

象山港大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)网箱养殖区 及邻近海域沉积物中异养细菌生态分布*

廖红芳¹ 郑忠明¹ 冯 坚² 朱津永¹ 丁露露¹ 蒋珊珊¹

(1. 宁波大学海洋学院 教育部应用海洋生物技术重点实验室 宁波 315211; 2. 舟山市普陀区海洋与渔业局 舟山 316100)

摘要 调查了投饵期(8月)和越冬期(11月)象山港大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)网箱养殖区及周围海域沉积物中有机物含量、异养细菌数量和群落结构。结果表明:养殖区沉积物(0—5cm层)中总磷、总有机氮含量在投饵期和越冬期均显著高于邻近对照海域($P < 0.05$)。沉积物中异养细菌、弧菌数量分别在 3.2×10^4 — 5.2×10^5 CFU/g 和 2.2×10^3 — 1.7×10^5 CFU/g 之间,养殖区沉积物细菌数量大于周围邻近海域。16S rDNA 法分析结果表明,研究区域投饵期的优势属均为弧菌属,越冬期为芽孢杆菌属。各采样区异养细菌的多样性表现为养殖区<周围邻近区域、投饵期<越冬期。异养细菌数与沉积物中 TON、TP 含量呈显著正相关,表明象山港大黄鱼养殖区沉积物中可培养异养细菌数可能受有机氮和磷酸盐含量的限制。研究表明,大黄鱼网箱养殖对象山港沉积物中的有机积累、异养细菌群落结构组成及多样性影响显著。

关键词 细菌; 沉积物; 网箱养殖; 象山港; 大黄鱼

中图分类号 Q938; S967.3 doi: 10.11693/hyhz20140800217

近几年,随着海水网箱养殖业迅速发展,养殖活动对周围海域环境影响的问题日益凸显。养殖过程中大量的残饵、粪便等废弃物沉积到沉积层,导致沉积物有机污染并引发周围海域水体富营养化(Karakassis *et al*, 2000; Grigorakis *et al*, 2011),及引发养殖病害等生态环境问题(胡文佳等, 2007; Jiang *et al*, 2010)。因此,网箱养殖区沉积环境的健康状况逐渐受到重视。

20 世纪 70 年代初,人们就开始寻找评估沉积物质量的方法。目前已经发展出多种方法来评估沉积环境的健康状况。细菌由于敏感性强(Giller *et al*, 1998)能对周围环境的早期变化做出迅速的反应,且有很多分类群,对不同的环境污染有不同的反应(Ellis *et al*, 2001),已成为评价沉积环境健康状况的重要的指示生物。然而,底泥细菌种类丰富,细菌群落结构与周围环境密切相关,细菌作为指示生物的模式尚未

成熟,仍处在探索阶段。Tamminen 等(2011)比较研究了地中海四种不同规模类型的渔场,发现不同规模的渔场沉积物中微生物群落结构显著不同,浅水中型水产养殖比开放水域养殖对沉积物细菌群落结构影响更大。Fodelianakis 等(2014)认为养殖活动会改变底泥细菌群落结构,群落结构的差异和该点与渔场的距离有关。

象山港是重要的水产养殖基地,为半封闭型港湾,水体交换能力弱,粉砂质黏土。大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是我国重要的经济鱼类,近几年养殖业取得了较好的经济效益,但与此同时,由于养殖密度过高、饵料投喂不合理等因素,加重了养殖环境尤其是沉积环境的负担。有关近海养殖活动对沉积物中细菌的影响国内外已有一些报道,如: Vezzulli 等(2002)调查了利古里亚海(地中海北部的一个海域)一个建成的渔场表层底泥细菌群落结构与有机物的关系,指出

*国家高技术研究发展计划(863 计划), 2012AA092000 号; 宁波市自然科学基金项目, 2012A610168 号。廖红芳, 硕士研究生, E-mail: nicelhf@163.com

通讯作者: 郑忠明, 教授, E-mail: zhengzhongming@nbu.edu.cn

收稿日期: 2014-08-01, 收修改稿日期: 2014-09-27

细菌群落的变动可以作为评估有机污染的工具。Bissett 等(2007)对塔斯马尼亚鲑鱼养殖区及周围邻近区域沉积物中的细菌丰度、多样性等进行了研究。国内有关报道相对较少,关于大黄鱼养殖对周围环境的影响更为缺乏。本文调查了象山港大黄鱼养殖区及邻近海域沉积物中有机物含量和细菌生态分布特征,并与其它养殖区进行比较,同时探讨了细菌生态分布与沉积物有机物含量的关系。为近海养殖沉积环境质量监测及近海生态环境保护提供基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采样区位于象山港生态养殖基地,共三个采样点,即大黄鱼网箱养殖区(FS)、距离大黄鱼网箱养殖区 50m(C1)及 100m(C2)。于大黄鱼养殖投饵期(2013 年 8 月)及越冬期(2013 年 11 月)用无扰动沉积物采样器(王友绍等,2004)采集底泥,每个点取 3 个以上重复样。现场将底泥按原位分割为 0—5cm、5—10cm 层,分装到已灭菌的自封袋中,然后放到冰盒中冷冻保存。用采水器采集水样。用 YSI Proplus 型多参数测量仪现场测定水温及水中溶解氧。样品采好后 1h 内带回实验室。

