

象山港网箱养殖区水体和沉积物的细菌生态分布

刘晶晶,曾江宁,陈全震*,江志兵,赵永强,廖一波,寿鹿,徐晓群,黄逸君,杜萍

(国家海洋局海洋生态系统与生物地球化学重点实验室,国家海洋局第二海洋研究所,杭州 310012)

摘要:2006年1月和10月对象山港网箱养殖区细菌数量分布及群落结构进行研究,并与周边非养殖海域进行了比较。结果显示水体和沉积物细菌数量均呈现10月份>1月份、网箱养殖区>网箱外侧对照区>近湾顶对照区>近湾口对照区的分布特点,其中网箱养殖区水体异养细菌、弧菌数量分别在 1.0×10^6 — 7.2×10^7 CFU/L和 1.6×10^5 — 1.3×10^6 CFU/L之间,沉积物异养细菌、弧菌数量分别在 5.9×10^2 — 6.1×10^5 CFU/g和 8.0×10^1 — 7.4×10^4 CFU/g之间。网箱养殖区水体分离细菌89株,归属于12个属,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)等为优势菌属;沉积物分离细菌136株,归属于10个属,其中假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等为优势菌属。由于长期受到高营养盐、高有机质等外界条件的选择作用,网箱区及网箱外侧对照区海域的细菌群落多样性较低,某些特定的细菌类群富集。研究表明网箱养殖区的细菌分布和菌属组成特征与养殖自身污染密切相关,并且养殖过程对细菌群落产生的影响已扩展至网箱外侧的邻近海域。

关键词:细菌;水体;沉积物;网箱养殖区;象山港

The bacterial ecological distribution in water and sediment of cage culture area in Xianshangang Bay

LIU Jingjing, ZENG Jiangning, CHEN Quanzhen*, JIANG Zhibing, ZHAO Yongqiang, LIAO Yibo, SHOU Lu, XU Xiaoqun, HUANG Yijun, DU Ping

Laboratory of Marine Ecosystem and Biogeochemistry of SOA, Second Institute of Oceanography SOA, Hangzhou 310012, China

Abstract: Bacterial population and community structures were studied in cage culture environment in Xiangshangang Bay in January and October (2006), and the results were compared with those in cage's adjacent non-cultured environment in Xiangshangang Bay. Bacteria quantitative distribution presented a series of characters in water and sediment: Higher bacterial number was observed in Oct. than that in Jan., and the horizontal distribution of bacterial number displayed that Cage culture area > Reference site near cage > Reference site near bayhead > Reference site near baymouth. The number of heterotrophic bacteria and vibrios in cage culture water ranged from 1.0×10^6 — 7.2×10^7 CFU/L and 1.6×10^5 — 1.3×10^6 CFU/L, respectively. The number of heterotrophic bacteria and vibrios in cage culture sediment ranged from 5.9×10^2 — 6.1×10^5 CFU/g and 8.0×10^1 — 7.4×10^4 CFU/g, respectively. 89 strains of heterotrophic bacteria isolated from the cage culture water mainly belonged to 12 genera. *Acinetobacter*, *Pseudomonas* and *Vibrio* were the dominant genera. 136 strains of heterotrophic bacteria isolated from the cage culture sediment mainly belonged to 10 genera. *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus* and *Acinetobacter* were the dominant genera. Because of long-term drainage of abundant nutrients and organic matters, microbial diversity reduced in cage culture area and reference site near cage, some functional microbes became dominating bacterial colonies. This study demonstrated that the characters of bacterial quantitative distribution and community structures were closely related to self-pollution status of cage culture, and the effects to bacterial community

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目973专项资助项目(2010CB428903);国家908专项资助项目(908-02-04-02;908-01-BC06;908-01-ST04);浙江省908专项资助项目(ZJ908-01-01-2);海洋公益性行业科研专项经费资助项目(200805069);国家海洋局第二海洋研究所基本科研业务费专项资助项目(JT0806, JC200819)

收稿日期:2008-10-29; 修订日期:2009-03-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chenqz6509@126.com

induced by cage culture have spreaded to its adjacent area.

Key Words: bacteria; water; sediment; cage culture area; Xiangshangang Bay

目前,全球范围内海洋捕捞产量急剧下降,海产品需求的增长在更大程度上依靠迅速发展的海水养殖业,网箱养殖业在其中占据了主要地位^[1]。中国的水产网箱养殖始于 20 世纪 80 年代初,近几年由于养殖技术的发展,海水网箱养殖业发展迅速,但养殖活动对生态环境造成的负面影响,往往具有长期性和严重性,这给原本较脆弱的生态环境带来了直接威胁。

细菌等微生物是海洋生态系统中的重要组成部分,它们既是各种有机物质的分解者和转化者,又是物质和能量的贮存者。Caron 等^[2]认为,近岸水体浮游动物仅摄取初级生产量的 20% 左右,其余约 40% 分别被浮游和底栖异养细菌消耗。Turley 等^[3]调查发现底栖异养细菌以高丰度、快生长代谢速度消费了深海底栖环境中 13%—30% 生物可利用有机质。同时,细菌等微生物又是极易受到环境影响的生物类群,尤其是对人类活动的干扰非常敏感,能对水体和沉积物生态机制变化和环境影响作出反应^[4-5]。随着海洋细菌在海洋生态系统中的地位 and 作用显著增强,已成为海洋环境与生态学研究不可缺少的重要内容,也是正确评价海洋生态系统结构与功能的重要组成部分^[6-8]。

象山港是浙江省最重要的水产养殖基地之一。近年来,养殖海水鱼取得了可观的经济效益,人们发展网箱养殖积极性高涨。然而由于网箱养殖数量和密度大增,又缺乏相对科学的管理,造成养殖区生态系统结构与功能逐渐恶化,给养殖生产和生态环境造成了严重影响。目前,对象山港网箱养殖区的研究大多为环境方面的内容,有关生态的报道多以浮游动植物、底栖动物为主,对微生物的研究较为缺乏^[9-10]。本文调查研究了象山港网箱养殖区和周边环境细菌生态分布特征,为象山港网箱养殖自身污染状况及其生态效应评价提供必须的微生物生态资料,同时为养殖区病害防治提供科学依据。

1 实验方法

1.1 采样时间和站位

象山港地处浙江中部,是一个稳定性比较好的狭长型半封闭海湾。现场采样时间于 2006 年 1 月和 10 月。采样点 Cage 位于象山港网箱养殖区内,对照点 Control 1、Control 2 和 Control 3 分别位于网箱外(距网箱约 150 m)、近湾顶(距网箱约 1 km)和近湾口(距网箱约 4 km)。采样站位布设如图 1。

1.2 采样和分析方法

表层水样采用事先灭菌的无菌采水瓶采集并封装,同时采用单管重力型柱状采泥器(事先清洗后,再用高压灭菌蒸馏水冲洗 3—4 次)采集上覆水和沉积物样品。按照无菌操作要求将上覆水收集至无菌采水瓶中。使用无菌压舌板刮取柱状沉积物 0—1 cm、10—11 cm、20—21 cm 层的样品,采集至无菌容器中。样品封装并作好标记,装入冷藏箱,2h 内运回实验室进行检测分析。

根据检测分析需要,将水体、沉积物样品按十倍稀释法制成 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释样,每个样品接种 4—6 个平板。异养细菌、弧菌计数采用平板计数法^[11]。采用的培养基分别为:

异养细菌 ZoBell 2216E 固体培养基;

