料				附 註
		十	廿	卅	合 計**	溫 度 (C)	溶 氧 量 (ppm)	pH	NH ₄ ⁺ (ppm)	
S ₁	8/10	0	2	2	4	32.5	4.5	6.3	0.50	
	9/16	0	0	2	2	28.0	4.5	6.9	0.15	
	10/16	1	0	1	2	28.0	6.0	7.4	0.15	
	11/13	1	1	4	6	20.0	7.5	6.9	0.80	
	12/ 9	2	0	1	3	17.0	4.0	6.8	0.50	
S ₂	8/10	0	0	0	0	32.5	5.5	8.4	0.35	
	9/16	2	0	3	5	28.0	4.0	7.3	0.30	
	10/16	0	1	0	1	28.0	3.5	7.3	0.40	
	11/13	0	3	2	5	20.0	8.0	7.3	1.20	
	12/ 9	0	0	0	0	16.0	6.5	7.5	2.40	
S ₃	8/10	0	1	1	2	33.0	6.0	7.9	0.30	換 水
	9/16	0	1	1	2	28.0	4.8	8.2	0.35	
	10/16	1	1	1	3	28.0	6.5	9.0	0.20	
	11/13	0	0	0	0	20.0	11.0	7.9	0.2	
	12/ 9	1	1	0	2	16.0	6.5	7.6	1.0	
S ₄	8/10	0	3	1	4	35.0	7.5	8.2	0.20	換 水
	9/16	0	2	2	4	28.0	6.0	8.1	0.30	
	10/16	0	0	1	1	28.5	9.0	9.8	0.10	
	11/13	1	0	0	1	20.0	11.0	8.7	0.50	
	12/ 9	2	1	0	3	17.0	6.2	7.0	0.60	
合 計		11	17	22	50					

