

## 三沙育苗室海带育苗水系中 微生物数量的监控\*

丁美丽 费修纛 蒋本禹

(中国科学院海洋研究所, 青岛, 266071)

**提要** 针对海带夏苗致病与育苗水系中细菌大量繁殖有密切的关系, 于1984年在福建三沙海带育苗室同时从微生物、生理生态和培养技术三个方面对水系中微生物进行监控, 具体步骤为: 1. 小心地抽出, 古海况及气象条件不佳时, 即停止抽水; 2. 育苗海水要经黑暗沉淀和过滤; 3. 种海带必须健康清洁, 将首批放散的孢子水排掉不用, 而以第二批孢子水采苗; 4. 育苗苗帘须经过严格漂洗和消毒。通过以上措施取得育苗的成功。

海带病害, 尤其是幼苗病害, 对海带养殖影响很大。造成海带人工育苗幼苗病害的原因是多方面的<sup>[1-9]</sup>。在多年海带育苗生产实践中, 尽管针对海带幼苗采取了一些防治措施, 但病害仍不断在育苗室里发生, 有时还相当严重。根据对藻菌关系的认识, 参考前人的工作和福建三沙育苗室的实际情况, 作者认为, 海区和育苗水系中细菌的大量繁殖可能是导致病害的重要原因之一。鉴于此, 于1984年对三沙育苗室的育苗水系采取了有关防病措施, 取得育苗成功。本文是对微生物监控方面研究试验的报告。

### 一、材料与方 法

#### 1. 材料

(1) 水样 用无菌采水瓶, 采集水系中各部分水样, 包括龙头水<sup>1)</sup>(海面水)、过滤水、苗槽水和孢子水等。

(2) 种海带 取稍沾有附着物和干净海带各一棵。在海带中部无菌操作切下一块组织, 置于无菌平皿中。

(3) 苗绳 经严格处理的苗帘上的苗绳, 在附孢子前及附孢子后不同时期, 分别用无菌剪刀剪下一段, 放入无菌平皿中。

上述样品取回后, 立即带回实验室作细菌学分析。

#### 2. 方法

以涂布平板法测定异养菌, 以海水营养肉汤为培养基。以MPN法分析厌氧产硫化氢细菌, 所用培养基包括以下成分: 乳酸钙为3.5g, 牛肉膏为1g, 蛋白胨为2g, 维生素C为

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1506号。试验承蒙吴超元、孙国玉教授提出宝贵意见, 邱淑怀、张凤林同志协助工作, 均此一并志谢。

收稿日期: 1990年5月26日。

1) 系指经抽水龙头刚抽上来的海水。

0.1g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  为 0.2g,  $K_2HPO_4$  为 0.2g,  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  微量, 海水为 1 000ml。pH = 7.4。

(1) 种海带表面附菌量的测定 取  $5 \times 5$ cm 海带一块, 经无菌海水漂洗后, 用无菌不锈钢小铲仔细刮下表面附着物, 并移至盛有海水及玻璃珠的三角瓶中, 摇动 20min, 取上清液分析。

种海带是经仔细挑选, 培育于经制冷后的海水中, 水温为 9—12°C, 每天换水, 并及时切去腐烂斑点部分。

(2) 不同方法处理的苗绳附菌量的测定 试验苗绳有三种: ① 煮沸一次的苗绳。将苗绳在自来水中煮沸 5min, 冲洗后晾干。② 煮沸 5 次的苗绳。棕绳在自来水中煮沸 5min, 换水后在水中浸泡 1d, 第 2 天重复处理, 共重复 5 次, 冲洗后晾干。③ 煮沸 10 次的苗绳, 照上述方法将苗绳在自来水中煮沸、浸泡反复 10 次, 直至浸泡入海水后, 海水 pH 没有明显下降。上述三种苗绳, 分别取 30cm, 缚在玻片上, 每种样品备两份, 热压灭菌后浸入 400ml 的海水中(采自汇泉湾的高潮水)。于 13°C 左右经 3, 6d, 然后取苗绳 10cm, 剪碎放入盛有海水及玻璃珠的三角瓶中, 摇动 20min, 取上清液测定异养菌总数。

(3) 海水黑暗沉淀试验 将龙头水移入 10 000 ml 玻璃瓶中, 并外套黑色塑料袋, 置于室温 29°C 左右的背光处。定期取表层下 20cm 处水样, 作细菌分析。

