

军曹鱼肠道及水体异养菌和弧菌的周年变化

王瑞旋¹, 王江勇¹, 徐力文¹, 杨鸿志², 冯娟¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东广州 510300; 2. 深圳市龙岗区水产研究所, 广东深圳 518000)

摘要: 采用总活异养菌 2216E 平板计数法和弧菌 TCBS 平板计数法对广东深圳大鹏养殖军曹鱼 (*Rachycentron canadum* Linnaeus) 养殖水体及鱼肠道细菌进行了周年监测。结果显示, 育苗初期养殖水体异养菌和弧菌密度分别为 $0.63 \times 10^4 \sim 6.2 \times 10^4$ CFU/mL 和 $0.30 \times 10^2 \sim 1.03 \times 10^4$ CFU/mL, 鱼肠道异养菌和弧菌密度分别为 $0.80 \times 10^6 \sim 7.5 \times 10^7$ CFU/g 和 $0 \sim 1.30 \times 10^7$ CFU/g; 网箱养殖监测期间, 养殖水体异养菌和弧菌密度分别为 $4.20 \times 10^3 \sim 5.40 \times 10^5$ CFU/mL 和 $0.70 \times 10^2 \sim 1.14 \times 10^5$ CFU/mL, 鱼肠道异养菌和弧菌密度分别为 $1.50 \times 10^7 \sim 8.78 \times 10^8$ CFU/g 和 $1.00 \times 10^7 \sim 3.50 \times 10^8$ CFU/g。周年监测结果显示, 水体异养菌、弧菌的数量高峰均出现于 8-9 月份; 肠道异养菌及弧菌的数量高峰均出现于 6-7 月份, 分别又在 12 月份和 2 月份出现次高峰, 弧菌变化趋势始终与异养菌一致。对分离得到的 407 株菌鉴定到属并进行多样性分析。结果显示, 育苗期水体以假单胞菌 (*Pseudomonas*)、黄单胞菌 (*Xanthomonas*) 和芽孢杆菌 (*Bacillus*) 为优势菌, 三者约占水体异养菌总数的 70%; 养殖后期, 弧菌 (*Vibrio*) 和发光杆菌 (*Photobacterium*) 的数量逐渐上升并占据一定优势, 其中假单胞菌、黄单胞菌、弧菌和芽孢杆菌常年出现。鱼肠道异养菌以假单胞菌和芽孢杆菌为优势菌, 其次是肠杆菌科 (*Enterbacteriaceae*) 细菌, 也多次检测到弧菌、发光杆菌、气单胞菌 (*Aeromonas*) 和小球菌 (*Micrococcus*) 等。总之, 养殖微生态系统的可持续稳定平衡与系统的种群多样性、群落组成及水质因子等因素相关, 而整个环境生态系统的平衡直接影响到鱼类肠道的细菌生态系统。[中国水产科学, 2008, 15(6): 1 008-1 015]

关键词: 军曹鱼; 异养菌; 弧菌; 肠道; 养殖水体; 细菌多样性

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)06-1008-08

水体异养细菌是环境有机物矿化的主要环节, 是营养物质的再生者。养殖环境收入的 30% 总有机碳来自于水体细菌的分解, 其中只有 20% 转为细菌生产量, 其余 80% 被细菌呼吸后参与物质再循环^[1]。由于养殖水体中的营养物质极为丰富, 造成细菌的数量远超过正常生态环境, 因此细菌在其中扮演的角色更加复杂。大部分异养细菌依然是作为分解者存在, 消耗水体中富营养因子, 维持物质循环。但部分细菌的大量繁殖可威胁到养殖生物的健康, 从而引起疾病的暴发。对养殖生物而言, 细菌性疾病的暴发往往与环境细菌生态平衡出现异常密切相关。环境一旦失去平衡, 病原菌大量繁殖, 加之鱼体免疫力下降, 就可引发疾病^[2-6]。因而养殖环境和鱼体内细菌的数量、种群变动对于细菌性疾病预警有着重要的意义。

本研究选取了中国南海区重要的养殖种类军曹鱼 (*Rachycentron canadum* Linnaeus) 作为研究对象。军曹鱼隶属鲈形目、军曹鱼科、军曹鱼属, 是中国南方海水网箱集约养殖的重要鱼种。军曹鱼通常分布于澳大利亚、南沙群岛、南非及太平洋热带海区的咸水和咸淡水的较广盐性水域中^[7]。其摄食量大, 抢食凶猛, 消化力强, 在网箱养殖中, 养殖周年体质量可达 2~4 kg, 是目前中国沿海网箱养殖鱼类中生长最快的物种^[8]。在养殖过程中, 细菌是造成其病害的主要因素^[9]。本研究对军曹鱼养殖水体及其肠道细菌的组成与分布情况进行周年的监测, 以便了解军曹鱼养殖的微生态系统动态变化及细菌群落的组成特点, 为军曹鱼细菌性疾病的预警及生物防治提供参考依据。

收稿日期: 2007-11-03; 修订日期: 2008-03-27.

