

有机污染提高双壳贝类对弧菌易感性的研究*

梁玉波 吴之庆 张喜昌 孙育红

(国家海洋环境监测中心, 大连 116023)

陈 侠 邓 欢

(辽宁省海洋水产研究所, 大连 116023)

摘 要 在实验室条件下, 通过投饵不换水所形成的有机污染来研究有机污染提高双壳贝类对弧菌的易感性。结果表明, 有机污染时间越高, 弧菌的浓度越高; 弧菌的数量与有机污染环境中氨及无机氮(TIN)呈显著的正相关, 与亚硝酸盐($\text{NO}_2^- - \text{N}$)和总有机碳(TOC)有比较明显的正相关; 试验贝类死亡与弧菌浓度呈正相关, 它们对弧菌的易感性依次为栉孔扇贝、虾夷扇贝、太平洋牡蛎、海湾扇贝、紫贻贝。

关键词 双壳贝类, 死亡率, 有机污染, 弧菌, 易感性

有机污染是影响我国海水养殖业发展的最严重的环境问题, 它主要来自陆源有机污染和养殖自身污染。它即可直接危害到养殖生物, 又可促进病原生物的大量繁殖, 因而导致养殖生物病害的大规模流行^[1,2]。但对于海水养殖贝类, 这一问题缺乏深入研究。本文以我国北方养殖的栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)、虾夷扇贝(*Pecten yessoensis*)、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)、太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)和紫贻贝(*Mytilus edulis*) 5种双壳贝类为对象, 就有机污染与最常见的海水动物病原生物弧菌^[3]对这些贝类的易感性进行了研究, 以期对我国海水贝类养殖病害的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1998年9月, 从大连市金州区大李家乡浅海贝类养殖筏上采集达到1龄和2龄商品规格的栉孔扇贝、虾夷扇贝、海湾扇贝、太平洋牡蛎、紫贻贝。室温条件下, 于实验室暂养1周, 再进行实验。实验所用均为砂滤海水。

1.2 实验方法

1.2.1 室内生态模拟实验 我国北方大多数浅海贝类养殖海域中, 这5种双壳贝类常在同一海域进行养殖, 为了真实地模拟养殖自然生态过程, 将这些贝类一起放到试验缸中进行试验, 并等量充气。

在各试验缸中, 放置栉孔扇贝、虾夷扇贝、海湾扇贝、太平洋牡蛎、紫贻贝, 其重量比例是1:1:0.8:1.2:0.2; 在试验缸1放置这5种贝类总量为5.85 kg, 按1:1.4:1.9:2.3:2.7比例在其它试验缸中分别放入实验贝类。参照实验贝类生物量比例, 确定投喂小球藻(*Chlorella* spp)和螺旋藻(*Spirulina* spp)粉数量, 早晚各投喂1次。各实验缸水体为2 m³, 恒温20℃。1[#]试验缸为对照缸, 每天进行全量换水, 其它试验缸不换水。每天早晚检查试验贝类死亡情况, 每2 d测定溶解氧、pH、亚硝酸盐、硝酸盐、氨氮、总有机碳。每2~4 d测定各试验缸水中弧菌数量。在同一条件下, 进行重复试验。

1.2.2 试验缸水环境指标测定方法 溶解氧用溶解氧测定仪(YSI MODEL 58)测定, pH用酸度计(pHS-3C型)测定, 总有机碳用总有机碳测定仪(TOC-5000)测定, 氨氮用靛酚蓝分光光度法测定, 亚硝酸盐用萘乙二胺分光光度法测定, 硝酸盐用锌

收稿日期: 1998-08-10

* 国家“九五”攻关(96-922-01-04-03)和辽宁省海洋水产厅资助项目

镉还原法测定^[4]。

1.2.3 弧菌计算方法 先制备 BTB、TCBS 和 PCA 培养基,然后采用“MPN”法以 3 个不同稀释度的水样接种于 BTB 培养液的试管中,37℃ 培养 18 h 后,把阳性管中的菌液于 TCBS 平板上划线分离,平板置于 37℃ 培养 18 h,将出现的绿色、蓝绿色和黄色菌落接种于 PCA 斜面上保存。分离菌株首先经革兰氏染色、氧化酶、运动性和 O/129 弧菌素敏感实验等符合弧菌特征的菌株,视为来源的“MPN”管数,查“MPN”表进行计数^[5]