* 註：十<廿<卅

** 註：放線菌數 ($\times 10^5/g$ 土樣)

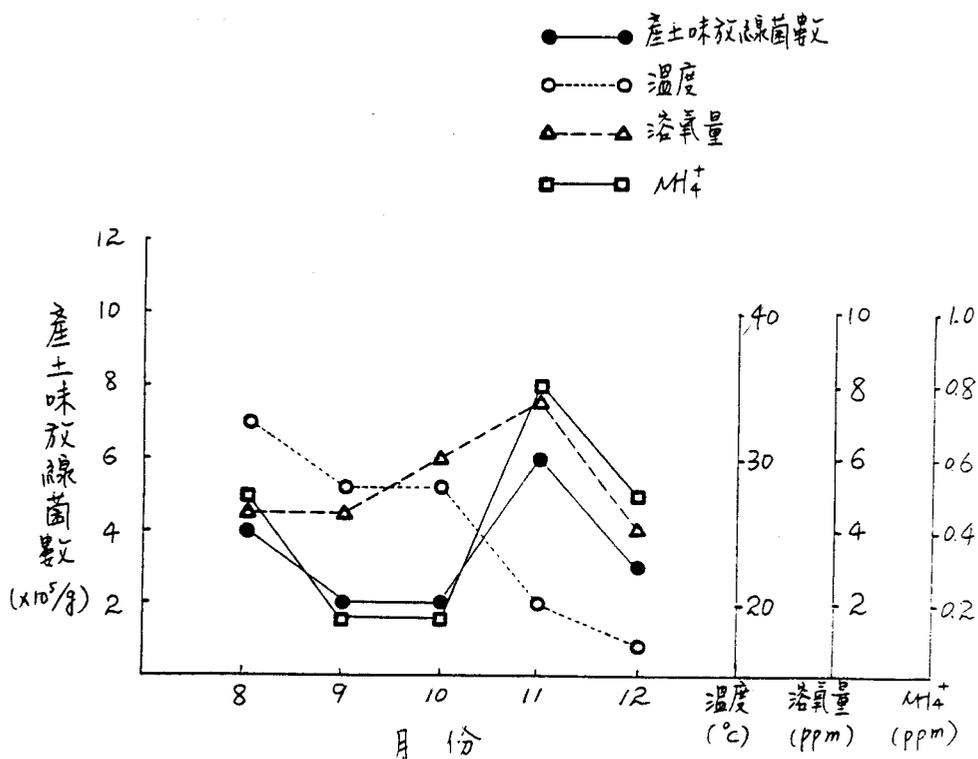


圖 三：S₁ 養殖池中產土味放線菌數與溫度、溶氧量及銨離子濃度之關係
 Fig. 3. Occurrence of odor-producing actinomycetes in relation to temperature, dissolved oxygen, and NH_4^+ concentration in S₁ fishpond.

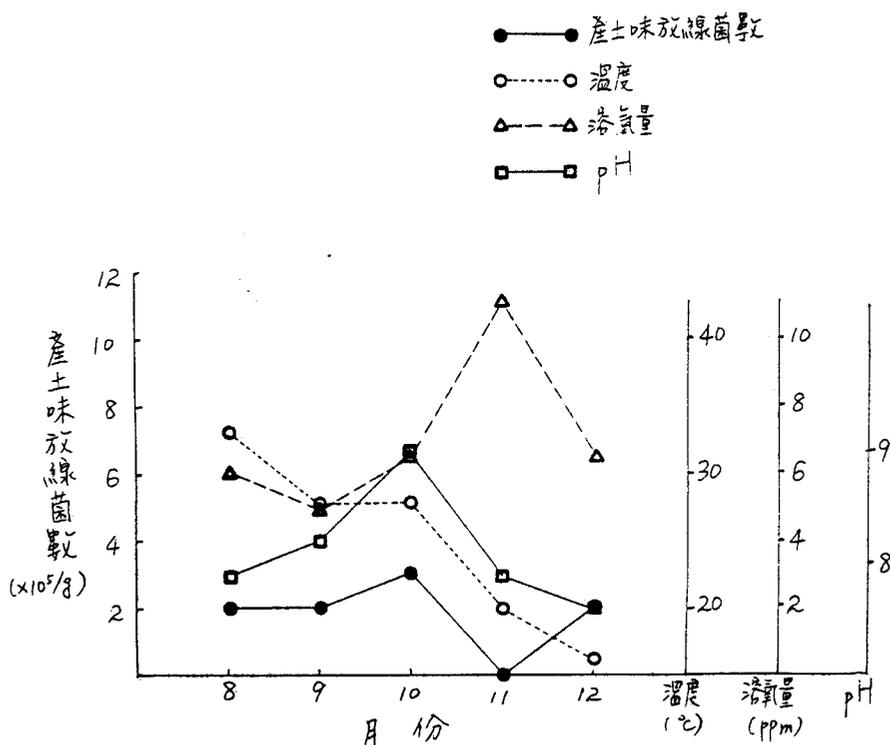


圖 四：S₂ 養殖池中產土味放線菌數與溫度、溶氧量及 pH 之關係
 Fig. 4. Occurrence of odor-producing actinomycetes in relation to temperature, dissolved oxygen, and pH in S₂ fishpond.