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2002AA603012); 广东省科技攻关项目(2003B21502)。

作者简介: 王瑞旋(1979-), 女, 研究实习员, 主要从事海水生物病害研究工作。E-mail: wrxlxw@21cn.com

通讯作者: 冯娟。Tel: 020-89108320; E-mail: juanf@21cn.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

军曹鱼鱼苗于 4-5 月份采自深圳南澳某育苗场, 培育成稚鱼于 6 月中旬转入南澳网箱养殖区养殖。早期鱼苗主要以水体中天然微生物和少量鱼糜为食, 网箱养殖期间以冰鲜杂鱼为食。整个实验期间无病害发生。

1.2 采样时间

实验时间为 2004 年 4 月-2005 年 3 月。育苗初期 (4-5 月份) 每隔 7 d 采样 1 次, 5-7 月份约每隔 15 d 采样 1 次, 后期 (8 月份至实验结束) 约每隔 30 d 采样 1 次。

1.3 水样采集及处理

取养殖水样 500 mL 加适量吐温 80 (1%, 121 °C 灭菌 20 min) 震荡 30 min 后取 1 mL 按 10 倍系列稀释, 在合适的稀释度, 取稀释样品 0.1 mL 涂布于 2216E 培养基和 TCBS 琼脂培养基上, 27 °C 培养 96 h 后, 计算每 mL 水样的菌落生成数 (CFU/mL)。在水样采集的同时测量水温和盐度。

1.4 鱼肠道样品采集与处理

每次取鱼 4~5 尾, 用无菌海水冲洗军曹鱼体表, 解剖后取鱼肠, 共取肠质量 2~3 g, 于匀浆器中加无菌生理盐水进行人工匀浆, 定容至 1.0 mL 后取 0.5 mL 匀浆液按 10 倍系列稀释, 涂布于营养琼脂培养基和 TCBS 琼脂培养基上, 27 °C 培养 96 h 后, 计算每 g 肠组织样品的菌落生成数, 同时测量鱼体长。

1.5 细菌的分离和鉴定

细菌培养 48 h、96 h 后根据菌落形态差异挑取

细菌, 每个样品分离 20~30 株细菌。分离的菌株纯化 2~3 次, 保存于 -80 °C。所有菌株按美国 Oliver 细菌鉴定系统^[10]及相关文献^[11]鉴定到属。鉴定项目包括形态观察、革兰氏染色、鞭毛染色、葡萄糖发酵实验、运动性实验、氧化酶反应、色素产生和触酶反应等。

1.6 细菌多样性分析

分析军曹鱼养殖过程中水体及其肠道微生物多样性, 分别计算 Shannon-Wiener 多样性指数 (H')、丰度指数 (D') 和均匀度指数 (J')^[12]。计算公式如下:

$$H' = -\sum_{i=1}^S P_i \log_2 P_i$$

$$D' = (S-1)/\log_2 N$$

$$J' = H'/\log_2 S$$

式中 P_i 表示 i 属的个数与样品中总个数的比值, S 表示采样点中样品的总种类数, N 表示样品中细菌总数。

使用 SPSS 统计软件进行数据的简单相关分析和偏相关分析等。

2 结果与分析

2.1 鱼体长及水温、盐度

军曹鱼是热带种类, 生长适宜温度为 10~35 °C, 最适生长温度为 25~32 °C, 10 °C 以下摄食减少乃至不食, 3 °C 以下处于冻害边缘; 适宜盐度范围为 8~35, 盐度低于 8 时摄食活动即停止。由表 1 可见, 本实验养殖期间水温保持在军曹鱼可适应范围内, 其中 6-10 月水温较高, 是军曹鱼快速生长的阶段; 周年养殖水体盐度稳定在 30 左右, 也在适宜盐度范围内。

表 1 军曹军鱼体长及养殖水温、盐度的变化
Tab.1 Variation of cobia body length, water temperature and salinity

