

池塘生态系基质 C/N 比对游离细菌群落生长和有机 N 矿化作用的影响

梅志平 施正峰

(上海水产大学水产养殖系, 200090)

提 要 本文研究了向高产鱼池中人工添加有机 C(葡萄糖)和有机 N(甘氨酸)对水中游离细菌生长及其分解矿化有机 N 的影响。研究表明,向池塘水中添加有机 C 促进了细菌生长和细菌对 N 素的吸收,而添加有机 N 对细菌生长的影响不明显,但增强了有机 N 的矿化作用。在池塘水营养条件下,溶解有机 C 限制了细菌的生长,细菌在鱼池生态系统 N 循环中起着有机 N 分解者的作用。

关键词 养鱼池塘,细菌群落,溶解有机 C,溶解有机 N, C/N 比

异养细菌对水域生态系的物质循环,有机物质分解作用,早已引起人们的注意。作为水生细菌生活基质的营养物质,尤其是 C 和 N 的含量对于细菌生长和有机物质分解的影响是相当重要的。近年来的研究表明,浮游植物在光合作用过程中,将同化 C 的 90% 以溶解有机 C 的形式分泌到水环境里[章宗涉、黄祥飞, 1991],构成了细菌有机 C 的重要来源[Shell 和 Overbeck, 1992],因而认为细菌的生长速率与初级生产力有密切的关系。另一方面,许多研究指出,细菌的生长、繁殖等生理活动受它所需各种营养元素的含量及其相对比例所制约,各种营养元素含量的相对比例能改变它们对有机物质的分解能力[Goldman 等, 1987]。

我国养鱼池塘生态系统中异养细菌的群落组成,数量变动正在开展研究[方秀珍等, 1989; 刘国才等, 1992]。郭贤贞等[1984]研究了投放不同粪肥鱼池中细菌的区系组成和数量变动,并分析了对鱼产量的影响。朱学宝[1989]实验证明养鱼池水中细菌形成的絮凝体对于滤食性鱼类具有良好的饵料效果。然而就鱼池生态系中有关细菌群落在营养盐矿化过程中作用的研究尚少。

长期以来与浮游植物初级生产力有关的无机营养盐如三态 N 和磷酸盐的含量、分布及其数量变动曾有不少报导[雷衍之等, 1983](王武, 1984)。然而关于鱼池生态系中细菌生长繁殖之直接能量和营养来源的溶解有机 C 和有机 N 的测定结果尚未见详细报导,因而无法分析池塘条件下溶解有机物质中 C/N 比对细菌的生长和有机物质矿化的作用。本文旨在查明向池塘水中人工添加有机营养源(有机 C 和有机 N)后,池水基质中可溶性有机 C/N 比对游离浮游细菌的生长和营养物质矿化作用的影响。

1994-03-02收到。

(1)王武, 1984. 精养鱼池水质管理的原理和技术. 上海水产学院。

1 材料和方法

1.1 实验时间

本实验于1993年7月25日至8月5日在上海水产大学生态实验室进行。

1.2 采水及水样处理

水样采自江苏省无锡市河埭口一口面积为0.52hm²的高产鱼池(大庆池)。用3m长的柱状采水器取出水表至池底表面的水柱,将水样带回实验室用玻璃纤维滤纸(孔径约1.2μm)过滤,除去藻类和其它细菌捕食者。因池水中细菌数量很大(10⁷⁻⁸ cells ml⁻¹)难于观察细菌指数增长期,故在实验前用0.2μm微孔滤膜滤过的无菌池水,将池塘水(已经1.2μm滤膜过滤)再稀释3倍后备用。

1.3 实验设置

将上述稀释后的水样,按每瓶900ml的容量,分别装入12个1000ml试剂瓶。试验共设6组,每组2瓶平行试验,按表1所示添加有机 C、N 营养源、有机 C 和 N 分别为葡萄糖和甘氨酸。12个试剂瓶均用铝箔包裹以遮光;实验水温为25~27℃。

表1 各实验组中有机 C、N 添加量(mg l⁻¹)