在光学显微镜下( $\times 1 500$ )观察配子体表面附菌情况。

## 二、结 果

### 1. 水系和种海带表面细菌密度的变化

在 8—9 月份海水比重为 1.0214, 含氮为  $106mg/m^3$ 。海水中细菌含量在正常海况条件下接近  $10^4$  cell/ml, 厌氧产硫化氢细菌为  $9 \times 10$  cell/ml; 但在台风后两天取水分析, 菌量仍有明显增加, 厌氧产硫化氢细菌增加两倍多(表 1)。在汇泉湾低潮带与潮下带之间定点取高潮时表层水样分析, 也出现类似情况, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 大风浪时水样中细菌的密度比一般条件下显著增大, 异养菌数增加 7 倍, 而厌氧产硫化氢细菌猛增 24 倍。

表 1 龙头水和过滤水中细菌丰度(1984)

Tab. 1 Bacteria abundance in seawater at pumping site and after filtering in Sansha (1984)

样 品	取样日期 (月 日)	菌 量 (cell/ml)	
		总异养菌( $\times 10^3$ )	厌氧产硫化氢菌( $\times 10$ )
龙头水	8.27 台风前	9.0	9.0
	9.5 台风后 2d	33.0	22.0
过 滤 水	8.27	1.3	5.0
	9.5	1.6	9.0

模拟黑暗沉淀试验结果表明, 将龙头水在约 29°C 室温条件下沉淀 5d, 菌量仍高于沉淀前。以后的一系列试验均表明: 在黑暗沉淀过程中, 细菌数量变化与海水中营养物含

量及贮存温度、时间有关。低营养的海水,在较低温度下,经 1—2d 沉淀,细菌数量增长得很少。

将黑暗沉淀后的海水经砂滤,菌量减少 85% 左右,异养菌量为  $1.3 \times 10^3$  cell/ml, 厌氧产硫化氢细菌每毫升仅几个。

对干净的种海带表面附菌量测定表明,异养菌菌量为 103 cell/cm<sup>2</sup>,厌氧产硫化氢细菌未检出;而在表面稍有附着物的海带,异养菌量要比前者高 1 个数量级(表 3)。因此,及时清除种海带表面附着物,可以减少细菌菌量。

待种海带孢子囊成熟即开始采苗。种海带第一次放散的孢子水因含有较多的胶质等有机物,菌量也较高,故而排弃掉。第 2 次放散的孢子水中异养菌量仅为  $3.4 \times 10^1$  cell/ml,厌氧产硫化氢细菌仅为 9.0 cell/ml,可用来采苗。

表 2 风浪对汇泉湾海水中细菌丰度的影响 (1984, 水温为 22°C)

Tab. 2 Bacteria abundance in seawater influenced by wind at Huiquan Bay, Qingdao (1984,  $T = 22^\circ\text{C}$ )

风力及测定日期 (月 日)	菌 量 (cell/ml)	
	总异养菌 ( $\times 10^3$ )	厌氧产硫化氢菌 ( $\times 10$ )
4—5 级 10.9	1.3	0.9
6—7 级 10.12	9.2	22.0

表 3 种海带、种海带培育水和孢子水的细菌丰度

Tab. 3 Bacteria abundance at the surface of *Laminaria*, filtered seawater, seawater with zoospores

样 品	菌 量 [cell/ml(cm <sup>2</sup> )]	
	异养菌 ( $\times 10^3$ )	厌氧产硫化氢菌 ( $\times 10$ )
干净的种海带	7.2	未检出
有附着物的种海带	79.2	0.2
种海带培育海水	2.5	0.9
孢子水(第 2 次放散)	34.0	0.9

表 4 不同处理的苗绳在海水中培育后总异养菌量

Tab. 4 Bacteria abundance on strings with different pretreatment measures before boiling once, boiling 5 times, boiling 10 times

煮沸苗绳次数	培育前菌量	培育后菌量 ( $\times 10^6$ cell/cm <sup>2</sup> )	
		3d	6d
1	0	26.0	23.0
5	0	10.0	9.3
10	0	4.4	4.9

## 2. 苗槽中细菌密度

对三种不同处理的苗绳在海水中培育后菌量的测定结果表明,经煮沸 10 次的苗绳,其附菌量约为煮沸 1 次的 1/6(表 4)。取附孢子前后的苗绳作细菌分析,在附孢子前,苗