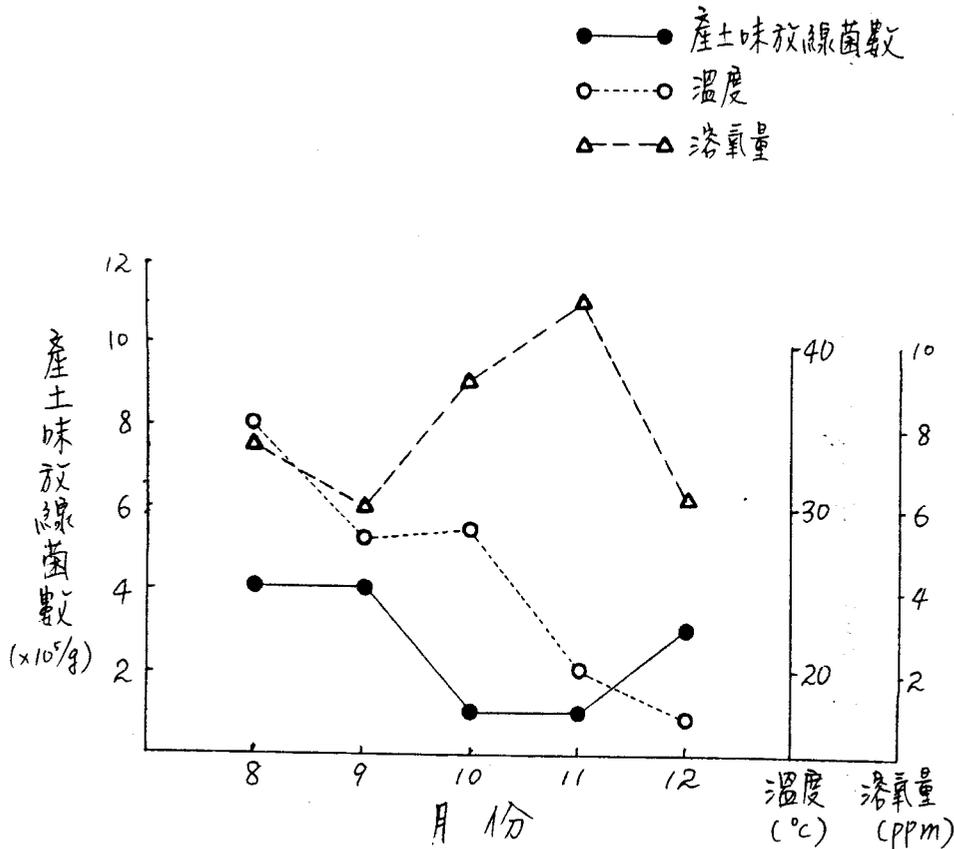


圖 五：S₄ 養殖池內產土味放線菌數與溫度、溶氧量之關係

Fig. 5. Occurrence of odor-producing actinomycetes in relation to temperature and dissolved oxygen in S₄ fishpond.

定屬放線菌。其中33株經染色可觀察到其串生孢子之構造，菌體屬非抗酸性（AF-），另外尚有成對（3株）及形成類似孢子囊構造4株者，其餘42株未能確定其產孢情形。大部份分離株（71株）皆經由直接鏡檢觀察到其氣生菌絲（aerial mycelia），其餘（11株）僅觀察到其基質菌絲（substrate mycelia）。以上結果列於表四。圖六、圖七為兩個產生串生孢子之分離株（編號 T51 及 S45 在 SA 培養皿上之生長情形，T51 呈圓形灰褐色之小型菌落，邊緣平滑且顏色較淡，同心環不明顯。S45 之菌落較大，邊緣較不規則，具白色及灰褐色之同心環。（二者在菌落周圍皆產生澱粉水解環）。經直接鏡檢均可觀察到其螺旋狀之串生氣生孢子構造及完整不斷裂之分枝狀菌體。極可能屬於放線菌中之鏈黴菌屬（Streptomyces）⁽¹⁾。

表 四：產土味放線菌分離株之形態觀察

Table 4. Morphological observation on the odor-producing actinomycetes isolates.