取样日期 Sampling date	体长/cm Body length	水温/°C Water temperature	盐度 Salinity
2004-04-17	0.8	24.1	30
2004-04-24	—	27.9	30
2004-04-30	2.0	27.0	30
2004-05-09	2.9	26.0	28
2004-05-22	5.3	28.0	30
2004-06-03	7.7	29.0	28
2004-06-18	11.1	30.0	32
2004-07-03	12.7	31.0	32
2004-07-16	13.5	26.5	30
2004-08-18	20.8	31.0	27
2004-09-17	21.4	28.5	30
2004-10-01	26.2	26.4	32
2004-11-01	26.7	24.0	31
2004-12-01	28.3	20.0	30
2005-01-14	30.3	16.0	33
2005-02-25	31.9	16.8	30
2005-03-18	33.0	17.5	33

2.2 水体和鱼肠道异养菌和弧菌的密度变化

由图1可见,育苗初期水体、鱼肠道异养菌及弧菌密度均处于较低水平。实验期间水体中的细菌密度波动较小,异养菌和弧菌的密度分别为

$0.63 \times 10^4 \sim 6.2 \times 10^4$ CFU/mL 和 $0.30 \times 10^2 \sim 1.03 \times 10^4$ CFU/mL; 肠道异养菌和弧菌密度波动较大,分别为 $0.80 \times 10^6 \sim 7.50 \times 10^6$ CFU/g 和 $0 \sim 1.30 \times 10^7$ CFU/g,这可能是由于个体差异造成。

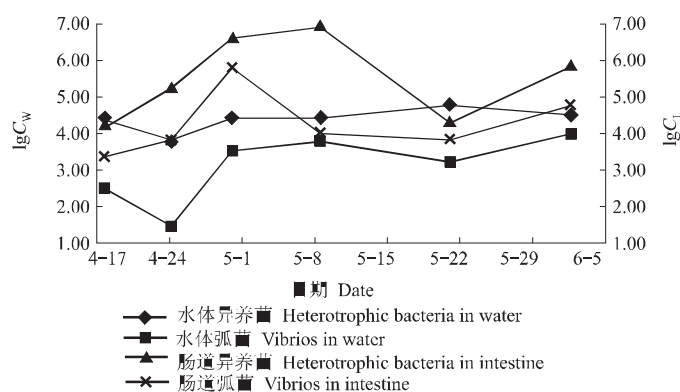


图1 军曹鱼育苗期水体和鱼肠道异养菌和弧菌密度的动态变化

C_w —水体菌密度, CFU/mL; C_t —肠道菌密度, CFU/g.

Fig.1 Quantity variation of heterotrophic bacteria and vibrios in the rearing water and intestine of farmed cobia during early days of breeding
 C_w —Bacterium density in water, CFU/mL; C_t —Bacterium density in intestine, CFU/g.

如图2所示,进入网箱养殖阶段,水体异养菌及弧菌密度分别为 $4.20 \times 10^3 \sim 5.40 \times 10^5$ CFU/mL 和 $0.70 \times 10^2 \sim 1.14 \times 10^5$ CFU/mL,鱼肠道异养菌和弧菌密度分别为 $1.50 \times 10^7 \sim 8.78 \times 10^8$ CFU/g 和 $1.00 \times 10^7 \sim 3.50 \times 10^8$ CFU/g。除了水体弧菌密度稍有回落,其余均在7月初期出现密度最高峰,并于次年2月下旬四者同时出现次高峰。在密度的最高峰时期,水体弧菌密度占所测水体异养菌总数的69.2%,次峰期占40.4%。水体异养菌密度的周年对数值为

6.32 ± 1.86 ,弧菌密度的周年对数值为 5.93 ± 1.83 ,水体异养菌和弧菌密度变化的波动趋势基本一致。肠道异养菌和弧菌的密度比较接近,且波动趋势也基本一致。

总体而言,在各个采样时间异养菌一般较弧菌高1个数量级,但弧菌的变动幅度更大,尤其是在水温较高的8-11月,弧菌处于活跃状态。弧菌病主要在7-8月及10-11月暴发,这段时间正是弧菌数量发生巨大波动同时水温也开始急剧升高或降低的时间。

