

高产鱼池中异养细菌的初步研究

方秀珍 郭贤桢 王继坤 方映雪 刘志云

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心)

提 要 对无锡市郊区“河埭渔业一队”典型高产鱼池中异养细菌种类、数量及群落组成的分析测定,它表明在1984年3月至10月试验期间,试验鱼池水体中总细菌数和异养细菌数分别在 $1.30 \times 10^5 \sim 15.90 \times 10^5$ 个/ml和 $1.56 \times 10^4 \sim 14.50 \times 10^4$ 个/ml。鱼池淤泥中总细菌数和异常细菌数分别在 $1.20 \times 10^4 \sim 68.0 \times 10^5$ 个/克和 $1.94 \times 10^5 \sim 19.90 \times 10^5$ 个/克。同时经分析得知,试验鱼池中细菌数量的波动与鱼池水温等理化因子各有不同的相关关系。试验鱼池水体中共分离出11个属的异养细菌,其中优势菌为氮单胞菌属(*Azomonas*)等具固氮能力的菌属;淤泥中共分离出8个属的异养细菌,其中优势菌为芽孢杆菌属(*Bacillus*)等革兰氏阳性菌属。假单胞菌属(*Pseudomonas*)的细菌普遍存在于鱼池的水体及淤泥中。试验表明,高产鱼池中的细菌数量变化有一定规律性,细菌数量及异养细菌的群落组成与鱼池的鱼产量有一定的关系。

关键词 异养细菌,优势菌,高产鱼池,细菌群落组成

前 言

鱼池中存在大量的自养和异养细菌。它们不仅在促进池塘物质循环和维持水质方面起了重要作用,而且还直接或间接地影响着池塘鱼产量。Schroeder^[1]指出,施肥鱼池中鱼产量的50~70%来自从细菌开始的异养生产。Shuju^[2]和Kimura^[3]等证实了淤泥中异养细菌对藻类生长有刺激作用。

细菌是富含蛋白质的单细胞生物,其生长和代谢旺盛,繁殖力强。尤其是异养细菌,在池塘生态系中不仅是高效力的分解者,同时菌体本身也是大多数滤食性和杂食性鱼类的适口食物^[3,4]。无论是作为池塘生态系中的分解者或是食物链的环节,细菌都构成影响池塘鱼产量的重要因子之一。本试验通过定期对高产鱼池中异养细菌数量、种类和群落组成进行分析测定,试图找出异养细菌在鱼池中存在的规律性,为探索池塘动力学规律和研究池塘养鱼高产理论提供微生物学方面的资料。

材 料 和 方 法

试验分别选用无锡市郊区“河埭渔业一队”典型高产鱼池——北长池(面积1667米²,年净产3.75公斤/米²)和“淡水渔业研究中心试验渔场”的普通生产鱼池——102号池(面积3333米²,年净产0.75公斤/米²)作为试验池和对照池。两口鱼池鱼类放养模式相似,均以草、鳊、青鱼为主,带养鲢、鳙、鲤和鲫。试验期间,两口鱼池仅投喂饲料,不施任何肥料。

从1984年3月到10月,每月定点采集鱼池水样和淤泥样品一次,水样采自水面以下0.2米处的表层水体,淤泥样品采自池底表面。每口池每次采集水样和淤泥样品各四个,同种样品经混合后待实验室测定。每次采样的同时还对池塘水温、透明度、pH值及溶解氧等因子进行测定。

样品的处理和测定: 在无茵条件下,将采集的水样混合摇匀后即直接用无茵水进行系列稀释;淤泥样品则先混合拌匀,再称取5克放入装有45 ml 无茵水的小三角烧瓶中,并置于摇床上摇动3~5分钟,然后按水样的稀释方法将三角烧瓶中的悬液样品进一步稀释。细菌的测定用直接计数法(过滤法)测得样品中的总细菌数;用平皿计数法(倾注法)测定样品中的异养细菌。最后将分离到的异养细菌作多次纯化培养,根据Bergey's 细菌鉴定手册(第8版)将纯培养细菌鉴定到属。