1.2 理化因子的测定

水中各营养盐(NH_4^+ 、 $\text{NO}_2^-+\text{NO}_3^-$ 、 PO_4^{3-})浓度采用 WESTCO SmartChem 全自动间断化学分析仪测定。用元素分析仪 vario EL cube 测定沉积物中总有机氮(TON)和总有机碳(TOC)含量。TON、TOC 测定之前采用气相法酸化,将沉积物放入盛有浓盐酸的干燥器中过夜,然后在烘箱(60℃)中烘干,除去过量的盐酸;参照 Mudroch 等(1996)的方法测定沉积物中的总磷(TP)。

1.3 菌株分离计数与纯化

沉积物样品带回实验室后,立即培养。将 10.0g 左右的样品放入盛有 90mL 无菌海水的锥形瓶中,180 r/min 振荡 30 min。静置后取上清液,按十倍稀释法稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} ,接种至营养琼脂培养基(配培养基所用的水按陈海水:蒸馏水 1:1 配制)及 TCBs 培养基上。每个稀释度接三个平板。待平板上长出明显的菌落后计数。在营养琼脂培养基平板上,每个样品随机挑取 20 个左右的菌株分离纯化直至得到纯菌。

1.4 16S rDNA 基因扩增及鉴定

选取纯培养菌株,用水煮法提取细菌 DNA,然后进行 PCR 扩增。扩增引物为细菌 16S 通用引物 27F

(5'-AGAGTTTGTATCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTAC GACTT-3')。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 2min, 94℃ 变性 30s, 58℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 1min, 循环 31 次。72℃ 终延伸 2min。PCR 产物电泳检测结束后,送至英潍捷基(上海)贸易有限公司纯化并进行 DNA 序列测定。

1.5 数据分析

用 Shannon-Wiener 多样性指数(H')(Hill *et al*, 2003)衡量细菌的多样性,计算公式为:

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

式中, P_i 为第 i 属细菌在群落中的相对丰度, S 为群落中所含有的细菌属数。

采用 SPSS(17.0)进行统计分析,沉积物中 TON、TOC 及 TP 含量先进行单因素方差分析,然后用 Duncan 法进行多重比较。方差分析时,部分数据先进行数据转换(百分比数据: TOC 和 TON 含量采用反正弦转换,细菌数量采用对数转换),然后再进行统计分析。采用斯皮尔曼等级相关法分析异养细菌数与沉积物中氮磷有机质含量的关系。用 Origin 8.0 作图。将获得的 16S rDNA 序列通过 Blastn 进行序列比对,获取相似度较高的菌株信息及序列。用 Cluster 1.81 进行多序列比对,然后采用 Mega 5.0 构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 理化性质

同一时期采样点海水中营养盐、溶解氧浓度及水温值相差不大,不同时期则有一定差异(表 1)。养殖区沉积物(0—5cm 层)中总磷、总有机氮含量在投饵期和越冬期均显著高于对照区的,但是总有机碳含量只在投饵期时有显著性差异($P<0.05$)(图 1a, b, c); 5—10cm 层沉积物中,越冬期养殖区沉积物中的 TP、TON 含量显著高于对照区(图 1d, e),而在投饵期只观察到养殖区的 TP 含量与对照区 C1 有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 沉积物中细菌数量分布

养殖区沉积物中异养细菌数量分布在 1.7×10^5 — 5.2×10^5 CFU/g 之间,对照区(C1, C2)的异养细菌数量分布在 3.2×10^4 — 3.4×10^5 CFU/g 之间(图 2)。同一采样期,养殖区沉积物中异养细菌数量显著高于对照区 C1 ($P<0.05$);除了投饵期 0—5cm 沉积层外,养殖区异养细菌数量显著高于对照区 C2 ($P<0.05$);随着深度的增加,沉积物中的异养细菌数量减少。在时

表 1 养殖区(FS)及对照区(C1, C2)海水温度(WT)、水中溶解氧(DO)、硝酸盐+亚硝酸盐、铵盐浓度
Tab.1 Water temperature (WT), concentrations of dissolved oxygen (DO), nitrate + nitrite, phosphorus, and ammonium in water in the fish farm (FS), the control station C1 and C2 in the feeding period (August) and wintering period (November)

时期	地点	WT(°C)	DO(mg/L)	NO ₃ +NO ₂ (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)
投饵期	FS	29.4	5.97	0.465	0.0464	0.872
	C1	29.1	6.87	0.433	0.0444	0.865
	C2	29.2	6.84	0.424	0.0447	0.863
越冬期	FS	21.2	7.69	0.814	0.095	0.050
	C1	21.2	7.83	0.793	0.100	0.051
	C2	21.3	7.80	0.808	0.099	0.053