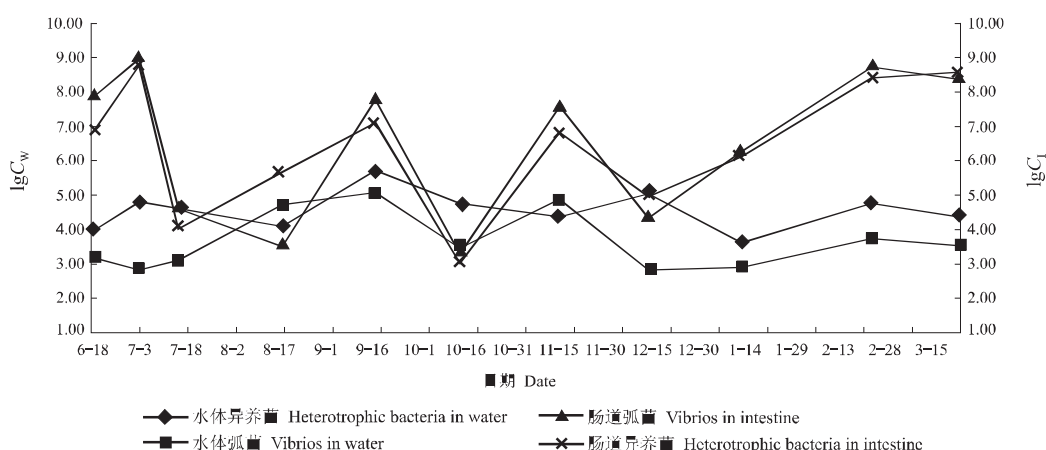


图2 军曹鱼网箱养殖阶段水体和鱼肠道异养菌和弧菌密度的动态变化

C_w —水体菌密度, CFU/mL; C_t —肠道菌密度, CFU/g.

Fig.2 Quantity variation of heterotrophic bacteria and vibrios in rearing water and intestine of farmed cobia during cage culture stage
 C_w —Bacterium density in water, CFU/mL; C_t —Bacterium density in intestine, CFU/g.

2.3 细菌种群演替

周年监测结果显示,水体和肠道革兰氏阴性菌为优势菌群,所占比例最高分别为 93% 和 100%(表 2),革兰氏阳性菌出现的机率较少,但水体中始终有检出。周年监测共分离异养菌 407 株,其中从养殖水体中分离出 273 株,从鱼肠道中分离出 134 株。分离的菌株中革兰氏阴性菌分属 17 个菌属,分别为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、黄单胞菌属 (*Xanthomonas*)、弧菌属 (*Vibrio*)、发光杆菌属 (*Photobacterium*)、小球菌属 (*Micrococcus*)、肠杆菌科的部分属 (*Enterbacteriaceae*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*) 等,其中水体中以假单胞菌属、黄单胞菌属、弧菌属及发光杆菌属为最常见种群。假单胞菌分布比较均匀,出现频率最高,其次是黄单胞菌和弧菌,发光杆菌在育苗约 1 个月之后才出现。肠道菌群中假单胞菌为

常见种群,其次是肠杆菌科的部分属菌种,也多次检测到弧菌、发光杆菌、气单胞菌和小球菌等。

已鉴定的水体和肠道革兰氏阳性菌分属于 6 个菌属,分别为芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 等,其中以芽孢杆菌为较明显的优势菌种,相关性统计分析结果显示,水体菌系与肠道菌系没有明显的联系和相关性 ($P > 0.05$)。

2.4 细菌多样性

如图 3 所示,水体细菌的多样性指数、丰度和均匀度在整个监测周期中波动不大,各个指标均较高,多样性指数最高达 3.34。可见在本研究的监测周期内,整个水体细菌分布较均匀,群落较稳定。鱼肠道细菌多样性较大,最大为 2.99,种属的丰度波动较大,均匀度也有不同程度的波动(图 3),这可能是由于个体差异所致的。

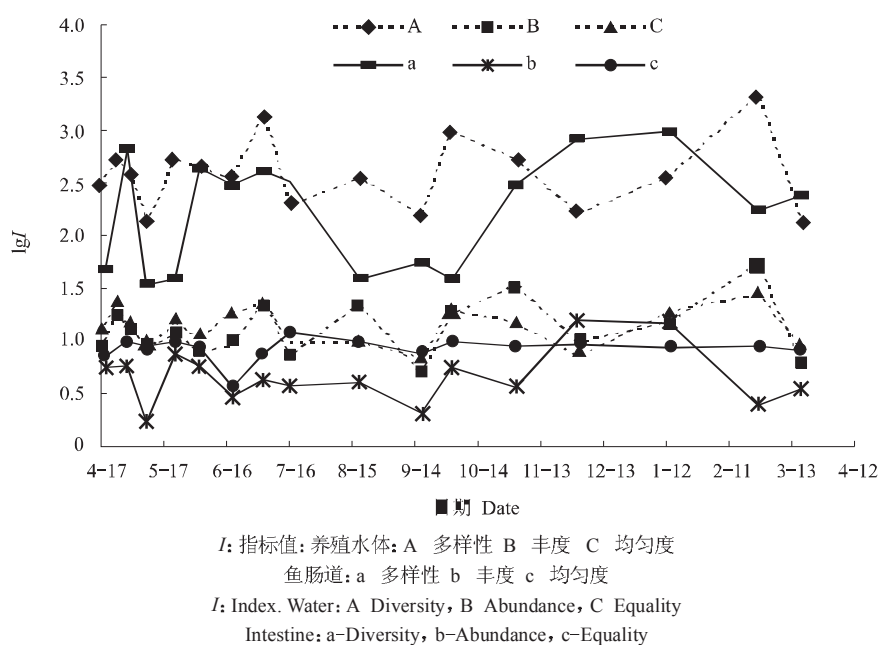


图 3 养殖水体及军曹鱼肠道细菌多样性、丰度、均匀度的变化
Fig. 3 Variation of bacterial diversities, abundances and equalities in the water and intestine of cobia