Table 1 Quantity of organic carbon and nitrogen added to each experimental group

实验处理	葡萄糖	氨基酸	C/N 比
空白			5.48
C-1	3.027		6.96
C-2	6.053		8.46
N-1		2.501	4.12
N-2		5.001	3.47
C+N	6.053	5.001	4.86

注: C/N 比的计算方法—样品中总 C 含量为实测池水中原有含 C 量、葡萄糖中加入的 C 量和氨基酸中加入 C 量的总和,含 N 量为实测水中原有含 N 量和氨基酸中加入的 N 量之总和。两者相比即为 C/N 比。原水样中实测 DOC 和 DON 含量分别为4.462 mg l⁻¹和0.814 mg l⁻¹。

实验开始时取样测定水中细菌数量和营养盐(NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N 及 PO₄-P)含量,随后每间隔3h 取样,计算细菌数量。24h 以后改为每隔24h 取样。营养盐含量的测定工作每24h 进行1次。细菌计数的水样用福尔马林调配成2%的浓度固定。

1.4 细菌计数和营养盐含量的测定

细菌计数采用 AODC 法[门田和多贺,1985],将水样中细菌过滤在孔径为0.2μm 的微孔滤膜上后,用吖啶橙染色,在落射荧光显微镜下直接计数。所用滤膜为 Nucleopore 公司生产的聚碳酸酯微孔滤膜,荧光显微镜使用 Olympus (HBS)研究用显微镜上接配上海光学仪器厂生产的落射荧光装置装配而成。营养盐 NH₄-N 用次氯酸酚盐法;PO₄-P 用钼锑抗比色法;NO₂-N 用磺胺法;NO₃-N 用镉铜还原法测定;水样中 DOC 和 DON 的测定是将水样用0.2μm 滤膜过滤后,分别用重铬酸钾氧化法和过硫酸钾氧化法测定[Parssons 等,1984]。分光光度计为上海分

析仪器厂生产的 F7230型分光光度计。

2 结果

2.1 细菌生长速率

培养实验中各组细菌开始增长时的初始密度和增长结束时的最大密度,持续增长时间以及由此计算得到的细菌生长速率列于表2。从表中可以看出,与对照组相比,添加 N 素(甘氨酸)对细菌生长的促进作用不明显;添加量增加1倍的 N-2组,细菌的增长速率也不增加;C+N 组中添加2倍含量的葡萄糖和甘氨酸后,对细菌生长的促进作用也不显著;但是添加葡萄糖组(C-1和 C-2组)细菌的生长速率显著加快了。这证明向池水中添加 C 素可促进细菌的增长。C-1组比 C-2组间葡萄糖的添加量虽然增加1倍,但它们的细菌生长速率的差别不明显,表明 C-1组的添加量已经足够,再增加有机 C 量,不再有促进细菌生长的效果。由此可见,高产鱼池中的有机 C 素是不足的,它限制了细菌的生长。

表2 各组细菌开始生长时的初始密度、增长结束时的最大密度和细菌生长速率

Table 2 Initial density, final density and growth rate of bacterial assemblages in each experimental group

处理方式	初始密度(D _{T1}) ×10 ⁶ cells l ⁻¹	最大密度(D _{T2}) ×10 ⁶ cells l ⁻¹	持续时间(h)	生长速率(d ⁻¹)
空白	3.55	11.19	12.5	2.204
C-1	2.94	9.94	9.5	3.077
C-2	3.01	9.97	9.5	3.026
N-1	2.92	10.08	12.5	2.379
N-2	3.51	9.02	12.5	1.812
C+N	3.22	9.46	12.5	2.069

$$\text{注: } r = \frac{\lg D_{T2} - \lg D_{T1}}{T} \times 24 \text{ (d}^{-1}\text{)}$$

2.2 各添加组在培养过程中 NH₄-N 含量的变化

为研究水中添加不同剂量的有机 C 和有机 N 对细菌利用 N 素的影响,实验测定了培养过程中 NH₄-N 含量的变化(图1)