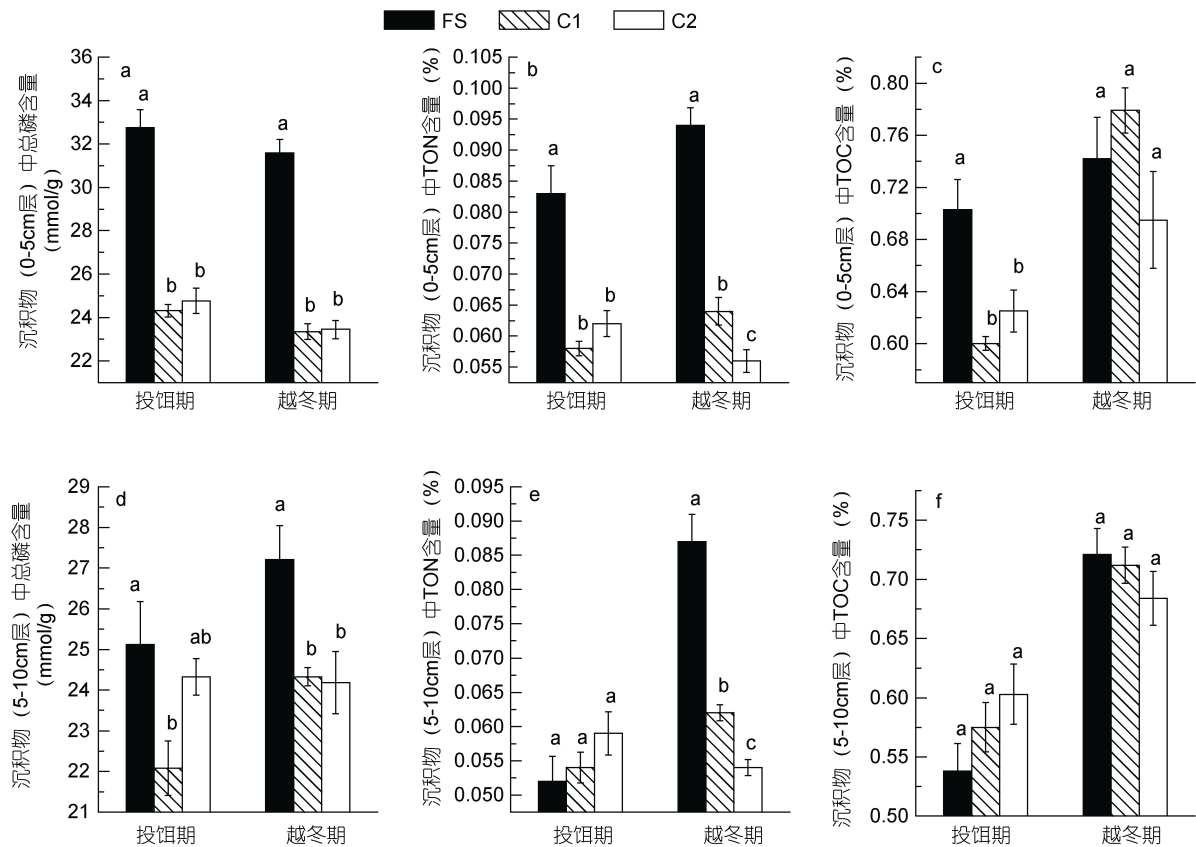


图 1 养殖区(FS)、对照区(C1, C2)在投饵期及越冬期两个时期沉积物中总磷(TP)、总有机氮(TON)、总有机碳(TOC)含量
Fig.1 The values of total phosphorous (TP), total organic nitrogen (TON) and total organic carbon (TOC) in sediment under the fish farm (FS), the control station C1 and C2 in feeding period and wintering period
误差棒表示标准差(n=3), 同一时期不同的小写字母 a、b、c 表示差异显著(P<0.05)

间分布上, 投饵期和越冬期表层沉积物(0—5cm 层)中异养细菌数量差异不大, 但是 5—10cm 层沉积物中, 投饵期异养细菌数量要大于越冬期。异养细菌数量与沉积物中 TON、TP 含量有一定的线性相关性, 相关系数分别为 0.515 ($n=12$)、0.559 ($n=12$), 而与沉积物中 TOC 含量的相关性较弱($r=0.182$, $n=12$)。沉积物中弧菌数量分布在 2.2×10^3 — 1.7×10^5 CFU/g 之间(图 3)。投饵期, 养殖区沉积物中的弧菌数量显著高于对照区 C1 ($P<0.05$); 越冬期, 观察到养殖区

中的弧菌数量高于对照区 C1、C2, 且有显著性差异($P<0.05$)。

2.3 异养细菌群落结构

分离纯化后共得到 151 株细菌, 分属于 22 个属(表 2)。养殖区投饵期的优势属为弧菌属(占 71.4%), 但是越冬期芽孢杆菌属成为了优势属(占 38.2%), 其次为假单胞菌属; 对照区投饵期的优势属为弧菌属(占 57.6%), 其次为假交替单胞菌属, 越冬期的优势属为芽孢杆菌属(占 33.3%), 其次为假交替单胞菌属、

