

动物性饵料对养殖水体中菌数和理化因子的影响^{*}

吕军仪, 林 强, 邓 钢, 高永利

(中山大学生命科学学院 / 生物病害防治国家重点实验室 //
广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 向大海马 (*Hippocampus kuda* Bleeker) 养殖池中投喂动物性饵料桡足类、杂碎鱼虾等饵料后, 亲海马实验组、幼海马实验组以及空白对照组水体环境因子参数差异明显。投喂杂碎鱼虾的亲海马组与投喂桡足类的幼海马组的细菌数量均高于空白对照组。3 组处理后表层异养菌平均数量变动范围分别为 $4 \times 10^3 \sim 1.78 \times 10^5$ CFU/mL, $2.5 \times 10^3 \sim 7.2 \times 10^4$ CFU/mL, $2 \times 10^2 \sim 5.5 \times 10^3$ CFU/mL, 而底层异养菌则分别为 $6.53 \times 10^3 \sim 1.59 \times 10^5$ CFU/mL, $1.5 \times 10^3 \sim 7.5 \times 10^4$ CFU/mL, $5 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU/mL。表层弧菌平均数量变动范围分别为 $55 \sim 4.08 \times 10^3$ CFU/mL, $85 \sim 7.19 \times 10^3$ CFU/mL, $10 \sim 123$ CFU/mL, 而底层弧菌则分别为 $1.13 \times 10^2 \sim 7.48 \times 10^3$ CFU/mL, $2.66 \times 10^2 \sim 1.16 \times 10^4$ CFU/mL, $10 \sim 175$ CFU/mL。差异显著性分析结果表明, 亲海马组与幼海马组细菌数量差异均不显著 ($P > 0.05$)。而亲海马组与空白组除表层弧菌数量差异不显著外, 其余, 底层弧菌、表底层异养细菌数量呈显著性差异 ($P < 0.05$)。空白组与幼海马组细菌数量均呈显著性差异 ($P < 0.05$)。3 组池水温变化相差不大, 亲海马组、幼海马组中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量呈升高之势, DO 极不稳定, 有机残留物含量、细菌数量增加趋势, 导致水质恶化。

关键词: 大海马 (*Hippocampus kuda* Bleeker); 动物性饵料; 环境因子; 弧菌; 异养菌

中图分类号: S963.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 02 0059-05

海马 (*Hippocampus*) 是珍稀的海洋药源动物, 在我国素有“南方人参”之称。野生的海马主要生活在水草丰富、水质清新而且环境安静的水域中^[1]。近年来, 国内外陆续出现了海马的人工养殖基地或中心, 但是由于缺少对海马的生物学特性的了解以及对海马养殖技术研究的不成熟, 大多数的养殖基地已经“声名狼藉”^[2]。而国际海马保护计划 (Project Seahorse) 早就已经承诺要把对海马资源的保护当作一项重大的工程。

大量的研究表明, 在人工养殖过程中往往因为养殖水体质量的急剧变化而导致海马生长不适甚至出现大规模死亡现象^[3]。因此, 如何有效地调控养殖用水水质已成为了海马人工养殖亟待解决的难点之一。掌握养殖水体环境中微生物尤其是病原弧菌的变动规律在建立水质调控技术中起着关键作用。目前, 在海洋鱼类中有关病原菌的研究已经有了大量的报道^[4]。而本研究表明, 影响水体环境微生物发生变动的原因除了理化因素外, 饵料因素也是一个很重要的原因^[5]。有关投喂动物性饵料 (如桡足类) 后, 对大海马养殖池水环境细菌数量

如何变化仍未见报道。本实验主要是探讨了在广东陆丰市进行的动物性饵料试验研究中, 投喂动物性饵料桡足类和冰冻杂碎鱼虾后大海马养殖水体中环境因子 (细菌、理化因子) 的变化情况。作者认为通过对本研究的探讨, 能够更好地掌握大海马养殖池水环境在人工养殖条件下细菌群落变动规律, 为大海马优质饵料的筛选及病害防治工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计