3 讨论

3.1 水体细菌密度变动和种群演替

细菌是水域生态系统重要的矿化者,同时也作为初级生产力成为部分微型浮游动物的饵料,其活跃的代谢促进了系统中的物质循环和能量流动,维系着一个系统的正常运转。本次监测结果显示,育

苗初期水体及鱼肠道细菌密度均较低。而在网箱养殖期间,水体异养菌密度为 $4.20 \times 10^3 \sim 5.40 \times 10^5$ CFU/mL,比已报道的胶州湾、大亚湾和舟山养殖区的异养菌密度高出 1~2 个数量级,弧菌密度较胶州湾和舟山高 2~3 个数量级^[13-15],同中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 虾池^[16] 异养菌和弧菌数

表 2 养殖水体和军曹鱼肠道细菌类群的组成
Tab.2 Composition of bacterium community in rearing water and intestine of tested cobias

细菌 Bacterium	取样日期 Sampling date																
	2004														2005		
	4-17	4-24	4-30	5-9	5-22	6-3	6-18	7-3	7-16	8-7	9-17	10-1	11-1	12-1	1-14	2-25	3-18
水体 Rearing water																	
革兰氏阴性菌 G ⁻	63	50	71	42	68	80	80	80	92	54	95	80	91	93	93	77	79
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	27	13	29	24	25	30	20	13	42	12	41	13	43	47	36	23	37
黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i>	18	17	14	0	6	0	10	7	0	18	0	7	0	13	8	12	0
弧菌属 <i>Vibrio</i>	0	8	7	6	6	10	20	20	17	6	6	13	10	13	14	9	21
发光杆菌属 <i>Photobacterium</i>	0	0	0	0	25	10	20	20	17	6	24	27	0	0	14	9	0
肠杆菌科 Enterbacteriaceae	0	0	0	0	0	0	10	0	0	6	6	0	0	0	0	0	16
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	0	8	14	0	0	0	0	0	0	0	0	7	14	0	0	5	5
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	18	0	0	0	0	20	0	0	0	6	18	0	0	13	7	9	0
产碱杆菌属 <i>Alcaligenes</i>	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	13	14	7	14	5	0
无色杆菌属 <i>Achromobacter</i>	0	4	7	12	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
莫拉氏菌属 <i>Moraxella</i>	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	5	0	0	5	0
拟杆菌属 <i>Bacterioides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0
海球菌属 <i>Marinococcus</i>	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
海单胞菌属 <i>Marinomonas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0
海洋螺菌属 <i>Oceanospirillum</i>	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	0	0	0	0
革兰氏阳性菌 G ⁺	37	50	29	58	32	20	20	20	9	46	5	20	9	7	7	23	21
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	18	25	21	46	20	0	20	7	0	40	0	7	0	0	0	5	0
棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	10	17	0	0	6	10	0	7	0	0	0	0	3	0	0	5	0
小球菌属 <i>Micrococcus</i>	0	0	7	6	6	0	0	6	9	0	5	7	0	7	0	8	21
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	6	3	0	7	0	0
梭形芽孢杆菌属 <i>Clostridium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	9	8	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
链球菌属 <i>Streptococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
肠道 Intestine																	
革兰氏阴性菌 G ⁻	100	-	44	50	34	50	72	49	100	67	72	56	90	70	77	86	86
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	56	-	16	0	18	0	18	0	15	17	24	31	27	10	21	14	7
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	0	-	0	10	0	10	18	8	14	17	10	5	9	20	14	0	20
黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i>	22	-	0	10	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肠杆菌科 Enterbacteriaceae	0	-	0	0	0	0	0	0	29	33	13	0	18	10	7	29	27
发光杆菌属 <i>Photobacterium</i>	0	-	0	10	0	10	0	7	14	0	0	0	18	20	0	29	20
无色杆菌属 <i>Achromobacter</i>	11	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0
拟杆菌属 <i>Bacterioides</i>	0	-	0	0	0	0	0	27	14	0	25	0	0	0	0	0	0
弧菌属 <i>Vibrio</i>	11	-	14	20	16	20	27	7	0	0	0	0	18	0	7	14	12
产碱杆菌属 <i>Alcaligenes</i>	0	-	14	0	0	0	9	0	14	0	0	20	0	10	7	0	0
革兰氏阳性菌 G ⁺	0	-	56	50	66	50	28	51	0	33	28	44	10	30	23	14	14
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0	-	0	30	33	30	18	30	0	33	15	13	0	10	9	0	7
梭形芽孢杆菌属 <i>Clostridium</i>	0	-	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0
棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	0	-	14	0	33	0	10	7	0	0	0	0	0	0	0	14	0
小球菌属 <i>Micrococcus</i>	0	-	14	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	10	7	0	0
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	0	-	14	10	0	10	0	7	0	0	0	31	10	10	0	0	7
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	0	-	0	10	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
链球菌属 <i>Streptococcus</i>	0	-	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0

