

虾池沉积物中3类主要细菌的垂直分布特征

李秋芬, 陈碧鹃, 曲克明, 幸福言, 李健, 赵法箴, 袁有宪

(中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 采用平板涂布法和 MPN 法测定了虾池底质下 0 到 30 cm 深度范围内 3 类主要细菌类群的垂直分布情况。结果表明, 底泥中细菌主要集中于 0 到 5 cm 的表层范围内, 随深度增加, 数量急剧减少, 至 30 cm 深处所测到菌量已很少。底泥中的总菌量随养殖时间推移, 逐渐增加, 到养殖中后期, 表层菌量增加至 10^6 CFU/g, 表层以下 10~20 cm 的总异养菌量和硝酸盐还原菌数量也增加至 10^5 CFU/g 以上。弧菌仍集中于表层。细菌的垂直分布主要受各层有机物和溶解氧含量的影响。

关键词: 对虾养殖; 沉积物; 总异养菌; 弧菌; 硝酸盐还原菌; 垂直分布

中图分类号: S 917.1; S 931.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737(2002)04-0367-04

关于对虾养殖环境中的天然细菌群落, 国内外已有许多研究报道, 王文兴^[1]报道了沿海及养虾池水和底泥中细菌的周年变化; 高尚德、郭平、石俊艳等^[2-4]报道了养虾池中细菌的数量和变化规律及其同温度、pH、虾病的关系。Ruangpan 等^[5]研究发现泰国高密度养殖的斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 虾池的细菌总数较较低密度虾池中的细菌数高 10 倍。底泥细菌是池塘生态系的重要组分, 在促进池底有机物分解、减少沉积有机质积累、保持良好水质环境等方面具有重要作用^[6], 但关于老化虾池环境中的细菌的时空变化特征, 尤其是沉积环境中细菌垂直分布的研究报道尚不多。本文以青岛市城阳区流亭镇虾场的虾池作为研究对象, 检测了不同养殖期虾池底泥各层次的细菌种类和数量, 旨在研究对虾养殖池沉积环境中细菌的垂直分布特征及不同时期的变化, 为对虾养殖环境的生物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 虾池设置及管理

选取青岛市城阳区流亭镇女姑口虾场 1、3、8 号虾池作为试验池, 这些虾池开发于 20 世纪 80 年代初, 面积均为 0.4 hm², 水深 1.5 m, 底质多为泥质。1992 年以前为高产虾池, 产量均在 2 250 kg/hm² 以上, 饵料多为人工合成饵料, 虽每年进行清淤, 但池底有机污染仍相当严重, 1993 年开始每年发生暴发性流行病^[7]。6 号蓄水沉淀池作为对照。1997 年 6 月 7 日在每个养虾池投放体长 3.5 cm 的中国对虾虾苗 50 000 尾。苗期至养殖中期投喂人工颗粒饵料, 后期投喂蓝蛤等鲜活饵料和少量药物饵料, 投饵量根据饵料观察台残饵量及虾的饱胃情况而定。

1.2 样品采集

从 1997 年 3 月末到 9 月末, 分别于对虾放苗前(3 月 25 日)、养成前期(6 月 30 日)、养成中期(7 月 29 日)、养成后期(8 月 26 日)和养成末期(9 月 27 日)到现场采样。每次用无菌自制柱状采泥器分表层、10、20、30 cm 4 个深度采集虾池底泥样品, 并用无菌容器分别包装, 立即带回实验室。同时, 现场测定各池水温、盐度和 pH。

1.3 培养基

异养菌计数采用 2216E 培养基^[8]; 蛋白胨 5 g、

收稿日期: 2001-08-07.

基金项目: 国家“八六三”计划资助项目(863-891-02-07); 国家自然科学基金资助项目(39670581); 农业部重点课题资助项目(渔 95-B-96-06-07).

作者简介: 李秋芬(1969-), 女, 助理, 博士, 从事海洋微生物和环境微生物学研究. E-mail: liqifen@163.net

酵母膏 1 g、磷酸高铁 0.1 g、陈海水 1 000 mL, 溶解后, 调 pH 至 7.6, 加琼脂粉 20 g, 121 ℃ 高压蒸汽灭菌 20 min, 冷却后, 倒平板备用。

弧菌计数采用 TCBS 固体培养基: 取成品(湖南省益阳生化试剂厂生产)85 g, 加 1 000 mL 冷蒸馏水混合, 100 ℃ 水浴煮沸 5 min, 冷却至 50 ℃, 倾注无菌平板, 备用。

硝酸盐还原菌计数采用液体培养基: 在 2216E 液体培养基中, 加入 0.1% 硝酸钾, 调 pH 至 7.6, 分装试管, 每管 8 mL(2/3 满), 灭菌备用。