1.2.4 数据处理 用 Microsofty Excel 97 进行处理数据和绘制图形,用 Statistica Version 5.0 进行数据的相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 有机污染持续时间与弧菌数量的关系

在试验前 16 d,各试验缸弧菌浓度差别不显著,并且均未超过 $50 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ 。对照缸 1# 弧菌平均浓度均高于其它试验缸(图 1a)。弧菌是海洋生态系统中细菌群落中的重要种群之一,而细菌又是海产双壳类食物的重要组成部分^[6]。由于对照缸每天换水,并加入含有弧菌等自然饵料的海水,而其它试验缸不换水,双壳贝类能够滤食一些弧菌,所以从总体水平来看,换水的对照缸比不换水的试验缸中的弧菌浓度大。因此,在一定范围内,这些双壳贝类对受弧菌污染的海水具有一定的净化作用,同时也说明受到弧菌感染的这几种贝类,经过一段时间充气不换水暂养,弧菌数量可降至食用水平。

20 d 以后,随着各试验缸中有机污染的不断加重,弧菌浓度也明显增加($P < 0.0012$),均超过 $100 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$,其中试验缸 3# 的弧菌浓度最高,到 28 d 时,达到 $1300 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$,而对照缸 1# 的浓度最低,为 $180 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ (图 1b)。

2.2 有机污染物浓度与弧菌数量的关系

在本次试验中,有机污染来源于贝类所剩饵料及其粪便,它能产生氨、亚硝酸盐等无机氮类有害物质,以及有机碳化合物等。试验缸中弧菌的浓度与有机污染产物氨氮含量呈极其明显的正相关($P < 0.0000001$,表 1,图 2a),与无机氮呈显著的正相关

($P < 0.00024$,表 1,图 2b),与亚硝酸盐和总有机碳有比较明显相关性($P < 0.019$, $P < 0.017$,表 1,图 2c,2d),与 pH 和溶解氧,有一定的负相关性($P < 0.58$,表 1)。这说明有机污染能促进弧菌的繁殖。

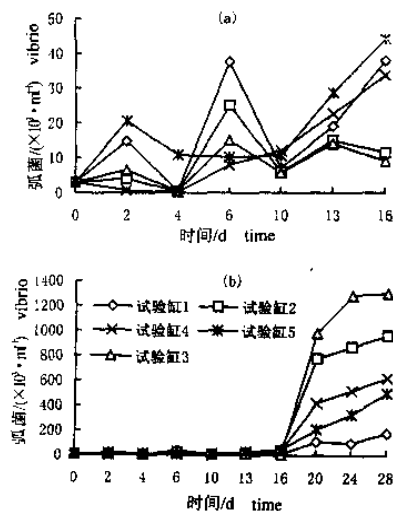


图 1 有机污染持续时间与弧菌数量关系

Fig. 1 Relationship between organic polluting duration and vibrio quantity

2.3 弧菌数量与双壳贝类死亡的相关性

在试验条件下,各试验缸双壳贝类平均死亡率与弧菌浓度均呈正相关(表 1)。栉孔扇贝死亡率的相关性最高($P < 0.023$),虾夷扇贝死亡率相关性次之($P < 0.027$),太平洋牡蛎死亡率的相关性再次之($P < 0.076$),海湾扇贝死亡率的相关性最小($P < 0.27$,表 1 和图 3)。在试验的 28 d 时间内,试验缸 1#~4# 中紫贻贝的死亡率为零,试验缸 5# 的死亡率为 6.6%,这说明紫贻贝对弧菌有一定的抵抗能力。由此可见,这几种双壳贝类对弧菌的易感性依次为栉孔扇贝、虾夷扇贝、太平洋牡蛎、海湾扇贝、紫贻贝,这与它们的生态习性是基本一致的^[7,8]。所以,栉孔扇贝和虾夷扇贝应在水质良好的环境中进行养殖,太平洋牡蛎、海湾扇贝和紫贻贝有一定的耐污能力,可在受到一定程度有机污染的海域中进行养殖,并能起到净化环境的作用。

