

滩涂贝类养殖环境的细菌分布

刘慧慧¹, 薛超波²

(1. 浙江海洋学院海洋科学学院, 浙江 舟山 316004; 2. 舟山市疾病预防控制中心, 浙江 舟山 316000)

摘要:从贝类养殖滩涂的底泥中共分离到 2976 株细菌, 经鉴定可归于 18 个属与肠杆菌科的部分属, 其中梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的部分属、发光杆菌属 (*Photobacterium*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等为优势菌属。统计结果表明, 在养殖滩涂的沉积物环境中, 异养细菌的菌群组成具有明显的陆源性特点, 而且在时空分布上有着较大的差异。在数量分布上, 全年异养细菌、反硝化细菌、氨化细菌和硫酸还原菌的数量分别波动在 $1.62 \times 10^3 \sim 2.00 \times 10^5$ cfu/g、 $1.50 \times 10^4 \sim 5.00 \times 10^7$ 个/g、 $9.00 \times 10^4 \sim 9.0 \times 10^7$ 个/g 和 $9.00 \times 10^3 \sim 4.00 \times 10^6$ 个/g 之间。此外, 反硝化细菌、氨化细菌均与异养细菌在数量上呈正相关, 而且氨化细菌与异养细菌之间的相关性极其显著, 而硫酸还原菌与异养细菌在数量上呈负相关。

关键词:滩涂贝类; 养殖环境; 细菌

文章编号: 1000-0933(2008)01-0436-09 中图分类号: Q142, Q145, Q178 文献标识码: A

The bacteria distribution on the culture environment of intertidal shellfish

LIU Hui-Hui¹, XUE Chao-Bo²

1 Marine Science College of Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China

2 Zhoushan Center for Disease Control and Prevention, Zhoushan 316000, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 0436 ~ 0444.

Abstract: 2976 strains of heterotrophic bacteria, isolated from the rearing shoal, mainly belonged to 18 genera and some genera of *Enterobacteriaceae*. *Clostridium*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Photobacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* and some genera of *Enterobacteriaceae* were the predominant microflora. The community structure of the heterotrophic bacteria had obvious terrigenous characters and differed greatly in the temporal and spatial distribution. The number of heterotrophic bacteria (HB) ranged from 1.62×10^3 cfu/g to 2.00×10^5 cfu/g, while the numbers of denitrifying bacteria (DB), ammonifying bacteria (AB) and sulphate reducing bacteria (SRB) ranged from 1.50×10^4 to 5.00×10^7 cell/g, 9.00×10^4 to 9.0×10^7 cell/g and 9.00×10^3 to 4.00×10^6 cell/g respectively. Additionally, statistical analysis indicated that the correlation between the amount of HB and DB, AB was positive, furthermore the dependency between HB and AB was very significant. But the correlation between the amount of SRB and HB was negative.

Key Words: intertidal shellfish; culture environment; bacteria

海洋细菌是贝类养殖滩涂中正常的生物群, 与其它生物和环境因子共同构成滩涂生态系统, 并参与其中

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (Y307381); 舟山市科技计划资助项目 (07118)

收稿日期: 2007-04-03; 修订日期: 2007-11-07

作者简介: 刘慧慧 (1977 ~), 女, 辽宁人, 硕士, 主要从事海洋生物学研究. E-mail: liuhuihui_77@163.com

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y307381) and the Science and Technology Planning Program of Zhoushan (No. 07118)

Received date: 2007-04-03; **Accepted date:** 2007-11-07

Biography: LIU Hui-Hui, Master candidate, mainly engaged in marine biology. E-mail: liuhuihui_77@163.com

的物质循环和能量流动。因此,研究滩涂贝类养殖环境中细菌的组成和分布规律,从细菌学角度正确评价滩涂贝类养殖环境,对今后顺利开展滩涂贝类健康养殖,有针对性的控制或防治滩涂养殖贝类大规模死亡具有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 调查位点的地理位置及养殖状况

慈溪位于杭州湾南岸,境内海岸线长达 77.6km,拥有丰富的滩涂资源。由于长江、钱塘江、曹娥江、甬江等内陆径流的影响,海水盐度较低,而且潮汐变化很大,涂质长期处于不稳定状态,致使滩涂贝类养殖业的发展一度受到很大的限制。20 世纪 80 年代末期,人们冲破传统观念的束缚,依靠科技,摸索和总结出高潮带蓄水精养贝类和低坝高网养殖技术,滩涂贝类养殖业得到迅猛发展。近几年来,随着养殖历史的延长和养殖规模的扩大,滩涂养殖贝类大规模死亡的现象时有发生,给当地海洋水产经济造成了很大的损失。取样的 3 个位点中,观城和三北均为当地滩涂贝类养殖较为成熟的地区,主要养殖品种为泥螺和缢蛏;新浦由于自然条件的限制,主要以采集野生苗种为主,基本上不放养。