弧菌 TCBS 培养基(由杭州微生物试剂厂提供)。

1.3 细菌分离和鉴定

细菌培养 48、96h 后选取菌落数在 30—300CFU 的

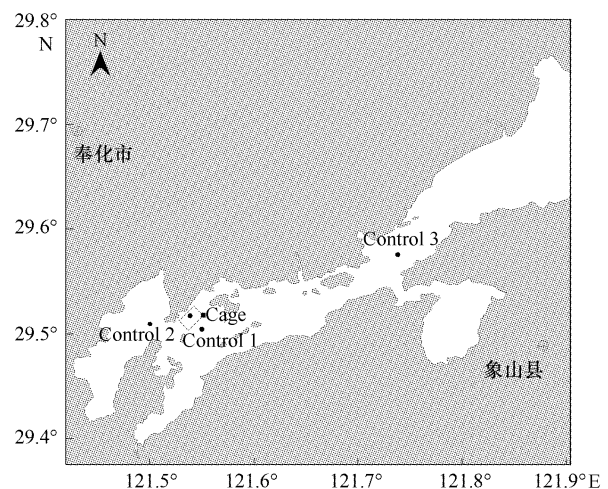


图 1 采样站位图

Fig. 1 Sampling sites

ZoBell 海水 2216E 平板,在平板上随机挑取菌落,每个平板分离 20—30 株细菌。分离的菌株纯化 2—3 次,将获得的纯培养接种于斜面,15% 甘油(事先灭菌)封口,4℃ 保存。所有菌株按美国 Oliver 海洋细菌鉴定系统及《常见细菌系统鉴定手册》^[12]提供的图式鉴定至属。

1.4 理化因子的测定

水体及沉积物理化因子的测定方法均参照《海洋监测规范》^[11]中相应的规定执行。

1.5 数据处理

多样性指数(H')是根据 Shannon-Weiner 指数公式计算,即 $H' = -\sum P_i \times \ln P_i$,其中 P_i 为第 i 属细菌在群落中的相对丰度^[13];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^[14]。多样性指数可以反映每个采样区细菌群落的多样性程度。用 Statistic 对理化因子和细菌数据进行站位、季节和采样层次的多因素方差分析(Factorial ANOVA),显著水平设置为 0.05。利用 PRIMER 5 中的 Bray-Curtis 相似性聚类对细菌群落结构进行分析。

2 结果与分析

2.1 细菌数量分布

2.1.1 水体细菌数量分布

水体细菌数量分布调查结果如图 2 所示。1 月和 10 月网箱养殖区 Cage 站位异养细菌和弧菌数量分别在 1.0×10^6 — 7.2×10^7 CFU/L 之间(平均值 $(2.7 \times 10^7 \pm 2.8 \times 10^4)$ CFU/L)和 1.6×10^5 — 1.3×10^6 CFU/L 之间(平均值 $(5.0 \times 10^5 \pm 3.9 \times 10^2)$ CFU/L)。与我国其它海域调查资料相比,本海域网箱养殖区异养细菌数量高于浙江海岛、长江口及黄海(表 1)。调查站位间细菌数量差异显著,异养细菌和弧菌均呈现网箱养殖区 > 网箱外侧对照区 > 近湾顶对照区 > 近湾口对照区的分布特点。细菌数量季节差异显著,呈 10 月份高于 1 月份的特征(表 2)。

表 1 不同海区水体异养细菌数量比较

Table 1 Comparison of heterotrophic bacterial number in different sea area

| 海区 Sea areas | 细菌数量 Bacterial number/(CFU/L) | 文献 References |
|--|---|---------------|
| 调查海域网箱养殖区 Cage culture area in studied sea | 1.0×10^6 — 7.2×10^7 | |
| 舟山海域网箱养殖区 Cage culture area in Zhoushan | 1.51×10^6 — 1.56×10^7 | [15] |
| 浙江海岛 Zhejiang Islands | 2.0×10^4 — 8.4×10^6 | [16] |
| 长江口 Changjiang Estuary | 1.1×10^3 — 1.5×10^5 | [17] |
| 黄海 Yellow sea | 3.2×10^4 — 4.1×10^5 | [18] |

2.1.2 沉积物细菌数量分布

网箱养殖区 Cage 站位异养细菌分布在 5.9×10^2 — 6.1×10^5 CFU/g 之间,平均值为 $(9.6 \times 10^4 \pm 2.0 \times 10^5)$ CFU/g。异养细菌主要分布在沉积物表层,并随深度增加而减少,其中站位 Cage 和 Control 1 细菌数量垂直变化梯度较大,20—21cm 层菌量甚至低于 Control 2 和 Control 3 同深度泥层的菌量,异养细菌数量分布表现为网箱养殖区 > 网箱外侧对照区 > 近湾顶对照区 > 近湾口对照区,且呈表层 > 深层、10 月份 > 1 月份的分布特点。网箱区 Cage 站位弧菌数量分布在 8.0×10^1 — 7.4×10^4 CFU/g 之间,平均值为 $(1.6 \times 10^4 \pm 2.5 \times 10^4)$ CFU/g,站位间弧菌数量差异显著,站位 Cage 最高、Control 1 和 Control 2 其次、近湾口 Control 3 最低,垂直分布上,各站位弧菌数量均呈现表层大于深层的特征,其中 Cage 站位 20cm 以下泥样仍能检测到 10^2 量级的菌量,高于其它对照点。季节分布与异养细菌类似,均呈现 10 月份高于 1 月份的特点。对沉积物异养细菌和弧菌数量进行站位、时间和采样层次的方差分析结果见表 2。

2.2 细菌生物量与理化因子的相关性分析

理化因子分布如图 4、图 5。水体氮、磷营养盐含量网箱养殖区最高,近湾口对照点最低。水温和营养盐分布均存在季节性差异。沉积物有机质含量分布表现为网箱养殖区 > 网箱外侧对照区 > 近湾顶对照区 > 近

