

# 海带育苗水系微生物的监测与控制\*

丁美丽 蒋本禹 费修纭  
(中国科学院海洋研究所, 青岛)

收稿日期: 1988年10月5日

关键词 育苗水系, 细菌丰度; 夏苗, 异营

提要 现场及实验室试验表明, 近岸水中细菌丰度因时因地有较大差别, 近岸水在潮周期中以高潮前后细菌量较低; 海水在沉淀贮存过程中细菌丰度有明显变化, 且与海水中营养物含量、贮存温度等有关; 海水经沙滤后能减少细菌90%左右; 回水中脱落苗进入贮水池, 是贮水池中细菌数量增长10余倍的主要原因。

我国沿海不少海带育苗场, 海带幼苗病害时有发生, 对海带养殖危害甚大。引起病害的原因是多因素的<sup>[1]</sup>, 其中微生物往往是重要的因素之一。根据已有资料得知, 引起幼苗病的细菌大都是异养细菌<sup>[2,3]</sup>, 这些细菌在近岸水域中普遍存在。我们在多年实践中体会到, 监测和控制育苗水系中异养菌的丰度是防止海带幼苗病害的一项重要措施。

本文着重报道了在生产现场通过控制上述水系中几个主要环节的菌量来防止海带幼苗病害的一些技术措施和试验结果, 不仅可对藻类育苗, 也可对贝、虾等经济动物培苗及养殖过程中水质控制提供有益的参考。

## I. 材料与方 法

### I.1. 水样

测定细菌丰度的水样, 取自青岛、长岛近岸海区的表层水。

### I.2. 异养细菌计数

选用海水营养肉汤培养基, 按涂布平板法测定菌数。

### I.3. 潮间带内细菌丰度的测定

在汇龙湾潮下带与低潮带之间, 离底部50cm处定点, 在潮周期中每小时取水样一份, 分

析细菌丰度。试验重复两次。

### I.4. 海水贮存过程中细菌丰度的测定

I.4.1. 现场试验 在山东省长岛海带育苗场进行。在海水抽入220t沉淀池后10min, 以及贮存10h和22h后, 分别取表层水样, 分析细菌丰度。

I.4.2. 实验室试验 试验分两部分: a. 海水中营养物浓度对贮存过程中细菌丰度变化的影响。取水样10000ml, 分别注入两个5000ml试剂瓶中, 并外包黑纸, 其中一瓶加入蛋白胨 $50 \times 10^{-6}$ 另一瓶不加, 为对照, 贮存于23℃恒温箱中。分别取贮存前和贮存1, 2, 3和5d后的中层水样测定菌量。b. 贮存温度对细菌丰度变化的影响。除不补充蛋白胨外, 其他方法同上。贮存温度为8℃和19℃。

### I.5. 塔滤除菌试验

I.5.1. 现场试验 分别取长岛海带育苗场I, II号滤塔过滤前后的水样, 进行分析。I号滤塔由下述成分组成: 直径为8cm的卵石层, 厚10cm; 直径为6cm的卵石层, 厚8cm; 直径

\* 本实验得到山东省科委财政支持, 现场实验得到山东省长岛海带育苗场大力支持; 化学分析资料由科学院海洋研究所浮游植物组提供, 一并致谢。中国科学院海洋研究所调查研究报告第1502号。

为3—4cm的卵石层,厚6cm;粗沙层厚30cm;细沙层厚30cm。II号滤塔组成除粗沙层厚10cm,细沙层厚70cm外,其他同I号滤塔。

1.5.2. 实验室试验 在内径为2cm的玻璃管内,装粗沙层厚4cm,细沙层厚8cm。以该管取滤前和滤后的海水,进行菌量分析比较。

### 1.6. 回水中脱落苗对海水细菌丰度的影响

1.6.1. 现场试验 分别采集及分析长岛海带育苗场经沉淀池沉淀和塔滤后的海水、回水池中的海水,以及贮水池中海水的细菌丰度。

1.6.2. 实验室试验 取250ml三角瓶两个,加海水200ml。其中一瓶加脱落海带苗0.1g,另一瓶不加,为对照。培育在10℃黑暗条件下1d,分别测定培育前后细菌的丰度。