1.2 样品的采集

从 2002 年 3 月至 2002 年 12 月,依据潮汐的变动情况,每月前往慈溪市滩涂贝类养殖区进行定点定位连续采样。在每个站位设置了两个平行位点,刮去涂面 1cm 后,分别在表层(5cm 处)和底层(20cm 处)两个断面采集泥样。泥样放置于无菌培养皿中,当天带回实验室处理。

1.3 理化因子的测定

pH 和温度为现场测定,每月测定 1 次;有机质、总氮、总磷、硫化物和底质类型共测定了两次,分别于枯水期(2002 年 12 月)和丰水期(2003 年 7 月)进行。具体的测定方法均参照《海洋监测规范》中相应的规定执行。

1.4 细菌培养及计数方法

准确称取泥样 5g,置于装有 45ml 无菌陈海水的锥形瓶中,并加入灭菌的 Tween-80 水溶液(终浓度为 5mg/L),充分震荡做成悬浮液,进行梯度稀释后接种于培养基中。其中异养细菌的计数采用平板倾注法,28℃ 恒温培养 72h 后计数,氨化细菌、反硝化细菌和硫酸还原菌等特殊生理类群的计数采用 MPN 法,28℃ 恒温培养 5~7d 后计数。

1.5 培养基

异养细菌的培养采用 Zobell 2216E 固体培养基,反硝化细菌、氨化细菌和硫酸还原菌的培养均采用液体培养基。

1.6 细菌分离和鉴定

每批样品以平板涂布法分离细菌,从 2216E 固体平板培养基上随机挑选菌落,划线分纯后,按照 Oliver 提供的海洋细菌鉴定检索图、《一般细菌常用鉴定方法》和《海洋调查规范》提供的图式鉴定至属。

1.7 数据处理

应用 Excell 和 SPSS 统计软件对数据进行处理。在对细菌群落组成进行统计分析时,按照 Anne E. Magaurran 所阐述的方法,以香农指数(Shannon index)作为指标计算各样品中细菌群落的多样性指数,即 $H' = -\sum P_i \ln P_i$,其中 P_i 为第 i 属细菌在群落中的相对丰度;并采用 Pielou 的计算公式计算各群落的均匀度指数,即 $E = H'/\ln S$,其中 S 为群落中所含有的细菌属数。另外,香农方差指数 $VarH'$ 按下式计算:

$$VarH' = \frac{\sum P_i (\ln P_i)^2 - (\sum P_i \ln P_i)^2}{N} - \frac{(S-1)}{(2N)^2}$$

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

样品间差异的显著性检验按:

$$t = \frac{H'_1 - H'_2}{(VarH'_1 + VarH'_2)^{1/2}}$$

计算 t 值,并按照:

$$df = \frac{(VarH'_1 + VarH'_2)^2}{(VarH'_1)^2/N_1 + (VarH'_2)^2/N_2}$$

确定自由度,查 t 分布表进行 t 检验,比较各群落的显著差异水平。

2 实验结果

2.1 滩涂理化因子的检测结果

慈溪滩涂底泥环境中的 pH 为弱酸性,全年变动在 6.5~6.8 之间。由于潮汐的影响,涂温的变化幅度相对较小,全年变动在 1~28℃ 之间。此外,有机质、总氮、总磷、硫化物和底质类型的检测结果如表 1 所示。

表 1 滩涂理化因子的检测结果

Table 1 Analytical results of the physical and chemical factors in the rearing shoal

采样位点 Situs of sampling	有机物 (%) Organics		总氮 (mg/kg) Total nitrogen		总磷 (mg/kg) Total phosphorus		硫化物 (mg/kg) Sulfide		底质类型 Type of substrate	
	丰水期 X1	枯水期 X2	丰水期 X1	枯水期 X2	丰水期 X1	枯水期 X2	丰水期 X1	枯水期 X2	丰水期 X1	枯水期 X2
三北 Sanbei	0.80	3.72	334.8	328.7	267.5	351.1	10.41	19.16	MTS	MTS
观城 Guancheng	0.90	2.00	370.2	316.2	414.3	361.0	37.04	5.13	MT-CTS	MT-CTS
新浦 Xipu	0.9	1.07	297.6	213.1	389.3	499.1	5.60	ND	S	S

MTS: 粉砂质砂 Mealy sand; MT-CTS: 粉砂-粗粉砂质砂 Mealy sand-coarse silt; S: 砂质 Gritty; X1: 丰水期 High water period; X2: 枯水期 Low water period

2.2 异养细菌的菌群组成

从慈溪贝类养殖滩涂的泥样中共分离到 2976 株细菌,经鉴定可归于 18 个属与肠杆菌科的部分属,其中梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的部分属、发光杆菌属 (*Photobacterium*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等为优势菌属。

