凡纳滨对虾高位池细菌数量变化及其与水环境因子的关系

申玉春^{1,2}, 熊邦喜¹, 叶富良², 阮芳²

(1.华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070; 2.广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要: 对高位池细菌数量变化及其与水环境因子的关系进行了研究。结果表明, 试验虾池水层细菌总数变化在 $2.31 \times 10^6 \sim 87.2 \times 10^6$ cfu/mL 之间, 平均为 29.72×10^6 cfu/mL。异氧菌数变化在 $0.48 \times 10^4 \sim 61.2 \times 10^4$ cfu/mL 之间, 平均为 12.18×10^4 cfu/mL。水层中细菌的水平和水层分布有一定的差异, 但不十分显著, 水层中细菌数量有明显的昼夜变化。水层细菌数量与水温、COD 值之间呈显著的正相关, 而与浮游植物生物量之间无明显的相关性。适合于虾池细菌生长的 pH 值 (9.2) 偏碱性。

关键词: 细菌; 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*); 高位池

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096 (2006) 07-0033-05

细菌在虾池的物质循环和能量流动中起着巨大的作用, 一方面有益细菌分解有机质降低虾池有机负荷, 同时为浮游植物提供大量的无机营养元素, 另一方面病原性细菌会引起对虾病害暴发流行。因此, 细菌对水环境的作用越来越受到人们的重视, 研究对虾养殖池中细菌的动态和变化有十分重要的意义。关于虾池水环境中细菌的研究, 仅见刘国才^[1, 2]研究了对虾池围隔生态系细菌的动态变化, 郭平^[3]、高尚德^[4]、何曙阳^[5]等分别对中国明对虾养成池和育苗池细菌的动态进行了探讨。而对于凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 新型高位池水环境中的细菌动态研究未见报道。

1 材料和方法

1.1 试验虾池

试验虾池位于湛江市东海岛, 混凝土结构高位养虾池 4 个, 3-1 池和 4-1 池面积为 0.13 ha, 池深 1.6 m, 5-3 池和 7-3 池面积为 0.67 ha, 池深 1.8 m。2002 年 3 月 16~17 日分别放养体长 0.8~1.0 cm 的凡纳滨对虾苗, 平均放养密度 150 万尾/ha。养殖全过程投喂全价对虾配合饲料。在实验期间每月中旬测定虾池的水温、COD 值及浮游生物量。

1.2 细菌数量及其分布

每月中旬采集试验虾池中层水样测定其总菌数和异养菌数。垂直分布分别采表层、底层 (分别距水

面及水底 20 cm 处) 水样, 每 4 h 采样一次, 同时观察其昼夜变化。水平分布在虾池四角和中心分别设采样点。

1.3 pH 对细菌生长的影响

取滤除浮游生物的虾池水样, 分别置于 7 个 100 mL 的烧杯中, 用氢氧化钠和盐酸调节 pH 分别为 5.2, 6.2, 7.2, 8.2, 9.2, 10.2, 11.2 等 7 个梯度。各取 2 mL 于灭菌试管中 (每个梯度 3 支), 25℃ 下培养, 12 h 后计数细菌数量。

1.4 细菌定量方法

总菌数测定: 取水样 1 mL, 置于灭菌试管中, 水浴加热 5 min, 待自然冷却后, 加入 0.1 mL 结晶紫染色 4 h, 最后加入 12% 的明胶 1.9 mL, 摇匀。将上述处理过的水样取一定量滴入血球计数板内, 加上盖片, 轻压使体积恒定, 待明胶凝固后用油镜计数细菌数量。异氧菌定量: 采用平皿计数法。

收稿日期: 2003-09-22; 修回日期: 2003-12-18

作者简介: 申玉春 (1964-), 男, 内蒙古赤峰人, 副教授, 博士, 从事渔业环境与健康养殖方面的教学与科研工作, 电话: 0759-2362514, E-mail: Shenyuchun@163.com; 熊邦喜, 通讯作者, 电话: 027-87282113, E-mail: Bangxix8@mail.hzau.edu.cn