绳异养菌菌量为  $3.1 \times 10^6 \text{ cell/cm}^2$ , 厌氧产硫化氢细菌未检出; 附孢子后, 前者菌量增加一倍, 后者为  $8 \text{ cell/cm}^2$ 。以后直到配子体转化为小孢子体时, 异养菌量没有什么变化, 而厌氧产硫化氢细菌稍有波动, 处于  $10-100 \text{ cell/cm}^2$  水平上。至于苗槽水, 因经常更换, 异养菌维持在  $2.0-3.0 \times 10^3 \text{ cell/ml}$  的水平, 略高于过滤水; 厌氧产硫化氢细菌每毫升仅几个。

### 3. 镜检配子体

每天镜检配子体生长及其表面附菌。观察结果表明, 配子体始终生长良好, 呈金黄色, 在健康配子体表面通常未发现细菌附着。配子体生长发育至 11d, 均逐渐转化为健壮的小孢子体。值得提出的是, 在配子体生长发育的第 10d, 发现有部分配子体出现当地称谓之“戴帽”现象, 即在配子体表面有一层透明胶状物。有的整个配子体外包着薄薄一层, 有的仅覆盖部分区域, 有的胶状物沾上一些小的颗粒。用油镜观察表明, 在“戴帽”配子体的体表或胶状物内外, 很少有细菌细胞存在; 在苗槽及苗绳上各类细菌数量始终没有明显变化。采苗后第 11d, 也就是出现“戴帽”后的第 2d, 健康的幼孢子体开始出现, 随后配子体大量转化为孢子体, 当年获得很好的育苗效果。

## 三、讨论与结论

海带配子体的畸形病是威胁海带育苗生产的主要病害之一, 导致海带配子体畸形病的因素可能是多方面的。在微生物方面, 产硫化氢细菌大量生长<sup>[4]</sup>可能成为引起病害的原因。因此为有效地防治海带配子体畸形病, 根据试验结果, 提出对海带育苗水系中细菌的数量实行有效监控和调节控制的如下措施。

### 1. 育苗水源的监控

育苗使用海水水质的优劣直接影响着育苗的成败。在近 10 余年中, 由于人口和工业不断增长, 三沙育苗室周围污染日趋严重, 根据在三沙取水点的现场分析表明, 所取海水(龙头水)样品中的硫化物的含量显著偏高, 达  $250 \text{ mg/L}$ ; 海水中厌氧产硫化氢细菌的数量也比青岛近海海水中高出 3—10 倍, 这表明海水质量已明显下降, 此即引起海带苗产生病害的潜伏危险。1981—1983 年, 三沙海带育苗室连续 3 年育苗失败, 恐也与育苗水质下降有关。本文研究表明, 从微生物量的角度看, 育苗用水的质量还是可以通过加强监测并谨慎地适时抽水来改变和保证的; 这是因为, 取水点(龙头)周围的海水在满潮和天气、海况好的时候细菌量少, 而在低潮、恶劣天气(大雨、大风浪)和发生赤潮的情况下细菌大量增加。为此应在满潮前后和天气、海况好的情况下抽水。1984—1990 年, 育苗室认真落实了这些措施, 每年都取得了育苗的成功, 证实了上述的设想是有根据的。

### 2. 海水沉淀和过滤的监控

根据生产的程序, 由海区抽上的海水首先注入大型的沉淀池, 进行 1—2d 的黑暗沉淀, 经多次现场和室内分析表明: 黑暗沉淀在夏季气温条件下, 一般并不降低海水水体中的含菌量, 反而有所升高; 升高的程度因海水中可溶性营养物质的多少而定, 营养物浓度越高增长越多。由此可见, 黑暗沉淀的作用不在于降低海水中的含菌量, 而在于减少水体中的有机碎屑、生活着的和死亡的动植物, 以及水体中可溶性有机物的含量, 从而减少细菌赖以繁殖的营养源。因此黑暗沉淀仍是不可缺少的步骤。

沙滤是减少海水中微生物数量的有效步骤,一般能除去细菌 85% 左右,高的可达 93%。但在滤塔用一定时间后,除菌效力会逐渐降低,有时只能除菌 60% 左右。因此,对砂滤系统应保持经常性的菌量的监控,及时对滤塔进行反冲洗。