2.2.1 异养细菌菌群组成的空间差异

不同采样位点异养细菌的菌群组成及其多样性如表 2 所示。统计结果表明,在养殖滩涂的沉积物环境中,异养细菌的菌群组成具有明显的陆源性特点。尽管由于潮汐的影响,表层泥样中的菌群组成仍以革兰氏阴性菌占优势,但三北、新浦和观城的表层泥样中革兰氏阳性菌的比例分别达到 47.49%、49.77% 和 46.37%;而在底层泥样中,3 个站位的革兰氏阳性菌的比例依次为 59.99%、77.38% 和 73.95%,占有绝对的优势。这说明随着深度的增加,微生物的生理和代谢活动受表层海水的影响逐渐减弱。

从表 2 可以看出,底层泥样中细菌的香农-威纳指数和均匀度指数均低于表层泥样,说明滩涂表层中细菌群落的多样性比较丰富,群落的稳定性也较滩涂底层高,这可能与潮汐和滩涂养殖贝类的生理代谢活动有关。在空间分布上,三北表层泥样中细菌群落的多样性指数最高,均匀度指数也最大,而观城底层泥样中细菌群落的多样性指数和均匀度指数均为最低。

根据 t 检验的结果(如表 3 所示),在细菌群落的多样性方面,三北底层、新浦表层和观城表层之间不存在显著差异,新浦表层与总体表层之间的差异也不显著。除此之外,其它位点之间均存在显著差异,而且即使是在同一个位点,表层泥样和底层泥样在菌群组成方面也存在着显著的差异。这种情况说明,异养细菌的菌群组成除了受各采样点地理环境的影响外,潮汐、地表径流、养殖生物的活动和人类活动等因素均可能对异养细菌的菌群组成产生影响。

2.2.2 异养细菌菌群组成的时间差异

异养细菌的菌群组成在不同的月份也存在着很大的差异(如表 4 所示)。4 月份革兰氏阴性菌占有绝对的优势,革兰氏阳性菌所占比例仅为 33.92%;其它月份均为革兰氏阳性菌占优势,其中 3 月份和 7 月份的比例最高,分别为 73.67% 和 77.81%。从均匀度指数来看,3 月份和 7 月份异养细菌的菌群组成在泥样中的分

布最不均匀,均匀度指数分别为 0.66 和 0.64,而其它月份则相差不大。从香农指数上看,4 月份滩涂沉积物环境中细菌群落的多样性程度最高,群落的稳定性也较其它月份高,而 6 月份和 7 月份滩涂中细菌群落的多样性程度最低,香农指数仅为 1.68 和 1.64。

表 2 异养细菌菌群组成(%)的空间差异

Table 2 The spatial difference among the floras of heterotrophic bacteria

属名 Genus	三北滩涂 Intertidal of Sanbei		新浦滩涂 Intertidal of Xipu		观城滩涂 Intertidal of Guancheng		总计 Total	
	表层 Surface	底层 Bottom	表层 Surface	底层 Bottom	表层 Surface	底层 Bottom	表层 Surface	底层 Bottom
<i>Clostridium</i>	15.69	17.33	15.21	24.64	12.90	24.72	14.48	22.79
<i>Bacillus</i>	16.53	33.52	22.58	37.00	24.60	44.28	21.12	38.38
<i>Corynebacterium</i>	11.09	8.19	11.52	13.53	8.67	14.76	10.31	12.14
<i>Micrococcus</i>	1.67	0.19	0.46	0.21	0.20	0.18	0.78	0.19
<i>Enterobacteriaceae</i>	12.55	6.09	10.60	4.44	9.68	2.03	10.88	4.16
<i>Photobacterium</i>	15.69	8.00	13.36	5.92	21.98	2.58	17.09	5.45
<i>Xanthomonas</i>	1.26	0.76	0.69	1.29	0.20	0.37	0.71	0.78
<i>Aeromonas</i>	2.09	3.43	3.92	0.85	2.62	1.11	2.82	1.82
<i>Flavobacterium</i>	6.49	4.00	5.30	3.81	4.23	3.87	5.30	3.90
<i>Pseudomonas</i>	7.32	9.90	8.53	3.59	9.07	2.95	8.26	5.52
<i>Vibrio</i>	0.21	0.38	1.38	0.00	0.60	0.18	0.71	0.19
<i>Alcaligenes</i>	3.14	1.14	1.84	1.06	1.01	0.74	1.98	0.97
<i>Flexibacter</i>	0.42	0.19	0.46	0.21	0.00	0.55	0.28	0.32
<i>Chromobacterium</i>	0.21	0.38	0.23	0.21	0.40	0.00	0.28	0.19
<i>Achromobacter</i>	0.21	0.19	0.00	0.00	0.40	0.00	0.21	0.06
<i>Acinetobacter</i>	3.98	4.95	2.54	0.85	2.62	0.18	3.04	2.01
<i>Staphylococcus</i>	2.30	0.57	0.00	0.00	0.00	0.55	0.78	0.39
<i>Lactobacillus</i>	0.21	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.06
未定 <i>Uncertain</i>	0.21	0.19	0.23	0.00	0.60	0.00	0.35	0.13
总计 Total	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E</i>	0.80	0.71	0.79	0.67	0.76	0.59	0.76	0.64
<i>H'</i>	2.37	2.09	2.20	1.76	2.10	1.59	2.25	1.87
<i>VarH'</i>	0.0011	0.0019	0.0014	0.0022	0.0015	0.0023	0.0005	0.0008