量相近,反映了典型的富营养水体的微生物数量特征。同 Steven 等^[17]在德国 Wedden 海调查的结果相同点在于,细菌密度以年中较高,尤其是 7-9 月和 11 月,这正是海区环境中温度、盐度变化较大的季节。

水体中革兰氏阴性菌为优势菌种,这其中假单胞菌、黄单胞菌、弧菌和黄杆菌为周年监测过程中常见菌群。周年监测结果还显示,水体的微生物多样性指数都较高,说明系统相对较稳定。假单胞菌在用 2216E 培养基进行的海水养殖水体细菌调查中,多以优势菌存在^[18-21],该类菌在水体、泥土中广泛存在,是腐生类细菌,具有较强的酶解能力,在环境物质矿化中起重要作用。弧菌是广泛分布在水、海洋生物体表和肠道的菌群,其数量变动同温度有着比较密切的关系,高温是促使其快速繁殖的重要条件。弧菌优势度较高的季节集中在 7 月和 11 月,即海水温度变化较大且处于海水网箱养殖鱼类疾病的高发季节。目前有研究用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 法调查环境中细菌的多样性,不同的是, DGGE 结果多以变形杆菌 I / II / III 型菌为主,由于 DGGE 可调查所有可培养及不可培养的菌类,因而其检测结果与用 2216E 培养基培养的调查结果不同。但用 DGGE 法目前只能鉴定到群、类的水平,尚不能到属,且很难定量。

3.2 肠道细菌的数量变动和种群演替

鱼肠道中微生物主要是作为共生或共栖者存在,肠道内的细菌同宿主的肠道环境相互作用,肠道细菌利用自身的酶系分解肠道内大分子物质,一部分用于自身繁殖,一部分被宿主吸收^[22]。宿主利用各种防御机制将细菌的种类和数量控制在一定的水平,以保证生物体的健康。本实验结果显示,肠道细菌的密度以一定的规律波动,但无明显的增长趋势,其数量始终维持在一个合理的水平。图表显示进入网箱养殖后,肠道菌的数量变化中相邻 2 个月之间的数量相差 3~4 个数量级。

同水体相比,肠道内的 G^+ 性菌的比例较高。总体优势种主要有芽孢杆菌、肠杆菌、假单胞菌、气单胞菌等。肠道菌属的多样性指数和丰度普遍较水体中低,而且波动柔和缓慢。值得注意的是,当鱼苗进入网箱后,肠道细菌的均匀度突然下降,恢复后一直维持在平稳的水平,这也说明了由于鱼肠道环境的相对稳定性,内生菌群会保持一个比较合理的群落形态和比例。

3.3 水体及肠道细菌同军曹鱼养殖病害发生的关系

水生动植物的病原菌都是异养菌,因而异养菌在整个水体生态系中占有重要的地位,其在养殖水体中的数量分布影响水质的好坏和养殖动物的健康,是育苗和养殖过程中最常用的监测指标。如从军曹鱼发病个体分离到的创伤弧菌 (*V. vulnificus*)^[3]、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)^[5]、美人鱼发光杆菌杀鱼亚种 (*Photobacterium damsela subsp. piscicida*)^[23]等都是条件致病的异养菌。在这些异养菌里有相当一部分是病原微生物如弧菌、发光杆菌、假单胞菌和气单胞菌以及非致病微生物(包括有益微生物)等^[18,20]。它们之间相互影响与制约,一类微生物群体的消长将会影响到另一类微生物的数量变化,进而影响到养殖对象的健康^[24]。