### 1.7. 海水中氮、磷含量的测定

用 Autoanalyzer II 型营养盐自动分析仪,分析水样中  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  和无机磷的含量。

## II. 结果与讨论

### II.1. 近岸水细菌丰度

近岸水中细菌的丰度因地、因时有较大的差异。如青岛近岸几个站位,黄岛输油码头附近、栈桥附近、大港和中港海水的细菌丰度彼此相差几倍,甚至可达几十倍(见表1)。即使两个相邻的小湾,如汇泉湾和小青岛湾,分别对高潮时水样、潮下带与低潮带之间的水样进行分析,结果菌量相差5—9倍(表2)。甚至在同一海湾内的相隔仅几百米的水区,细菌丰度也有颇大的差异。如渤海湾南长岛海带育苗场前龙头水区,和相距约100—200m的长岛罐头厂排污口水区,后者菌量比前者高近30倍(见表3)。

造成差异的主要原因,是可利用的营养物含量不同<sup>[6,10,13]</sup>。在营养贫乏的海洋中,每升海水加入0.1mg可利用的有机物,细菌数量就有所增加<sup>[3]</sup>。我们也曾试验过:两瓶海水,其中一瓶加入无菌紫菜浸出液,最终浓度为0.0005;另一瓶不加,经两天培育后,前者海水中细菌浓

表1 青岛近岸几个站位细菌丰度比较

Tab. 1 Bacterial abundance at stations along the Qingdao coast

取样日期 (年·月·日)	异养菌数(细胞数/mL×10 <sup>2</sup> )			
	大港	中港	黄岛	栈桥
1977.3		170	5.3	
1977.9	240		29.0	
1977.10	560	820		25

表2 两个相邻海湾异养菌丰度比较

Tab. 2 Comparison of bacterial abundance between two adjacent bays

取样日期 (年·月·日)	异养菌数(细胞数/mL×10 <sup>2</sup> )	
	小青岛湾	汇泉湾
1984.10.9		13
10.10	120	
11.13	75	15

表3 长岛海带育苗场龙头水和相邻的罐头厂排污口水区中细菌丰度比较

Tab. 3 Comparison of bacterial abundance in pumping water of Changdao Limnaria Spore-line Culture Faam and that in the seawater near the drainage of its adjacent Tinnedfood Factory

取样日期 (年·月·日)	异养菌数(细胞数/mL×10 <sup>2</sup> )	
	龙头水	排污口水
1985.8.25	16	370
1985.9.27	2.1	61

度约比后者高10倍。

表3所列长岛罐头厂排污口附近海水异养菌浓度比育苗场龙头水高近30倍。据调查,当时罐头厂恰好生产葡萄罐头,大量富含糖类和蛋白质等废水排入海水,促进排污口附近水域细菌繁殖。为了进一步阐明营养物与细菌丰度之间的相互关系,在取水样分析汇泉湾和小青岛湾异养细菌丰度的同时,还分析其中氮和磷的含量。结果是两个海湾海水中磷酸盐、硝酸氮和亚硝酸氮的含量没有显著差异;而氨氮的含量在汇泉湾为97.6mg/L,小青岛为186.5mg/L,后者比前者高近一倍,这可能是后者水中菌量高于前者的原因。

上述结果表明, 水体中营养物浓度是控制水体细菌丰度的一个关键。为此, 育苗场龙头所在地应避免各种污染源<sup>[9]</sup>, 以营养物含量较低的海水水源为好。

## II.2. 潮汐对细菌丰度的影响

为了弄清潮汐对近岸海水细菌丰度的影响, 在汇泉湾低潮带与潮下带之间定点、定时取水样分析, 试验共进行三次, 所得结果基本一致。图 1 是 1985 年 11 月 28 日试验结果。从图 1 可以看出, 海水中细菌丰度随潮水的涨落而变化, 菌量以开始涨潮时为最高, 低潮时次之, 高潮时最低。这些结果与 Kirchman<sup>[2]</sup> 分析 Great Sippewissett 盐沼泽的主航道水样所获结果基本一致。但该沼泽菌量最高时是在低潮时, 而汇泉湾最高菌量是在开始涨潮时, 这可能是由于沼泽和海滩的生态条件不同而造成的差异。