	革氏染色		菌體生長		產孢情形			
	+	-	氣生菌絲	基質菌絲	串生孢子	成對孢子	孢子囊	不確定
菌株數	82	0	71	11	33	3	4	42

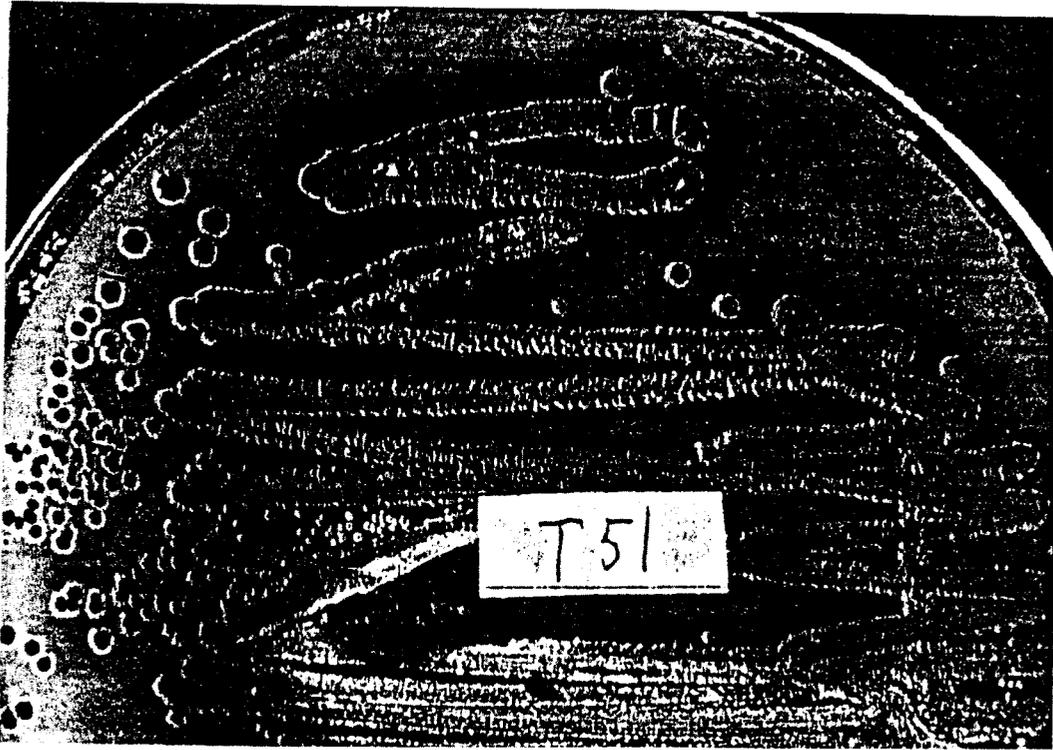


圖 六：產土味分離株 T₅₁ 在 Starch Agar Plate 上生長情形

Fig. 6. Growth of odor-producing isolate T₅₁ on Starch Agar Plate.

