

·研究简报·

## 中国对虾育苗池细菌种群数量变化研究\*

The changes of population and quantity of bacteria in shrimp tanks

何曙阳

(浙江农业大学, 杭州 310004)

He Shuyang

(Zhejiang Agriculture University, Hang Zhou 310004)

王克行

(青岛海洋大学, 青岛 266003)

Wang Kexing

(Ocean University of Qingdao, 266003)

**关键词** 中国对虾, 异养菌, 弧菌

**Key words** *Penaeus chinensis*, heterotrophic bacteria, vibrio

对虾病原体包括病毒、细菌、真菌、原虫、藻类等。据不少文献报道<sup>[1-5]</sup>,引起对虾发病和死亡的条件致病菌多是正常虾体和养殖环境中的正常菌群成员,在一般情况下不表现出病害。当水质恶化、养殖密度过高、饵料不适等情况发生时,虾的抗菌作用减弱,这些细菌便侵入虾体内大量繁殖,造成虾病暴发。本试验对中国对虾在育苗过程中的异养菌群和一些条件致病菌群进行了全面测定,以利于确定中国对虾各期幼体可忍受的细菌数量和合适的细菌种类,为其育苗生产提供理论依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 对虾育苗池

试验在文登市水产养殖公司育苗场进行,共选11个育苗池,从育苗开始到仔虾V期进行连续监测。其中7个池容积为60 m<sup>3</sup>(Ⅲ车间),4个池容积为36 m<sup>3</sup>(V车间)。试验是结合育苗生产进行的。在无节幼体后期或蚤状I期接种藻类,从蚤状II期开始用药,蚤状后期开始换水,从仔虾I期开始投喂卤虫。

#### 1.2 方法

**1.2.1 对虾育苗池水体中异养菌及弧菌的测定** 11个育苗池,从布卵到仔虾V期,每池每天早晨在投饵前用无菌三角锥形瓶采集表层水样1次。迅速带回室内,按5 μg/ml加入吐温80,振荡2 min后稀释。分别涂布2216 E平板和TCBS平板,整个过程在2 h内完成,20℃培养48 h计数。

**1.2.2 对虾幼体体内细菌测定** 无节幼体取样1次,50尾;蚤状幼体每期各取50尾;糠虾幼体每期各取40尾;仔虾

从P<sub>1</sub>到P<sub>5</sub>每期各取10尾。先用无菌水反复冲洗虾体表面,然后用无菌玻璃匀浆器匀浆。稀释后涂布2216E和TCBS。对虾体重用公式 $W=0.012L^3$ 求得。W为体重/g;L为体长/cm。

**1.2.3 藻类培养池化学耗氧量(COD)的测定** 化学耗氧量以碱性高锰酸钾-硫代硫酸钠法测定。

### 2 结果和讨论

#### 2.1 对虾育苗池水体中异养菌的数量分布

测定显示,中国对虾育苗池水体中,异养菌数量在10<sup>3</sup>~10<sup>5</sup> ml<sup>-1</sup>。在育苗过程中,卵子经无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体到仔虾,每个时期异养菌数都有变化,呈现出各期的特点。

**2.1.1 卵子期** 对8个池中卵子采取消毒措施。卵子在2.5 mg/L I<sub>2</sub>液或6 mg/L漂粉精溶液中浸浴,消毒1 min。其中,Ⅲ-6、Ⅲ-10和V-4池的培育水体在布卵前1 d加1 mg/L的漂粉精消毒,V-2、V-3和V-5池的卵子只经冲洗而未消毒。但V-5池水体在布卵前1 d用1 mg/L的漂粉精消毒,V-2、V-3池的水体未消毒。结果表明,凡卵子经过消毒处理的培育水体,布卵后,异养菌数为10<sup>4</sup> ml<sup>-1</sup>。而卵子未经消毒处理的,无论池水有无消毒,异养菌数均为10<sup>5</sup> ml<sup>-1</sup>。可见卵子消毒在短期内可有效减少异养菌数量。幼体发育各期水体中细菌平均数量分布见图1。

**2.1.2 无节幼体期** 异养菌数为10<sup>4</sup>~10<sup>5</sup> ml<sup>-1</sup>。在此范围内,无节幼体发育正常。由图1可以见,在无节幼体或蚤状I期,异养菌数均有1次较大幅度的减少。而每次减少的前1 d,育苗池都恰好接种了单胞藻。接种的藻类有新月菱形藻、扁藻及金藻3012,表现出单胞藻对细菌有一定的抑制