### 3. 育苗水槽含菌量的监控和防治措施

流动冷却的海水、棕绳育苗帘和生长在苗帘上的大量海带幼苗,组成了整个海带育苗的小生态系统。海带幼苗的病害就是在这个系统内出现的。对这一系统的密切监控是整个微生物监控工作的重点。为此,凡是能够引起增加本系统内细菌含量的各种因素,都应予以注意并采取相应的对策。除前面所提到的预防措施外,在本系统还要做到以下几点: ① 采苗用的种海带必须经过较彻底的清洗。② 种海带第一批放散出来的孢子水排掉不用,而应以第二批孢子水进行采苗。③ 棕绳苗帘在使用前必须经过严格的清洗和消毒,并在育苗生产过程中应定期冲洗苗帘,测定表明,在冲洗过程中排掉水槽海水,可以使苗帘在空气中有短暂的暴露,对减少苗帘上厌氧产硫化氢细菌数量有明显的效果。

### 4. 健苗育成是防止幼苗病害的重要途径

健壮生长的海带幼苗是不易患病的。在三沙育苗室现场测定的海带育苗棕绳上的含菌量达到  $10^6 \text{ cell/cm}^2$ ,但在健康生长的配子体表面几乎测不出附生细菌。在其他藻类方面也有类似的现象,这可能与藻体表面 pH 值较低,或藻体能产生一种抑菌物质阻止细菌附着有关<sup>[10]</sup>。为此,根据海带配子体和孢子体在不同生长发育时期的不同要求,提供适宜的培育条件,使整个育苗海带群体保持良好的健康的生理状况,增强机体本身抵抗病害的能力,是海带幼苗病害防治工作的重要途径。必须在加强对海带苗期的生理生态学和生长发育调控研究的基础上逐步做到这一点。

## 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] 孙国玉、陈世阳,1982。养殖海带的病害。海水养殖 1: 9—14。
- [3] 孙国玉、杨振芝、沈世泽,1984。改进的夏苗培育法研究——再论育苗系统中脱苗烂苗的原因及其预防措施。海洋科学 (8): 38—42。
- [4] 吴超元、高难生、陈德成等,1979。海带幼体畸形病研究。海洋与湖沼 10(3): 25—36。
- [5] 陈 驹、刘秀云、刘秀珍等,1984。褐藻酸降解菌的研究 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。
- [6] 曾呈奎、吴超元,1962。海带养殖学。科学出版社,146—156 页,230—236 页。
- [7] 索如瑛、郭占明、徐兆庆等,1965。关于海带叶片点烂病的初步研究。水产学报 2(3): 25—36。
- [8] 长谷川由雄、驹本成、浦原八郎,1959。稚内市前浜に發生したリシリコンブの腐敗た就ひて。北水試月报 16(9): 341—347。
- [9] Ando, Y. and K. Inoue, 1961. Decomposition of alginic acid by microorganisms IV On the vibriotype bacteria, newly isolated from the decaying *Laminaria*. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 27(4): 339—341.
- [10] Fletcher, M. and K. C. Marshall, 1982. Advance in Microbial Ecology. Plenum Press, New York, pp. 199—230.

**BACTERIAL MONITORING AND CONTROLLING FOR THE  
SEAWATER SYSTEM AT SANSHA *LAMINARIA*  
SPORELING CULTIVATION STATION  
(FUJIAN PROVINCE)**

Ding Meili, Fei Xiugeng and Jiang Benyu

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao 266071*)

ABSTRACT

The Chinese *Laminaria* summer sporeling cultivation industry has often encountered disease problems during recent years. One of the possible cause was thought to be the overgrowth of certain bacteria in cultivation seawater system. In 1984, bacterial monitoring and controlling for the seawater system was effected by the authors at Sansha *Laminaria* Sporeling Cultivation Station, Fujian. At the same time some other physio-ecological and cultivation measures has also been taken to promote healthy growth and development of juvenile *Laminaria* and to prevent diseases. The result was positive. The following measures have to be taken to reduce the abundant growth of bacteria in seawater system: 1) The pumping of seawater should be conducted carefully and stopped when the oceanographic and weather conditions are not good. 2) Pre-treat seawater by sedimentation in darkness and sand filtration to reduce the abundant growth of bacteria effectively. 3) Mother plant of *Laminaria* for spore collecting should be clean and healthy, and the first batch of zoospores discarded before formal spore collecting. 4) Cultivation strings should be washed and sterilized thoroughly. There is no need for alarming at the appearance of gel like hat at the top of some premature gametophytes, which is not a sign of disease.