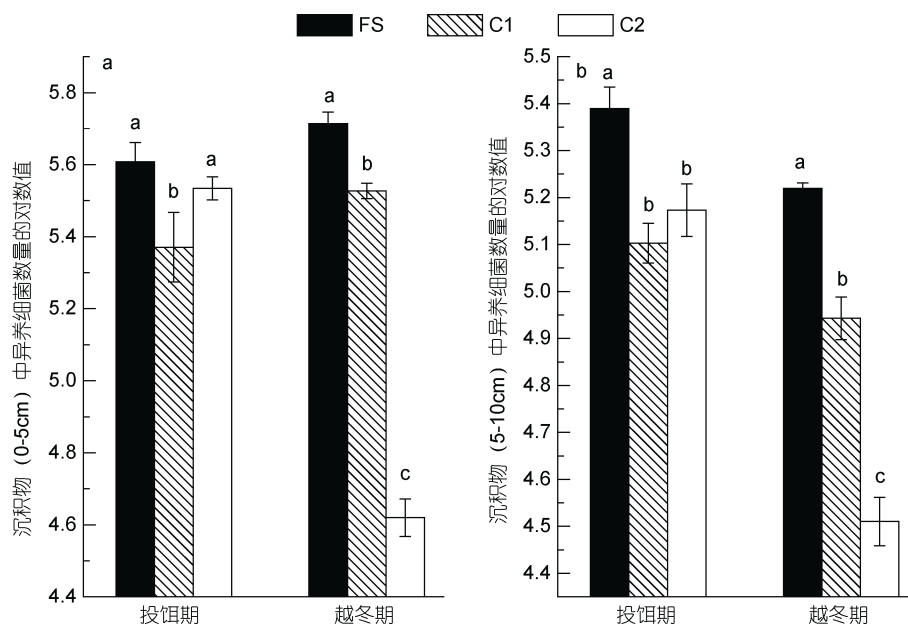


图2 养殖区(FS)及对照区(C1, C2)沉积物中异养细菌分布图

Fig.2 Distribution of heterotrophic bacterial abundance in sediment of the farm site (FS) and control station (C1, C2)
误差棒表示标准差($n=3$), 同一时期不同的小写字母 a、b、c 表示差异显著($P<0.05$)

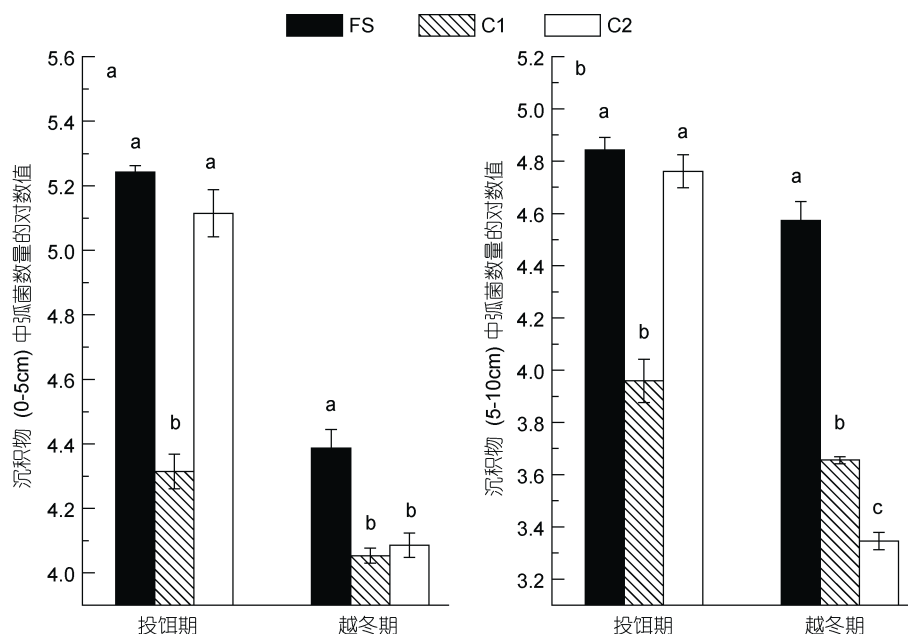


图3 养殖区(FS)及对照区(C1, C2)沉积物中弧菌分布图

Fig.3 Distribution of *Vibrio* abundance in sediment in farm site (FS) and control station (C1, C2)
误差棒表示标准差($n=3$), 同一时期不同的小写字母 a、b、c 表示差异显著($P<0.05$)

假单胞菌属。各采样区异养细菌的多样性表现为养殖区小于对照区, 越冬期高于投饵期。

2.4 系统发育分析

将比对后的细菌 16S rDNA 序列用 MEGA 5.0 构建无根系统发育树。养殖区沉积物中的异养细菌分属于 γ -变形菌纲、芽孢菌纲, 且 γ -变形菌纲的种类比

芽孢菌纲的种类丰富(图 4)。非养殖区沉积物细菌也有 γ -变形菌纲、芽孢菌纲(图 5)。 γ -变形菌纲中, 虽然养殖区和非养殖区均含有弧菌、希瓦氏菌、交替单胞菌等, 但是两个研究区域沉积中细菌群落结构不一样。前者分离到了耐盐杆菌, 后者有海单胞菌、不动杆菌。对于芽孢菌纲, 除均含有芽孢杆菌等外, 养

表 2 养殖区(FS)、对照区(C1, C2)在投饵期(FP)及越冬期(WP)两个时期沉积物中细菌菌群组成
Tab.2 Composition of bacterial community in sediment under the fish farm (FS), the control station C1 and C2 in feeding period (FP) and wintering period (WP)