试验基地位于广东省陆丰市东海开发区广东中大亿达洲海马养殖基地。本实验共动用 9 个相同规格水泥池 ($4.0 \text{ m} \times 6.0 \text{ m} \times 1.6 \text{ m}$), 分为 3 组试验组, 分别是亲海马组、幼海马组 and 对照组, 每组设置 3 个重复。第 1 组放养成熟亲海马, 根据实验水泥池设计标准, 最佳养殖容量为 500 尾, 投喂冰冻处理的碎鱼虾饵料 (质量比, 鱼 虾 = 0.25 : 0.75), 每天投喂两次; 第 2 组放养初生小海马, 最佳养殖容量 3 000 尾, 投喂适量鲜活桡足类饵料, 每天投喂 3 次。两试验组海马饵料的投喂量控制在约占体

^{*} 收稿日期: 2006-08-07

基金项目: 国家高科技发展计划 (863 计划) 资助项目 (2002AA624010); 广东省科技计划资助项目 (2003A3050402); 广州市科技计划资助项目 (2003Z3-C7321)

作者简介: 吕军仪 (1943 年生), 男, 教授, 博士生导师, E-mail: lvjunyi@mail.sysu.edu.cn

质量的 5% ~ 8%^[6]；第 3 组不放养海马，不投喂饵料，以作空白对照（表 1）。
试验前彻底清洗水泥池，池壁泼洒 KMnO₄（浓度 25×10⁻⁶）消毒，日光下曝晒。试验开始时一并注入经两次砂滤、臭氧发生器处理过的新鲜海

水。9 个养殖池中水体的温度、溶氧（DO）、盐度和 pH 值等的初始值分别是 29±0.3℃、6.6±0.2 mg/L、（30±0.5）‰和 8.5±0.2。白天光照强度控制在 2 500~3 000 lx。试验期间充气、不换水，吸底污和余饵^[7]。

表 1 不同试验组中养殖种类、数目和饵料投喂情况
Tab.1 The specimen breeding number and feeding conditions of differential treatments in this experiment

试验组	养殖对象	养殖数目/尾	饵料	投喂频率/(次·d ⁻¹)
组 1	亲海马	500	冰冻鱼、虾杂碎	2
组 2	幼龄海马	3000	桡足类	3
组 3	空白	0	无	0

1.2 菌数的测定

在本实验中，9 月 2 日投喂饵料后，立即取各池水样。从 9 月 4 日起，隔天定时（上午 8:30~9:00 点）到各池取样。取样方法如下：分别取其表层多点混合水样及底层多点混合水样，立即带回实验室。作梯度稀释处理后，接种于异养细菌 2216E 培养基和弧菌专用 TCBS 培养基上，并做 3 个重复平板，于 28℃ 恒温培养箱中培养 48 h 后，进行菌落计数^[8]。

1.3 瞬时理化因子的测定

在本实验中，不同养殖池中养殖水体的瞬时理化因子的测定与菌落数目测定是同步进行的。不同理化因子均做 3 次重复测定（或 3 个不同取样位点测定）。用海水水温计测定各养殖池水温；日产 5~10E 折光仪（ATAGO, Japan）测定各养殖池盐度。同时，养殖用水取样后，立即带回实验室，利用意大利产哈纳 C200 多参数离子计测定 DO、氨氮。

1.4 数据统计与分析

实验期间弧菌和异养细菌菌落数目（CFU/mL）主要采用单因素方差分析（SPSS.11.5），投喂不同种类饵料后，各组池养殖用水表层层异养细菌、弧菌的 4 项细菌数量差异的显著性用 Duncan 方法检验（SPSS.11.5），取 P<0.05 为差异显著标准，取 P<0.01 作为差异极显著标准。

2 结果

2.1 投喂不同种类饵料对养殖水体中异养细菌数量变化的影响

投喂冰冻杂碎鱼虾的亲海马组、投喂鲜活桡足类饵料幼海马组和空白对照组异养细菌数量动态变化见图 1、2。结果表明，在试验期间，3 组池各表层水体异养细菌平均数量变动范围分别为 4×10³

