

池塘氮循环中各种细菌与理化因子的相关性研究

谢 骏 方秀珍 郁桐炳

(淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

摘要: 对精养鱼池的水体及淤泥进行多次采样, 用统计学分析处理, 结果表明: 硝化类细菌总体上与各主要理化因子的相关性较强($R > 0.60$), 其中氨化菌主要与溶氧相关程度较高; 反硝化菌主要与有效磷相关程度较高; 亚硝化菌主要与氨氮负相关程度较高; 硝化菌主要与亚硝酸盐相关程度较高。硝化类细菌与异养菌之间的相关性则更强, 如反硝化菌与厌养菌($R = 0.944$, $P = 0.001$)、反硝化菌和好氧异养菌($R = 0.832$, $P = 0.003$)皆显著正相关, 亚硝化菌和厌氧异养菌($R = -0.76$, $P = 0.009$)显著负相关; 而在硝化类细菌之间的相关程度却较弱($R < 0.60$), 表明池塘硝化类细菌对水质具有一定的调控作用, 但相互之间的依赖性不强, 各自相对独立地发挥作用。

关键词: 硝化类细菌; 理化因子; 相关性; 泥水界面层

中图分类号: Q939.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)02-0180-008

池塘中的氮循环主要通过氨化菌的氨化作用、亚硝化菌的亚硝化作用、硝化菌的硝化作用和反硝化菌的反硝化作用(上述四种功能菌在本文通称为硝化类细菌)来完成。在这过程中这些硝化类细菌无疑对池塘水质有很大的影响。对池塘水质已有较多的研究与报道, 因此它已成为评价水体的营养状况、初级生产力和鱼产潜力的重要指标^[1]。在影响水质的众多因素中, 有关细菌与水环境因子的相关性的研究也已受到一些学者的重视, 但仅仅关注了好氧异养菌或总菌与水环境因子的相关性^[2-5], 但对厌氧菌与池塘主要理化因子的相关性的研究, 特别是影响水质至关重要的功能菌—硝化类细菌与池塘中主要理化因子的相关性的研究则尚未见报道。

本研究还定量研究了表层淤泥(分二层)的细菌数量的动态变化, 据此, 在对淤泥活性的定性研究的基础上^[6], 进一步探讨了淤泥的活性, 认为泥水界面层(即泥水界面至界面下 1.5cm 厚的淤泥处)是含氮有机物的降解和转化的主要场所。同时提出采用现代微生物技术来提高淤泥活性、改善水质可能是减少病害和污染、发展可持续养渔业的一条新途径、新方法。

收稿日期: 1999-12-29; 修订日期: 2001-10-06

基金项目: "九五"农业部渔业重点科研资助项目(渔 95-青-96-09)

作者简介: 谢 骏(1966-), 男, 汉, 江苏省无锡市人; 理学士, 副研究员; 主要研究方向: 池塘动力学和池塘微生物学

1 材料和方法

1.1 试验鱼池 无锡市河埒渔业一队菱塘池, 系典型的精养鱼池, 面积 0.48hm^2 , 平均水深 2.5m。混养青鱼、草鱼、团头鲂、鲤、鲢、鳙和鲫。投喂期(3—10月)内投喂草类(黑麦草、陆草、小青菜)、贝类(螺蛳)和精饲料(小麦、糠、菜饼、颗粒饲料)。

1.2 样品的采集和处理 采集时间为 4—10月。水样用柱状玻璃管采集, 采样点在池塘设三个点, 取混合样; 泥样用设制的柱状有机玻璃管($\Phi 5\text{cm}$)采泥器^[6]。具体操作是把采集到的淤泥用活塞的管子底部往上推(无菌操作), 取出泥水界面 0—1.5cm 厚的淤泥(称淤泥 I 层或泥水界面层, 以下同)然后间隔 2cm(即 1.5—3.5cm 厚淤泥称淤泥 II 层)再切出作样品, 三个采样点混合后取 50g 溶于 450mL 无菌蒸馏水中作为实验样品。

1.3 细菌测定 好氧异养菌、厌氧异养菌用平板法, 氨化菌、亚硝化菌、硝化菌和反硝化菌用 MPN 法。厌氧菌、反硝化菌用二氧化碳培养箱培养, 亚硝化菌和硝化菌恒温摇床培养, 氨化细菌用普通培养箱培养。

1.4 化学测定 总氮、氨氮用奈氏比色法; 硝酸氮用酚二磺酸法; 亚硝酸氮用 α 萘胺-对氨基苯磺酸比色法; 总磷和溶解性磷酸盐采用钼蓝比色法; 溶解氧采用 YSI57 型溶氧仪测定。