表 3 显著性差异检验

Table 3 Significance difference test (*t*-test)

样品 Samples	SB	SD	XB	XD	GB	GD	ZB	ZD
SB	*	5.11	3.40	10.62	5.30	13.38	3.00	11.47
SD	$P < 0.01$	*	1.91	5.15	0.172	7.72	3.27	4.23
XB	$P < 0.01$	$P > 0.05$	*	7.33	1.86	10.03	1.15	7.04
XD	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	*	5.59	2.53	9.43	2.01
GB	$P < 0.01$	$P > 0.5$	$P > 0.05$	$P < 0.01$	*	8.27	3.35	4.80
GD	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.01$	*	12.47	5.03
ZB	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P > 0.2$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	*	10.54
ZD	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	*

1. SB:三北表层;SD:三北底层;XB:新浦表层;XD:新浦底层;GB:观城表层;GD:观城底层;ZB:总体表层;ZD:总体底层;2. 上三角为 *t* 值,下三角为概率水平

1. SB: Surface layer of Shanbei; SD: Bottom layer of Shanbei; XB: Surface layer of Xipu; XD: Bottom layer of Xipu; GB: Surface layer of Guancheng; GD: Bottom layer of Guancheng; ZB: Surface layer of overall; ZD: Bottom layer of overall; 2. Super-triangle represent *t* -value, sub-triangle represent probability level

表 4 异养细菌菌群组成(%)的时间差异

Table 4 The temporal difference among the floras of heterotrophic bacteria

属名 Genes	3 月 Mar	4 月 Apr	5 月 May	6 月 Jun	7 月 Jul	8 月 Aug	9 月 Sep	10 月 Oct	11 月 Nov	12 月 Dec
<i>Clostridium</i>	22.91	4.42	6.35	23.73	21.58	25.85	17.06	21.54	21.82	23.72
<i>Bacillus</i>	42.41	12.39	13.49	38.56	50.46	37.06	36.45	27.18	20.61	23.12
<i>Corynebacterium</i>	7.12	15.93	36.11	4.24	3.95	3.82	8.03	15.90	10.00	12.31
<i>Micrococcus</i>	0.62	1.18	0.40	0.85	0.00	0.00	0.00	1.03	0.61	0.30
<i>Enterobacteriaceae</i>	1.86	8.55	9.52	16.95	3.04	7.06	11.37	4.10	7.58	5.41
<i>Photobacterium</i>	8.98	21.24	9.13	6.36	6.08	6.47	14.38	7.69	12.73	13.81
<i>Xanthomonas</i>	0.93	3.24	0.79	0.00	0.61	0.88	0.33	0.00	0.00	0.00
<i>Aeromonas</i>	3.10	4.72	0.79	0.85	3.04	4.12	2.68	1.03	0.30	0.90
<i>Flavobacterium</i>	1.24	14.45	13.89	4.66	4.26	1.76	2.34	1.54	1.52	0.60
<i>Pseudomonas</i>	7.43	6.78	3.57	0.00	1.52	4.41	3.68	10.26	17.88	10.81
<i>Vibrio</i>	0.00	0.59	0.00	0.85	0.00	1.18	0.00	0.51	0.00	0.90
<i>Alcaligenes</i>	0.93	1.18	1.19	0.85	1.52	2.94	0.67	1.54	2.73	0.60
<i>Flexibacter</i>	0.00	1.18	1.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.30
<i>Chromobacterium</i>	0.00	0.59	0.00	0.00	0.00	0.59	0.33	0.00	0.30	0.00
<i>Achromobacter</i>	0.00	0.29	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	1.03	0.00	0.00
<i>Acinetobacter</i>	1.55	1.18	2.38	1.27	2.13	3.24	1.34	4.10	2.73	5.11
<i>Staphylococcus</i>	0.31	0.00	0.00	0.00	1.52	0.29	1.00	0.51	0.30	1.50
<i>Lactobacillus</i>	0.30	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
未定 Uncertain	0.00	0.29	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.05	0.00	0.00
总计 Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E</i>	0.66	0.79	0.74	0.70	0.64	0.72	0.73	0.77	0.76	0.76
<i>H'</i>	1.75	2.23	1.96	1.68	1.64	1.90	1.88	2.07	2.01	2.01