~1.78×10⁵ CFU/mL、2.5×10³~7.2×10⁴ CFU/mL、2×10²~5.5×10³ CFU/mL，而底层则分别为 6.53×10³~1.59×10⁵ CFU/mL、1.5×10³~7.5×10⁴ CFU/mL、5×10²~1.0×10⁴ CFU/mL。试验刚开始时，各试验组异养细菌数量相差不大。随着时间的延长及饵料投喂方式的不同，异养细菌丰度出现较大差异，在整个试验期间，异养细菌数量大小顺序为亲海马池>幼海马池>空白池。由图 1 可知，亲海马组表底层水体异养细菌从试验开始时即迅速增长，并在 9 月 12 日达峰值。亲海马组异养细菌数量峰值分别比幼海马组和空白组高出 1、2 个数量级。幼海马组异养细菌增长也较快（图 1），但极不稳定，波动幅度大。空白对照组开始试验 5~6 d 较不稳定。

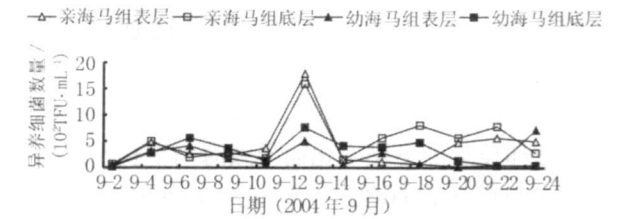


图 1 亲海马、幼海马组养水体中异养菌动态变化
Fig.1 The dynamic changes of Heterotrophic numbers in the culture water of the parent seahorse group and the juvenile seahorse group

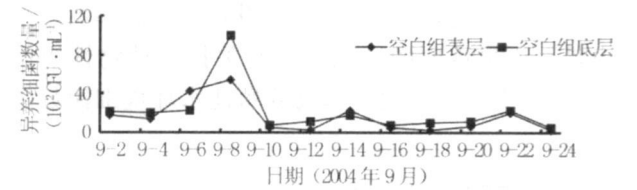


图 2 空白组水体中异养细菌数量变化
Fig.2 The variation of Heterotrophic numbers in the water of the control group

2.2 投喂不同种类饵料对养殖水体中弧菌数量变化的影响

亲海马组、幼海马组和空白对照组弧菌数量变化动态见图 3 图 4。结果显示，在试验期间，3 组池表层弧菌平均数量变动范围分别为 $55 \sim 4.08 \times 10^3$ CFU mL, $85 \sim 7.19 \times 10^3$ CFU mL, $10 \sim 123$ CFU mL, 而底层则分别为 $1.13 \times 10^2 \sim 7.48 \times 10^3$ CFU mL, $2.66 \times 10^2 \sim 1.16 \times 10^4$ CFU mL, $10 \sim 175$ CFU mL。在试验刚开始时，各试验组弧菌数量组相差不大，在试验后期则出现较大差异，幼海马组>亲海马组>空白组。除亲海马组因 9 月 12 日天气燥热发生弧菌再次大量增长而出现峰值外，其余各试验组均处于比试验刚开始时相对较低的水平。

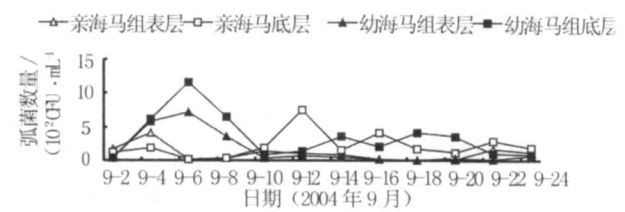


图 3 亲海马组、幼海马组养殖水体中弧菌动态变化
Fig 3 The fluctuation of *Vibrio* numbers in the cultural water of the parent seahorse group and the juvenile seahorse group