属名	养殖区(FS)		对照区(C1)		对照区(C2)	
	投饵期	越冬期	投饵期	越冬期	投饵期	越冬期
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	4	13	2	10	2	10
喜盐芽孢杆菌属 <i>Halobacillus</i>	0	4	0	2	0	0
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	0	1	1	0	0	0
动性球菌属 <i>Planococcus</i>	0	0	0	0	0	1
交替单胞菌属 <i>Alteromonas</i>	0	1	0	4	0	0
弧菌属 <i>Vibrio</i>	15	3	9	1	10	4
假交替单胞菌属 <i>Pseudoalteromonas</i>	0	0	0	4	0	2
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0	5	0	1	0	4
希瓦氏菌属 <i>Shewanella</i>	0	2	0	0	0	1
发光杆菌属 <i>Photobacterium</i>	1	2	0	0	0	0
色盐杆菌属 <i>Chromohalobacter</i>	0	1	0	0	0	0
根瘤菌属 <i>Rhizobium</i>	0	0	0	1	0	0
副球菌属 <i>Paracoccus</i>	0	0	0	1	0	0
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	0	0	1	1	1	1
考克氏菌属 <i>Kocuria</i>	0	0	0	2	0	2
节杆菌属 <i>Arthrobacter</i>	0	0	0	1	0	0
棒状杆菌属 <i>Coryneforms</i>	0	0	0	0	0	1
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	0	0	0	0	0	1
杆菌属 <i>Bacterium</i>	0	0	0	0	0	1
微小杆菌属 <i>Exiguobacterium</i>	1	0	4	2	2	1
海洋杆菌属 <i>Oceanobacter</i>	0	2	0	2	0	1
纤维微菌属 <i>Cellulosimicrobiumgenus</i>	0	0	0	0	1	0
总计	21	34	17	33	16	30
<i>H'</i>	0.846	1.927	1.262	2.295	1.160	2.172

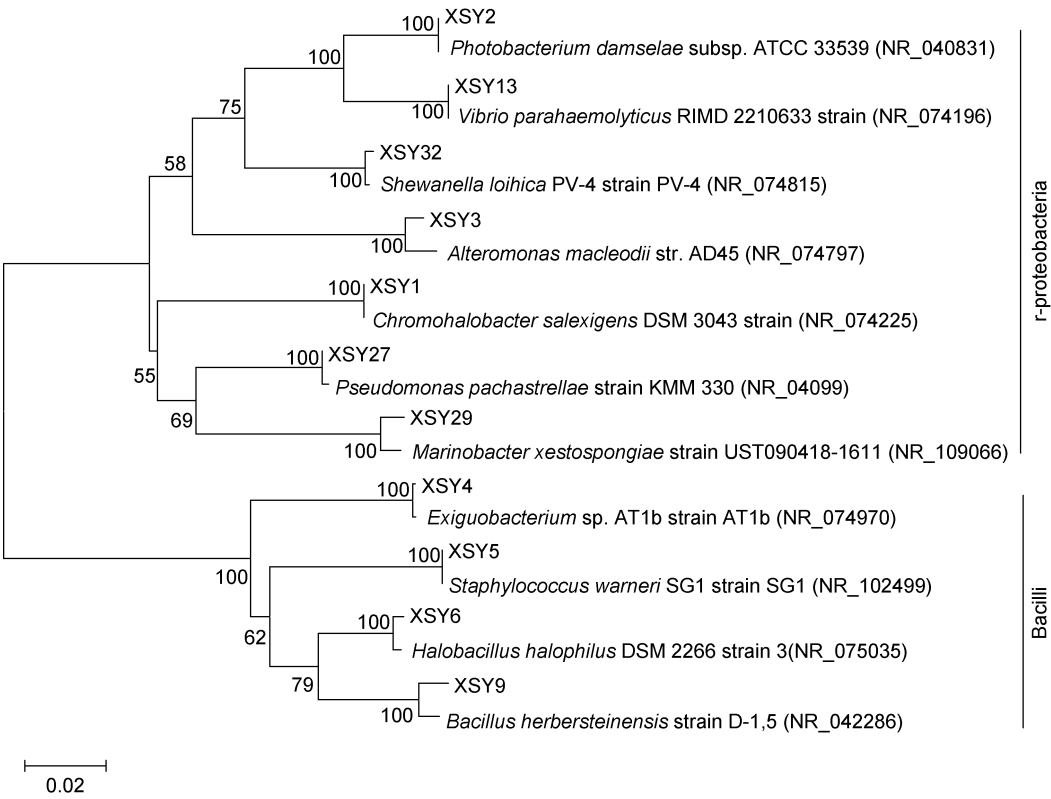


图 4 象山港大黄鱼网箱养殖区沉积物中分离得到的细菌构建的系统发育树
Fig.4 Phylogenetic tree of bacteria isolated from cage culture sediment in the Xiangshan Bay