2.3 异养细菌数量的周年变化

滩涂异养细菌数量的周年变化如图 1 所示,全年变化幅度很大,波动在 $1.62 \times 10^3 \sim 7.45 \times 10^5$ cfu/g(湿重,以下同)之间,平均值为 5.79×10^4 cfu/g。总体上,各采样位点异养细菌数量的变化曲线大致吻合,其中三北滩涂中异养细菌数量波动幅度最小,数量也最少,全年波动在 $1.62 \times 10^3 \sim 2.00 \times 10^5$ cfu/g 之间,平均值为 3.41×10^4 cfu/g;新浦异养细菌的数量分布在 $1.81 \times 10^3 \sim 3.59 \times 10^5$ cfu/g 之间,平均值为 4.96×10^4 cfu/g;观城异养细菌数量最多,波动幅度也最大,分布在 $2.29 \times 10^3 \sim 7.45 \times 10^5$ cfu/g 之间,平均值为 9.00×10^4 cfu/g。在垂直分布上,表层异养细菌的数量略高于底层,但差异并不显著,处于同一个数量级,其中表层的平均值为 5.88×10^4 cfu/g,而底层的平均值为 5.69×10^4 cfu/g。

在时间分布上,3 月份和 10 月份异养细菌的数量较高,而其它月份则相对较低,其中最高月份和最低月

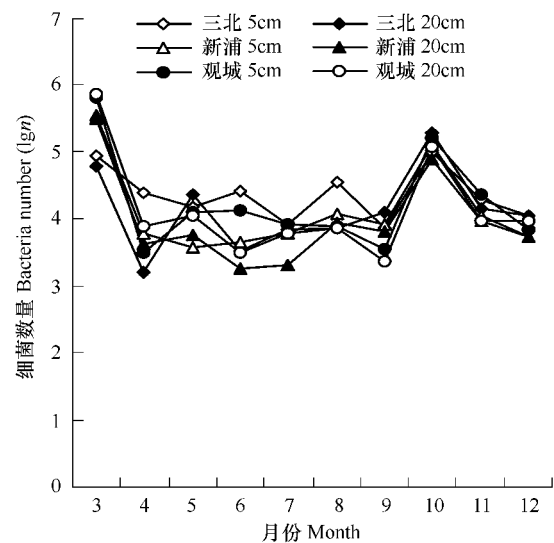


图 1 异养细菌数量的周年变动

Fig. 1 The annual variation of the numbers of heterotrophic bacteria

份相差两个数量级。从实验结果来看,温度并不是影响异养细菌数量分布的主要环境因子,夏季虽然温度很高,但细菌数量普遍较低,而3月份虽然气温不高,但异养细菌的数量却达到全年最高,这与枯水期有机质含量高于丰水期(表1)、革兰氏阳性菌特别是芽孢杆菌在滩涂异养细菌的菌群组成中占有较大的比例有很大关系。此外,当地养殖户在养殖前一般都会进行清涂,随着敌害生物的大量死亡、分解,滩涂中有机物的含量增加,这也为3月份滩涂中异养细菌大量繁殖提供了有利的条件。此后,一直到9月份,尽管温度不断上升,但异养细菌的数量始终偏低。10月份异养细菌的数量骤然上升,其原因可能与滩涂养殖贝类的生态习性和养殖周期有关。包括缢蛏、泥螺在内的许多滩涂贝类在10月份正处于繁殖盛期,代谢物和排泄量均大量增加,并且该时期贝类体质趋弱,对环境因子敏感,遇到不良环境时极易引起死亡,死亡的贝类残体大量分解,这些都会使滩涂底质环境中有机物含量迅速增加,进而为异养细菌的大量繁殖提供了充足的营养物质。10月份采样时正值滩涂贝类死亡高峰期,随处可见贝类死亡后留下的空壳,涂质明显发黑,并带有明显的恶臭味。

2.4 反硝化细菌数量的周年变化

反硝化细菌可将硝酸盐还原为亚硝酸盐、氨(NH_3),甚至还原为氮气,因此,可以利用反硝化细菌的丰度指示环境中硝酸盐的浓度。在慈溪滩涂贝类养殖环境中,所有的站位均可以分离得到反硝化细菌,具体的变化如图2所示。全年反硝化细菌的数量波动在 $1.50 \times 10^4 \sim 5.00 \times 10^7$ 个/g之间,平均值为 4.01×10^6 个/g。在地域分布上,3个站位反硝化细菌的数量存在很大的差异,其中三北滩涂中反硝化细菌的数量最高,平均值为 1.66×10^7 个/g,而新浦和观城则相对较低,分别为 3.23×10^6 个/g和 3.99×10^6 个/g。在垂直分布上,滩涂表层和底层中反硝化细菌的数量也有较大的差异,三北和观城滩涂中反硝化细菌的数量均为表层高于底层,但新浦滩涂中底层反硝化细菌的数量较高。

在时间分布上,全年反硝化细菌数量的波动幅度很大。从3月份到7月份,反硝化细菌的数量一直维持在较低的水平。从8月份开始,反硝化细菌的数量迅速上升,一直到10月份反硝化细菌的数量都保持在较高的水平,说明这3个月份滩涂贝类养殖环境中硝酸盐的浓度较高,并有大量的硝酸盐在反硝化细菌的参与下被还原为亚硝酸盐、氨(NH_3)或氮气。此后,反硝化细菌的数量又迅速降低。