从图1a中可以看出在培养过程中,对照组 NH₄-N 含量开始上升,保持在150~180 μg l⁻¹之间,到10h后迅速下降,这可能是由硝化作用引起的。实验开始时,NO₃-N + NO₂-N 为308.5 μg l⁻¹,而实验结束时为1189.9 μg l⁻¹。在添加 C 素的实验组中(C-1、C-2组)NH₄-N 含量迅速下降,证明添加有机 C 促进了细菌对 NH₄-N 的吸收;继之分别在25h和75h后 NH₄-N 含量开始回升,可能与开始时剧烈吸收 N 素达到动态平衡后,逐渐将其中一部分分解释放出来有关。然而,两组中 NH₄-N 含量一直保持约有1倍的差别,也就是说,有机 C 添加量增加1倍,水中 NH₄-N 含量减少1倍。实验表明,高产鱼池水中添加有机 C 有促进细菌对 NH₄-N 吸收的效果。

由图1b可见,与对照组相比,实验组添加有机 N 素后其 NH₄-N 含量显著上升,氨基酸添

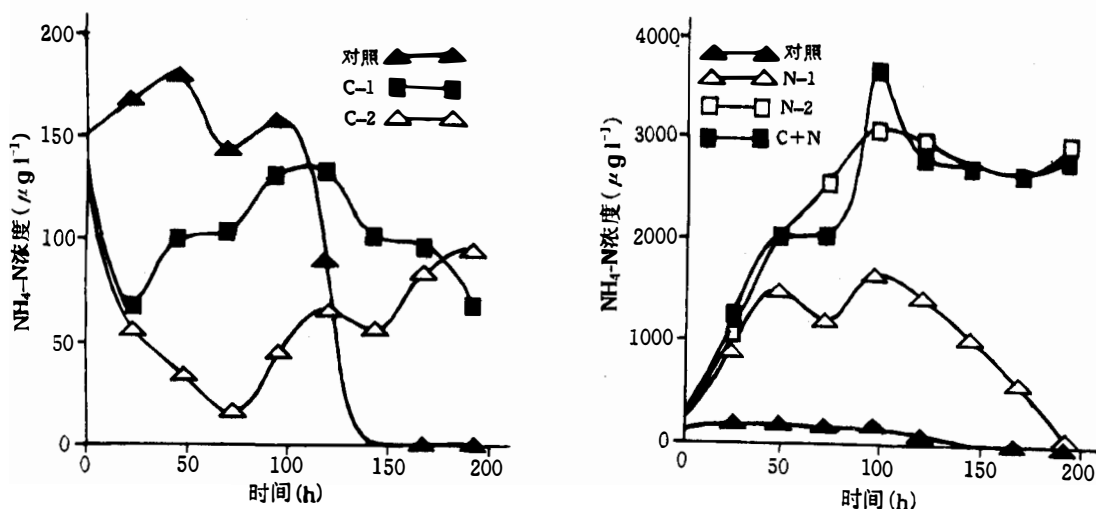


图1 培养过程中各组 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量变化

Fig. 1 Variation of $\text{NH}_4\text{-N}$ content in each group during culture

a. 示对照组、C-1和 C-2组; b. 示对照组、N-1、N-2和 C+N 组。

加量增加1倍, $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量也成倍上升。表明添加的氨基酸主要是被细菌分解成 $\text{NH}_4\text{-N}$ 了。这说明高产鱼池水中有机 N 含量对于细菌的生长来说已经足够。

3 讨论

3.1 细菌增长与基质 C/N 比之间的关系。

本实验所设计的基质 C/N 比范围为 3.80~8.46。由表1和表2证实,细菌生长速率与 C/N 比之间呈显著的正相关关系; $y=1.06+0.25x$ ($r^2=0.79, n=6$) 式中 y-细菌生长速率, x-C/N 比。细菌对 C 和 N 的吸收是根据其自身的生理需要而成比例地吸收的[Herbert,1976]。从表2中可以看出,C-1组(C/N=6.9)生长速率最大,C-2组添加 C 的量为 C-1组的2倍,而生长速率不再升高。因此可以认为,在池塘条件下,对细菌生长比较适宜的 C/N 比约为7左右,添加有机 C 素的2个实验组中(C-1,C-2组), $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量与对照组相比,随培养时间的延长而不断下降,表明有了足够的 C 源后,促进了细菌对 N 素的利用,因而也有利于 N 素通过细菌沿食物链向更高营养级传递。