2 结果

2.1 鱼池各理化因子的动态变化(表 1)

由表 1 可知, 在整个养殖期, 池塘的水质与其他高产稳产塘有共性^[7]。如 pH 波动区域在 6.93—8.0 之间窄幅波动, 水温上下波动为 14.8—32 $^{\circ}\text{C}$; 透明度波动区域为 20—36cm; 叶绿素 a 波动区域为 126—525mg/m³; 上午 8:30 左右溶氧测定值波动区域为 1.10—4.46mg/L, 化学耗氧值波动区域为 19.8—116.4mg/L。三种无机氮中以硝酸氮最多, 其波动区域为 0.2—1.605mg/L, 其次为铵态氮, 波动区域为 0.047—2.662mg/L, 最少的亚硝酸氮, 波动区域为 0.036—0.292mg/L; 有效磷(五氧化二磷)的波动区域为 0.025—0.269mg/L, 磷含量较高可能与附近的水源富含磷有关, 在池塘旁边的河道中有效磷含量均值高达 0.233mg/L。

2.2 池塘中细菌的动态变化(表 2)

2.2.1 池塘水体中细菌的数量消长情况 由表 2 可知: 水体中好氧异养菌波动区域为 $(0.01—8.7) \times 10^5$ 个/mL; 厌氧异养菌波动区域为 $(0.03—68) \times 10^5$ 个/mL, 略高于好氧菌的数量(平均值约为好氧的 2 倍多), 此结果似乎表明: 即使水体中溶氧较充足, 但除好氧菌、兼性好氧菌外还可能存在着严格的厌氧异养菌, 作者推测水体中如果有机碎屑被微生物膜(即有机碎屑外粘附大量细菌, 从而形成一层较厚的菌膜)所缠裹, 那么有机碎屑内部就很易造成缺氧状态, 在此局部无氧环境下一些厌氧菌得以生存并维持池塘的生态平衡, 如反硝化细菌的反硝化作用^[8]。

2.2.2 池塘淤泥的细菌数量的动态变化 由表 2 可知, 泥水界面层即淤泥 I 层中好氧异养菌的波动区域为 $(1.9—140) \times 10^5$ 个/g 泥, 厌氧异养菌波动区域为 $(0.4—5700) \times 10^5$ 个/g 泥, 其平均值如与好氧菌相比, 高出 15 倍; 氨化菌变化范围为 $(1.5—110) \times 10^5$ 个/g

表 1 各理化因子的动态变化表

Tab. 1 Dynamic changes of physicochemical factors in the pond

T. ($^{\circ}\text{C}$)	pH	溶氧 (mg/L)	化学耗氧 DO (mg/L)	COD (mg/L)	叶绿素 a (mg/m ³)	透明度 (cm)	总磷 Total-P (mg/L)	有效磷 $\text{PO}_4^{3-}\text{-N}$ (mg/L)	氨氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/L)	亚硝酸盐 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (mg/L)	硝酸盐 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (mg/L)	总氮 Total-N (mg/L)
7.97	2.4	98.1	0.343	25	—	0.052	1.196	0.084	0.85	2.13		
7.5	2.26	19.8	0.352	35	—	0.077	0.787	0.09	0.63	1.51		
7.71	2.36	19.8	0.401	30	—	0.205	2.374	0.09	0.432	2.9		
8	3.2	84.9	0.353	25	—	0.077	2.662	0.201	0.61	3.47		
7.52	1.2	116.4	0.388	30	0.51	0.049	0.508	0.107	0.25	0.87		
7.21	2.4	66	0.295	30	0.45	0.147	1.68	0.7	0.49	2.87		
7.4	2.3	73	0.154	35	0.53	0.171	1.032	0.114	0.84	1.99		
7.13	1.5	74.1	0.201	28	0.59	0.11	0.738	0.089	1.1	1.93		
7.31	2.66	27.6	0.126	28	0.56	0.171	0.059	0.068	1.605	1.73		
7.53	3.7	63	0.238	28	0.7	0.049	0.155	0.13	0.7	0.99		
7.42	2.7	70.4	0.207	28	0.85	0.269	0.206	0.292	0.5	1		
7.65	1.46	50.3	0.159	36	0.74	0.11	0.129	0.088	1.05	1.27		
7.3	1.34	45.6	0.163	35	0.73	0.073	0.071	0.256	0.82	1.15		
7.3	1.34	45.6	0.163	35	0.73	0.073	0.362	0.292	0.29	0.94		
7.43	1.1	0.252	35	0.82	0.025	0.127	0.175	0.32	0.62			
7.26	2.4	58.8	0.25	30	0.66	0.073	0.362	0.292	0.29	0.94		
7.59	1.64	80	0.193	25	0.53	0.092	0.182	0.185	0.74	1.11		
7.43	2	57.6	0.27	25	0.69	0.049	0.072	0.07	0.7	0.84		
7.63	2.3	95.2	0.355	20	0.88	0.025	0.047	0.25	0.2	0.5		
7.28	1.7	73.6	0.27	25	0.98	0.073	0.153	0.109	0.64	0.9		
7.39	3.6	80.3	0.23	25	0.82	0.049	0.145	0.145	0.3	0.59		
7.01	4.2	71.2	0.305	25	0.73	0.11	0.162	0.18	0.68	1.02		
7.52	3.1	54	0.404	22	0.94	0.025	0.131	0.088	0.7	0.92		
7.19	3.5	7.19	0.393	25	0.9	0.049	0.149	0.125	0.66	0.93		
7.43	3.94	40	0.481	23	0.5	0.092	0.282	0.15	0.68	1.11		
7.1	3.3	88	0.404	20	0.89	0.049	0.073	0.056	0.62	0.75		
6.93	4.46	96	0.525	25	1.12	0.049	0.3	0.175	0.47	0.95		
7.36	3.8	76.1	0.437	20	1.31	0.073	0.111	0.036	0.47	0.62		