收稿日期:1997-06-23

\* 本研究由国家攀登计划B资助。

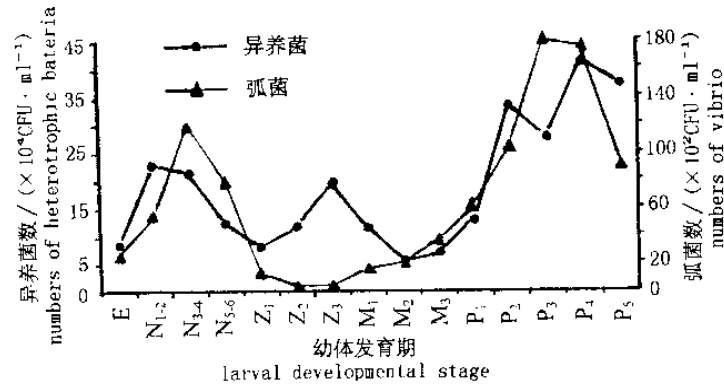


图1 幼体各期水中细菌平均数量分布

Fig.1 Distribution of average quantity of bacteria in the water at per stage

作用,尤其对弧菌的效果更为明显。为此,对藻类培育池的藻类密度、异养菌数、弧菌数和 COD 值进行了测定(表1)。

表1 扁藻培养池的扁藻数量、异养菌数、弧菌数和 COD 值

时间/d time	0	1	2	3	4	5	6	7
扁藻数/(× 10 <sup>4</sup> ml <sup>-1</sup> ) platymonadaceae	2.5	6.0	12.0	25.0	30.0	26.0	15.0	9.0
异养菌数/(× 10 <sup>3</sup> ml <sup>-1</sup> ) heterotrophic bacteria	32.0	5.0	2.8	1.8	6.5	15.0	54.0	50.0
弧菌数/(× 10 <sup>3</sup> ml <sup>-1</sup> ) vibrio	14	2.5	<1.0	<1.0	3.0	7.4	22.0	24.0
COD/(mg·l <sup>-1</sup> )	1.033	1.272	1.510	1.828	2.702	3.338	4.450	3.775

从表1可知,扁藻在接种后,迅速进入指数生长阶段(第1~3 d),此时,异养菌和弧菌受到了很大的抑制;进入稳定生长期(第4~5 d)后,菌数有较大的回升;在稳定增长后期(第6~7 d),菌数达到高峰,并超过了刚接种时的数量。从COD的变化来看,扁藻在1次培养过程中,COD的变化反映了培养水体中有机物含量的变化。结果表明,藻类在指数生长期释放的有机物含量很少;进入稳定增长后期后,开始大量释放胞外产物;到稳定增长后期后期,开始出现细胞的死亡和溶解,使水体中有机物含量迅速增加。可见,在藻类的指数生长期,由于藻类所分泌的某些抑菌胞外产物能较好地抑制异养菌和弧菌的繁殖,进入稳定生长期后,藻类分泌的有机物显著增多,主要包括:单糖、多糖、AA、尿素、多肽、蛋白质、有机磷化合物和多酚等<sup>[4]</sup>,有利于异养菌和弧菌的生长,使之数量回升,到稳定生长后期达到高峰。周光正<sup>[5]</sup>报道了干扁藻对弧菌的抑制作用,弧菌的游动性从减弱、停止到复苏、增强,其数量也在减少后开始逐步增加。Igarashi<sup>[6]</sup>指出育苗池水体的细菌数量由于蚤状期微藻数量的增加而减少;浮游植物能释放抑制细菌繁殖的物质,海洋硅藻 *S. costatum* 能抑制大肠杆菌和弧菌的繁殖。Igarashi 在试验中

发现 *Nannochloropsis* 的细胞外产物有助于抑制育苗水体产生黄色、桔红色和由游动细菌组成菌落的细菌活力。

2.1.3 蚤状幼体期 异养菌数平均从  $7.8 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$  升至  $1.92 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。成活率较高的Ⅲ-1、Ⅲ-2、Ⅲ-10、V-2和V-5池的异养菌数为  $4.36 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ ,而成活率低的Ⅲ-3、Ⅲ-4、Ⅲ-5、Ⅲ-6和V-3池的异养菌数为  $1.94 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。由图1可见,水体中的异养菌数在蚤状幼体期较低,这可能与蚤状Ⅱ期开始用药及蚤状幼体的滤食性有关。蚤状Ⅱ期开始使用了抗生素,如复方新诺明  $1 \text{ mg/L}$ ,呋喃唑酮  $1 \text{ mg/L}$ ,漂粉精  $0.5 \text{ mg/L}$ 。蚤状幼体阶段其体内异养菌数量最高,这进一步证实了蚤状幼体摄食细菌的推测(表2)。滤食的蚤状幼体会无选择地把一些致病菌摄入体内,当致病菌达到一定密度,便会导致蚤状幼体发病,推测这就是蚤状幼体发病率高的一个主要原因。例如:Ⅲ-3池在蚤状Ⅲ期发生了弧菌病,测得病虾体内的弧菌数达  $1.1 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ 。另外,本试验结果表明:蚤状幼体期水体中的异养菌数大于  $10^5 \text{ ml}^{-1}$ 时,会引发细菌病并降低蚤状幼体到糠虾幼体的变态率和成活率。从成活率高的5个池(Ⅲ-1,2,10,V-2,5)来看,蚤状幼体期的异养菌数维持在  $10^4 \text{ ml}^{-1}$ ,仅