本实验测得天然池水中 C/N 比为 5.48, 低于细菌最大生长速率时的 C/N 比,且添加 C 素可提高细菌生长速率,表明高产鱼池中水体,对于细菌生长来说 C 素供应是不足的。一般认为,细菌细胞 C/N 比为 5[Fenchel 和 Blackburn,1979;Bratbak,1985;Tupas 和 Koike,1990]。Goldman 等[1987]实测了培养在不同 C/N 比基质中的海洋细菌细胞 C/N 比值,认为这些细菌细胞的 C/N 比无显著差别,平均在 4.8-5.9 之间。本实验测得细菌最佳生长 C/N 比为 7,略高于菌体 C/N 比是可以接受的,因为细菌除了积累 C 素用于维持身体组分外,还有一部分用于呼吸消耗。因此,所需基质的 C/N 比应略高于菌体自身 C/N 比。

3.2 基质 C/N 比与细菌对基质 N 素吸收和矿化关系

本实验结果显示了基质中添加有机C(葡萄糖)后,由于基质中C/N比被改变,使细菌从N素的吸收者(当C/N比 >7 时,图1a)变成N素的矿化者(C/N <7 时,图1b)。在添加C素的2个实验组中, $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量随培养时间的延长而下降(C-1组25h,C-2组75h后达到最低点),这证明在有充足的C源供应情况下,细菌可以吸收利用水体中的N源。细菌除把有机N分解为无机N外,也能吸收利用无机N,尤其是 $\text{NH}_4\text{-N}$ [Wheeler和Kirchman,1986;Tupas和Koike,1990]。当向基质中添加有机N素时, $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量随培养时间延长而增加(0-100h),这与对照组相比,具有明显的差别(图1b)。表明添加的氨基酸已被分解成为 $\text{NH}_4\text{-N}$ 。Goldman等[1987]认为当细菌体细胞C/N比大于基质中C/N比时,细菌分介有机N成为无机N,并释放到周围环境中去,这说明了池水中N素对于细菌并不起限制作用的。这与Tupas和Koike[1990]的结论是一致的。

长期以来人们一直认为,细菌在生态系统中主要承担有机物质的分介者的任务。实际上细菌在不同条件下,有时成为有机物质的分介者,有时会吸收有机和无机营养物质,因而被称为营养物质的“陷阱”。究竟起何作用主要取决于细菌的生理状态(处于指数生长期还是静止生长期),以及基质的营养状况(C/N)比[Goldman等,1987]。在本实验中,对照组及N素添加组(N-1,N-2和C+N组)各组均出现N矿化作用,而在C素添加组(C-1和C-2组,C/N ≥ 7)中细菌则明显吸收 $\text{NH}_4\text{-N}$,因此可以认为,当基质C/N比低于7时,池塘水细菌主要起有机N矿化者的作用。在海洋细菌中当基质C/N比 <10 时,即有可能使细菌成为有机N的矿化者[Fenchel和Blackburn,1979;Billen,1984;Goldman等,1987]。这反映了池塘细菌和海洋细菌对基质C/N的要求略有差异。这种差异可能是由于Goldman等[1987]在计算C/N比时仅计算添加氨基酸的C/N比,而本实验中考虑到池水中DOC和DON含量颇高,不可忽略,所以将池水中原来的数值和添加值一并计入之故。本实验测得的池塘水的C/N比值为5.5(见表2),因此细菌在这种池塘生态系N循环中主要起DON分介者的作用。如果水中有更多的有机C供应,使池水基质C/N比大于7,细菌能够吸收包括 $\text{NH}_4\text{-N}$ 在内的N源,成为初级生产者吸收营养盐的竞争者,从而成为营养物质的“陷阱”。