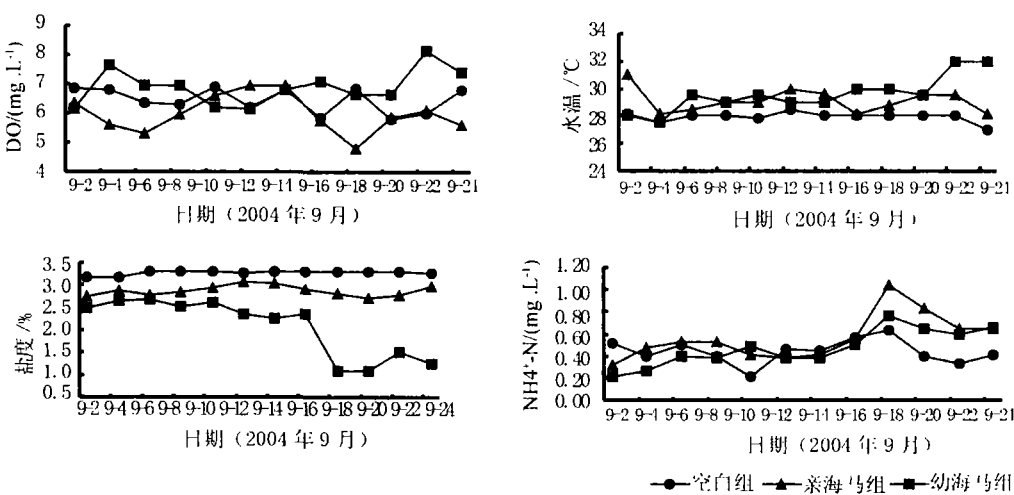


图 5 投喂不同种类饵料后养殖水体中理化因子的变动
Fig 5 The dynamic variation of the physicochemical factors in the cultural water when treated with the three different methods

($2.26\% \sim 2.69\%$)，9 月 16 日后，盐度急剧下降，最低时达 10.7% 。氨氮水平以空白组较低，且比其它各试验组稳定，在 $0.21 \sim 0.63$ mg L 范围内波动。其余两处理中以亲海马组氨氮变动较大 ($0.32 \sim 1.04$ mg L)，幼海马组的波动范围为 $0.21 \sim 0.76$ mg L。

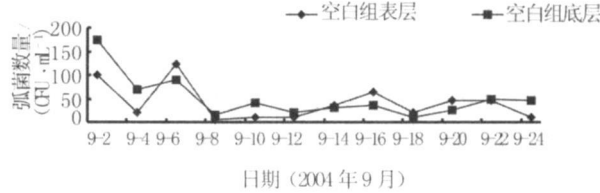


图 4 空白组水体中弧菌数量变化
Fig 4 The dynamic changes of *Vibrio* numbers in the water of the control group

2.3 投喂不同种类饵料后各组养殖水体中理化因子的变化情况

投喂不同种类饵料后各组池的理化因子变动分别见图 5。空白组的 DO 相对亲海马组及幼海马组的稳定，变动范围为 $5.85 \sim 6.89$ mg L，亲海马组及幼海马组则变动较大，范围分别为 $4.82 \sim 6.97$ mg L, $6.14 \sim 8.13$ mg L。各池水温水平基本一致，在试验期间均处于稳定状态。但在试验后期，幼海马组水温出现上升趋势，从 9 月 24 日结果可知，分别比亲海马组、空白组高出 3.8°C 、 5°C 。空白组盐度最稳定，维持在 $3.17\% \sim 3.30\%$ 的范围。而亲海马组除开始时略有下降外，其余时间处于稳定水平，范围在 $2.71\% \sim 3.07\%$ 。幼海马组盐度在试验开始至试验中期基本稳定

2.4 投喂不同种类饵料后，各组养殖水体表底层异养细菌、表底层弧菌 4 项细菌数量分析

分析结果显示，在 3 组池中，亲海马组与幼海马组之间 4 项细菌数量差异均不显著 ($P > 0.05$)。而亲海马组与空白组除表层弧菌数量差异不显著外，其余如底层弧菌、水体表底层异养细菌数量差

异呈显著性差异 ($P<0.05$)。空白对照组与幼海马组水体中细菌数量差异均在显著性差异 ($P<0.05$)。由此可以认为, 投喂桡足类及杂碎鱼虾等动物性饵料将会引起水环境中细菌数量显著增加。

3 讨 论

3.1 动物性饵料影响养殖水体中细菌数量变动的差异性

在人工养殖水环境中存在着大量的细菌, 其中既包含有芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.)、光合细菌 (PSB) 等有益菌, 又包含弧菌 (*Vibrio*) 等对养殖动物有害的致病菌^[9]。这些养殖水环境中的细菌在整个水生生态系统中承担着有机物分解及向生物链其它营养层供应有机碳等功能^[10], 形成水环境中的微生态系统, 并在一定的理化条件下处于平衡状态。然而人工养殖水环境中的细菌数量又是极不稳定的, 总是在一定的范围内上下波动。影响的因素除了理化因子外, 饵料的投喂也是其中一大因素。