潮汐对海水细菌丰度的影响, 主要是由低营养物、低菌量的外海水涌入, 高营养物、高菌量的底沉积物卷入水体<sup>[14,15]</sup>, 以及附着有细菌悬浮物下沉等因素造成的, 不同潮汐阶段, 这些因素的影响程度不一, 导致潮周期水样细菌丰度的变化。对此, 育苗场抽水以高潮前后 2—3h

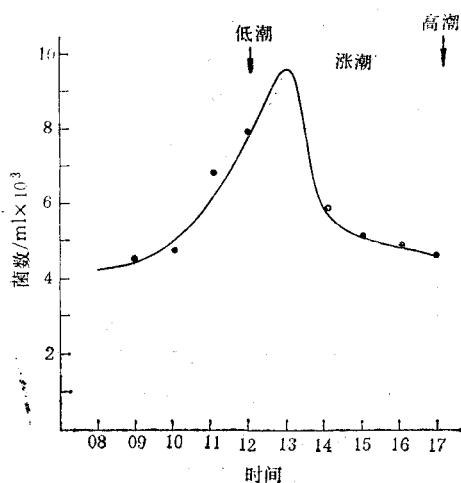


图 1 青岛汇泉湾潮周期水样菌量变化(1985.11.28)

Fig. 1 The change of bacterial abundance over consecutive tide in Huiquan Bay

为宜。

## II.3. 海水在贮存过程中细菌丰度的变化

龙头水贮存、沉淀是海带育苗场水处理的重要步骤, 一般经 8—24h 贮存后, 经沙滤致冷再进入苗槽。

II.3.1. 现场试验 对长岛育苗场 200t 沉淀池中海水的菌量进行了分析, 海水水温 and 贮存温度都为 20℃, 结果列于表 4。从表 4 结果可见, 在短时间内随着贮存时间的增长, 菌量也随之增高, 海水在沉淀池中贮存 22h 后, 海水细菌丰度比开始时约高 6 倍。

表 4 海水在沉淀池(22t)贮存过程中细菌丰度的变化  
Tab. 4 Change of bacterial abundance in precipitating tank during storing time

贮存时间 (h)	异养菌数(细胞数/mL × 10 <sup>7</sup> )
0.1	5.2
10	7.9
22	32.0

II.3.2. 实验室试验 先后取小青岛湾底层海水、表层海水及汇泉湾表层水在室内作贮存试验, 观察水样菌量的变化。所得结果与长岛现场试验结果一致, 经 1d 贮存后菌量也有明显的提高, 增加几倍到几十倍不等。在上述试验的基础上, 又安排了以下两个试验: a. 营养物浓度对贮存海水细菌丰度的影响。取汇泉湾海水 10000mL (水温为 21℃), 分成两瓶, 一瓶按  $50 \times 10^{-6}$  浓度加入蛋白胨, 另一瓶不加, 为对照, 均贮存于 23℃。定期取样, 测定细菌量, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 两瓶贮存海水细菌丰度变化差异很大。对照组经 1d 贮存菌量约增 8 倍, 贮存 2d 菌量开始下降; 而补充蛋白胨的海水, 经贮存 24h, 细菌数量猛增 300 倍, 且贮存 5d 后, 菌量仍维持在高的水平上。这与田岛研一等人用小瓶水样进行试验, 添加蛋白胨的水样经 30d 贮存, 菌量约比对照高两个数量级的结果相一致<sup>[3]</sup>。可见贮存海水中细菌消长过程与海水中营养浓度相关。营养物作为细菌 C, N 源供给细菌生长、繁殖。 b. 温度对贮存