结果与讨论

一、环境因子和细菌数量

试验期间对几项理化因子测定的结果见图1~4。其中,鱼池水温变化在13.5~28.8°C之间,池水pH值变化范围为6.5~7.8,均属鱼池环境因子正常变化范围。

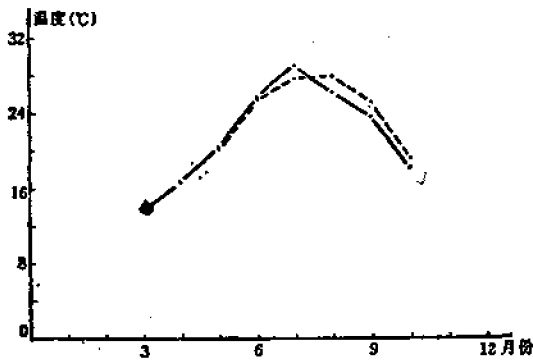


图1 鱼池水温的月变化

Fig.1 Monthly changes of pond water temperature during the experiment

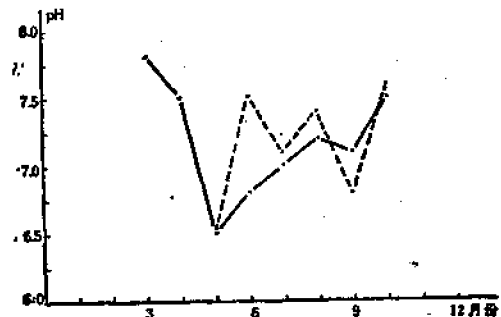


图2 池水pH值的月变化

Fig.2 Monthly changes of pH value of pond water during the experiment

— 北长池; - - - 102号池。以下图例均同此。

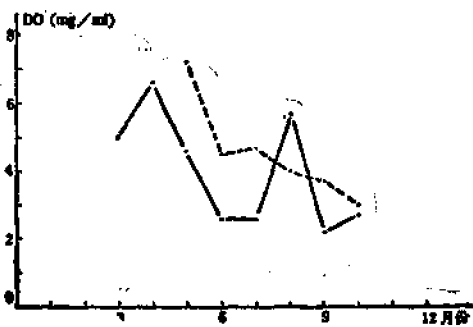


图3 鱼池溶解氧(DO)的月变化

Fig.3 Monthly changes of dissolved oxygen levels in pond water during the experiment

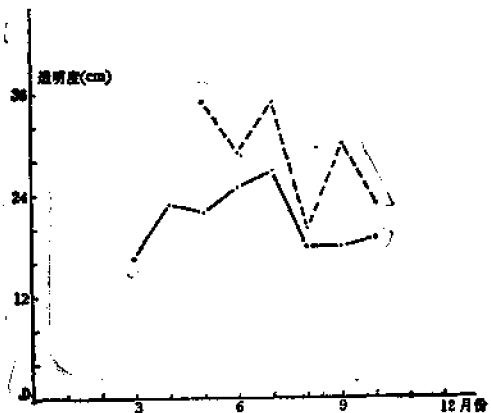


图4 池水透明度的月变化

Fig.4 Monthly changes of pond water clarity during the experiment

试验中,北长池水样的总细菌数消长范围为 $1.30 \sim 15.90 \times 10^8$ 个细胞/ml 水样, 异养细菌数消长范围为 $1.56 \sim 14.50 \times 10^7$ 个细胞/ml 水样; 北长池淤泥的总细菌数和异养细菌数的变化范围分别为 $1.20 \sim 68.0 \times 10^6$ 个细胞/克湿泥和 $1.94 \sim 19.90 \times 10^5$ 个细胞/克湿泥 (见图 5~8)。经分析表明, 北长池中细菌消长的趋势与鱼池水温等理化因子的

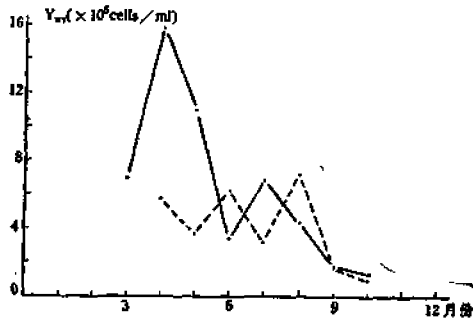


图 5 鱼池水样的总细菌数(Y_{WT})的月变化
Fig.5 Monthly fluctuations of total bacterial count in pond water samples