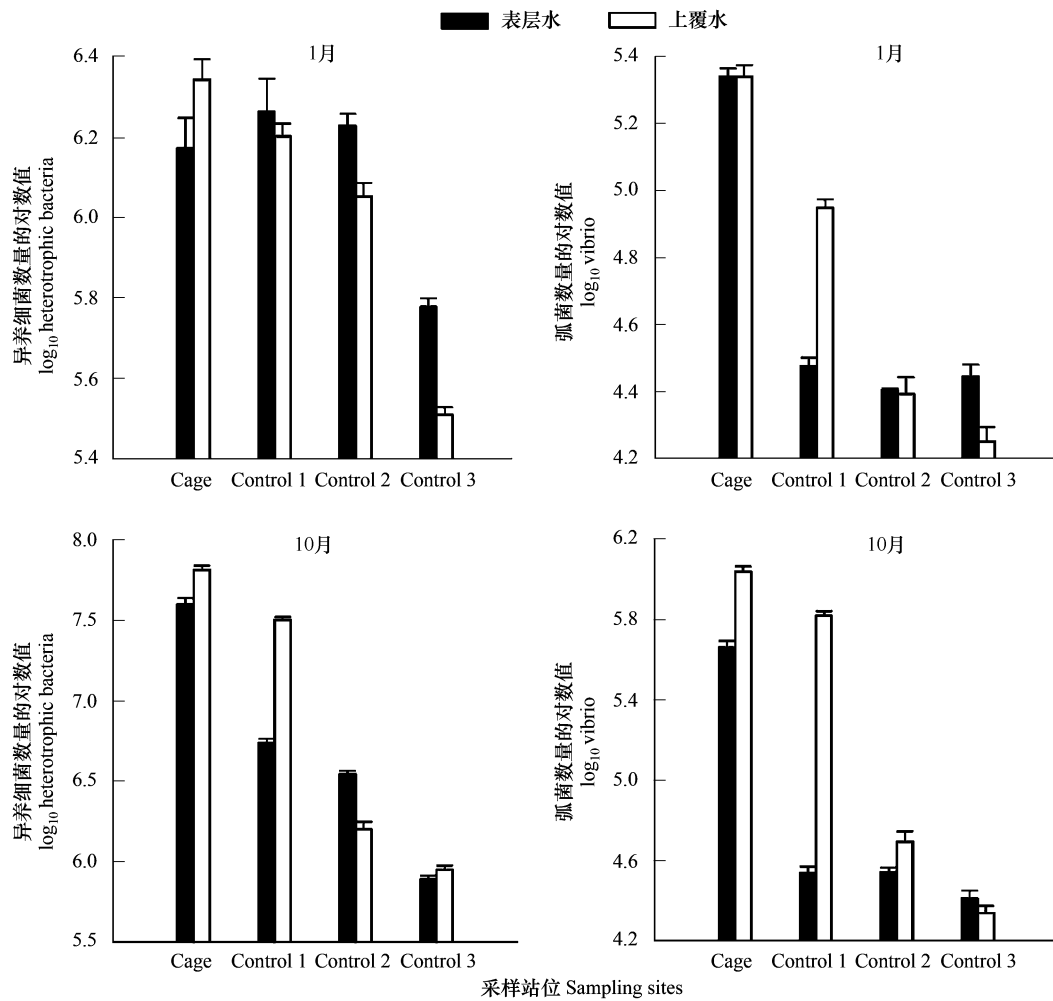


图2 水体细菌数量分布图

Fig. 2 Distribution of bacteria abundance in water

表2 方差分析结果

Table 2 The results of analysis of variance

| | 水体 Water | | | | | 沉积物 Sediment | | | |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | 水温 Temperature | 磷酸盐 Phosphate | 无机氮 Inorganic nitrogen | 异养细菌 Heterotrophic bacteria | 弧菌 Vibrios | 有机质 Organic matter | 氧化还原电位 Redox potential | 异养细菌 Heterotrophic bacteria | 弧菌 Vibrios |
| 站位 Sites | $F_{3,32}=371.16, P<0.01$ | $F_{3,32}=134.76, P<0.01$ | $F_{3,32}=15.79, P<0.01$ | $F_{3,32}=340.35, P<0.01$ | $F_{3,32}=164.83, P<0.01$ | $F_{3,48}=765.10, P<0.01$ | $F_{3,48}=670.41, P<0.01$ | $F_{3,48}=161.89, P<0.01$ | $F_{3,48}=293.56, P<0.01$ |
| 季节 Seasons | $F_{1,32}=634920, P<0.01$ | $F_{1,32}=1036.8, P<0.01$ | $F_{1,32}=0.18, P=0.66$ | $F_{1,32}=6800.15, P<0.01$ | $F_{1,32}=157.55, P<0.01$ | $F_{2,48}=177.14, P<0.01$ | $F_{2,48}=11.39, P<0.01$ | $F_{2,48}=274.41, P<0.01$ | $F_{2,48}=391.01, P<0.01$ |
| 层次 Layers | $F_{1,32}=21.55, P<0.01$ | $F_{1,32}=5.00, 0.01 < P < 0.05$ | $F_{1,32}=5.86, 0.01 < P < 0.05$ | $F_{1,32}=87.07, P<0.01$ | $F_{1,32}=92.36, P<0.01$ | $F_{1,48}=764.63, P<0.01$ | $F_{1,48}=1913.22, P<0.01$ | $F_{1,48}=180.05, P<0.01$ | $F_{1,48}=69.92, P<0.01$ |
| 交互作用 Interactions | | | | | | | | | |
| 站位-季节 Sites-Time | $F_{3,32}=356.26, P<0.01$ | $F_{3,32}=46.96, P<0.01$ | $F_{3,32}=7.68, P<0.01$ | $F_{3,32}=315.45, P<0.01$ | $F_{3,32}=59.50, P<0.01$ | $F_{3,48}=24.97, P<0.01$ | $F_{3,48}=31.23, P<0.01$ | $F_{3,48}=141.722, P<0.01$ | $F_{3,48}=52.51, P<0.01$ |
| 站位-层次 Sites-Layers | $F_{3,32}=21.82, P<0.01$ | $F_{3,32}=6.90, P<0.01$ | $F_{3,32}=14.08, P<0.01$ | $F_{3,32}=35.63, P<0.01$ | $F_{3,32}=30.88, P<0.01$ | $F_{6,48}=43.14, P<0.01$ | $F_{6,48}=90.78, P<0.01$ | $F_{6,48}=158.55, P<0.01$ | $F_{6,48}=255.82, P<0.01$ |
| 层次-季节 Layers-Seasons | $F_{1,32}=42.24, P<0.01$ | $F_{1,32}=0.56, P=0.46$ | $F_{1,32}=5.32, 0.01 < P < 0.05$ | $F_{1,32}=90.45, P<0.01$ | $F_{1,32}=79.67, P<0.01$ | $F_{2,48}=9.59, P<0.01$ | $F_{2,48}=17.97, P<0.01$ | $F_{2,48}=170.11, P<0.01$ | $F_{2,48}=77.36, P<0.01$ |
| 站位-季节-层次 Sites-Seasons-Layers | $F_{3,32}=36.63, P<0.01$ | $F_{3,32}=4.53, P<0.01$ | $F_{3,32}=5.39, P<0.01$ | $F_{3,32}=32.62, P<0.01$ | $F_{3,32}=25.08, P<0.01$ | $F_{6,48}=23.81, P<0.01$ | $F_{6,48}=45.67, P<0.01$ | $F_{6,48}=138.61, P<0.01$ | $F_{6,48}=60.25, P<0.01$ |

湾口对照区,网箱养殖活动很可能是造成网箱甚至网箱外侧对照区底泥有机质富集的重要原因,沉积物氧化

还原电位的变化趋势为网箱养殖区 < 网箱外侧对照区 < 近湾顶对照区 < 近湾口对照区,有机质含量和氧化还原电位随深度增加而降低。

水体异养细菌数量与磷酸盐、无机氮和温度的相关系数分别为 0.632**、0.163 和 0.471** ,弧菌与磷酸盐、无机氮和温度的相关系数分别为 0.632**、0.273 和 0.361* ;沉积物异养细菌和弧菌数量与有机质的相关系数分别为 0.526** 和 0.638** (* P < 0.05, ** P < 0.01)。细菌数量与氧化还原电位具有一定的负相关,但相关性不显著(异养细菌 r = -0.053,弧菌 r = -0.060;P > 0.05)。