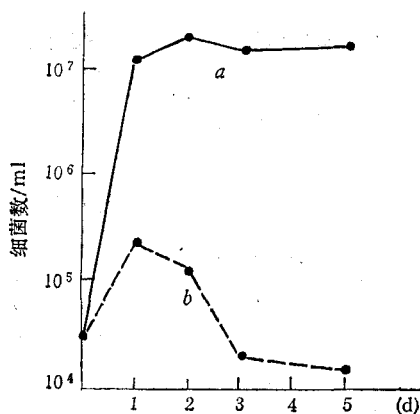


图2 海水中营养物质对贮存过程细菌丰度的影响  
a. 天然海水 +  $50 \times 10^{-6}$  蛋白胨; b. 天然海水  
Fig. 2 Influence of nutrient concentration in seawater on bacterial abundance during storing time

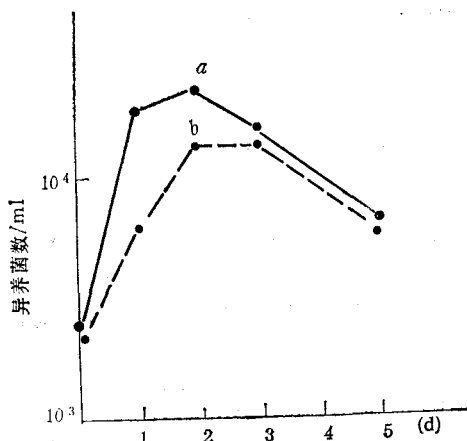


图3 海水贮存温度对细菌丰度的影响  
Fig. 3 Influence of temperature on bacterial abundance in storing seawater  
a. 天然海水 +  $50 \times 10^{-6}$  蛋白胨; b. 天然海水

海水细菌丰度变化的影响。取汇龙湾海水(水温为  $9^{\circ}\text{C}$ )，分别贮存于  $8^{\circ}\text{C}$  和  $19^{\circ}\text{C}$ 。海水在  $8^{\circ}\text{C}$  条件下菌量增加比  $19^{\circ}\text{C}$  要缓慢得多，经 24h 贮存，细菌菌量增加 1 倍多，后者增加近 10 倍(见图 3)。海洋中细菌最适生长温度为  $20^{\circ}\text{C}$  左右，温度每降低  $10^{\circ}\text{C}$ ，世代时间延长 2—3 倍。当海水水温为  $9^{\circ}\text{C}$  时，虽然近岸水中有一定量的嗜冷菌，但其中大部分是兼性嗜冷菌，它们一般在  $20^{\circ}\text{C}$  左右仍然生长良好<sup>[16]</sup>。我们也

曾取水温  $19^{\circ}\text{C}$  时的水样，进行了上述相同条件的试验，取得近似的结果。

试验结果说明，海水在贮存沉淀过程中，营养物的浓度、温度和贮存时间都是值得注意的因素。

在海水中悬浮着一些有机颗粒，其表面附着一定数量的细菌。但据 Kirchman 和 Mitchell 报道<sup>[1]</sup>，在近岸和沼泽区水中附着细菌的菌量只占水体中细菌总数 10% 弱。因此从数量考虑，本试验未作附着细菌的数量测定。

海水短期贮存，其作用一方面是把一些有机悬浮物下沉(悬浮物还能吸附重金属、石油烃等污染物)<sup>[7,8]</sup>；另一方面细菌的繁殖也消耗掉水中一些有机物，从而提高了沙滤的除菌效率。但应根据各水源地海水理化特性等选择最适沉淀时间。

#### II.4. 沙滤的除菌作用

长岛育苗场龙头水经沉淀池沉淀，通过 I 号滤塔，致冷后进入贮水池，与回水相混后，再经 II 号滤塔过滤后流入苗槽。经对过滤前、后水样分析证明(见表 5)，沙滤能有效地除去细菌。尤其是 II 号滤塔效果更佳，能除去 90% 左右的细菌。

表 5 滤塔除菌效力

Tab. 5 Effect of sand filtration on reducing bacterial abundance

塔 型	细胞数(细胞数/mL $\times 10^2$ )		除菌率 (%)
	滤 前	滤 后	
滤塔 I	37.0	7.0	81.0
	7.9	2.5	69.0
滤塔 II	140.0	20.0	86.0
	420.0	30.0	93.0