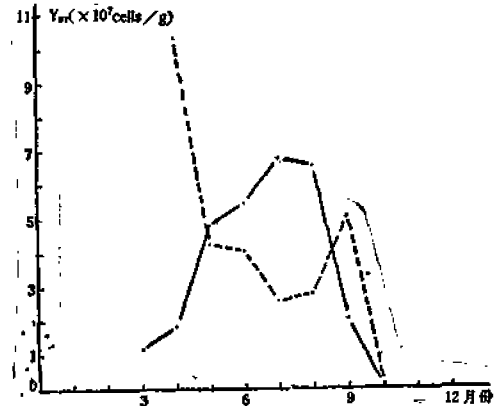


图 6 鱼池淤泥样品总细菌数(Y_{ST})的月变化
Fig.6 Monthly fluctuations of total bacterial count in fish pond sediment

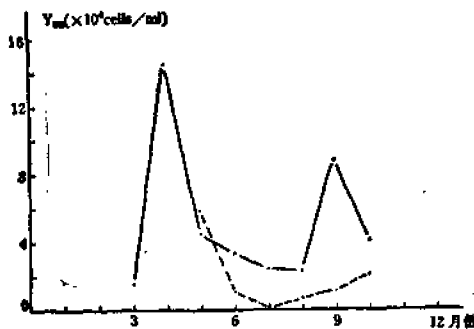


图 7 鱼池水样的异养细菌数(Y_{WH})的月变化
Fig.7 Monthly fluctuations of heterotrophic bacterial count in pond water samples

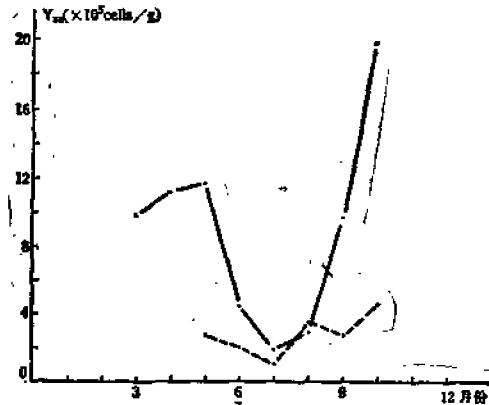


图 8 鱼池淤泥的异养细菌数(Y_{SH})的月变化
Fig.8 Monthly fluctuations of heterotrophic bacterial count in fish pond sediment

变化有较明显的相关关系, 它们的相关关系式分别是:

$$Y_{WT} = 2.052 + 0.342x_1 + 1.156x_2 - 1.325x_3 \quad (r = 0.7804) \quad (1)$$

$$Y_{WH} = 322.65 / (x_1 - 16.64) \quad (r = 0.8802) \quad (2)$$

$$Y_{ST} = 0.407x_1 - 5.189 \quad (r = 0.8305) \quad (3)$$

$$Y_{SH} = -1.567x_1 + 45.470 \quad (r = 0.9651) \quad (4)$$

式中, Y_{WT} ——水样总细菌数($\times 10^8$ 个/ml 水样); Y_{WH} ——水样异养细菌数($\times 10^7$ 个/ml 水样);
 Y_{ST} ——淤泥总细菌数($\times 10^6$ 个/克湿泥); Y_{SH} ——淤泥异养细菌数($\times 10^5$ 个/克湿泥);
 x_1 ——水温($^{\circ}\text{C}$); x_2 ——溶解氧(mg/L); x_3 ——池水 pH 值。

102号池中的细菌数量变化虽也有一定的趋势,但同环境因子变化的相关性在本试验中不明显。

由图5可知,水体中的总细菌数每月波动较大,北长池水体中,最高和最低总细菌数分别是 1.59×10^5 和 1.30×10^5 个细胞/ml水样,相差12倍;102号池水体中,最高和最低总细菌数分别是 7.10×10^5 和 1.0×10^5 个细胞/ml水样,相差7.1倍。鱼池水体中总细菌数的变化除了与细菌本身的生长繁殖以及与外界理化因子的关系属性等因素有关外,还在极大程度上受到池塘管理工作(尤其是池水管理和控制)和鱼类等动物摄食活动的影响,因此,前面的式(1)和式(2)只是在一定程度上展示北长池水体中细菌数量的消长变化规律。

与水体相比,淤泥中的总细菌数目变化稍平稳些(见图6),北长池中,淤泥的总细菌数随着水温的升高而升高[式(3)],在夏季水温高时达到最高值,这与其他研究者的报道是一致的^[2]。102号池淤泥中,总细菌数的变化大致与北长池相反,有待进一步研究。北长池和102号池中,淤泥样品的总细菌数分别为其水样的56倍和103倍,这与鱼池底部营养物质比池水中丰富、且淤泥中的细菌较少被鱼类食取有关。