在本试验中, 采用高营养价值的动物性饵料冰冻杂碎鱼虾、桡足类进行投喂, 除部分供给大海马摄食外, 大部分却滞留在养殖水环境中。这些动物性饵料在新的水环境中, 常因缺乏饵料培育池中必需的藻类 (如小球藻等) 等适宜的生长条件而对环境产生不适并最终死亡。随着残饵在养殖水中的腐败及水体有机质的增加, 加剧了水质及底质的恶化, 形成有利于细菌增殖的条件, 使得水体中异养细菌、弧菌数量大量增加。这与刘国才等^[11]研究指出的对虾养殖系统中细菌的生产效率比湖泊、河口、海洋等的生产效率高的原因与虾池中有机质丰富易为细菌利用且营养物质含量较高有关的结论相近; 与林伟等^[5]所指出的: 动物性饵料中存在着大量的弧菌 (一般大于 10^4 个/mL 或 g), 当投喂动物性饵料或来源于动物等植物替代性饵料后, 水体中的弧菌量就会迅速上升的结论相一致。

DOC (溶解有机碳)、POC (颗粒有机碳) 含量和水温是海水浮游细菌含量的主要限制因子, 呈正相关^[12]。在本试验中, 杂碎鱼虾中有机碳含量明显高于活性桡足类饵料, 更易增加水中有机碳含量, 结果使得亲海马组细菌总数比幼海马组高, 且在底部残饵沉积较多的水层中, 细菌数量普遍高于表层。

3.2 理化因子变动的差异与细菌数量变动的关系

细菌的生长、繁殖等生理活动受它在生长环境中所需各种元素及其相对比例所制约。水温与海水水域中浮游细菌含量呈正相关, 而水体中 DO 含量

与浮游细菌含量呈负相关。钟硕良等^[13]认为异养细菌数量和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 S^{2-} 含量呈正相关, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量与异养菌数量相关性较为显著, 其变化主要受控于底质中的有机质含量的多寡。试验结果显示, 饵料对水质的作用与部分理化因子的变化是相互影响的。其可能是在日常养殖管理中, 动物性饵料的投喂直接导致水中有机质含量的增加及细菌大量增殖、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量超出正常标准, 恶化了养殖环境, 是人工大规模水产养殖中尤为突出问题。

3.3 改进养殖模式, 减少饵料对水质的影响

水产养殖离不开饵料的投喂。就海马而言, 不同龄的海马对饵料的选择和需求均有所不同。高营养价值的适口饵料的投喂固然对海马的生长至关重要, 对海马的营养成分构成亦有重要影响。而在海马的大规模粗放型养殖模式中, 水质调控工作往往得不到重视, 适口饵料的投喂又导致了水质恶化, 裙带着疾病感染等现象的发生, 影响着养殖动物的生长发育。故养殖能否获得成功, 其关键之处还在于养殖管理模式选择上。林伟等认为, 正是由于养殖模式自身的缺陷, 破坏了养殖生态系中微生物多样性, 致使致病菌异常增殖, 这种条件对疾病的流行始终是一个潜在的危险^[5]。也就是说, 发展以细菌丰度作为监测水质状况指标之一的水质调控技术将有利于水产养殖的疾病防治工作。

参考文献:

[1] LOURIE S A, VINCEN T A C, HALL H J. Seahorse: An Identification Guide to the World's Species and Their Conservation[C]. London: Seahorse Project, 1999: 214.

[2] LIN Qiang, LU Junyi, GAO Yongli, et al. The effect of temperature on gonad embryonic development and survival rate of juvenile seahorses *Hippocampus kuda* Bleeker[J]. Aquaculture, 2006, 254: 701-713.

[3] 吕军仪, 李秉记, 孙燕燕, 等. 池养大海马的摄食、生长和生态转换效率[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 61-66.

[4] 吴后波, 潘金培. 海水养殖真鲷弧菌病原菌外毒素的分离、纯化及生物学活性[J]. 海洋与湖泊, 2002, 33(1): 83-89.

[5] 林伟, 陈马马. 微藻与细菌相互关系研究在海水养殖中的重要意义[J]. 海洋科学, 1998, 4: 34-37.