前面已提到,高产鱼池水中有机C的供应是不足的,它限制了细菌的生长。研究表明,水体中细菌生长所需的C源主要依赖于浮游植物光合作用向水中释放出的溶介有机物质。Simon[1987]在Constance湖中研究发现细菌生产力与水体叶绿素a含量呈显著相关;细菌的生物量生产力与水体中叶绿素a的含量和浮游植物的生产力有显著的相关关系[Simon和Tilzer,1987];Shell和Overbeck(1992)用同位素示踪技术证明了浮游植物光合作用过程中释放的胞外有机物质大量被结合到细菌体内,这种现象在夏季更为显著。因此可以推测,养鱼池塘中细菌生长所需的C源同样也会受着养鱼池中浮游植物光合作用的制约。鱼池中初级生产者限制细菌生长的情况是有可能存在的。养鱼池中测得初级生产力经常明显地低于富营养化湖泊中的测定值。1989年在青浦联营场高产鱼池中的测定值为 $0.53\sim 1.94\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$ [三浦泰藏,1990],1991年的测定结果为 $1.07\sim 2.03\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$ [岩田胜哉,1992]。Fallon和Brock[1980]报导美国Mendota湖中夏季初级生产力为 $4\sim 8\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$,最高时可达 $16\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$;Takamura和Yasuno[1988]报导日本霞浦湖夏季初级生产力为 $2\sim 4\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$,最高值为 $6\text{g cm}^{-2}\text{ d}^{-1}$ 。养鱼池塘是一个超富营养化生态系统,其初级生产力低于富营养化湖泊,这与鱼池中大量放养滤食性的鲢、鳙有关。武汉东湖有研究表明,1987年鲢、鳙放养量比1985年增加20%,从而明显地抑制了大型藻类的生长,使浮游植物量大为下降[Miura和Chen,1989]。

滤食性鱼类捕食浮游植物,降低了水体初级生产力,从而减少了细菌增长所需的有机 C 源的供应,导致细菌对 C、N 元素的吸收与分解能力的改变。影响水域生态系营养元素循环的动态过程。这就是水生生态系食物链动态研究中所谓下行影响(Top-down effect)的体现,即食物链顶端的生物的活动通过食物链的传递,最终制约着食物链底部生物的组成数量行为乃至其周围理化环境的变动。因此,在研究我国鱼池生态系中细菌的动态及在营养物质转化中的作用时,应根据下行影响的理论,查明养殖鱼类如何通过捕食作用沿着食物链各环节,最终对细菌的动态及作用产生影响,这样就能从系统水平上掌握细菌在鱼池生态系物质循环中的作用规律。