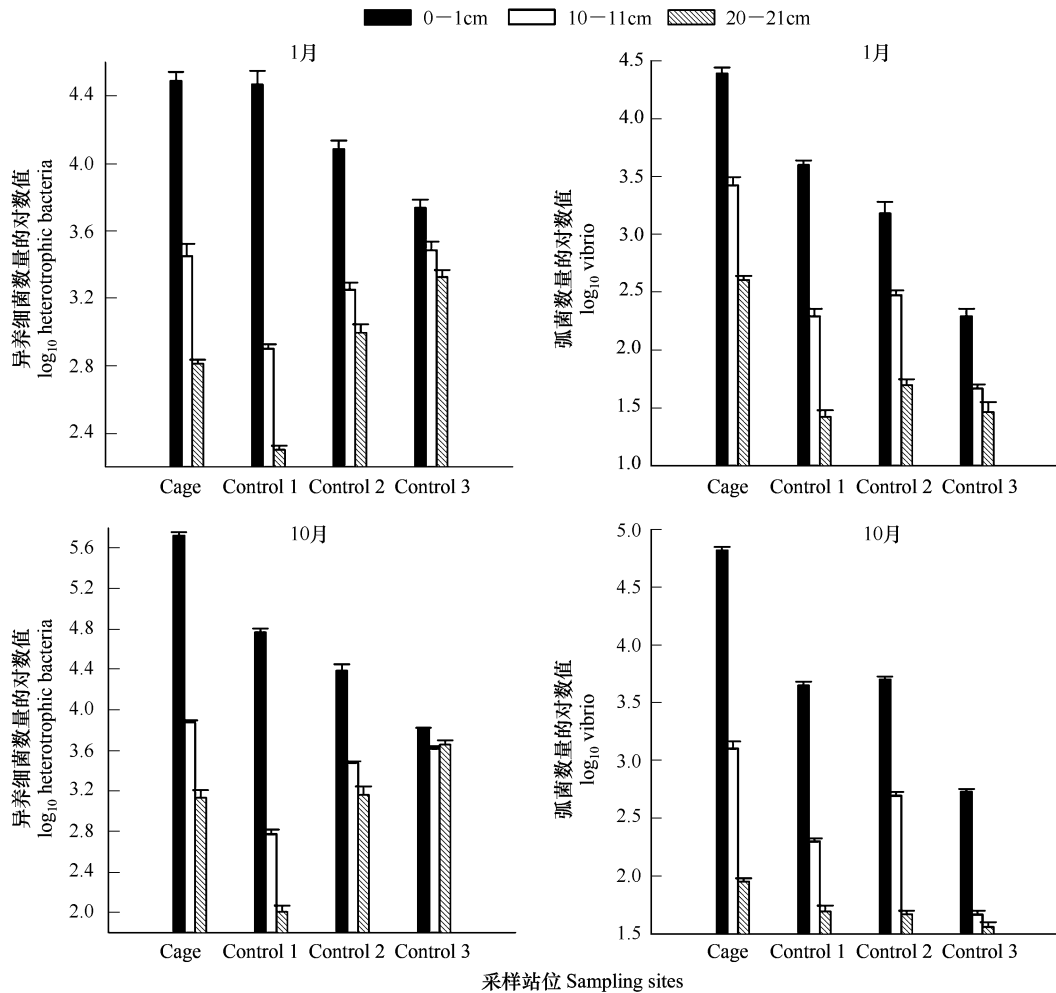


图3 沉积物细菌数量分布图
Fig. 3 Distribution of bacteria abundance in sediment columns

2.3 异养细菌群落结构

2.3.1 水体异养细菌群落结构

海水中革兰氏阴性菌大量出现(所占比例从 84%—93%),革兰氏阳性菌比例相对较低。网箱养殖区分离细菌 89 株,归属于 12 个属,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)等为优势菌属。网箱外侧对照点分离细菌 80 株,归属于 11 个属,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)等为优势菌属。近湾顶对照点分离细菌 64 株,归属于 11 个属,其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)等为优势菌属。近湾口对照点分离细菌 81 株,归属于 10 个属,其中莫拉菌属(*Moraxella*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)等为优势菌属。从计算结果看,网箱养殖区多样性指数最低,具体结果见表 3。

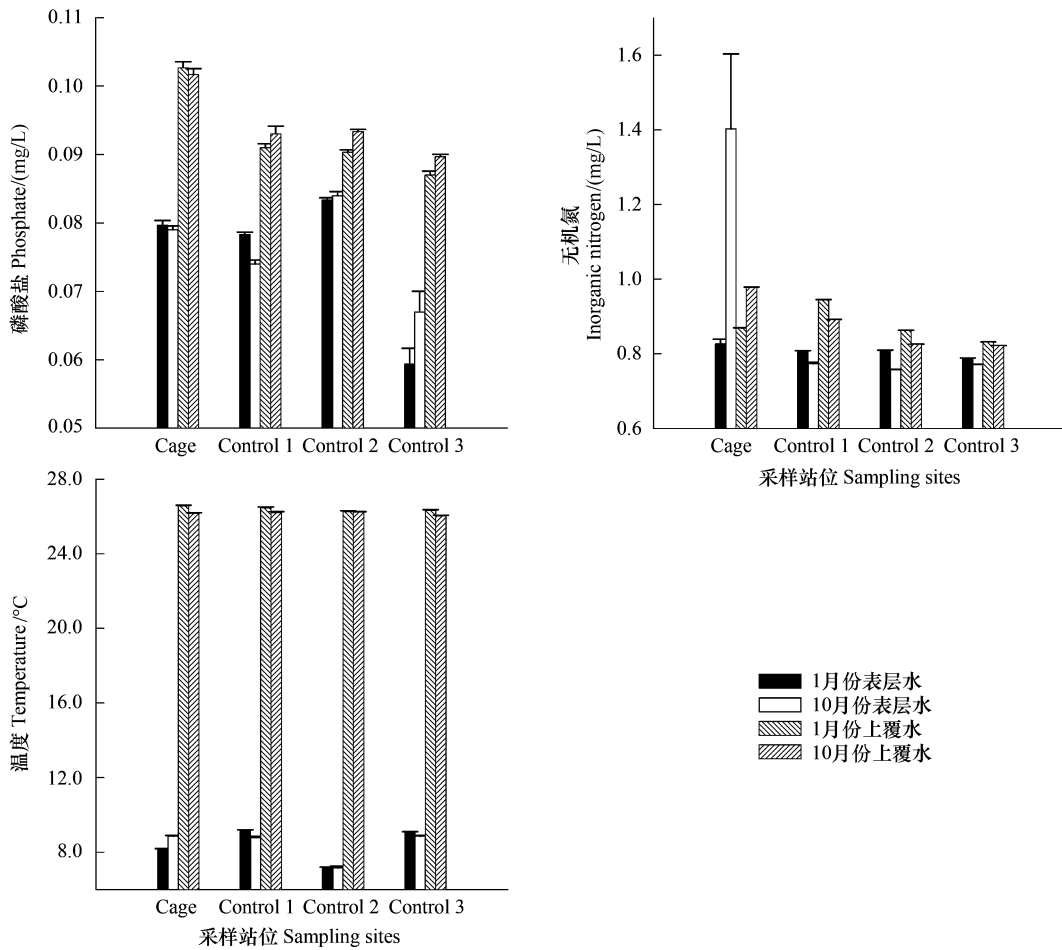


图4 水体理化因子分布图

Fig. 4 Distribution of physical-chemical factors in water columns

表3 采样点水体细菌菌群(1月份和10月份)

Table 3 Bacterial flora of sampling site water in January and October

| 属名 Genus | 采样点 Sample Site | | | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|
| | Cage | | Control 1 | | Control 2 | | Control 3 | |
| | 1月 Jun. | 10月 Oct. | 1月 Jun. | 10月 Oct. | 1月 Jun. | 10月 Oct. | 1月 Jun. | 10月 Oct. |
| 革兰氏阳性菌 G ⁺ | | | | | | | | |
| 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 |
| 棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i> | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| 葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 梭状芽孢杆菌属 <i>Clostridium</i> | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 革兰氏阴性菌 G ⁻ | | | | | | | | |
| 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> | 10 | 9 | 7 | 9 | 4 | 4 | 7 | 7 |
| 弧菌属 <i>Vibrio</i> | 5 | 14 | 5 | 7 | 5 | 6 | 3 | 4 |
| 黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i> | 2 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| 不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i> | 13 | 11 | 13 | 12 | 10 | 10 | 8 | 9 |
| 肠道杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i> 部分属 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 产碱杆菌属 <i>Alcaligenes</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| 气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 1 | 4 | 5 |
| 莫拉菌属 <i>Moraxella</i> | 5 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 9 | 9 |
| 发光杆菌属 <i>Photobacterium</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 总计 Total | 42 | 47 | 38 | 42 | 31 | 33 | 38 | 43 |
| H' | 1.91 | 1.82 | 1.89 | 1.97 | 1.99 | 1.95 | 1.96 | 2.01 |
| E | 0.83 | 0.83 | 0.82 | 0.86 | 0.87 | 0.89 | 0.89 | 0.91 |