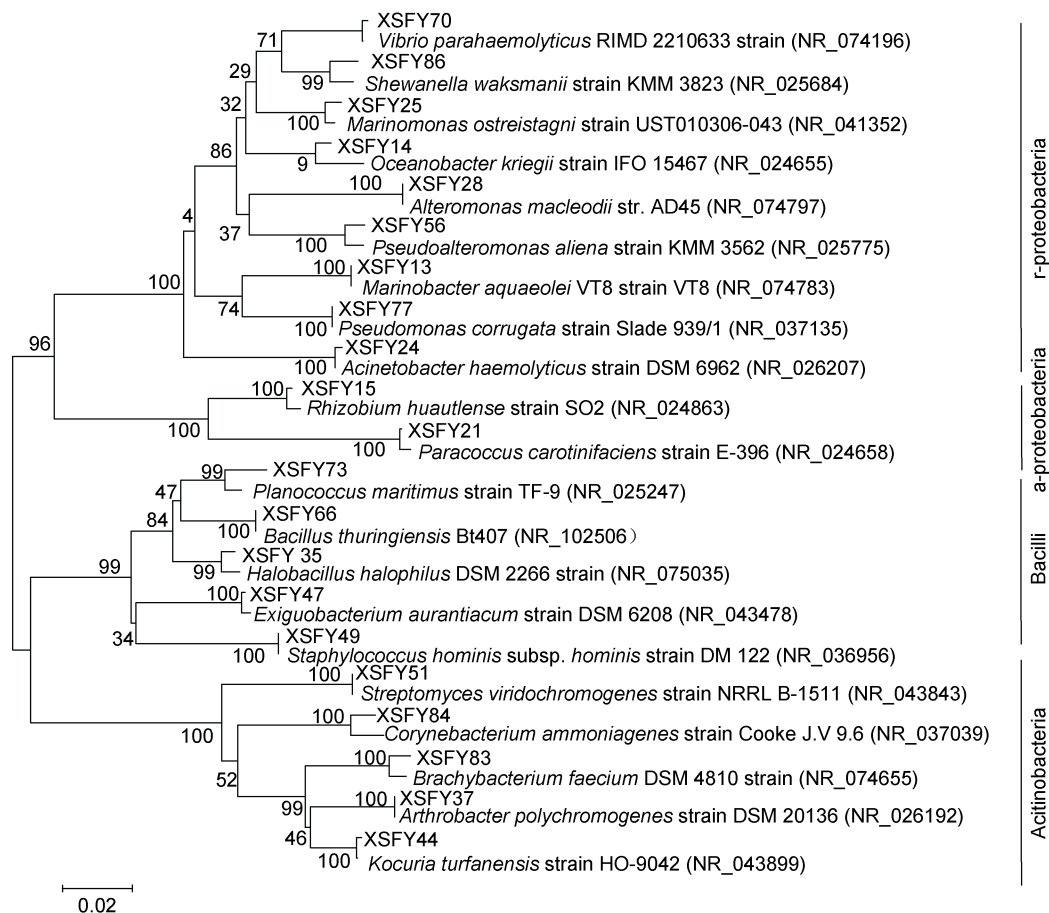


图5 象山港大黄鱼非养殖区沉积物中分离得到的细菌构建的系统发育树

Fig.5 Phylogenetic tree of bacteria isolated from sediment of non-culture area in the Xiangshan Bay

殖区还分离到了葡萄球菌,而非养殖区中有动性球菌。在非养殖区中还分离到了属于放线菌纲的细菌:链霉菌、棒状杆菌、节细菌及考克氏菌。此外,非养殖区中分离得到的某些细菌属于 α -变形菌纲,如根瘤菌、副球菌。

3 讨论

海水养殖活动因残饵和粪便等常会导致大量的有机物输入到底部(Carroll *et al.*, 2003),使有机物在沉积物中堆积。本实验中养殖区沉积物(0—5cm 层)中总磷、总有机氮含量在投饵期和越冬期均显著高于对照区,表明养殖区沉积物积累了有机物。微生物是各种有机物质的分解者和转化者,初期有机物的增加会提高微生物的丰度,但是大量有机物的存在导致生物分解加剧,使沉积物中氧气含量下降,可能会抑制微生物的生长。本研究中,养殖区沉积物中异养细菌数量均高于对照区的,这可能是有机物的积累为细菌生长提供了合适的基质,刺激细菌繁殖(Vezzulli *et*

al., 2002)。这与 Bissett 等(2007)对塔斯马尼亚鲑鱼养殖区的研究结果一致。Vezzulli 等(2002)对利古里亚海的金头鲷网箱养殖区的研究也指出网箱养殖区沉积物由于有机物的积累促使异养细菌数量增加。本研究发现对照区沉积物中异养细菌数量与第勒尼安海刚建立半年的金头鲷网箱养殖区下沉积物中异养细菌数类似(La Rosa *et al.*, 2004),这暗示着象山港大黄鱼养殖活动对邻近海域沉积物造成了一定的有机污染。相关性分析表明异养细菌数与沉积物中 TON、TP 含量呈显著正相关(相关系数 r 分别为 0.515, 0.559; $n=12$),表明沉积物中可培养异养细菌数受有机氮含量和磷酸盐含量的限制,同时进一步说明了异养细菌数量与沉积环境有机污染程度密切相关。异养细菌的生长与繁殖需以有机物为原料获得能量,氮磷是细菌电子反应的主要基质,这可能是异养细菌受氮盐和磷酸盐限制的一个重要原因。Thingstad 等(2005)及 Sebastián 等(2012)的研究也指出沉积物中细菌数受磷酸盐含量的限制。