在Ⅲ-1池蚤状Ⅲ期达到 $1.1 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。而成活率较低的5池(Ⅲ-3,4,5,Ⅴ-3)中蚤状幼体期的菌数达到 $10^5 \text{ ml}^{-1}$ ,特别是蚤状Ⅱ、Ⅲ期均处于 $10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。水体中细菌多,通过吞食进入幼体肠道中的菌数也增多,粘附在幼体表面的细菌也相应增多,从而影响了幼体的摄食和活力,最后影响蚤状幼体向糠虾幼体蜕变。

**2.1.4 糠虾幼体期** 随着投饵量的增加和水温的升高,细菌的繁殖加快。另外,从蚤状幼体后期即开始采取换水措施,每天根据情况换水10~30 cm,并从蚤状Ⅱ期开始间断性地进行施药,在很大程度上抑制了细菌的繁殖。除Ⅴ-3池外,无论糠虾幼体的体质好坏,异养菌数均处于 $10^4 \text{ ml}^{-1}$ 。

**2.1.5 仔虾期** 幼体进入仔虾后,主要投喂卤虫。经测定,卤虫的培育水体和卤虫所含的异养菌数高达 $3.9 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 。投喂卤虫后,仔虾Ⅱ期开始育苗水体的菌数大增,超过 $10^5 \text{ ml}^{-1}$ 。可以推断投喂变质的人工饵料和衰退期的单胞藻均可引起水中细菌数量的增加。因此,投喂新鲜的人工饵料及经消毒的卤虫有利于防病。

## 2.2 对虾育苗池水体中弧菌的数量分布

育苗池内弧菌的数量分布见图1。

由图1可见,各池之间不同时期的弧菌数相差较大,但总的趋势是布卵后弧菌数逐渐上升,接入藻种后数量下降,糠虾幼体期回升,仔虾期达高峰。

综上所述,在无节幼体期,尽管异养菌数和弧菌数分别达到 $10^5 \text{ ml}^{-1}$ 和 $10^4 \text{ ml}^{-1}$ ,但因其不摄食,所以没出现明显的疾病和死亡;蚤状幼体期育苗水体的弧菌数虽然均 $\leq 10^2 \text{ ml}^{-1}$ ,但当异养菌数 $> 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 时,摄入体内的细菌增多,加之蚤状幼体的体质较弱,很易诱发细菌病。所以蚤状幼体期应把异养菌数控制在 $10^5 \text{ ml}^{-1}$ 以下。糠虾幼体期的异养菌( $10^4 \text{ ml}^{-1}$ )和弧菌( $3 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ )基本上对幼体不构成威胁。而仔虾虽然体质明显强于前期幼体,但因异养菌数达到 $(1 \sim 4) \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ,弧菌数也达到 $10^4 \text{ ml}^{-1}$ ,使部分池仔虾产生弧菌病而死亡。因此,在对虾育苗的整个过程中,对细菌数量的控制尤为重要。

## 2.3 对虾体内异养菌的数量分布

对虾体内异养菌的数量变化见表2。

表2 对虾体内异养菌的数量分布

Table 2 Quantitative distribution of heterotrophic bacteria in shrimp body

期别 stage	$\times 10^3 \text{ ml}^{-1}$														
	N	Z1	Z2	Z3	M1	M2	M3	P1	P2	P3	P4	P5			
异养 菌数 heterotrophic bacteria	<1	33	45	21	17	11	7	0	9.0	8.2	7.5	6.2	5	0	

由表2可见,蚤状幼体期细菌含量最高,仔虾期含量最低。对虾体内异养菌的数量主要取决于对虾幼体肠道菌数的多少。所以幼体的摄食能力和饵料种类是影响对虾体内异养菌数的重要因素。无节幼体由于没有开口摄食,异养菌数最少,小于 $10^3 \text{ ml}^{-1}$ 。进入蚤状幼体后,幼体开始摄食,而且主要吞食微小的细菌和单胞藻,使肠道内的细菌含量迅速上升。由于从蚤状Ⅱ期开始用药,使幼体体内的细菌数逐步下降。

## 参 考 文 献

- 王文兴. 青岛太平角和即墨丰城沿海对虾养殖场异养菌群和条件致病菌的研究. 黄渤海海洋, 1983(2): 68~79
- 郭平, 许美美. 对虾养殖池水域环境细菌的动态变化. 91年全国海水养殖学术讨论会论文集, 1992
- 许美美, 郭平. 虾池水域环境细菌数量变动与患“红腿病”虾心脏带菌率关系的初步探讨. 水产科学, 1992, 11(12): 7~9
- 高尚德, 等. 中国对虾养成期间虾池水体和底质中细菌含量的变化. 水产学报, 1989, 18(2): 138~141
- 周光正. 干扁藻可抑制对虾病原体弧菌. 见: 对虾养殖专题文献Ⅱ 中国科学院海洋研究所, 1994
- Igarashi(钟磊译). 对虾、鳌虾和龙虾育苗水体中的细菌学特征. 国外水产, 1991(3): 45~47
- Kimaki 日本对虾消化道里的细菌. 施光碧, 王颖洁译. Aquaculture, 1980, 3: 229~234