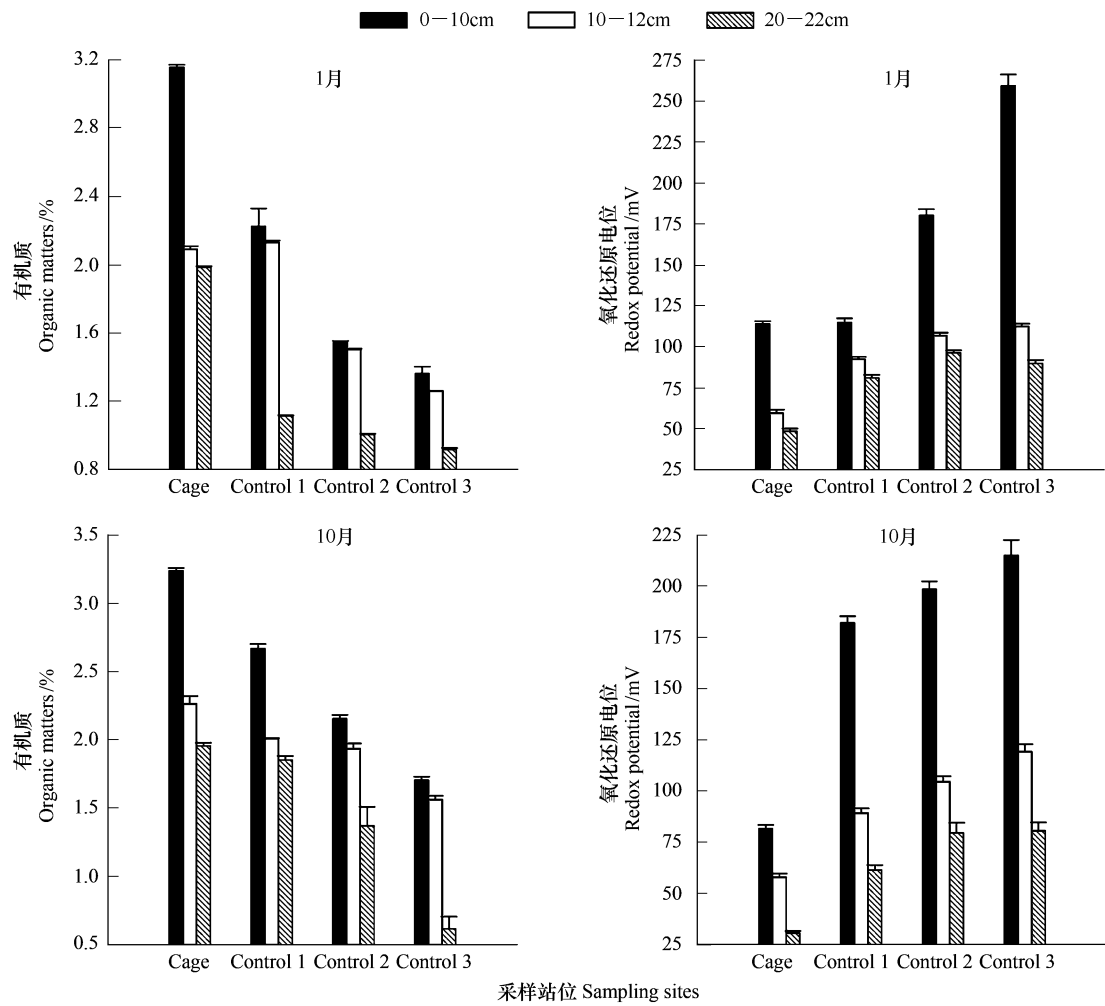


图5 沉积物理化因子分布图

Fig. 5 Distribution of physical-chemical factors in sediment columns

2.3.2 沉积物异养细菌群落结构

网箱养殖区分离细菌 136 株, 归属于 11 个属, 其中假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、弧菌属 (*Vibrio*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 等为优势菌属。网箱外侧对照点分离细菌 110 株, 归属于 11 个属, 芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、弧菌属 (*Vibrio*) 等为优势菌属。近湾顶对照点分离细菌 109 株, 归属于 16 个属, 芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 等为优势菌属。近湾口对照点站分离细菌 95 株, 归属于 18 个属, 其中芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*) 等为优势菌属。

异养细菌菌属组成及多样性见表 4, 网箱养殖区细菌多样性最低。养殖活动对沉积物细菌群落可能造成一定影响。

2.3.3 细菌群落结构的聚类分析

聚类分析结果表明网箱区细菌群落多样性低, 且存在区域性差异: 水体 1 月份网箱区 Cage 和对照点 Control 1 群落结构的相似性高, Control 3 自成一类 (图 6); 10 月份对照点 Control 1 和 Control 2 为一类, 网箱区 Cage 自成一类。沉积物细菌群落结构的聚类结果如图 7, 网箱区 Cage 和对照点 Control 1 为一类, 与 Control 3 相似性较低。说明养殖活动可能影响至养殖区附近的沉积物细菌群落, 而远离养殖区的站点受养殖活动干扰小, 其细菌群落结构与养殖区之间的相似性低。

表 4 采样点沉积物细菌菌群(1 月份和 10 月份)

Table 4 Bacterial flora of sampling site sediment in January and October

| 属名 Genus | 采样点 Sample Site | | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Cage | | Control 1 | | Control 2 | | Control 3 | |
| | 1 月 Jun. | 10 月 Oct. | 1 月 Jun. | 10 月 Oct. | 1 月 Jun. | 10 月 Oct. | 1 月 Jun. | 10 月 Oct. |
| 革兰氏阳性菌 G ⁺ | | | | | | | | |
| 芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> | 16 | 17 | 15 | 16 | 16 | 15 | 13 | 12 |
| 棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i> | 1 | 1 | 8 | 9 | 7 | 8 | 12 | 11 |
| 小球菌属 <i>Micrococcus</i> | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 4 | 3 |
| 链球菌属 <i>Streptococcus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| 梭状芽孢杆菌属 <i>Clostridium</i> | 4 | 6 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 盐水球菌属 <i>Salinicoccus</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 革兰氏阴性菌 G ⁻ | | | | | | | | |
| 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> | 18 | 15 | 11 | 10 | 8 | 6 | 4 | 5 |
| 弧菌属 <i>Vibrio</i> | 13 | 18 | 6 | 9 | 2 | 2 | 3 | 4 |
| 黄单胞菌属 <i>Xanthomonas</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i> | 3 | 5 | 1 | 3 | 4 | 4 | 3 | 0 |
| 不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i> | 9 | 6 | 9 | 8 | 9 | 8 | 1 | 2 |
| 肠道杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i> 的部分属 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 屈挠杆菌属 <i>Flexibacter</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 1 |
| 产碱杆菌属 <i>Alcaligenes</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| 气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| 莫拉菌属 <i>Moraxella</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 发光杆菌属 <i>Photobacterium</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 总计 Total | 65 | 71 | 52 | 58 | 56 | 53 | 48 | 47 |
| H' | 1.74 | 1.84 | 1.76 | 1.87 | 2.14 | 2.12 | 2.13 | 2.17 |
| E | 0.83 | 0.84 | 0.84 | 0.85 | 0.83 | 0.86 | 0.83 | 0.84 |