在本试验条件范围内,鱼池中异养细菌数量与水温呈负相关关系,尤其是北长池,这种负相关性较为显著[式(2)和式(4)]。北长池和102号池中,淤泥样品的异养细菌数分别为各自水样的11.7倍和11.5倍。

二、异养细菌的分离鉴定

试验期间,对两口鱼池的水样和淤泥样品的异养细菌进行分离和纯化培养,共得到98株菌株。经鉴定,这些菌株隶属于17个属(科)。其中,北长池水样占11个属,淤泥样品占8个属;102号池水样占12个属,淤泥样品占15个属(见表1)。

三、好气性异养细菌的种类和群落组成

表1显示了不同鱼池、不同样品中好气性异养细菌的种类和群落组成。分离鉴定出的17个属(科)中仅有5个属(科)是同时存在于两口池的水样和淤泥中,这5个属(科)分别是假单胞菌属(*Pseudomonas*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、葡萄糖细菌属(*Gluconobacter*)、德克氏细菌属(*Dewia*)和肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)。两口鱼池水样中所含的菌属数相近,北长池为11个属,102号池为12个属,但其中只有7个属相同,除上述的5个属外,还有微杆菌属(*Microbacterium*)和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)。从表2可以看出,优势菌中只有假单胞菌属广泛分布在两口鱼池的水体中,其它的优势菌属则随鱼池而异,北长池水体的优势菌还有氮单胞菌属(*Azomonas*)、德克氏菌属(*Dewia*)和纤维单胞菌属(*Cellulomonas*),前两个属均为革兰氏阴性,具固氮能力,而后一个菌属为革兰氏阳性,具有分解纤维素的能力。102号池水体中优势菌是肠杆菌科和芽孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus*),前者显革兰氏阴性,后者显革兰氏阳性。根据两口鱼池水样中细菌的生理群组成可以定性地推测,好气性异养细菌在水体中仅起着分解有机物质的作用,而且固氮细菌和纤维素分解细菌的存在有可能为鱼池水体提供丰富的氮源和碳源,有助于提高鱼池生产力,这些因异养细菌的存在而增加的氮源和碳源在研究鱼池物质循环时应受到必要的

重视,但大多数凡诸报导的鱼池物质循环研究却忽视了这一点。

试验中两口鱼池的淤泥在好气性异养细菌组成方面有较大差异,如表 1 所示,北长池有 8 个菌属,而 102 号池则有 15 个菌属。两口池淤泥的优势菌都包括葡萄糖细菌属和假单胞菌属(见表 2),北长池淤泥的主要优势菌是芽孢杆菌属(*Bacillus*)和微球菌属(*Micrococcus*),两个属的细菌都是分解有机质能力很强的革兰氏阳性菌;102 号池淤泥的优势菌主要是显革兰氏阴性的肠杆菌科和乳酸杆菌属(*Lactobacillus*),这两个属(科)都能进行产酸发酵。相对而言 102 号池的优势菌分布不集中。

淤泥中异养细菌的生理类型在不同鱼池中存在差异,因而可以推测,鱼池中未被鱼类食尽的残余饲料和多种有机碎屑(包括鱼池中各种生物的尸体和排泄废物等)沉积到池底淤泥中就会被这些细菌分解。同时,由于各类异养细菌代谢类型的差异、利用底物的种类的差异、优势菌在数量上的差异以及对有机物分解能力和速率的差异,不同鱼池中物质循环的途径和速度必定会受这些差异的影响,并进而对池塘生产力产生直接或间接的影响。

表1 鱼池中好气性异养细菌的鉴定结果
Table 1 Results of identification of aerobic heterotrophic bacteria isolated from fish ponds