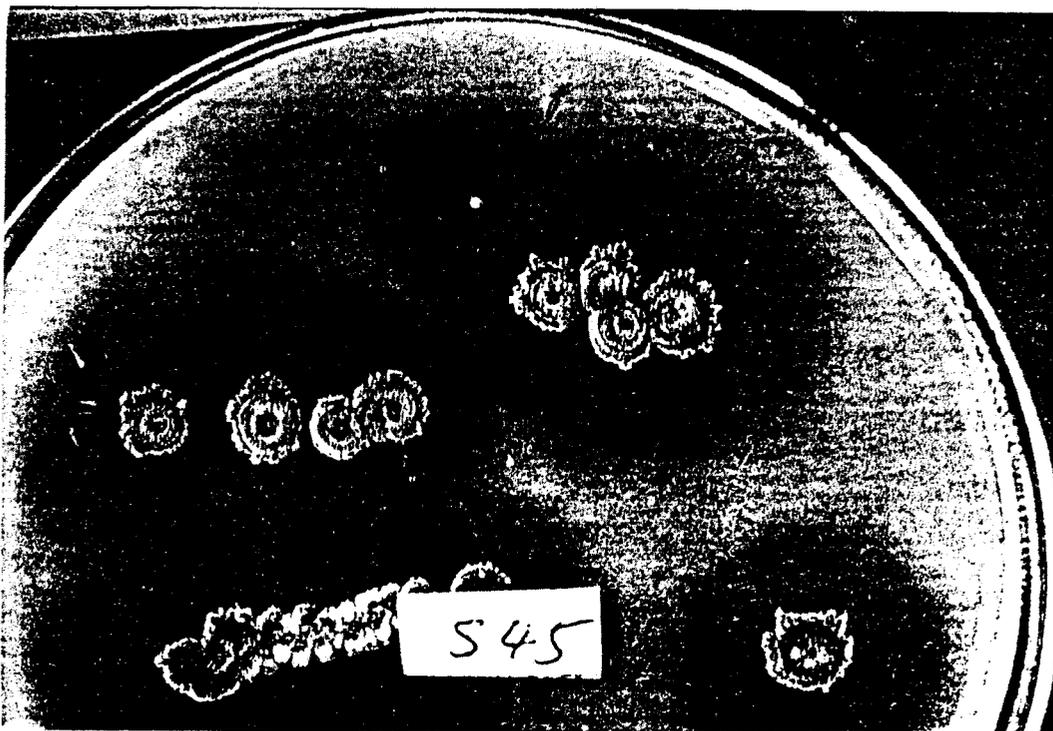


圖 七：產土味分離株 S₄₅ 在 Starch Agar Plate 上生長情形

Fig. 7. Growth of odor-producing isolate S₄₅ on Starch Agar Plate.

討 論

本次調查中之五個較具代表性的養殖池 (T₁, T₂, S₁, S₂ 及 S₄) 結果顯示, 養殖環境中的溫度, 溶氧量, pH 值, 銨離子濃度, 撒石灰處理及換水與養殖池內產土味放線菌量有關, 而所有五個養殖池內之產土味放線菌量皆隨溶氧量之增加而有增加之趨。

養殖環境中之氧氣濃度為決定放線菌孢子萌發之重要條件⁽²⁾, 孢子在氧氣充份的情況下可萌發形成二次菌絲 (secondary mycelia) 而養殖池水或魚體發生異味乃由於放線菌在形成二次菌絲時所產生之代謝物如 geosmin 而來⁽⁵⁾。溶氧量之高低與養殖池之深淺及池內藻類行光合作用有密切之關係。水生放線菌在水深 6~11 吋時生長良好⁽¹⁰⁾, 而某些放線菌亦以藻類如 *Cladophora* 屬為棲息場所及養分來源⁽¹¹⁾, 因此在夏季枯水期養殖池水太淺或池內有大量藻類繁殖時, 可能較易引起魚體異味之問題。

對大多數水生放線菌而言, 其最適合產生異味之溫度約在 25~30C, 如 *Streptomyces* 屬其孢子萌發形成二次菌絲之最低必需溫度為 15C, 而在 17C 以上其所產生之泥土味代謝物方可從水中萃取出來^(6, 9, 10)。本次調查之 T₁ 及 S₁ 兩池在 12 月產土味放線菌量有下降之趨, 可能與水溫由 8 月份之 30C 以上降至 12 月份之 20C 左右有關。

S₂ 池之產土味放線菌量在 pH 9.0 時最高, 可能與放線菌喜好在 pH 偏鹼之環境下生長⁽¹⁰⁾ 有關。然而在其它養殖池則觀察不出其關連性, 可能與水質之 pH 變化不大有關。

養殖池內有機質含量多寡亦為決定放線菌量及發生異味程度之重要因素^(7, 9, 10), 高有機質含量能促進放線菌孢子萌發產生異味代謝物及促進藻類生長。S₁ 魚塢係採魚牧綜合經營方式養殖, 池水中流入過量含蛋白質有機質之鴨類排泄物, 可能係造成產土味放線菌大量繁殖之因。

更換池水及清除底泥為控制養殖池水中有機質含量與放線菌量方法之一。S₂ 及 S₄ 兩魚塢經換水後, 雖然池水中之溶氧量增加, 然而產土味放線菌量却有減少之效果。

T₁ 養殖池在撒石灰處理後土味放射菌量有下降之趨, 石灰是否對放線菌有殺菌作用或能分解泥土味物質, 原因尚不確定。

養殖魚類泥土味問題並非全年皆會發生。而多在 8~11 月高溫, 乾旱之際問題較為嚴重。由以上調查結果可知, 養殖戶若能於這段期間注意控制水質如定期換水, 避免過多之動物排泄物流入魚塢, 適量投餌及養殖密度, 避免池水太淺等措施, 當能收防除之效。