1.4 培养及计数方法

样品中的异养菌、弧菌计数采用平板培养计数法, 即称取 1 g 泥样, 进行梯度稀释后, 分别取 0.1 mL 涂布接种于 2216E、TCBS 固体平板培养基, 28 ℃ 恒温培养, 3 d 后, 进行菌落计数; 硝酸盐还原菌计数采用最大可能数法(MPN 法), 取 1.0 mL 接种于硝酸盐还原液体培养基 28 ℃ 恒温培养, 5~7 d 后对硝酸盐还原液体培养物进行硝酸盐还原试验, 记录阳性反应管数, 查表, 计算每克泥样最大可能菌数。各层菌量取 3 个对虾养殖池的算术平均值。

2 结果与分析

2.1 不同时期各虾池底泥中总异养菌数量的垂直分布

由图 1 可见, 虾池底泥中的异养菌主要分布于 0 到 5 cm 的表层范围内, 随深度增加, 数量急剧减少, 至 30 cm 深处, 所测到的异养菌量已很少。这一规律与袁有宪等^[9]报道的虾池沉积环境中 TOC、TN 主要沉积于表层、在 0 到 30 cm 范围内随深度增加而下降的垂直分布规律一致, 可见异养菌的垂直分布与底泥中的沉积有机物分布有密切联系, 在有机物含量高的区域, 异养菌的数量也高, 反之亦然。不同养殖期, 异养菌分布有所变化, 放苗前从表层到深层, 菌量都很低; 放苗初期, 表层菌量增加至 1.02×10^5 CFU/g, 表层以下 10~20 cm 的菌量也有所增加; 养成后期表层菌量已增至 1.60×10^5 CFU/g, 表层下 10 cm 处的菌量也增加到 1.43×10^5 CFU/g。9 月末收虾时, 底泥中的异养菌数量已降至 $(9.8 \times 10^4) \sim (1.0 \times 10^4)$ CFU/g。这可能与养殖期间泥温逐渐升高和投饵量增加引起池底有机质沉积量增加、沉积层加深有关。

2.2 不同时期各虾池底泥中弧菌数量的垂直分布

虾池底泥中的弧菌较异养菌数量低 1~2 个数

量级, 其垂直分布与异养菌有相似的规律性(图 2), 主要分布于 0 到 5 cm 的表层范围内, 随深度增加而减少, 10 cm 以下深处, 所测菌量已很少。在不同养殖期, 菌量发生变化, 放苗前从表层到深层, 菌量都很低, 为 $(1.1 \times 10^3) \sim (1.0 \times 10^2)$ CFU/g。5 月份, 放苗初期和养成中期, 表层菌量增加至 1.87×10^3 CFU/g, 表层以下 10~20 cm 的菌量也有所增加; 随养殖时间推移, 菌量继续增长, 8 月份养成后期, 表层菌量急剧增至 8.93×10^3 CFU/g, 10 cm 处的菌量也增加到 4.33×10^3 CFU/g。随后菌量开始下降, 9 月末收虾时, 底泥中的弧菌数量已降至 $(4.3 \times 10^3) \sim (1.0 \times 10^2)$ CFU/g。

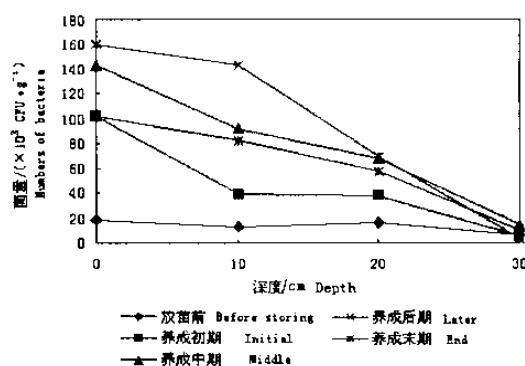


图 1 不同养殖期虾池底泥中异养菌的垂直分布情况

Fig.1 Vertical distribution of heterotrophic bacteria in sediment mud of shrimp ponds in different culture spheres

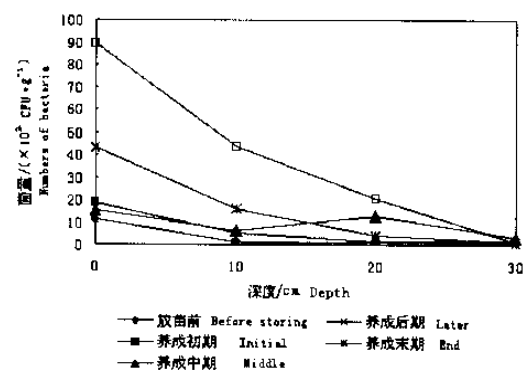


图 2 不同养殖期虾池底泥中弧菌的垂直分布情况

Fig.2 Vertical distribution of vibrio bacteria in sediment of shrimp ponds in different culture spheres