有研究表明,芽孢杆菌能够控制主要病原菌如弧菌和发光杆菌的生长^[24]。本次研究与之对应。而监测结果还显示,假单胞菌、黄单胞菌、芽孢杆菌、弧菌和发光杆菌是水体的优势菌群,前 4 个菌属几乎常年存在,发光杆菌从育苗后期就开始出现一直到监测结束都可检测到。整个监测周期内并未出现养殖鱼的发病或死亡,再次证明了弧菌等重要病原菌需要在一定条件下、达到一定的优势度才能体现其致病性。

有报道指出养殖鱼类的肠道细菌数量随着温度的升高而增加^[25-26]。而通过相关分析显示,本研究中水体和肠道所测异养菌总数及水温三者并没有明显的相关性,这很可能与鱼类的营养源有关。在育苗早期以及鱼苗进入网箱养殖的初期,异养菌数量尤其是弧菌数量明显处于较低水平,这是由于育苗期间鱼类以天然饵料为主,进入海区网箱养殖的最初阶段,由于自然海水的营养物质仍比较贫乏,故细菌生长代谢仍比较缓慢。直至投喂大量冰鲜杂鱼后,由于食物残留的逐渐累积及鱼类代谢产物的迅速增加大大利于细菌的生长繁殖,此时水温并不是最重要的影响因子。因此在各种因素综合作用的最佳时间细菌的数量也达到了最高峰。而在整个养殖系统逐渐稳定之后,细菌的数量受水温影响而逐步增长并显现出来,随着后期水温的下降其数量也逐步恢复至较低水平。养殖微生物生态系统的可持续稳定平衡往往与系统的种群多样性、群落组成特点及水质因子等息息相关,而整个环境微生物生态系统的平衡直接影响到鱼类肠道细菌生态系统,可见养殖微生物生态系统的平衡是预防疾病发生的基础。

参考文献:

- [1] 刘国才,李德尚,董双林,等. 对虾养殖围隔生态系统浮游细菌的呼吸与生产[J]. 应用生态学报,2003,14(11): 2 079-2 080.
- [2] 冯斯敏,云金蕊. 蜡状芽孢杆菌引起军曹鱼大批死亡的报告[J]. 中国水产,2000,(8): 39-40.
- [3] 简纪常,吴灶和,陈刚,等. 海水网箱养殖军曹鱼弧菌病原的分离及其特性[J]. 中国兽医学报,2003,23(4): 329-330.
- [4] Liu Ping-Chung, Lin Ji-Yang, Chuang Wen-Hsiao, et al. Isolation and characterization of pathogenic *Vibrio harveyi* (*V. carchariae*) from the farmed marine cobia fish *Rachycentron canadum* L. with gastroenteritis syndrome[J]. World Microbiol Biotechnol, 2004, 20: 495-499.
- [5] Liu Ping-Chung, Lin Ji-Yang, Hsiao Pei-Tze, et al. Isolation and characterization of pathogenic *Vibrio alginolyticus* from diseased cobia *Rachycentron canadum*[J]. J Basic Microbiol, 2004, 44(1): 23-28.
- [6] 王瑞旋,徐力文,冯娟. 海水鱼的菌性疾病病原及其检测、疫苗研究概况[J]. 南方水产,2005,1(6): 72-79.
- [7] 李刘冬. 养殖海鲠肌肉的生化组成[J]. 湛江海洋大学学报, 2001,21(1): 30-34.
- [8] 陈毕生,柯浩,冯娟,等. 军曹鱼的生物学特征及网箱养殖技术[J]. 现代渔业信息,1999,14(9): 13.
- [9] Ku, C C, Lu, C H. Sea cage culture and disease investigation of cobia (*Rachycentron canadum*) in Penghu[J]. Fish Dis Res, 2000,20: 35-46.
- [10] 张士瑾,范晓,马军英. 海洋生物技术原理和应用[M]. 1998,北京:海洋出版社.
- [11] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 2001,北京:科学出版社.
- [12] Wilhm J L. Use of biomass units in Shannon's formula[J]. Ecology, 1968,49(1): 153-156.
- [13] 王秀华,王崇明,李 筠,等. 胶州湾栉孔扇贝大规模死亡的流行病学调查[J]. 水产学报,2002,26(2): 149-151.
- [14] 吴建平,蔡创华,周毅频,等. 大亚湾网箱养殖区异养细菌和弧菌的数量动态[J]. 湛江海洋大学学报,2006,26(3): 21-25.
- [15] 薛超波,王建跃,王世意,等. 大黄鱼养殖网箱内外细菌的数量分布及区系组成[J]. 中国微生态学杂志,2005,17(5): 336-338.
- [16] 李筠,吕艳,李军,等. 苗期中国对虾幼体异养细菌区系及其变化与病害发生的关系[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(6): 1 003-1 007.
- [17] Brinkhoff T, Simon M. Composition of free-living, aggregate-associated and sediments surface-associated bacterial communities in the German Wadden Sea[J]. Aquat Microb Ecol, 2005, 38: 15-30.
- [18] 冯娟,李筠,李军,等. 中国对虾育苗池水细菌生态学的研究[A]. 对虾苗期细菌病害的诊断与控制[C]. 北京:海洋出版社,1999.
- [19] 金珊,薛超波,王国良,等. 缢蛏滩涂养殖环境的细菌群落组成及分析[J]. 应用生态学报,2005,6(7): 1 380-1 382.
- [20] 刘广锋,徐力文,黄建荣,等. 杂色鲍养殖环境中致病性弧菌分布调查[J]. 南方水产,2005,1(3): 60-64.
- [21] 李筠,生菊,纪伟尚,等. 海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 附着基异养细菌区系初探[J]. 青岛海洋大学学报,2001,31(1): 69-74.
- [22] Liu Ping-Chung, Lin Ji-Yang, Lee Kuo-Kau. Virulence of *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* in cultured cobia *Rachycentron canadum*[J]. J Basic Microbiol, 2003, 43(6): 499-507.
- [23] Shiau C Y. Chemical and nutrient components of cultured cobia (*Rachycentron canadum*) project Report of Taiwan Fisheries Bureau[J]. Taiwan Fisheries Bureau. 1999: 24.
- [24] 林亮,李卓佳,郭志勋,等. 施用芽孢杆菌对虾池底泥细菌群落的影响[J]. 生态学杂志,2005,24(1): 26-29.
- [25] Fernandes C F, Flick G J, Silva J L, et al. Influence of processing schemes on indicative bacteria and quality of fresh aquacultured catfish fillets[J]. J Food Prot, 1997, 60: 54-58.
- [26] Hossain M M, Uddin M N, Islam M N, et al. Study on the intestinal bacteria of *Labeo rohita* (Ham.) [J]. Bangladesh J Fish Res, 1999, 3: 63-66.