2 结果与讨论

2.1 虾池细菌数量及其分布

2.1.1 细菌总数

试验虾池细菌总数变化在 $2.31 \times 10^6 \sim 87.2 \times 10^6$ cfu/mL 之间, 平均为 29.72×10^6 cfu/mL (图 1, 表 2)。各试验虾池水层中细菌数量均呈现较大的波动, 但没有明显的规律性。4 个虾池细菌总数的平均值差异不大, 最低的是 3-1 池, 为 25.36×10^6 cfu/mL; 最高的是 7-3 池, 为 35.75×10^6 cfu/mL。虾池细菌总数的波动与虾池水温、浮游生物、有机质及水体营养盐状况密切相关, 是虾池物理、化学和生物因子综合作用的结果。与海洋、湖泊、水库等自然水体比较, 虾池是人工控制的小生态环境系统, 系统内部生物群落生物量高、有机物负荷大, 决定了虾池水体物理、化学和生物因子关系更为复杂, 且经常处于不断变化之中。由于细菌是典型的基质限制性生物, 个体微小, 繁殖快, 生命周期短, 必然对处于经常变动之中的虾池物理、化学、生物因子产生快速反应, 造成细菌数量有较大的波动, 而很难呈现明显的规律性。

图 1 养殖期间虾池水层细菌总数变化情况

Fig.1 The variations of total number of bacteria in different water layers of the prawn ponds

2.1.2 异氧菌数

虾池水层异氧菌数变化在 $0.48 \times 10^4 \sim 61.2 \times 10^4$ cfu/mL 之间, 平均为 12.18×10^4 cfu/mL (图 2、表 2)。各试验虾池总的变化趋势是养殖前期和中期水层中异氧菌数相对较少(5-3 池在 5 月 19 日达到 21.7×10^4

cfu/mL, 有所不同), 后期数量较大。这可能与养殖后期水层中有机质含量逐渐升高有关。

图 2 不同时间养殖虾池水层的异氧菌数

Fig.2 The variations of the total number of heterotrophic bacteria in different water layers of the prawn ponds

2.1.3 虾池细菌的水层分布和昼夜变化

表、底水层的细菌数有明显的昼夜变化, 表现为下午 5:00 时细菌数量最多, 以后逐渐减少, 到午夜或凌晨(1:00 时或 5:00 时)细菌数量最少(图 3)。

图 3 虾池水层细菌的昼夜变化

Fig.3 Diurnal variations of total number of bacteria in different water layers of the prawn ponds

表、底水层比较, 底层水细菌总数明显高于表层水中细菌总数, 这种变化规律受水温、水体的混合作用及

浮游生物分布的影响。在对虾养殖生产过程中,死亡的养殖生物和浮游生物残体、残饵及粪便等不断向底层沉积,造成底泥表面有机物积累,积累的有机物又在虾、底栖动物及经常的水交换影响下再悬浮,这无疑为底层细菌繁殖创造了极好的营养条件,使得水底层细菌密度增加并明显超过表水层。此外,浮游动物主要分布在中上层,表层水中的细菌会因被浮游动物摄食,而数量相对减少。这与 Niewolak 和刘国才对水层中细菌分布的研究结果是一致的^[2]。

2.1.4 虾池细菌的水平分布

水层中细菌数量除随时间变动外,同一虾池中不同采样点也有一定的差别,说明了面积较大的养殖虾池细菌密度在水平分布上的不均一性,但相差并不十分明显(表 1)。这与我们 1995 年调查养鱼池细菌分布的结果十分相似,即无风水层中细菌分布是均一的,有风时下风岸细菌数量高于上风岸。Palmer1976 年研究认为水生细菌在水平分布上呈“补丁式”,即随机的群体分布。

表 1 虾池表层细菌的水平分布

Tab. 1 The variations of bacterial number in the superficial water stratum of the prawn ponds

虾池号	采样点				
	1	2	3	4	5
7-3	52.1	32.8	57.1	46.9	66.5
5-3	16.8	22.7	15.6	28.1	22.4

2.2 虾池细菌数量与水质环境因子的关系

2.2.1 虾池 pH 对细菌数量的影响

从图 4 中可以看出, pH 在 5.2~9.2 之间细菌数量较原初的 11×10^6 cfu/mL 都有所增加,且 pH 越高增加的量越大。其中 pH 为 5.2 时,细菌数量增加数最少,说明 pH 为 5.2 时,虾池细菌可以生存,但繁殖受到了抑制。当 pH 为 9.2 时,细菌数量增加到最高值,表明虾池细菌生长的最适 pH 环境为碱性,这和对虾养殖要求在偏碱性水体中生长最好是一致的。pH 为 11.2 时细菌数量较原初急剧减少,说明虾池细菌在 pH 为 11 以上的水体中很难生存。