表 1 有机污染和弧菌浓度与双壳贝类死亡之间相关性

Table 1 Correlation of organic pollution and vibrio density to bivalve mortality

n = 70

项目 item	相关系数 correlation coefficient									
	DO	pH	NO ₂ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	TIN	TOC	栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>	虾夷扇贝 <i>P. yessoensis</i>	海湾扇贝 <i>A. irradians</i>	太平洋牡蛎 <i>C. gigas</i>
DO	1.00	0.65	-0.48	-0.09	-0.30	-0.17	-0.33	-0.54	-0.02	-0.16
pH	0.65	1.00	-0.47	-0.16	-0.34	-0.07	-0.43	-0.31	-0.19	-0.26
NO ₂ ⁻ -N	-0.48	-0.47	1.00	0.52	0.72	0.16	0.56	0.54	0.09	0.09
氨氮 ammonia-N	-0.09	-0.16	0.52	1.00	0.68	0.11	0.53	0.27	0.39	0.42
TiN	-0.30	-0.34	0.72	0.68	1.00	0.14	0.47	0.28	0.23	0.25
TOC	-0.17	-0.07	0.16	0.11	0.14	1.00	0.43	0.39	0.37	0.31
弧菌 vibro	-0.07	-0.07	0.29	0.67	0.42	0.18	0.27	0.23	0.13	0.21

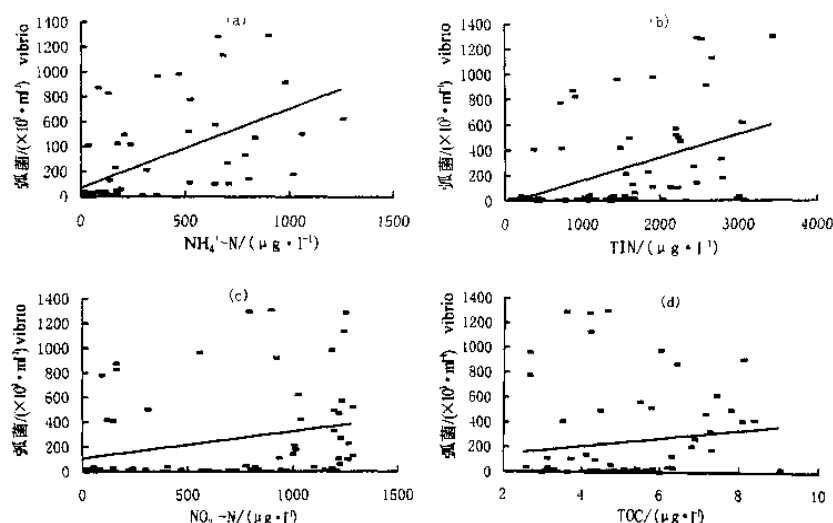


图 2 有机污染浓度与弧菌数量的关系

Fig. 2 Relationship between organic pollutant density and vibrio quantity

2.4 有机污染提高双壳贝类对弧菌易感性的生态机理

由图 4 可见, 试验缸 1[#]、5[#] 中弧菌数量较低, 平均浓度分别是 $4.8 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ 、 $11.6 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$; 试验缸 2[#]、4[#] 中弧菌数量较高, 分别是 $26.9 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ 、 $16.3 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$; 试验缸 3[#] 中弧菌数量最高, 为 $36.1 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ 。从试验缸 1[#] 至 3[#], 随着试验贝类生物量的增加, 弧菌数量也增加, 试验贝类死亡率升高。这说明在本试验生物量范围内, 有机污染越严重, 弧菌的数量就越多, 试验贝类的死亡也越严重, 也就是