2.5 氨化细菌数量的周年变化

氨化细菌可以将浮游植物或底栖藻类不能利用的有机氮化合物转化成为可供态的氮,进而为浮游植物、底栖藻类和异养的微生物提供营养物质。在慈溪滩涂中,氨化细菌的检出率也为100%,具体的数量分布如图3所示。根据统计,滩涂中氨化细菌的数量波动相对较为平缓,全年变动在 $9.00 \times 10^4 \sim 9.00 \times 10^7$ 个/g之间,平均值为 1.01×10^7 个/g。在地域分布上,3个采样位点氨化细菌的数量相差不大,处于同一个数量级上。在垂直分布上,表层氨化细菌的数量多于底层,其中表层的平均值为 1.35×10^7 个/g,而底层的平均值则为 6.67×10^6 个/g。在时间分布上,11月份氨化细菌的数量最高,5月份最低,而其它月份则相差不大,处于同一个数量级。

2.6 硫酸还原菌数量的周年变化

硫酸还原菌大多生存于厌氧环境,其活动可以使硫酸盐还原,硫化物含量增加,氧化还原电位(Eh)降低,因而,尽管硫酸还原菌有其环境中存在的必然性,但若大量出现,必定是环境质量恶化的结果和标志之一。在滩涂养殖环境中,硫酸还原菌的检出率是100%,而且其数量维持在较高的水平,全年波动在 $9.00 \times 10^3 \sim$

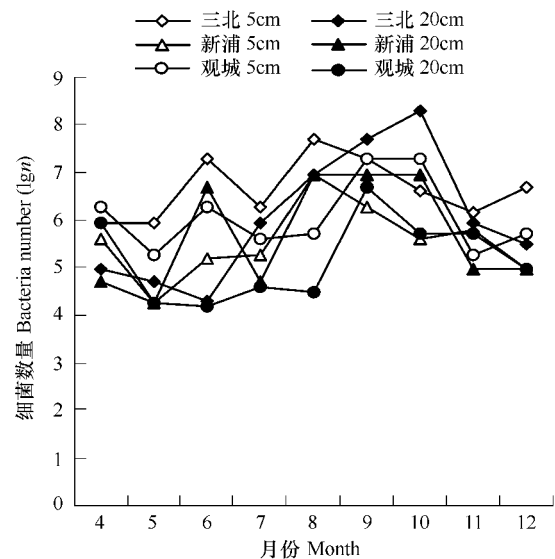


图2 反硝化细菌数量的周年变动

Fig. 2 The annual variation of the numbers of denitrifying bacteria

4.00×10^6 个/g 之间,平均值为 7.48×10^4 个/g。这说明经过常年不间断的养殖以后,滩涂养殖环境已经开始恶化,具体的分布情况如图 4 所示。在地域分布上,3 个采样点中以三北滩涂中硫酸还原菌的数量最高,平均值为 1.48×10^6 个/g,而新浦和观城滩涂中硫酸还原菌的数量相对较低,平均值分别为 7.37×10^5 个/g 和 5.05×10^5 个/g,这也与对滩涂养殖环境中硫化物检测的结果相吻合(表 1)。