能產生土味物質之水生放線菌有 *Actinomyces*, *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Nocardia*, *Microbispora*, *Actinomadura*, *Nocardiopsis*, *Streptomyces* 等屬^(8, 9), 其中以 *Streptomyces* 屬為最常見。本次調查中所分離出之產土味放線菌株, 在 33 株能產生串生氣生孢子中, 除有部份如 T51 及 S45 者因其形態上之特徵極可能屬 *Streptomyces* 外, 其餘各株尚有待進一步之形態及生化試驗之觀察, 因為某些非屬 *Streptomyces* 綱之產土味放線菌如 *Actinomadura* 及 *Nocardiopsis* 等屬亦會產生串生氣生孢子, 且菌體亦為負抗酸性 (AF-), 與 *Streptomyces* 相似⁽⁴⁾。至於產生對生孢子之分離株可能屬於 *Microbispora* 屬⁽⁴⁾, 其餘各分離株則尚有待進一步之鑑定工作。

摘 要

本實驗自民國 74 年 7 月至同年 12 月, 每個月定期對台南及新竹兩地區共九個魚塢, 進行養殖環境與產土味放線菌發生關係之調查, 其中台南地區有兩個魚塢, 其池土中產土味放線菌數隨池水中之溶氧量之增減而增減, 新竹地區有兩個魚塢, 其產土味放線菌數除了隨池水之溶氧量增減外, 尚分別有隨池水之 pH 及銨離子濃度增減之趨。另外台南及新竹地區各有一魚塢分別在經過撒石灰與換水處理後, 其池土中產土味放線菌數有減少之現象, 其餘魚塢之產土味放線菌數與水質因素似無關連。共有

82個放線菌菌株從池土中分離出來，其中有33株具有串生孢子及氣生菌絲之構造，極可能屬於放線菌之鏈黴菌綱 *Streptomyces*。其餘之分離株尚待進一步鑑定。

謝 辭

本研究計畫蒙農委會漁業處提供經費，台南及竹北水試分所協助採樣及提供水質分析資料，東海大學食品科學系鍾淑貞、林幸樺、李芳玲協助實驗及繪圖工作方得以完成，特此致謝。

參 考 文 獻

1. 湯弘吉 (1983)，養殖魚類之異味問題，中國水產，368: 22-27.
2. Cross, T. 1981 Aquatic actinomycetes: A critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.* 50: 397-423.
3. Gerber, N.N. 1979 Volatile substances from actinomycetes: Their role in the odor pollution of water. *CRC Crit. Rev. Microbiol* 7: 191-214.
4. Goodfellow, M., and T. Cross. 1983 Classification in "The Biology of the Actinomycetes" pp.7-164, Academic Press, London and New York.
5. Higgins, M.L., and J.K.G. Silver, 1966 Slide culture observations of two freshwater actinomycetes. *Trans. Am. Microscop. Soc.* 85: 390-398.
6. Izaguirre, G., C.J. Hwang, S.W. Krasner, and M.J. McGuire. 1982 Geosmin and 2-Methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 708-714.
7. Persson, P.E. 1979 The source of muddy odor in Bream (*Abramis brama*) from the Porvoo sea area (Gulf of Finland). *J. Fish.*
8. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1959 Laboratory culture of taste-and odor-producing aquatic actinomycetes. *J. Am. Water Works Assoc.* 51: 20-32.
9. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1975 The taste and odor producing aquatic actinomycetes *CRC Crit. Rev. Environ. Control* 5: 233-273.
10. Silvey, J.K.G., J.C. Russell, D.R. Redden, and W.C. Cormick. 1950 Actinomycetes and common tastes and odors. *J. Am. Water Works Assoc.* 42: 1018-1026.
11. Silvey, J.K.G., and A.W. Roach. 1953 Actinomycetes in the Oklahoma city water supply. *J. Am. Water Works Assoc.* 45: 409.
12. Yurkowski, M., and J.L. Tabachek. 1974 Identification, analysis, and removal of geosmin from muddy-flavored trout. *J. Fish. Res. Board Can.* 31: 1851-1858.