细菌属(科)名	北 长 池		102 号池	
	水 样	淤泥样	水 样	淤泥样
微球菌属 <i>Micrococcus</i>	+	+	-	+
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	+	+	-	+
棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	+	+	+	+
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	+	+	+	+
葡萄糖细菌属 <i>Gluconobacter</i>	+	+	+	+
氮单胞菌属 <i>Azomonas</i>	+	+	-	+
德克氏菌属 <i>Dezia</i>	+	+	+	+
(肠杆菌科) (<i>Enterobacteriaceae</i>)	+	+	+	+
纤维单胞菌属 <i>Cellulomonas</i>	+	-	-	+
微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	+	-	+	+
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	+	-	+	+
乳酸杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	-	-	+	+
库特氏菌属 <i>Kurthia</i>	-	-	+	-
噬胞菌属 <i>Cytophaga</i>	-	-	+	+
芽孢八叠球菌属 <i>Sporosarcina</i>	-	-	-	+
链球菌属 <i>Streptococcus</i>	-	-	+	-
芽孢乳杆菌属 <i>Sporolactobacillus</i>	-	-	+	+

小 结

鱼池中细菌对鱼产量和水质的重要作用已受到国内外水产工作者的普遍重视,不少学者已经在这方面做了许多工作,但绝大多数仅限于对池塘中细菌总数进行调查或者通过测定棉布纤维素在池塘中被细菌分解的情况来笼统地衡量细菌的代谢强度[4,8]。对高

表 2 池塘中优势菌数量以及占总菌数的百分比
 Table 2 Bacterial count of dominating species and its percentage in total bacterial count in fish pond

月份	北 池						长 池						102 号 池					
	水 样			淤 泥 样			水 样			淤 泥 样			水 样			淤 泥 样		
	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)	优势菌属(科)	菌数 ($\times 10^3$)	占总菌数 的百分比 (%)
四月	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	41.47	99.5	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	98.98	70.8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	2.88	6.5	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	12.1	28.7												
五月	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	12.89	63.8	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	622.1	44.8	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	10.77	34.9	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	8.98	27.1	微杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	51.82	29.6	微杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	51.82	29.6
	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	3.22	16.0	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	622.1	44.8	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	8.62	55.1	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	8.98	27.1	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	91.89	18.2	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	91.89	18.2
六月	德克氏菌属 <i>Desia</i>	6.15	46.5	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	57.46	52.1	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	8.52	22.5	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	8.62	55.1	葡萄糖细菌属 <i>Gluconobacter</i>	81.44	36.2	葡萄糖细菌属 <i>Gluconobacter</i>	81.44	36.2
	纤维单胞菌属 <i>Celintomonas</i>	3.95	25.5	葡萄糖细菌属 <i>Gluconobacter</i>	8.64	16.9	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	0.46	100.0	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	8.52	22.5	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	86.16	26.0	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	86.16	26.0
八月	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	2.09	50.0	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	11.4	39.7	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	2.98	47.6	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	0.46	100.0	乳酸杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	186.86	61.3	乳酸杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	186.86	61.3
	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	2.09	50.0	假单胞菌属 <i>Azomonas</i>	9.79	37.9	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	236.58	64.0	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	2.98	47.6	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	86.75	28.5	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	86.75	28.5
九月	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	18.91	51.6	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	236.58	64.0	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	56.26	20.9	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.9	30.4	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	52.87	59.3	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	52.87	59.3
	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	7.27	19.8	葡萄糖细菌属 <i>Gluconobacter</i>	56.26	20.9	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1026.2	100.0	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.9	30.4	微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	16.53	18.5	微杆菌属 <i>Microbacterium</i>	16.53	18.5
十月	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	6.38	100.0	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	1026.2	100.0	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.11	52.9	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.11	52.9	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	293.60	75.0	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	293.60	75.0
							芽孢杆菌属 <i>Sporolactobacillus</i>	0.99	47.1	芽孢杆菌属 <i>Sporolactobacillus</i>	0.99	47.1	纤维单胞菌属 <i>Celintomonas</i>	35.52	9.1	纤维单胞菌属 <i>Celintomonas</i>	35.52	9.1

产鱼池中细菌数量、种类及区系组成等多方面的分析测定得知, 高产鱼池中细菌数量的变化与水温等池塘理化因子有一定的相关关系, 但细菌数量只是众多影响鱼产量的复杂因子之一, 要真正揭示细菌数量和优势菌的类型, 鱼产量以及其它因子这几者之间定性的和定量的相互关系, 尚需开展大量的同时也是更为困难的研究工作。由于实验条件的限制, 厌气性异养细菌未能被列为本试验的研究对象, 但今后类似的研究工作将毫无疑问地把它们作为又一个研究焦点。