本研究为农业部七、五重点项目、项目编号:渔90-01-04-03;本校海水养殖专业1990届吴萍同学参加部份实验;无锡河埭渔业大队在野外采样过程中给予大力支持和帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 方秀珍等,1989.高产鱼池中异养细菌的初步研究.水产学报,13(2),101-108.
- [2] 朱学宝,1989.细菌絮凝体对滤食性鱼类饵料效果的研究.水产学报,13(4),339-345.
- [3] 刘国才等,1992.鱼塘内细菌数量消长和季节变动.水产学报,16(1),24-31.
- [4] 郭贤贞等,1984.动物粪肥养鱼池水中细菌区系分析及其消长规律的初步研究.淡水渔业,(1),31-34.
- [5] 章宗涉,黄祥飞,1991.淡水浮游生物研究方法,305pp,科学出版社(京).
- [6] 雷衍之等,1983.无锡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),185-199.
- [7] 三浦泰藏,1990.中国综合养鱼に関する生态生理学的研究,22-32pp,京都大学(日).
- [8] 门田元,多贺信夫,1985.海洋微生物研究法,33-40,学会出版センター(东京).
- [9] 岩田胜哉,1992.中国综合养鱼に関する生态生理学的研究,6-12pp,和歌山大学(日).
- [10] 高村典子等,1984.霞ヶ浦の植物プランクトンの現存量と一次生産(1981-1984)及びラン藻類の生産特性,11-56. 国立公害研究所研究报告第51号.
- [11] Billen, G., 1984. Heterotrophic utilization and regeneration of nitrogen, 313-355. In J. E. Hobbie and P. J. leB. Williams [eds]. Heterotrophic activity in the sea. Plenum.
- [12] Bratbak, G., 1985. Bacterial biovolume and biomass estimations. *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**: 1488-1493.
- [13] Fallon, R. D. and T. D. Brock, 1980. Planktonic blue-green algae: Production, sedimentation and decomposition in Lake Mendota, Wisconsin. *Limnol. Oceanogr.*, **25**(1): 72-88.
- [14] Fenchel, T. and T.H. Blackburn, 1979. *Bacteria and mineral cycling*. Academic, 1-45pp.
- [15] Goldman, J. C. et al., 1987. Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C: N ratio. *Limnol. Oceanogr.*, **32**(6):1239-1252.
- [16] Herbert, D., 1976. Stoichiometric aspects of microbial growth, 1-30. In A. C. R. Dean et al. [eds]. Continuous culture: applications and new fields.
- [17] Miura, T. & S. Chen. 1989. *Nitrogen flow in a subsystem formed by planktivorous fishes, phytoplankton and zooplankton*. In Miura T. (eds), East Lake — a phytoplanktivorous fishes dominated lake ecosystem. 115-126. Ohtsu Hydrobiological Station, Kyoto University.
- [18] Parsons, T. R. et al., 1984. *A manual of chemical and biological methods for seawater analyses*, 60-65. Pergamon press. Oxford.
- [19] Shell, A. and J. Overbeck, 1992. Exudates, Phytoplankton-bacterioplankton interactions in Plubsee. *J. Plankton Res.*, **14**(9):1199-1215.
- [20] Simon, M., 1987. Biomass and production of small and large free-living and attached bacteria in Lake Constance. *Limnol. Oceanogr.*, **32**(3):591-607.

- [21] Simon, M. and M. M. Tilzer, 1987. Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance. *J. Plankton Res.*, **9**(3), 535-552.
- [22] Takamura, N. and M. Yasuno, 1988. Sedimentation of phytoplankton populations dominated by *Microcystis* in a shallow lake. *J. Plankton Res.*, **10**(2), 283-299.
- [23] Tupas, L and I. Koike, 1990. Amino acid and ammonium utilization by heterotrophic marine bacteria grown in enriched seawater. *Limnol. Oceanogr.* **35**(5), 1145-1155.
- [24] Wheeler, P. A. and D. L. Kirchman, 1986. Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine system. *Limnol. Oceanogr.*, **31**(5), 998-1009.

EFFECTS OF SUBSTRATE C/N RATIO ON GROWTH OF PLANKTONIC BACTERIAL ASSEMBLAGE AND THEIR N MINERALIZATION IN FISH POND ECOSYSTEM

Mei Zhi - ping and Shi Zheng - feng

(*Departemnt of Aquaculture, SFU, 200090*)

ABSTRACT The effects of the nutritional composition of the substrate on the bacterial growth and their N mineralization after adding organic carbon (glucose) and organic nitrogen (glycine) to the experimental fish pond were investigated in this paper. The study showed that the growth rate of bacterial assemblage and their uptake of N were enhanced by enriching the water with organic carbon. On the other hand, the growth rate of bacterial assemblage was not significantly increased, while the N mineralization was increased by enriching the water with organic nitrogen. The nutritional status of fish pond water implied that the bacterial growth was limited by the content of DOC in the substrate. The bacterial assemblage in water of the experimental fish pond acted as a decomposer of organic nitrogen in the process of nitrogen cycling within the fish pond ecosystem.

KEYWORDS fish pond, bacterial assemblage, dissolved organic carbon, dissolved organic nitrogen, C/N ratio