2.3 不同时期各虾池底泥中硝酸盐还原菌数量的垂直分布

虾池底泥中的硝酸盐还原菌的垂直分布规律也

与异养菌基本一致, 主要分布于0到10 cm的范围内, 随深度增加, 数量减少, 至30 cm深处, 所测到的菌量已很少。放苗前, 从表层到深层, 菌量都很低, 为 $(8.20 \times 10^3) \sim (9.3 \times 10^2)$ CFU/g。5月份, 放苗初期, 表层菌量增加至 1.26×10^5 CFU/g, 表层以下10~20 cm的菌量也有所增加; 随养殖时间推移, 菌量继续增长, 所不同的是, 7、8月份养成后期, 正是高温季节, 表层菌量增加, 表层以下菌量也很高, 20 cm处的菌量也增加到 1.18×10^5 CFU/g。随后菌量开始下降, 9月末收虾时, 底泥表层的硝酸盐还原菌数量已降至 1.54×10^5 CFU/g, 但10 cm处的菌量仍保持在 1.47×10^5 CFU/g(图3)。

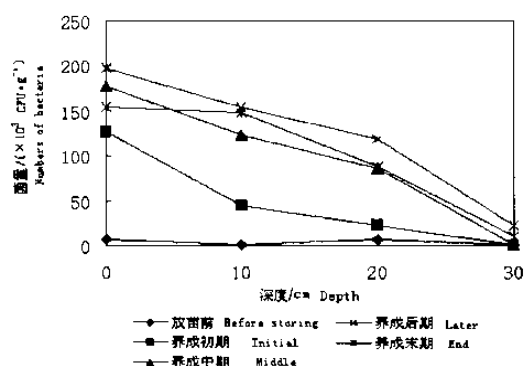


图3 不同养殖期虾池底泥中硝酸盐还原菌的垂直分布

Fig.3 Vertical distribution of nitrate-reducing bacteria in sediment of shrimp ponds in different culturing sphere

3 讨论

通过对其他环境因子的同步监测发现, 虾池沉积环境的细菌数量与池水温度呈正相关关系 ($Y = 4.018X + 17.41$, $r = 0.8926$, $n = 5$)、与盐度和 pH 无明显相关关系 ($Y = 0.658X + 61.61$, $r = 0.111$, $n = 5$; $Y = -14.73X + 164.6$, $r = 0.241$, $n = 5$)。刘国才等^[6]的研究表明底泥细菌最大密度出现在池塘1 cm 之内的表层, 2~3 cm 以下细菌数量明显降低, 与本文的结果基本一致, 从其图中还可看到菌量有一更明显的下降, 10 cm 以下菌量更少。这是因为, 虾池有机物的污染层厚度虽可达20~30 cm, 但主要集中于表层, 污染程度随深度加深而减轻, 表层中的 TOC 可占总量的11.3%~17.5%^[9], 可见虾池沉积环境中异养菌的垂直分布主要受有机物分布的影响。

养成后期即高温季节, 大量的异养菌集中于沉积物的表层, 分解有机物进行生长繁殖时, 必然消耗大量的溶解氧。因此, 本实验检测到底泥表层的兼性厌氧菌—硝酸盐还原菌的数量很高, 并向深层扩展至10 cm 深处, 且维持到9月末, 表明这期间虾池底部的缺氧情况很严重, 不但影响对虾的呼吸和代谢, 而且有机物厌氧分解产生的有害物质如氨氮、亚硝酸盐等, 也会影响对虾的生长和抗病力, 使其对病原菌的易感性提高^[10]。

通过对虾池沉积物中3类主要细菌垂直分布情况的研究, 为保持对虾养殖业的健康发展, 建议在养殖过程中采取生物修复措施, 以减少池底的有机污染, 改善底层的微生物群落组成, 促进养殖对虾的生长。①加强管理, 提高饵料质量, 减少残饵的产生; ②养成早期即开始投加分解有机物能力强、对养殖动物安全的有益菌菌种, 使其成为优势菌, 一方面抑制弧菌等病原菌的滋生, 另一方面及时分解养成过程中产生的残饵、粪便等有机污染物, 减少有机物大量积累, 从而避免养成中后期因有机物分解而导致的池底缺氧等环境恶化; ③采取有效增氧措施, 增加底部的溶解氧, 促进有机污染物的好氧分解, 避免有害产物积累; ④改变传统清淤方式, 对从虾池清出的污泥进行生物处理, 彻底净化后, 再返回虾池。

参考文献:

- [1] 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[J]. 黄渤海海洋, 1983, 1(2): 133-137.
- [2] 高尚德, 陈旭仁, 吴以平. 中国对虾养成后期期间虾池水体和底泥中细菌含量的变化[J]. 水产学报, 1994, 18(2): 138-142.
- [3] 郭平, 许美美. 对虾养殖池水域环境细菌的动态变化[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25(6): 625-630.
- [4] 石俊艳, 刘中, 王丹, 等. 营口、盘锦地区中国对虾养成后期虾池水体细菌含量的变化[J]. 水产科学, 1998(6): 6-8.
- [5] Ruangpan Lila, Prapadsorn S, Sangrungruangl K. Bacterial flora in sediment of black tiger shrimp pond[J]. Diseases in Asian Aquaculture II, 1997, 1-9.
- [6] 刘国才, 李德尚, 董双林, 等. 对虾综合养殖生态系底泥细菌的数量动态[J]. 应用生态学报, 2000, 11(1): 138-140.
- [7] 袁有亮, 辛福言, 孙耀, 等. 对虾养殖池沉积环境中 TOC、TP、TN 和 pH 及质量评价模型[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 247-253.
- [8] 国家海洋局. 海洋调查规范[M]. 北京: 海洋出版社, 1991.
- [9] 袁有亮, 崔毅, 曲克明, 等. 对虾养殖池沉积环境中 TOC、TP、TN 和 pH 垂直分布[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 363-368.
- [10] 孙舰平, 丁美丽. 氨氮对中国对虾抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 267-272.

Vertical distribution of three main bacteria in sediment of shrimp ponds

LI Qiu-fen, CHEN Bi-juan, QU Ke-ming, XIN Fu-yan, LI Jian, ZHAO Fa-zhen, **YUAN You-xian**

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: The shrimp ponds were stocked with 50 000 juvenile shrimps with body length 3.5 cm. The bottom mud was sampled before the stock, during the culture (the early stage, middle stage and post stage of the culture) and at the end of the culture. Spread plate method and multiple possible number (MPN) method were used to determine the distribution of the bacteria. The results show that most of the bacteria in the sediments focus on the surface layer within 0–5 cm in depth and the bacterium number drops rapidly with the increase of depth under the bottom, and at the depth of 30 cm, almost no bacteria can be detected. The total number of bacteria increases with the cultural time, and up to the final stage of the culture season, the heterotrophic bacteria and nitrate-reducing bacteria on the surface layer of the sediments increase to 10^6 CFU/g and those of under layer within the depth of 10–20 cm also get to over 10^5 CFU/g, while the vibrio bacteria mostly distribute on the surface layer. The vertical distribution of bacteria numbers correlates with the distribution of organic matter and dissolved oxygen.

Key words: shrimp culture; sediment; heterotrophic bacteria; vibrio bacteria; nitrate-reducing bacteria; vertical distribution

欢迎订阅 2003 年《海洋渔业》

《海洋渔业》是中国水产学会和中国水产科学研究院东海水产研究所主办的中级水产科技期刊。主要刊登海洋渔业管理、远洋渔业、海水养殖与增殖、资源开发与捕捞技术、海洋资源与环境保护、水产品加工与保鲜不着技术等各类文章。

《海洋渔业》杂志为国内外公开发行,国内统一刊号:CN31-1341/S,国际标准刊号:ISSN1004-2490,季刊,大16开48页,逢季中月25日出版。每期定价5.50元,全年22.00元。邮发代号:4-630,全国各地邮局(所)均可订阅,也可直接汇款到编辑部订阅。

编辑部地址:上海市军工路300号,邮编:200090,联系电话:021-65680116,021-65684690-8084。

欢迎订阅 2003 年《河南水产》杂志

《河南水产》杂志是由河南省水产科学研究所主办的科技期刊。设有实用技术、试验研究、经营管理、综述·专论·调研、政策法规等个栏目。主要刊登水产养殖、病害防治、品种选育等实用技术;传播先进科学养鱼知识,介绍新品种、新技术的引进和推广;宣传优秀企业家的成功经验。本刊面向基层,服务于生产和科研,是水产科技工作者学术交流的园地,也是广大渔农的良师益友。欢迎读者踊跃投稿、订阅。本刊同时承办各类广告,使您以最少的付出,获得最大的收益。

本刊为季刊,大16开本,国内统一刊号CN41-1198/S。每期定价3.00元,全年12.00元。读者可通过邮局直接汇款到《河南水产》编辑部,请写清您的地址和邮编。

联系地址:河南省郑州市南阳路北段(老鸡陈)170号附11号,河南省水产科学研究所《河南水产》编辑部,邮编:450044。联系人:朱文锦,联系电话:0371-3988699, E-mail: hnfsi@public2.zz.ha.cn