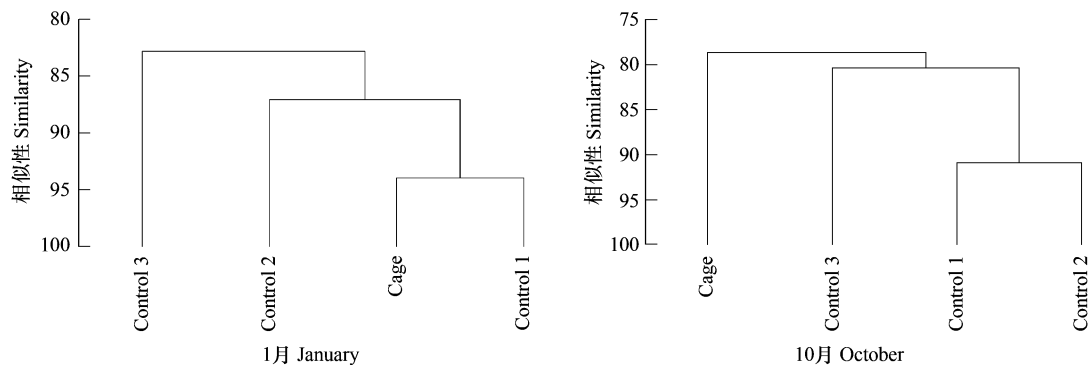


图 6 各区站位水体中异养细菌群落相似性的聚类分析图

Fig. 6 Similarity of community of heterotrophic bacteria among different stations in water

3 讨论与结论

3.1 网箱区及其邻近海域异养细菌调查结果与我国其它海域调查资料相比呈较高值。调查海域异养细菌水平分布差异显著,最高值出现在网箱区 Cage 站位。3 个对照点中,Control 2 位于与外界水体交换能力最差和受人类活动影响较大的近湾顶,但其细菌数量低于 Control 1,这与 Control 1 距离网箱养殖区最近受网箱养殖活动影响有关,Control 3 是距离养殖区最远受到人类活动影响较小的站位,其细菌数量最低是易于理解的。

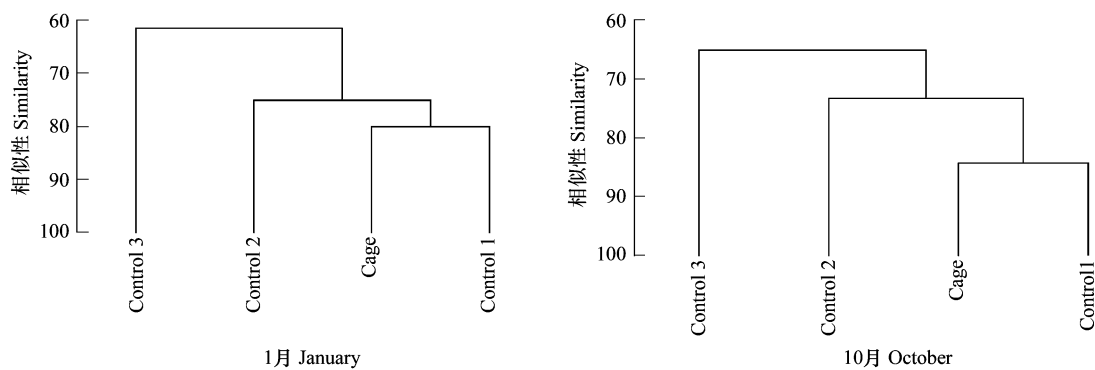


图7 各区站位沉积物中异养细菌群落相似性的聚类分析图

Fig. 7 Similarity of community of heterotrophic bacteria among different stations in sediment

与调查历史资料相比,网箱区 Cage 和网箱外对照点 Control 1 的异养细菌数量与薛超波等^[15]对舟山养殖网箱内外水体细菌调查结果相近,高于浙江海岛、长江口海域及黄海水体^[16-18],对照点 Control 3 异养细菌数量与浙江海岛调查结果相近。沉积物细菌数量分布特征与水体相似,最高值也出现在网箱区 Cage 站位。可见,网箱养殖与非养殖海域细菌数量存在差异性,La Rosa 等^[19]研究表明养殖网箱底部异养细菌数量是对照点的 3 倍之多,Chelossi^[20]也得出相似的结论。造成异养细菌水平分布差异的重要原因与网箱养殖密不可分,养殖鱼类残体、代谢产物以及饵料等外源物质的输入造成养殖区及附近海域营养物质富集,刺激了细菌的繁殖。

3.2 调查海域细菌数量的季节变化模式和与水温变化呈显著正相关关系均说明了水温对细菌季节变化的重要调节作用。这与其他调查结果一致^[21-22]。但两次调查期间内,水温与细菌分布均无明显相关性,说明在较小时间尺度上水温并不是影响调查海域细菌水平分布的主要原因。

3.3 网箱养殖活动造成水体营养盐含量和细菌生物量的增高,并且影响范围可通过水体交换和输送作用扩展至网箱区外侧邻近海域。本次调查结果显示异养细菌、弧菌数量分布与营养盐,特别是磷酸盐的分布显著相关,许多研究也表明微生物群落变化与营养盐的分布具有一定的耦合关系^[23-24]。在网箱养殖中,饲料及粪便是 N、P 等营养物质的主要来源,高密度的鱼类养殖常造成环境中 N、P 浓度的净增加^[25-30],从而促进水体中细菌大量增长。因此,在高温养殖旺季,水温升高与营养物质增多的重叠效应导致环境中细菌数量增多,养殖生物极易得病^[31-33],这就是在养殖高峰季节最易发生水产病害的主要原因。

3.4 网箱养殖导致网箱区及邻近海域沉积物有机质含量及细菌生物量的提高。网箱区有机质含量分别比对照点 Control 1、Control 2、和 Control 3 高 18.2%、36.2% 和 50.1%,异养细菌数量分别是 3 个对照点的 6 倍、12 倍和 20 倍左右;垂直分布上,各采样点底泥细菌数量最高值均出现在有机质含量丰富的表层。各站位异养细菌实测值分别与之相对应的有机质含量实测值进行回归分析,结果表明两者之间存在显著正相关关系。原因可能与有机质输入提供丰富的碳源,刺激细菌生长有关,Vezzulli^[34]研究证明海底细菌总数和有机质浓度密切相关,Albertelli^[36]也报道了细菌数量与有机质含量变化呈正相关关系。另外,沉积物有机质的富集可能导致底质逐渐向缺氧环境转变^[4],并对底质的生态群落产生长期影响^[19]。调查发现网箱养殖区氧化还原电位显著低于对照点(表 2),并随深度增加迅速降低,Wu 等^[37]研究也显示网箱底部沉积物耗氧率比对照区要高 2—5 倍。Song 等^[38]研究报道沉积物氧化还原状态可以影响细菌分布,微生物在氧化层的数量和多样性高于缺氧层,且分布更均匀。本次调查发现沉积物氧化还原电位与细菌数量的相关关系虽然不显著,但存在一定程度的负相关。McLatchey^[39]研究表明氧化还原条件影响有机质的分解状况和微生物的代谢活动。长期高密度的养殖,导致网箱区底质逐渐向缺氧环境转变,不利于非厌氧菌生存。在还原环境中,有机质分解不彻底,产生有机酸、H₂S 和 CH₄ 等有害物质,会给养殖健康带来不利影响。因此底质有机质浓度升高、耗氧量增加的问题是养殖生产中必需考虑的问题。