有机污染的加剧和弧菌的增多, 共同导致了贝类的死亡, 这与多元数理统计的结果(表 1)是一致的。

然而, 从试验缸 3[#] 至 5[#], 随着试验贝类生物量的增加, 弧菌数量却减少, 而试验贝类死亡率升高(图 4)。这是由于在试验的前 16 d, 试验贝类生物量增大的试验缸, 投喂的饵料多, 造成的有机污染严重, 除了试验缸 1[#] 受换水的影响之外, 试验缸 4[#] 和 5[#] 中弧菌数量明显高于试验缸 2[#] 和 3[#] ($P < 0.01$, 图 1a), 结果导致环境敏感生物栉孔扇贝、虾夷扇贝等大批量死亡; 至试验 16 d 以后, 随着有机污染的

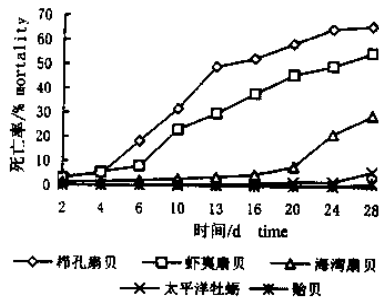


图3 试验贝类的死亡率

Fig.3 Bivalve mortality

加重,弧菌的数量也在增加,但由于试验缸4[#]和5[#]中耐污试验贝类太平洋牡蛎和紫贻贝的生物量较大,并能将水环境中的一些弧菌滤食掉,结果导致生物量大的试验缸4[#]和5[#]中的弧菌浓度小于生物量小的试验缸2[#]和3[#](图1b)。这说明在多种养殖贝类生态系统中,耐污性贝类可滤食一些弧菌而减少其危害。

参 考 文 献

- 1 Chu, Fu-Lin E. Laboratory investigations of susceptibility, infectivity, and transmission of *Perkinsus marinus* in oyster. Journal of shellfish research. 1996, 15(1):57-66

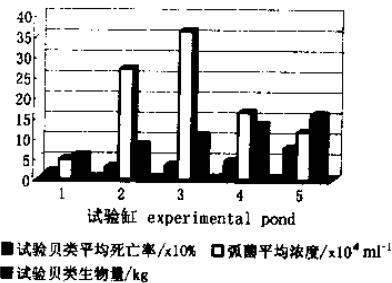


图4 双壳贝类死亡与弧菌和试验生物量关系

Fig.4 The relationship of bivalve mortality with vibrio density and experimental biomass

- 2 于占国. 异养细菌与虾病关系的研究. 海洋学报, 1995, 3:85-91
- 3 Bower S M, Mc Gladdery et al. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish. Annual review of fish diseases, 1994, 4:1-199
- 4 国家海洋局主编. 海洋监测规范. 北京:海洋出版社, 1991
- 5 倪纯治, 林燕顺, 周宗澄, 等. 大亚湾核电站附近海域弧菌的生态. 大亚湾海洋生态文集(II), 北京:海洋出版社. 1990. 442-450
- 6 Anthony J S H, B L Bayne. Nutrition of marine mussels: factors influencing the utilization of protein and energy. Aquaculture, 1991, 94: 177-196
- 7 张玺, 齐钟彦, 李洁民. 栉孔扇贝的繁殖与生长. 动物学报, 1995, 8(2):235-253
- 8 张福绥, 何义朝, 等. 虾夷扇贝的引种、育苗及试养. 海洋科学, 1984, 35(5):38-45

A study on organic pollution enhancing susceptibility of bivalve to vibrio

Liang Yubo Wu Zhiqing Zhang Xichang Sun Yuhong Chen Qiu

(National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023)

Deng Huan

(Liaoning Oceanic Fisheries Institute, Dalian 116023)

Abstract Organic pollution enhancing susceptibility of the bivalve to vibrio was studied by providing food and unexchanging water to cause organic pollution in the test ponds in the laboratory. The results indicate that the polluted period was longer, the vibrio quantity was higher; the vibrio density was extremely positively correlative to ammonia-N and TIN, quite positively correlative to NO₂⁻-N and TOC in the test ponds; the tested bivalve mortality was positively correlative to the vibrio density, and the susceptible order of the bivalve to vibrio was *Chlamys farreri*, *Pecten yessoensis*, *Argopecten irradians*, *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis*.

Key words bivalve, mortality, organic pollution, vibrio, susceptibility