[6] WOODS C M C. Effects of varying *Artemia* enrichment on growth and survival of juvenile seahorses *Hippocampus abdominalis*[J]. Aquaculture, 2003, 220: 537-548.

[7] JOB S D, DO H H, HALL H J. Culturing the oceanic seahorse *Hippocampus kuda*[J]. Aquaculture, 2002, 214: 333-341.

[8] 李秋芳, 陈碧鹃, 曲克明, 等. 鱼虾混养生态系中细

- 菌动态变化的研究 [J]. 应用生态学报, 2002 13 (6): 731 - 734
- [9] 吕军仪, 孙燕燕, 李秉记, 等. 有益微生物在大海马健康养殖中的应用研究 [J]. 中国水产科学, 2003 10 (1): 46 - 50
- [10] 郑天凌, 薛雄志, 李福东. 海洋微生物在生态环境中的应用研究 [J]. 海洋科学, 1994 3 35 - 38
- [11] 刘国才, 李德尚, 董双林. 对虾养殖围隔生态系统浮游细菌的呼吸与生产 [J]. 应用生态学报, 2003 14 (11): 2079 - 2080
- [12] 白洁, 李岿然, 李正英, 等. 渤海春季浮游细菌分布与生态环境因子的关系 [J]. 青岛海洋大学学报, 2003 33 (6): 841 - 846
- [13] 钟硕良, 陈月忠, 林克冰, 等. 虾池底质中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 S^{2-} 和异养细菌含量的变化及其相关性研究 [J]. 台湾海峡, 1997 16 (4): 449 - 454

Studies on the Variation of the Environmental Factors in Culturing Water when Fed the Animal Foods to the Seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker

LU Jun-yi LIN Qiang DENG Gang GAO Yong-li

(Key Laboratory of Guangdong for Improved Variety Reproduction of Aquatic Economic Animals School of Life Sciences Sun Yat sen University Guangzhou 510275 China)

Abstract The variation of the environmental factors in culturing and breeding seahorses was studied when the animal feed such as fresh sweetbread of fish and shrimp copepoda were fed to seahorses. Three experimental groups were set: the first group was the parent seahorses which were fed with fresh sweetbread of fish and shrimp and the second group was the juvenile seahorses fed with copepoda and the last group was the control with no food. All the groups were 3 replicates. The results showed that the bacterial numbers in the culturing water of the first and second groups were larger than that in the controls. In the culturing water surface, the mean variable ranges of heterotrophic bacteria numbers were $4 \times 10^3 \sim 1.78 \times 10^5$ CFU/mL, $2.5 \times 10^3 \sim 7.2 \times 10^4$ CFU/mL, and $2 \times 10^2 \sim 5.5 \times 10^3$ CFU/mL, respectively, and the mean variable ranges of vibrio numbers were $55 \sim 4.08 \times 10^3$ CFU/mL, $85 \sim 7.19 \times 10^3$ CFU/mL, and $10 \sim 123$ CFU/mL, respectively. Meanwhile, at the bottom of the cultural water, the mean variable ranges of heterotrophic bacteria numbers were $6.53 \times 10^3 \sim 1.59 \times 10^5$ CFU/mL, $1.5 \times 10^3 \sim 7.5 \times 10^4$ CFU/mL, and $5 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU/mL, respectively, and the mean variable ranges of Vibrio numbers were $1.13 \times 10^2 \sim 7.48 \times 10^3$ CFU/mL, $2.66 \times 10^2 \sim 1.16 \times 10^4$ CFU/mL, and $10 \sim 175$ CFU/mL, respectively, and then the above data were analyzed by one-way ANOVA. The results displayed that there was no different between the group of parent seahorses and the group of juvenile seahorses ($P > 0.05$), however, the group of parent seahorses was significantly different with the groups of juvenile seahorses and the control ($P < 0.05$). There were no significant difference for the temperature between three groups, however, the content of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ in parent seahorses and juvenile seahorses groups were quite higher than that in the control, and the DO displayed instable, and at the same time, the content of the organic remainders increased significantly.

Key words *Hippocampus kuda* Bleeker animal foods environmental factors vibrio Heterotrophic bacteria