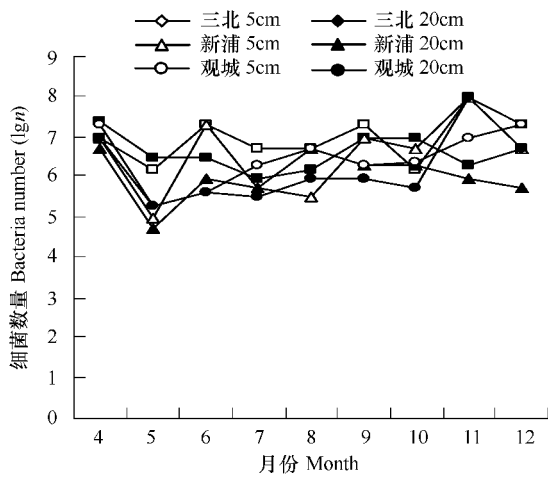


图 3 氨化细菌数量的周年变动

Fig. 3 The annual variation of the numbers of ammonifying bacteria

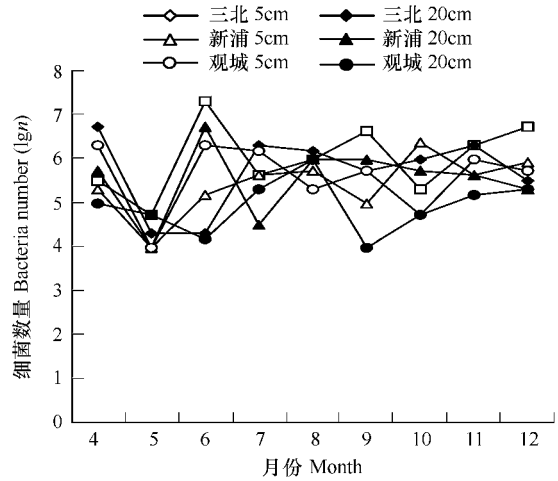


图 4 硫酸还原菌数量的周年变动

Fig. 4 The annual variation of the numbers of sulphate reducing bacteria

在垂直分布上,滩涂表层和底层中硫酸还原菌的数量相差不大,处于同一个数量级,但由于环境温度、有机物含量、氧化还原电位等因素的影响,滩涂表层硫酸还原菌的数量波动幅度较大,而底层滩涂环境则相对稳定,硫酸还原菌数量的波动幅度也较小。在时间分布上,硫酸还原菌的数量没有明显的季节变化,全年维持在较高的水平,各月的平均值均处于同一个数量级。

2.7 滩涂贝类养殖环境中几类主要细菌的相关性

滩涂贝类养殖环境中异养细菌及 3 种特殊生理类群之间的相关情况如表 5 所示,异养细菌与反硝化细菌、氨化细菌在数量上呈正相关,且与氨化细菌的相关性极其显著,但与硫酸还原菌呈负相关。这说明异养细菌与氨化细菌具有很大的同步性,有着共同的指示作用,可以同时反映滩涂养殖环境的营养、污染等状况。此外,氨化细菌与反硝化细菌在数量上呈负相关,而硫酸还原菌与反硝化细菌、氨化细菌均呈正相关,这充分说明细菌与细菌之间、细菌与环境因子之间的关系是错综复杂的,也反映出了滩涂生态系统的复杂性。

表 5 异养细菌及 3 种特殊生理类群彼此之间的相关性

Table 5 Correlation between the heterotrophic bacteria and physiological groups

细菌种类 Category of bacteria	异养细菌 Heterotrophic bacteria	反硝化细菌 Denitrifying bacteria	氨化细菌 Amonifying bacteria	硫酸还原菌 Sulfatereducing bacteria
异养细菌 Heterotrophic bacteria	1.000	0.049	0.431 **	-0.015
反硝化细菌 Denitrifying bacteria		1.000	-0.039	0.016
氨化细菌 Amonifying bacteria			1.000	0.062
硫酸还原菌 Sulfatereducing bacteria				1.000

* 表示显著 represent significance; * * 表示极其显著 represent per-significance

3 讨论与小结

3.1 通常认为,底栖异养细菌的分布受多种因素的影响,有机质含量、温度、潮汐和沉积物类型等均能影响其

数量分布和种类组成^[1~4]。慈溪滩涂贝类养殖区为近岸开放性养殖滩涂,底质类型基本上属于砂质,有机质含量较高,盐度偏低,并明显受到地表径流、潮汐等环境因素的影响。特殊的地理环境使滩涂中异养细菌的分布特征不同于虾池、池塘、湖泊等封闭性的养殖区域,具有一定的特殊性。研究结果表明温度的变化对异养细菌的数量分布影响不大,3 月份和 10 月份异养细菌数量最高,而温度较高的夏季,异养细菌的数量反而偏低。在垂直分布上,表层异养细菌的数量略高于底层,说明随着深度的增加,有机物的含量越来越少,异养细菌的数量也逐渐降低,这与国内外其他学者的报道相一致^[5~8]。

滩涂中异养细菌的菌群组成具有明显的陆源性特点,革兰氏阳性菌占有绝对的优势,说明滩涂贝类养殖环境受到大陆的明显影响,随着河川入海、人类频繁的活动和海、气界面的交换,陆地土壤和淡水里大量的细菌被携带入海洋环境,它们适应能力极强,能在海洋环境里大量存活。而滩涂底层中革兰氏阳性菌的比例高于表层,则反映出由于潮汐的活动,滩涂表层的菌群组成受到海水的影响。

通过对异养细菌菌群组成的分析,芽孢杆菌属、梭状芽孢杆菌属、假单胞菌属、肠杆菌科的部分属、棒状杆菌属、发光杆菌属和黄杆菌属等是滩涂贝类养殖环境中占优势的菌属。其中芽孢杆菌属、梭状芽孢杆菌属和假单胞菌属对蛋白质和多糖类均具有很强的分解能力,是滩涂中分解代谢活力旺盛的菌群。长期不间断的滩涂养殖,使这类细菌的代谢产物大量积聚,也间接导致了滩涂养殖环境的“老化”或恶化。而肠杆菌科的大量出现,不仅表明滩涂养殖环境已受到严重的陆源性污染,还提示我们警惕可能存在的病原性细菌。因此,我们应当加强和重视滩涂养殖贝类的净化技术及消毒处理技术等方面的研究,并积极倡导歇滩轮养。