在实验室条件下，用小型沙柱作除菌试验，取含菌量为  $10^6/\text{ml}$  的海水 20000ml，让其通过沙柱，并定时取滤前、后水样测定菌量。结果是：开始时除菌效力显著，约达 90%；经过滤 9000ml 后，除菌约为 50%；到后期仅能除去 10% 左右。但沙柱经过仔细反复冲洗后，除菌

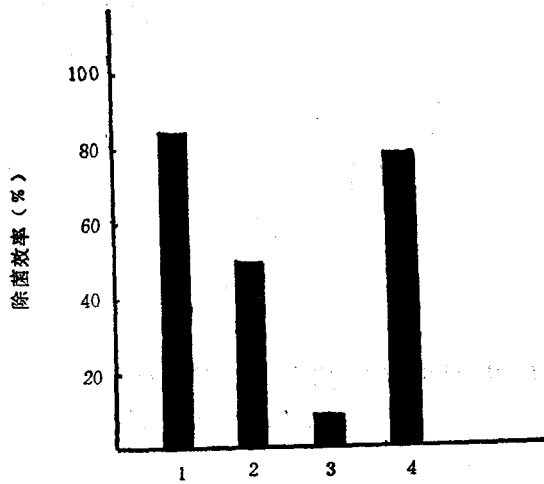


图 4 沙柱除菌效力

Fig. 4 Effect of sand filtering on reducing bacteria

1. 沙柱开始时除菌效力; 2. 过滤 9000mL 海水后除菌效力; 3. 过滤 19000ml 海水后除菌效力; 4. 沙柱冲洗后除菌效力

效力又明显地提高(图 4)。室内试验也证明, 沙滤能有效除菌, 但必须及时冲洗沙粒及卵石, 以保持除菌效力。

### II.5. 回水利用

育苗场育苗用水数量日以千吨计, 为了降低贮水设备和致冷的费用, 一般取回水 1/3~1/2 混入新鲜海水中, 再次应用。有些育苗场由于回水处理不当, 常使细菌(包括致病菌)大量繁殖, 影响育苗工作进行。经长岛育苗场育苗水系分析测定得知, 新鲜海水经贮存、沙滤后含菌量为  $10^2$ /mL, 回水菌量为  $10^3$ /mL, 二者在贮水池中以 2:1 混合后, 含菌量却上升到  $10^4$ /mL。尤其是在海带育苗后期, 贮水池里的育苗用水含菌量更高。导致菌量增大的主要原因, 可能是由于回水中含有一些脱落苗, 而这些幼苗表面附着大量异养菌(约  $10^7$ /g)。当脱落苗与回水一起进入贮水池后, 细菌大量繁殖。

为了证实上述的推断, 进行了脱落苗对海水中细菌丰度影响的试验。经测定, 占海水重量 0.05% 的脱落苗进入水体后约 1h, 菌量增加 3 倍; 若在 10℃ 条件下放至 1d, 细菌密度要

比对照高 30 倍。证实脱落苗是增加贮水池中细菌数量的主要原因。因此, 如果在回水进入贮水池前, 先经过滤, 除去脱落苗, 这对限制育苗水系菌量的增加, 有很重要的作用。

综上所述, 为了育苗工作顺利进行, 应选择水质好、菌量低的海区为龙头所在地; 在高潮前后抽水, 经适当沉淀, 仔细沙滤; 回水先经过滤后再进入贮水池等。近几年, 我们通过开展海带幼苗病害防治研究, 在配合生产部门进行海带的生产性育苗实践中, 按照以上的认识进行综合治理, 注意了育苗水系中的菌量控制, 已收到积极的效果。