Annual changes of heterotrophic bacteria and vibrios in intestine and rearing water of maricultured cobia, *Rachycentron canadum* Linnaeus

WANG Rui-xuan¹, WANG Jiang-yong¹, XU Li-wen¹, YANG Hong-zhi², FENG Juan¹

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, China Academy of Fishery Science; Guangzhou, 510300; 2. Division of Agriculture of longgang district, Shenzhen, 518000)

Abstract Heterotrophic bacteria and vibrios in intestine and rearing water of cobia farmed in Dapeng County, Shenzhen, Guangdong Province, were analyzed annually by 2216E plate smearing and TCBS smearing, respectively. Quantities of heterotrophic bacteria and vibrios during early days of breeding ranged from 0.63×10^4 – 6.2×10^4 CFU/mL and 0.30×10^2 – 1.03×10^4 CFU/mL in the rearing water, and 0.80×10^6 – 0.75×10^7 CFU/g and 0 – 1.30×10^7 CFU/g in intestine of the cobia, respectively, in early stage of development. Quantities of heterotrophic bacteria and vibrios were very low at very beginning. When juvenile cobia cultured in the cage, quantities of heterotrophic bacteria and vibrios ranged from 4.20×10^3 – 5.40×10^6 CFU/mL and 0.70×10^2 – 0.14×10^5 CFU/mL in the seawater, and 1.50×10^7 – 8.78×10^8 CFU/g and 1.00×10^7 – 3.50×10^8 CFU/g in intestine of the cobia, respectively. Quantities of heterotrophic bacteria and vibrios in cage-cultured water and intestine of cobia increased rapidly and soon reached their peak numbers. Highest value appeared in September for heterotrophic bacteria and vibrios in the water and July in intestine of cobia. 407 bacterial strains were isolated and identified. *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and *Bacillus* were the most dominant species at early stage in the seawater (prevalence of the three genera 70%), and followed by the *Vibrio* and *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, and *Bacillus* presenting in the water throughout the whole year. Heterotrophic bacteria in intestine of cobia showed well-distributed. *Pseudomonas* and *Bacillus* were the most dominant species, and followed by Enterbacteriaceae. *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas* and *Micrococcus* were also detected from the intestine of cobia in annual monitor. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (6): 1 008–1 015]

Key words: *Rachycentron canadum* Linnaeus; heterotrophic bacteria; vibrios; intestine; farmed seawater; bacterial diversity

Corresponding author: FENG Juan. E-mail: juanf@21cn.com