2.2.2 虾池水温与细菌数量的关系

虾池水温与细菌数量的关系见表 2。试验虾池水温与细菌数量之间呈显著的正相关关系,与总菌数(r

$= 0.425, P < 0.05$),与异氧菌数($r = 0.705, P < 0.01$)。随着水温的升高细菌增殖速度加快,这与室内单因子细菌培养试验的结果较为一致,即水温与细菌数量生长量呈极显著的正相关关系,细菌生长在 15 和 35 形成两个增殖高峰,而且在高温时增殖速度更快^[6]。在对虾养殖生产中,放苗一般是在 3 月中旬,此时水温和气温都比较低,为了保持水温,大多采取养殖前期不换水或逐渐加水的生产措施。养殖池底泥中的细菌随着温度的上升,逐渐繁衍、积累,使水层中细菌量逐渐增加。养殖中期即 4~5 月份细菌数量有上升较快的趋势。养殖后期即 6~7 月份,水温升高加剧,已升高到适宜细菌繁殖的最佳状态,因此细菌繁殖速度快,水中细菌量达到全年的最高值。

图 4 不同 pH 条件下细菌生长情况

Fig.4 Growth of bacteria corresponding to different pH levels

2.2.3 虾池 COD 对细菌数量的影响

虾池 COD 对细菌数量的影响见表 2。虾池 COD 值与细菌数量间呈显著的正相关关系,与总菌数和异氧菌数相关系数分别为 0.418 ($P < 0.05$) 和 0.617 ($P < 0.01$)。众所周知,细菌是有机物的分解者,除少数自养菌外,绝大多数细菌都要以有机物作为生命活动的物质基础。而 COD 值是水体中有机物含量的综合反应。因而细菌的数量和生长量必然与 COD 值密切相关,对于异养菌而言就更为显著。

2.2.4 虾池浮游植物与细菌数量的关系

虾池浮游植物与细菌数量的关系见表 2。虾池浮游植物与细菌数量相关性不十分明显,与总菌数和异氧菌数相关系数分别为 0.292 ($P > 0.01$) 和 0.309 (P

> 0.05)。这与包文仲^[7]对淡水鱼池浮游生物与细菌数的研究结果是一致的。而南春华^[8]认为浮游植物生物量对细菌有一定的影响,浮游植物高峰时可分泌杀菌物质。Riquelme^[9]发现硼酸硅藻的胞外分泌物选择性地促进或抑制细菌生长。铃木聪^[10]指出细聚小球蓝藻促进鳗弧菌增殖而加重了该菌对香鱼的感染程度。而中山大树^[11]发现浮游生物的存在促进鱼类肠道细菌在海水中的消亡。Kimura^[12]认为细菌的存在对一种引起赤潮的金藻的生长是必需的,并指出细菌释放的类维生素物质可能是藻类增殖的促进剂。我们认为细菌

与浮游植物的关系可能有如下三种情况:一是浮游植物的胞外分泌物及死亡碎片可作为营养源促进细菌的生长;二是浮游植物的胞外分泌物及分解产物直接刺激细菌生长;三是这些分泌物和死亡分解产物抑制细菌的生长和增殖。即随浮游植物和细菌种类不同,二者之间的关系既可以是相互促进,也可能是相互抑制。这种作用的结果还会受水质理化因子的影响,因此浮游植物生物量和细菌数量之间很难表现出简单的线性关系。

表 2 虾池细菌数量及其主要水质指标

Tab. 2 Number of bacteria and their main water quality indexes in the prawn ponds

日期 (月-日)	虾池号	水温 ()	COD (mg/L)	浮游植物 (mg/L)	浮游动物 (mg/L)	细菌总数 ($\times 10^6$ cfu/mL)	异养菌数 ($\times 10^4$ cfu/mL)
03-15	3-1	24	3.52	2.15	2.52	3.48	4.21
	4-1	24	3.58	3.97	4.38	2.31	2.42
	5-3	24	4.26	2.40	3.76	15.3	3.64
	7-3	24	3.87	3.28	2.18	35.2	0.48
04-15	3-1	26.7	7.25	32.11	0.45	6.8	3.16
	4-1	26.7	7.67	26.15	2.43	12.3	2.54
	5-3	26.7	9.21	9.71	1.12	45.9	1.18
	7-3	26.7	8.76	19.63	0.81	87.2	1.24
05-20	3-1	27.1	10.14	26.41	2.13	42.3	3.31
	4-1	27.1	9.77	17.32	1.25	6.7	5.54
	5-3	27.1	11.28	34.65	3.42	12.6	21.7
	7-3	27.1	11.44	52.59	2.98	24.8	8.23
06-15	3-1	28.5	10.24	64.51	3.25	15.9	12.1
	4-1	28.5	12.81	29.18	4.12	25.6	8.94
	5-3	28.5	11.11	54.57	5.24	56.3	12.5
	7-3	28.5	10.58	38.15	6.11	8.94	24.7
07-15	3-1	31.5	13.42	83.24	5.12	58.34	12.3
	4-1	31.5	13.61	52.47	5.77	68.7	21.4
	5-3	31.5	14.58	16.49	6.34	43.14	32.8
	7-3	31.5	13.41	39.17	4.19	22.6	61.2
平均		27.6	9.53	30.41	3.38	29.72	12.18