3.5 有机质富集会刺激弧菌大量繁殖。弧菌是海洋中最常见的细菌类群之一,环境中多达 44 种碳源可被弧

菌生长繁殖所利用,且大多弧菌具有很强的适应性和抗逆性,一旦养殖环境受到有机质污染,弧菌就能利用这些有机质进行快速增殖^[40-41]。调查站位弧菌检出率均为100%,其中网箱养殖区弧菌数量维持在一个较高的水平,并且位于沉积物10cm的泥层样品仍可检测到 10^2 量级的菌量。调查结果显示,弧菌数量与有机质含量呈显著正相关关系,说明有机质是弧菌数量分布的重要影响因素。La Rosa等研究表明弧菌数量分布与有机质含量密切相关^[42],有机质的汇集会刺激弧菌等条件致病菌的繁殖^[33-34]。由于弧菌中的一些种类是水产养殖生物的条件致病菌,弧菌大量增殖是引发养殖生物患病、死亡的重要原因^[43-45]。因此,在有机质含量丰富的网箱养殖区,需要定期监测弧菌等条件致病菌的生态分布,预防水产病害的发生。

3.6 网箱养殖活动对网箱区及周边海域细菌群落结构产生影响。网箱养殖区细菌群落多样性低于对照点,某些特定的细菌类群富集,其中假单胞菌属、弧菌属等常与全球各地的养殖场鱼类疾病相关^[46]。原因可能与养殖区细菌群落长期受到高营养盐、高有机质等外界条件的选择作用有关。对水体研究表明在极度贫营养条件下,水体中微生物种类相对较少,随营养水平的逐渐升高,微生物由于营养物质等生存条件的改变,多样性会增加^[47]。但是当水体受到污染程度越高,生物多样性则会越低^[48]。对沉积物的调查也发现细菌群落结构对环境变化尤其是可利用营养物质的变化很敏感^[4],大量有机质可导致沉积物细菌群落结构的长久性改变^[49]。养殖环境中的微生物群落特征是预防鱼类疾病,维护水环境质量的重要指标^[50,51]。趋于简单化的微生物群落生态系统是不稳定的,也增加了养殖生物患病的可能性。因此在网箱养殖自身污染治理过程中,合理安排养殖密度和养殖周期、减少高浓度污染物的排放和长期积累、重建合理的微生物群落结构,对健康养殖和环境保护意义重大。

致谢:刘小涯,姚龙奎,于培松,薛斌,杨丹等提供理化参数资料;陈建芳研究员对论文写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Xu Y J, Qian L M. Impacts of cage culture on marine environment. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3) :532-536.
- [2] Caron D A, Lim E L, Sanders R W, Dennett M R, Berninger U G. Responses of bacterioplankton and phytoplankton to organic carbon and inorganic nutrient additions in contrasting oceanic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 2000, 22(2) :175-184.
- [3] Turley C M. Bacteria in the cold deep-sea benthic boundary layer and sediment-water interface of the NE-Atlantic. *Microbiology Ecology*, 2000, 33(2) :89-99.
- [4] Yoza B A, Harada R M, Nihous G C, Li Q X, Masutani S M. Impact of mariculture on microbial diversity in sediments near open ocean farming of *Polydactylus sexfilis*. *Ecological Indicators*, 2007, 7(1) :108-122.
- [5] Kunihiro T, Miyazaki T, Uramoto Y, Kinoshita K, Inoue A, Tamaki S, Hama D, Tsutsumi H, Ohwada K. 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*, 2008, 57(1/5) :68-77.
- [6] Hagstrom A, Azam F, Andersson A, Wikner J, Rassoulzadegan F. Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes. *Marine Ecology Progress Series*, 1988, 49(1-2) :171-178.
- [7] Gonzalez N, Anadon R, Viesca L. Carbon flux through the microbial community in a temperate sea during summer: role of bacterial metabolism. *Aquatic Microbial Ecology*, 2003, 33(2003) :117-126.
- [8] 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. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(2) :477-485.
- [9] Liu Z L, Cai Y M, Ning X R. The distribution of chlorophyll a and primary productivity in the middle and west of Xiangshan Bay. *Donghai Marine Science*, 1998, 16(3) :18-24.
- [10] Gao A G, Chen Q Z, Hu X G, Yang J Y, Dong Y T, Zeng J N, Ning X R, Zhang J. Ecological characteristics on macrobenthos of net-cage culture areas in the Xiangshan Bay. *Acta Oceanologica Sinica*, 2005, 27(4) :108-113.
- [11] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. The specification for marine monitoring. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [12] Dong X Z, Cai M Y. *Manual of Determinative Bacteriology*. Beijing: Science Press, 2001.
- [13] Shannon C E, Weaver W. *The Mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, 1949.