### 参 考 文 献

- [1] 中国水产学会海水养殖专业委员会, 1983. 海带幼苗病烂学术讨论会纪要. 水产科学 2: 49—50.
- [2] 陈 驹、刘秀云、刘秀珍等, 1984. 褐藻酸降解菌研究. III. 海带育苗系统中脱苗和烂苗原因分析及其预防措施. 海洋与湖沼 15(6): 581—589.
- [3] 吴超元、高难生、陈德成等, 1979. 海带幼苗畸形病研究. 海洋与湖沼 10(3): 238—250.
- [4] 薛廷耀, 1962. 海洋细菌. 科学出版社, 69—72 页.
- [5] 田岛研一、繪面良男、坂井稔, 1971. 低温(5℃)贮藏中に于ける海水中的菌叢の変化. 北海道大学水产学部研究彙報 22: 80—90.
- [6] Carlucci, A. F., 1974. Nutrients and microbial response to nutrients in seawater, Effect of the Ocean environment on microbial activities. Univ. Park Press, Baltimore pp. 245—248.
- [7] Cowen, J. P. and M. W. Silver, 1984. The association of iron and manganese with bacteria on marine macroparticulate material. Science 224(4655): 1340—1342.
- [8] Fowler, S. W., 1982. Biological transfer and transport processes. Pollutant transfer and transport in the sea II. CRC Press, pp. 1—66.
- [9] Harvey, R. W., R. L. Smith and L. George., 1984. Effect of organic contamination up microbial distribution and heterotrophic uptake in a cape cod, Mass., Aquifer. Appl. Environ. Microbiol 48(6): 1197—1202.
- [10] Karl, D. M., 1978. Distribution, abundance and metabolic state of microorganisms in the water column and sediments of the Black Sea. Limnol Oceanogr. 23(50): 936—949.
- [11] Kirchman, D. and R. Mitchell, 1982. Contribution of particle-bound bacteria to total microheterotrophic activity in five ponds and two marshes. Appl. Environ. Microbiol. 43(1): 200—209.
- [12] Kirchman, D., B. Peterson and D. Juers, 1984. Bacterial growth and tidal variation in bacterial abun-

- dance in the great Sippewissett salt marsh *Mar. Ecol. Prog. Ser. V.* 19(10): 247—259.
- [13] Kwong-Yu Chan and C. S. W. Kueh, 1976. Distribution of heterotrophic bacteria related to some environmental factors in Tole Harbour, *Int. J. Ecol. Environ. Sci.* 1: 47—57.
- [14] Rublee, P. A., S. M. Merkel and M. A. Faust, 1983. The transport of bacteria in the sediments of a temperate marsh. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.* 16: 501—509.
- [15] Stevenson, L. H., C. E. Millwood and B. H. Ebeler, 1974. Aerobic, heterotrophic bacterial populations in estuarine water and sediments. Effect of the ocean environment on microbial activities. Univ. Park Press, Baltunire, pp. 268—285.
- [16] Tajima, K., K. Daiku and Y. Ezura, 1974. Procedure for the isolation of psychrophilic marine bacteria. Effect of the ocean environment on microbial activities. Univ. Park Press, Baltimore, pp. 112—123.

## BACTERIAL ABUNDANCE MONITOR AND CONTROL IN THE SEAWATER SYSTEM OF *LAMINARIA* SUMMER SPORELING CULTURE STATIONS\*

Ding Meili, Jiang Benyu and Fei Xiugeng  
(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

**Received:** Oct. 5, 1988

**Key Words:** Bacteria, *Laminaria*, Summer sporlings, Heterotrophic

### Abstract

The bacteria that may induce disease of *Laminaria* summer sporeling at culture stations can be commonly found in coastal seawater. In order to prevent these sporelings from disease it is necessary to monitor and control the bacterial abundance in cultivation seawater system.

The availability of nutrient in coastal area is the main factor which influences the bacterial abundance in seawater. pumping site should be carefully selected in order to get better quality seawater with low nutrient.

In coastal area bacterial abundance varies with the tidal cycle, minimum abundance usually occurs at high tide.

Heterotrophic bacterial population increase apparently once the seawater is stored in large tanks, and is greatly influenced by the available nutrient level of the seawater.

Sand filtration is an effective way in reducing bacterial abundance in seawater system at *Laminaria* sporeling culture station. These sand should always be washed to keep effectiveness of its filtration.

Many drafting juvenile *Laminaria* in culture tanks will accelerate bacteria multiplication in seawater promptly. Those debris should be removed before reusing these seawater.

\* Contribution No. 1502 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.