2.2.5 虾池浮游动物与细菌数量的关系

虾池浮游动物与细菌数量的关系见表 2。浮游动

物与总菌数无明显的相关性 ($r = 0.10, P > 0.05$), 与异养菌数相关性较为显著 ($r = 0.561, P < 0.01$)。表

明异养细菌数量越多,浮游动物的生长越好。在池塘中,浮游动物与细菌之间存在着摄食与被摄食的关系。细菌含有丰富的维生素和蛋白质等营养成分,而且大小适口易被浮游动物摄食^[13]。Wright^[14]对河口水体研究表明,浮游动物对细菌的摄食量等于或高于细菌的生产量。刘国才^[1]对虾池围隔生态系研究也得出相似的结论,小型浮游动物对细菌的摄食作用不足以引起细菌生物量的降低。浮游动物的摄食压力反而促进了细菌的生长和繁殖,加之细菌体积小,繁殖快,群体数量大,因而细菌的数量不会因浮游动物的摄食而下降。二者之间的数量关系主要决定于浮游动物的种类和虾池细菌生长繁殖的环境条件,而这些因素是经常变化的,因此浮游动物和细菌之间的定量关系也是不稳定的。

参考文献:

- [1] 刘国才,李德尚,董双林.对虾养殖围隔生态系浮游动物对细菌的摄食作用[J].黄渤海海洋,2000,18(1):45-49.
- [2] 刘国才,李德尚,徐怀如,等.海水养虾池细菌数量动态及细菌生产力的研究[J].应用与环境生物学报,1997,3(4):340-344.
- [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] 高尚德,陈旭仁.中国对虾养成期间虾池水体和底质中细菌含量的变化[J].水产学报,1994,18(2):138-142.
- [5] 何曙阳,王克行.中国对虾育苗池细菌种群数量变化研究[J].中国水产科学,1999,6(1):125-127.
- [6] 申玉春,包文仲,刘振琦,等.池塘细菌生长与pH、COD、水温及浮游生物的关系[J].河北渔业,1996,5:8-10.
- [7] 包文仲,刘振琦,刘国才,等.鱼池不同水层细菌的密度、昼夜波动及其主要环境因子的关系[J].水产科技情报,1993,20(3):101-104.
- [8] 南春华.鱼池浮游细菌生长量消长情况的研究[J].大连水产学院学报,1988,2:84-88.
- [9] Riquelme C. Growth response of bacteria to extra cellular products of bloom algae[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1989, 55(2):349-355.
- [10] 铃木聪,南田理一.アエ的大量へい死:アエのピアリオ病ぜすピエピソタトの影響[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1995, 61(6):453-949.
- [11] 中山大树,大野正夫.海水中この肠内细菌の及ぜすし尿等の影响[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1981, 47(2):165-169.
- [12] Kimura B. Effect of naturally collected bacteria on growth of *Uroglena Americana*, a freshwater red tide Chrysophyceae[J]. *Bull Japan Soc Sic Fish*, 1986, 52(4):691-698.
- [13] 张欣.池塘中非硫紫细菌的数量及其与浮游动物的关系[J].淡水渔业,1987,4:16-18.
- [14] Wright R T. Measuring micro zooplankton grazing on plankton marine bacteria by its impact on bacterial production[J]. *Microbial Ecology*, 1984, 10:137-149.

Relationship of bacterial density to its environmental factors in higher-place ponds of *Litopenaeus vannamei*

SHEN Yu-chun^{1,2}, XIONG Bang-xi¹, YE Fu-liang², RUAN Fang²

(1.Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2.Fisheries College Guangdong Ocean University Zhanjiang 524025, China)

Received: Sept.,22,2003

Key words: bacterial;*Litopenaeus vannamei*;higher-place ponds

Abstract:The total bacterial amount in the prawn ponds water layers altered in the range of $2.31 \times 10^6 \sim 87.2 \times 10^6$ cfu/mL, averaging 29.72×10^6 cfu/mL. The amount of heterotrophic bacteria altered in the range of $0.48 \times 10^4 \sim 61.2 \times 10^4$ cfu/mL, averaging 12.18×10^4 cfu/mL. The level of bacteria amount did not differ remarkably in different water layers, but had a notable diurnal dynamics. The total bacterial amount in the water layers had a remarkably positive relationship with COD and water temperature, but had not significant relationship with the phytoplankton. The significant correlation existed between zooplankton masses. The pH value suitable for pond bacterial growth was alkaline (9.2). (本文编辑:刘珊珊)