- [14] Pielou E C. Ecological diversity. New York:John Wiley and Sons Inc,1975.
- [15] Xue C B,Wang J Y,Wang S Y,Shi Y S, Wang G Y, He W X. The quantitative distribution and the microbial flora of bacteria in the water nearby the marine cage. Chinese Journal of Microecology, 2005,17(5):336-338.
- [16] Shi J X, Chen Z Y, Hu X G. Ecological distribution of microbe in the coastal water around Zhejiang Islands. Donghai Marine Science,1996,14(2):35-43.
- [17] Shi J X, Zheng G X, Chen Z Y, Wang S L. Ecological distribution of heterotrophic bacteria in seawater and sediments of the Changjiang Estuary. Marine Science Bulletin, 1984,3(6):56-63.
- [18] Wang W X, Zhou Z C. The distribution of oil degradation bacteria in the Yellow sea and Bohai sea. Marine Environmental Science,1983,2(4):11-17.
- [19] La Rosa T, Mirto S, Mazzola A, Danovaro R. Differential responses of benthic microbes and meiofauna to fish-farm disturbance in coastal sediments. Environmental Pollution,2001,112(3):427-434.
- [20] Chelossi E, Vezzulli L, Milano A, Branzoni M, Fabiano M, Riccardi G, Banat J M. Antibiotic resistance of benthic bacteria in fish-farm and control sediments of the Western Mediterranean. Aquaculture,2003,219(1/4):83-97.
- [21] Shiab F K, Ducklow H W. Temperature regulation of heterotrophic bacterioplankton abundance, production, and specific growth rate in Chesapeake Bay. Limnology and Oceanography,1994,39(6):1243-1258.
- [22] Cota G F, Pomeroy L R, Harrison W G, Jones E P, Peters F, Sheldon W M Jr, Weingartner T R. Nutrients, primary production and microbial heterotrophy in the southeastern Chukchi Sea; Arctic summer nutrient depletion and heterotrophy. Marine Ecology Progress Series, 1996, 135(1996):247-258.
- [23] Lindström E S. Investigation influential factors on bacterioplankton community composition: results from a field study of five mesotrophic lakes. Microbial Ecology,2001,42(4):598-605.
- [24] Yannarell A C, Kent A D, Lauster G L, Kratz T K, Triplett E W. Temporal patterns in bacterial communities in three temperate lakes of different trophic status. Microbial Ecology,2004,46(4):391-405.
- [25] Xu Y J, Qian L M. Impacts of cage culture on marine environment. Chinese Journal of Applied Ecology,2004,15(3):532-536.
- [26] Hall P O, Anderson L G, Holby O, Kollberg S, Samuelsson M O. Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm I. Carbon. Marine Ecology Progress Series, 1990,61(1/2):61-73.
- [27] Hall P O, Holby O, Kollberg S, Samuelsson M O. Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. Nitrogen. Marine Ecology Progress Series, 1992,89(1):81-91.
- [28] Holby O, Hall P O. Chemical fluxes and mass balances in a marine fish cage farm. Phosphorus. Marine Ecology Progress Series, 1991,70(1991):263-272.
- [29] Phillips M J, Beveridge M C, Ross L G. The environmental impact of salmonid cage culture on inland fisheries: Present status and future trends. Journal of Fish Biology, 1985,27(supp. A):123-137.
- [30] Enell M,Loef J. Environmental impact of aquaculture-sedimentation and nutrient loadings from fish cage culture farming, Vatten (Sweden),1983,39(4):364-375.
- [31] Colwell R R, Grimes D J. Vibrio diseases of marine fish populations. Helgoland Marine Research,1984,37(1/4):265-287.
- [32] Hjelm M, Riaza A, Formoso F, Melchiorson J, Gram L. Seasonal incidence of autochthonous antagonistic *Roseobacter* spp. and *Vibrionaceae* strains in a turbot larva (*Scophthalmus maximus*) rearing system. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(12):7288-7294.
- [33] Korsnes K, Nicolaisen O, Skar C K, Nerland A H, Bergh Q. Bacteria in the gut of juvenile cod *Gadus morhua* fed live feed enriched with four different commercial diets. ICES Journal Marine Science, 2006,63(2):296-301.
- [34] Hjelm M, Riaza A, Formoso F, Melchiorson J, Gram L. Seasonal Incidence of Autochthonous Antagonistic *Roseobacter* spp. and *Vibrionaceae* Strains in a Turbot Larva (*Scophthalmus maximus*) Rearing System. Applied and Environmental Microbiology,2004,70(12):7288-7294.
- [35] Vezzulli L, Chelossi E, Riccardi G, Fabiano M. Bacterial community structure and activity in fish farm sediments of the Ligurian sea (Western Mediterranean). Aquaculture International, 2002,10(2):123-141.
- [36] Albertelli G, Covazzi A, Danovaro R, Fabiano M, Fraschetti S, Pusceddu A. Differential responses of bacteria, meiofauna and macrofauna in a shelf area (Ligurian Sea, NW Mediterranean): role of food availability. Journal of Sea Research,1999,42(1):11-26.
- [37] Wu R S. The environmental impact of marine fish culture: towards a sustainable future. Marine Pollution Bulletin,1995,31(4/12):159-166.
- [38] Song Y, Deng S P, Acosta-Martinez V, Katsaliron E. Characterization of redox-related soil microbial communities along a river floodplain continuum by fatty acid methyl ester(FAME) and 16S rRNA genes. Applied Soil Ecology,2008(4):499-509.
- [39] McLatchey G P, Reddy K R. Regulation of Organic Matter Decomposition and Nutrient Release in a Wetland Soil. Journal of Environmental Quality,1998,27(1998):1268-1274.

- [40] Xu H S. Studies on wintering method-viable but noneuhurable state of *Vibrio cholerae* and its detection methods. Journal of Ocean University of Qingdao, 1989, 19(2): 77-83.
- [41] Yang Y Y, Li Z J, Lin L, Guo Z X. Analyses on intestinal flora of cultured shrimp and water microbial flora. Journal of Tropical Oceanography, 2006, 25(3): 53-56.
- [42] La Rosa T, Mirto S, Marino A, Alonzo V, Maugeri T L, Mazzola A. Heterotrophic bacteria community and pollution indicators of mussel-farm impact in the Gulf of Gaeta (Tyrrhenian Sea). Marine Environment Research, 2001, 52(4): 301-321.
- [43] Li J, Norman Y S Woo. Pathogenicity of vibrio in fish: An overview. Journal of Ocean University of China (English Edition), 2003, 2(2): 117-128.
- [44] Yu Z G, Lin F A, He J. Relationship between heterotrophic bacteria and shrimp disease. Acta Oceanologica Sinica, 1995, 17(3): 87-91.
- [45] Milton D L, O'Toole R, Horstedt P, Wolf-Watz H. Flagellin A is essential for the virulence of *Vibrio anguillarum*. Journal of Bacteriology, 1996, 178(5): 1310-1319.
- [46] Austin B, Austin D A. Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. New York: Halsted Press, 1987: 364.
- [47] Chrzanowski T H, Stemer R W, Elser J J. Nutrient enrichment and nutrient regeneration stimulate bacterioplankton growth. Microbial Ecology, 1995, 29(3): 221-230.
- [48] Zhao Y G, Ren N Q, Wang A J, Wan C L. Influence of organic pollutants on the bacterial community in Songhua River drainage area. Acta Microbiologica Sinica, 2007, 47(2): 313-318.
- [49] Danovaro R, Pusceddu A, Covassi A, Marrale D, Dell'Anno A, Petrillo M, Albertelli G, Della Groce N. Community experiment using benthic chambers: microbial and meiofaunal community structure in highly organic enriched sediments. Chemistry and Ecology, 1999, 16: 7-30.
- [50] Diamant A, Banet A, Ucko M, Colomi A, Knibb W, Kvitt H. Mycobacteriosis in wild rabbitfish *Siganus rivulatus* associated with cage farming in the Gulf of Eilat, Red Sea. Diseases Aquatic Organisms, 2000, 39(3): 211-219.
- [51] Colom A, Diamant A, Eldar A, Kvitt H, Zlotkin A. Streptococcus iniae infections in Red Sea cage-cultured and wild fishes. Diseases Aquatic Organisms, 2002, 49(3): 165-170.

参考文献:

- [1] 徐永健, 钱鲁闽. 海水网箱养殖对环境的影响. 应用生态学报, 2004, 15(3): 532-536.
- [8] 马继波, 董巧香, 黄长江. 粤东大规模海水增养殖区柘林湾浮游细菌的时空分布. 生态学报, 2007, 27(2): 477-485.
- [9] 刘子琳, 蔡昱明, 宁修仁. 象山港中、西部秋季浮游植物粒径分级、叶绿素 a 和初级生产力. 东海海洋, 1998, 16(3): 18-24.
- [10] 高爱根, 陈全震, 胡锡钢, 杨俊毅, 董永庭, 曾江宁, 宁修仁, 张健. 象山港网箱养鱼区大型底栖生物生态特征. 海洋学报, 2005, 27(4): 108-113.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 海洋监测规范. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [12] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001.
- [15] 薛超波, 王建跃, 王世意, 石亚素, 王光宇, 何伟贤. 大黄鱼养殖网箱内外细菌的数量分布及区系组成. 中国微生态学杂志, 2005, 17(5): 336-338.
- [16] 史君贤, 陈忠元, 胡锡钢. 浙江省海岛沿岸水域微生物生态分布. 东海海洋, 1996, 14(2): 35-43.
- [17] 史君贤, 郑国兴, 陈忠元, 王苏联. 长江口区海水及沉积物中异养细菌生态分布. 海洋通报, 1984, 3(6): 56-63.
- [18] 王文兴, 周宗澄. 黄、渤海海域石油降解细菌的生态分布. 海洋环境科学, 1983, 2(4): 11-17.
- [41] 杨莺莺, 李卓佳, 林亮, 郭志勋. 人工饲料饲养的对虾肠道菌群和水体细菌区系的研究. 热带海洋学报, 2006, 25(3): 53-56.
- [48] 赵阳国, 任南琪, 王爱杰, 万春黎. 有机污染物对水体真细菌群落结构的影响. 微生物学报, 2007, 47(2): 313-318.