细菌群落对环境的改变非常敏感,有研究表明渔场输入的有机物会改变沉积物中的细菌群落结构(Kawahara *et al*, 2009; Fodelianakis *et al*, 2014),甚至引起细菌群落结构持久性变化(Danovaro *et al*, 1999)。本研究中,养殖区和对照区的异养细菌群落结构不一样且同一地点不同时期群落结构也不同(表 2),支持了上述观点,即细菌群落结构对环境的改变非常敏感,且受养殖活动的影响。养殖区沉积物中的可培养细菌绝大部分为兼性厌氧菌,可能是因为有机物的积累使微生物大量繁殖导致氧气迅速消耗,在沉积物中形成亚氧化层甚至造成缺氧环境,最终好氧细菌减少(Canfield *et al*, 1993)。弧菌中的某些种类为重要的致病菌或条件致病菌,弧菌大量增殖可能会引起养殖生物患病甚至死亡(Korsnes *et al*, 2006)。西班牙养殖的鲑鱼由于患弧菌病造成了巨大的经济损失(Rodgers *et al*, 1998),我国海南三亚网箱养殖的点石斑鱼苗由于发生了弧菌病,一周内鱼苗全部死亡(陈晓燕等, 2003)。本实验中,投饵期的优势属为弧菌属(表 2)(占 71.4%)且养殖区的弧菌数量显著高于对照区 C1,这可能与有机物的大量输入有关。有机物的富集刺激弧菌的繁殖(La Rosa *et al*, 2001),导致最终弧菌密度增加。这也暗示着该养殖系统存在着患病风险。在投饵量少甚至不投饵的越冬期,在碳氮循环中扮演着重要角色的芽孢杆菌属和假单胞菌属成为优势菌群。有小娟等(2013)及刘晶晶等(2010)对象山港养殖区沉积物的研究也表明假单胞菌属是优势菌群。

系统发育分析可知,养殖区和对照区沉积物中主要为 γ -变形菌纲和芽孢菌纲, Li 等(2013)在秦皇岛养殖区沉积物中细菌群落多样性的测定中,也发现 γ -变形菌纲和芽孢菌纲占优势。这表明 γ -变形菌纲和芽孢菌纲适合在有机物富集的环境中生长。受渔场养殖活动影响的沉积物中 α -变形杆菌数增加,甚至成为优势菌群(Bissett *et al*, 2006; Kunihiro *et al*, 2008)。虽然本研究中对对照区沉积物也发现了 α -变形杆菌,但是在养殖区并未检测到 α -变形杆菌,可能是当有机物达到一定含量时不适合 α -变形杆菌生长,也可能是沉积物的 α -变形杆菌绝大部分是不可培养的。这也反映出了可培养法的缺陷,只能培养小部分细菌。

异养细菌群落多样性与沉积物中有机物输入量密切相关。养殖区沉积物异养细菌的多样性小于对照区,表明养殖活动可能会降低沉积物异养细菌多样性。Luna 等(2013)对地中海的四个渔场的研究结果也

表明网箱养殖区沉积物中的细菌多样性低于对照区。本研究中越冬期微生物的多样性高于投饵期,推测其原因为投饵期饵料投喂较多而越冬期投饵量少甚至不投饵。大量有机物输入到沉积物中,可能会使底质向缺氧环境转变,从而降低非厌氧菌群落结构的多样性,甚至造成毁灭性的破坏(Chivilev *et al*, 1997)。可培养法能够在一定程度上反映非厌氧菌群落结构多样性的变化,为初步鉴定有机污染情况提供有效数据。

参 考 文 献

- 王友绍, 徐继荣, 2004. 一种无边界扰动的单管沉积物采样器. 中国, 200410026847.3. 2004-04-13
- 有小娟, 李秋芬, 张 艳等, 2013. 象山港内西沪港海域沉积环境细菌群落结构的时空变化及其主要环境影响因子. 应用与环境生物学报, 19(005): 742—749
- 刘晶晶, 曾江宁, 陈全震等, 2010. 象山港网箱养殖区水体和沉积物的细菌生态分布. 生态学报, 30(2): 377—388
- 陈晓燕, 胡超群, 陈 偿等, 2003. 人工养殖点带石斑鱼弧菌病原菌的分离及鉴定. 海洋科学, 27(6): 68—72
- 胡文佳, 杨圣云, 朱小明, 2007. 海水养殖对海域生态系统的影响及其生物修复. 厦门大学学报: 自然科学版, 46(A01): 197—202
- Bissett A, Bowman J, Burke C, 2006. Bacterial diversity in organically-enriched fish farm sediments. FEMS Microbiology Ecology, 55(1): 48—56
- Bissett A, Burke C, Cook P L M *et al*, 2007. Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. Environmental Microbiology, 9(1): 46—60
- Canfield D E, Jørgensen B B, Fossing H *et al*, 1993. Pathways of organic carbon oxidation in three continental margin sediments. Marine Geology, 113(1): 27—40
- Carroll M L, Cochrane S, Fieler R *et al*, 2003. Organic enrichment of sediments from salmon farming in Norway: environmental factors, management practices, and monitoring techniques. Aquaculture, 226(1): 165—180
- Chivilev S, Ivanov M, 1997. Response of the Arctic benthic community to excessive amounts of nontoxic organic matter. Marine Pollution Bulletin, 35(7): 280—286
- Danovaro R, Pusceddu A, Harriague A C *et al*, 1999. Community experiments using benthic chambers: microbial significance in highly organic enriched sediments. Chemistry and Ecology, 16(1): 7—30
- Ellis R J, Neish B, Trett M W *et al*, 2001. Comparison of microbial and meiofaunal community analyses for determining impact of heavy metal contamination. Journal of Microbiological Methods, 45(3): 171—185
- Fodelianakis S, Papageorgiou N, Karakassis I *et al*, 2014. Community structure changes in sediment bacterial communities along an organic enrichment gradient associated with fish farming. Annals of Microbiology, DOI 10.1007/s13213-014-0865-4 (online first)