3.2 作为不同的生理类群,反硝化细菌、氨化细菌和硫酸还原菌在滩涂养殖环境中具有不同的生理功能,它们特有的酶解作用可以将环境中的有机质降解而从中获取能量,因而在滩涂生态系统的物质循环和能量流动中起着关键的作用。根据统计,各站位反硝化细菌、氨化细菌和硫酸还原菌的检出率均为 100%,且都维持在一个较高的水平,说明滩涂底质环境中有机物的含量已达到了相当的水平,从而在不同的角度反映出滩涂沉积物环境的恶化。

3.3 在贝类养殖滩涂中,异养细菌与氨化细菌在数量上呈正相关,且相关性极其显著,说明二者具有很大的同步性,可同时反映养殖环境的营养水平和污染状况等。而异养细菌与其它生理类群、3 种特殊的生理类群之间的相关性均不显著,甚至呈负相关,这说明滩涂贝类养殖环境中细菌与细菌之间、细菌与环境因子之间的关系是错综复杂的。

3.4 细菌作为滩涂生态系统的分解者,可以将有机物降解为简单的无机物,减少底质环境中溶解有机物的含量,并不断的提供营养盐,使滩涂生态系的物质循环得以维持。另外,一定量的细菌对稳定滩涂的 pH 也有一定的作用。在滩涂生态系统中,细菌的数量与溶解有机物(COD)的含量密切相关,一定量的 COD 是维持细菌正常繁殖所必需的条件,但 COD 含量过高又会导致细菌大量繁殖,使滩涂生态系统失去平衡,从而引发滩涂养殖贝类的发病和死亡。在贝类养殖滩涂中,COD 的来源主要有 3 个:① 底栖藻类、浮游植物等的体外代谢产物;② 滩涂养殖生物等的代谢物;③ 死亡的动植物残体的分解物等。因此,研究滩涂的养殖容量、环境变化规律、饵料生物种类及丰度、细菌学分析、涂质类型等,对保持滩涂养殖环境的生态系统平衡,促进养殖生产的可持续发展,均具有重要的理论意义和应用价值。

References:

- [1] Mitchell J G, Pearson L, Dillon S. Clustering of marine bacteria in seawater enrichments. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 3716—3721.
- [2] Su Y Q, Cai X Y, Wang J, *et al.* The Relationship Between the Penaeid Diseases, Bacterial Numbers and Ecological Factors. *Journal of Xiamen Fisheries College*, 1994, 16(2): 40—43.
- [3] Ma J B, Dong Q X, Huang C J. The temporal and spatial distribution of bacterioplankton in a large scale mariculture located in Zhelin Bay, Eastern Guangdong Province, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(2): 477—485.
- [4] Lin X T, Yan R J, Huang C J. Distribution of bacteria and environmental factors in the large-scale mariculture area of Zhelin Bay in East Guangdong, China. *Acta Oceanologica Sinica*, 2006, 28(3): 167—172.

- [5] Gao S D, Chen X R, Wu Y P. Variation of total bacteria number in shrimp pond waters and substrate during the adult culture of *Penaeus Chinensis*. Journal of Fisheries of China, 1994, 12(8): 138 — 142.
- [6] Liu G C, Li D S, Dong S L, *et al.* Numerical dynamics of sediment bacteria in shrimp polycultural ecosystems. Chinese Journal of Applied Ecology, 2000, 11(1): 138 — 140.
- [7] Li Q F, Qu K M, Chen B J, *et al.* Seasonal variations of some main bacterial groups in the ecosystem of old shrimp ponds. Marine Fisheries Research, 2002, 23(2): 12 — 18.
- [8] Fabio F, Silvia G, Giulio Z. Anaerobic biodegradation of weathered polychlorinated biphenyls (PCBs) in contaminated sediments of Porto Marghera (Venice Lagoon, Italy). Chemosphere, 2003, 53: 101 — 109.

参考文献:

- [2] 苏永全,蔡心一,王军,等. 虾池和海区细菌数量变动与虾病发生关系. 厦门水产学院学报,1994,16(2):40 ~ 43.
- [3] 马继波,董巧香,黄长江. 粤东大规模海水增殖区柘林湾浮游细菌的时空分布. 生态学报,2007,27(2):477 ~ 485.
- [4] 林小涛,晏荣军,黄长江. 粤东大规模养殖区柘林湾细菌的分布与环境因素关系. 海洋学报,2006,28(3):167 ~ 172.
- [5] 高尚德; 陈旭仁; 吴以平. 中国对虾养成期间虾池水体和底质中细菌含量的变化. 水产学报,1994,12(8):138 ~ 142.
- [6] 刘国才,李德尚,董双林,等. 对虾综合养殖生态系统底泥细菌的数量动态. 应用生态学报,2000,11(1):138 ~ 140.
- [7] 李秋芬,曲克明,陈碧鹃,等. 老化虾池生态系中几类主要细菌的季节变化特征. 海洋水产研究,2002,23(2):12 ~ 18.