试验中试验鱼池的水体含有固氮细菌和纤维素分解菌, 显然鱼池的物质循环过程将因此而获得额外的氮源和碳源; 而淤泥中含有代谢旺盛、分解有机质能力强的革兰氏阳性细菌, 并具有一定优势。据此我们推测, 不同鱼池中的生产力会受鱼池异养细菌优势菌、细菌种类和群落组成及细菌生理类型的影响。以上结论对深入研究细菌在池塘动力学中的作用、探索池塘养鱼高产理论都具有重要的参考价值。

参 考 文 献

- [1] 何志辉等, 1983. 无锡市河埭口高产鱼池水质的研究, II. 浮游生物. 水产学报, 7(4): 287~293
- [2] 陈其羽等, 1982. 城效养鱼高产湖塘理论特点及生物相分析. 水产学报, 6(4): 31~343.
- [3] 郭贤桢等, 1987. 以 δc 分析有机粪肥养鱼池中鱼类生长能源的初步研究. 水产学报, 11(1): 53~60.
- [4] 雷衍之等, 1983. 无锡市河埭口高产鱼池水质的研究, I. 水化学和初级生产力. 水产学报, 7(3): 185~198.
- [5] Kimura, B. et al., 1986. 天然采集的细菌对淡水赤潮藻(*Uroglena americana*)生长的影响. 日本水产学会志, 52(4): 691~696.
- [6] Matty, A. J. and Smith, P., 1978. Evaluation of a yeast, a bacterium and a alga as a protein source for rainbow trout. *Aquaculture*, 14(3): 235-246.
- [7] Ram, N. M. et al., 1982. Microbial changes occurring at the sediment-water surface in an intensively stocked and fed fish pond. *ibid.* 27(1): 63-72.
- [8] Schroeder, G. L., 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensively manured fish pond and related fish yield. *ibid.* 14(4): 303-325.
- [9] Shuju, H. 1984. Algal stimulation by heterotrophic bacteria with lake sediment extract. *Jap. J. Phycol.*, 32(2): 124-129.
- [10] Sugita, H. et al., 1985. Change in the bacterial composition of water in a carp rearing tank. *Aquaculture*, 14(3): 243-248.

A PRELIMINARY STUDY ON HETEROTROPHIC BACTERIA IN HIGH-YIELDING FISH POND

Fang Xiuzhen, Guo Xianzhen, Wang Jikun, Fang Yingxue and Liu Zhiyun

(Freshwater Fisheries Research Centre)

ABSTRACT Aerobic heterotrophic bacteria were identified and counted monthly from March to October in pond water and sediment of a high-yielding polycultured fish pond. During the experiment, ranges of total bacterial count (TBC) and heterotrophic bacterial count (HBC) in pond water were $1.30-15.90 \times 10^5$ cells/ml and $1.56-14.50 \times 10^4$ cells/ml respectively, while TBC and HBC of pond sediments

下接第 144 页 (continued on page 144)

71.3 ± 14.2(6)% and 88.3 ± 26.2 (6) for FR-836-w. Also, the effective immunizing doses to 1⁺ or 0⁺ grass carp, 3—5 × 10^{4.5} TCID₅₀/fish for FR-854 and 3—5 × 10^{7.5} TCID₅₀/fish for FR-836-w, are all determined. The results show that immunoprophylaxis to the hemorrhage of grass carp with this inactive vaccine is in prospect.

KEYWORDS hemorrhage of grass carp, FRV, inactive vaccine by passage in CIK cells, vaccine strain, immunizing dose

上接第 107 页(continued from page 107)

were 1.20—68.0 × 10⁶ cells/g and 1.94—19.90 × 10⁵ cells/g respectively. Data analysis showed that fluctuations of the bacterial load of pond were correlated with several environmental factors. 11 genera of heterotrophic bacteria were found in pond water, of which the nitrogen-fixing bacteria (e. g. *Azomonas*) were dominating. 8 genera of heterotrophic bacteria were found in pond sediment, of which gram positive bacteria (e. g. *Bacillus*) were dominating. *Pseudomonas* commonly occurred in pond water and sediments. Results of the experiment indicated that the changes of bacterial load in high-yielding polycultured fish pond revealed certain regularity and the fish yield had a bearing upon the composition of the bacterial community in the pond.

KEYWORDS heterotrophic bacteria, dominating species, high-yielding fish pond, composition of bacterial community