- Giller K E, Witter E, Mcgrath S P, 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(10): 1389—1414
- Grigorakis K, Rigos G, 2011. Aquaculture effects on environmental and public welfare — the case of Mediterranean mariculture. *Chemosphere*, 85(6): 899—919
- Hill T C J, Walsh K A, Harris J A *et al*, 2003. Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 43(1): 1—11
- Jiang Z J, Fang J G, Mao Y Z *et al*, 2010. Eutrophication assessment and bioremediation strategy in a marine fish cage culture area in Nansha Bay, China. *Journal of Applied Phycology*, 22(4): 421—426
- Karakassis I, Tsapakis M, Hatzilyanni E *et al*, 2000. Impact of cage farming of fish on the seabed in three Mediterranean coastal areas. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 57(5): 1462—1471
- Kawahara N, Shigematsu K, Miyadai T *et al*, 2009. Comparison of bacterial communities in fish farm sediments along an organic enrichment gradient. *Aquaculture*, 287(1): 107—113
- Korsnes K, Nicolaisen O, Skår C K *et al*, 2006. Bacteria in the gut of juvenile cod *Gadus morhua* fed live feed enriched with four different commercial diets. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 63(2): 296—301
- Kunihiro T, Miyazaki T, Uramoto Y *et al*, 2008. The succession of microbial community in the organic rich fish-farm sediment during bioremediation by introducing artificially mass-cultured colonies of a small polychaete, *Capitella* sp. I. *Marine Pollution Bulletin*, 57(1): 68—77
- La Rosa T, Mirto S, Marino A *et al*, 2001. Heterotrophic bacteria community and pollution indicators of mussel—farm impact in the Gulf of Gaeta (Tyrrhenian Sea). *Marine Environmental Research*, 52(4): 301—321
- La Rosa T, Mirto S, Mazzola A *et al*, 2004. Benthic microbial indicators of fish farm impact in a coastal area of the Tyrrhenian Sea. *Aquaculture*, 230(1): 153—167
- Li J, Li F, Yu S *et al*, 2013. Impacts of mariculture on the diversity of bacterial communities within intertidal sediments in the Northeast of China. *Microbial Ecology*, 66(4): 861—870
- Luna G M, Corinaldesi C, Dell'Anno A *et al*, 2013. Impact of aquaculture on benthic virus-prokaryote interactions in the Mediterranean Sea. *Water Research*, 47(3): 1156—1168
- Mudroch A, Azcue J M, Mudroch P, 1996. Manual of physico-chemical analysis of aquatic sediments. CRC Press, Florida, USA, 123—124
- Rodgers C J, Furones M D, 1998. Disease problems in cultured marine fish in the Mediterranean. *Fish Pathology (Japan)*, 33(4): 157—164
- Sebastián M, Pitta P, González J M *et al*, 2012. Bacterioplankton groups involved in the uptake of phosphate and dissolved organic phosphorus in a mesocosm experiment with P-starved Mediterranean waters. *Environmental Microbiology*, 14(9): 2334—2347
- Thingstad T F, Krom M D, Mantoura R F C *et al*, 2005. Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic eastern Mediterranean. *Science*, 309(5737): 1068—1071
- Vezzulli L, Chelossi E, Riccardi G *et al*, 2002. Bacterial community structure and activity in fish farm sediments of the Ligurian sea (Western Mediterranean). *Aquaculture International*, 10(2): 123—141

BACTERIAL ECOLOGICAL DISTRIBUTION IN SEDIMENT OF A YELLOW CROAKER *PSEUDOSCIAENA CROCEA* CAGE FARM AND ADJACENT SITES IN XIANGSHAN BAY

LIAO Hong-Fang¹, ZHENG Zhong-Ming¹, FENG Jian², ZHU Jin-Yong¹, DING Lu-Lu¹, JIANG Shan-Na¹

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Ocean and Fisheries Bureau of Putuo, Zhoushan 316100, China)

Abstract We investigated the organic matter contents, bacterial abundance, and diversity in the sediments below yellow croaker *Pseudosciaena crocea* farming cage and adjacent reference sites in Xiangshan Bay during feeding period (Aug.) and wintering period (Nov.). The total phosphorus and total nitrogen contents of the cage site were significant higher than those at adjacent reference sites in both periods ($P < 0.05$). The numbers of heterotrophic bacteria and *Vibrio* ranged from 3.2×10^4 — 5.2×10^5 CFU/g and from 2.2×10^3 — 1.7×10^5 CFU/g, respectively. Total number of bacteria at cage site was higher than that of the control sites. Analysis on 16S rDNA showed that the microbial communities at both farm site and reference sites were dominated by *Vibrio* in the feeding period and by *Bacilli* in the wintering period. The benthic bacteria in the farm site showed a higher level of microbial diversity than the reference sites, and higher diversity occurred in the November. The number of heterotrophic bacteria were highly correlated to TON and TP contents, indicating that the development of culturable heterotrophic bacteria might be limited by total organic nitrogen and phosphorous concentration. Therefore, cage-culture activities affected significantly the organic enrichment, and bacterial community structure and diversity in the sediments of Xiangshan Bay.

Key words bacteria; sediment; cage culture; Xiangshan Bay; yellow croaker *Pseudosciaena crocea*