表2 池塘水体及其淤泥中细菌的数■消长情况($\times 10^5$ ind/mL)

Tab. 2 Dynamic changes of bacteria in the water and soils.

日期	水体	淤泥 1 层						淤泥 1 层						
		好氧菌	厌氧菌	好氧菌	厌氧菌	好氧菌	厌氧菌	反硝化菌	硝化菌	厌氧菌	好氧菌	厌氧菌	硝化菌	
4/23	0.12	2.4	2.4	2.5	2.5	0.95	0.6	1.1	0.025	0.25	0.8	0.25	0.095	
5/7	0.75	0.78	53	110	1.5	4.5	9.2	1.4	0.45	0.45	0.03	0.025	0.03	
5/21	8.7	8.4	140	5700	1.5	45	390	0.07	0.07	0.07	0.095	0.095	0.095	
6/4	0.19	0.29	60	110	25	2.5	25	15	0.9	0.45	0.9	1.4	1.4	0.45
6/18	0.16	0.24	16	15	11	25	0	2.5	1.1	3.1	0.75	4.5	0	0.095
7/30	0.9	0.5	9.6	0.36	2.5	250	40	0.15	3.5	5.1	0.45	25	4.5	0.11
8/13	0.19	0.1	28	28	11	1.5	12	2.5	4.2	3.6	2.5	4.5	0.6	0.095
8/27	0.08	0.17	26	19	4.5	25	2.5	13	1.4	1.1	0	0.4	0.45	
9/10	0.07	0.15	9.5	7.9	25	2.5	1.5	1	0.7	0.04	2.5	2.5	2.5	0.025
9/24	0.01	0.03	13	10	4.5	25	45	2.5	7.3	6.6	1.1	25	0.4	0.15
10/8	0.015	68	78	65	25	25	2.5	11	2.5	1.4	0.45	2.5	0.4	0.025
10/23	0.19	0.17	24	24	110	25	0	0.95	11	8.3	4.5	3	0.4	0.7

表 3 泼泥 1 层细菌之间及与主要理化因子的相关性

Tab. 3 Correlation among bacteria and bacteria with major physicochemical factors in the first layer of the soil

类别 Variables	好氧菌		厌氧菌		氮化菌		反硝化菌		亚硝化菌		硝化菌	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
厌氧菌 Anaerobic bacteria	0.929	0.001	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
氮化菌 Ammonifying bacteria	—0.382	0.276	—0.247	0.491	—	—	—	—	—	—	—	—
反硝化菌 Denitrifying bacteria	0.832	0.003	0.944	0.001	—0.283	0.428	—	—	—	—	—	—
亚硝化菌 Nitrobacteria	—0.678	0.031	—0.76	0.009	0.458	0.183	—0.598	0.068	—	—	—	—
硝化菌 Nitrifying bacteria	—0.545	0.103	—0.596	0.069	—0.023	0.949	—0.413	0.235	0.586	0.075	—	—
溶解氧 Dissolved oxygen	—0.665	0.036	—0.469	0.172	0.693	0.026	—0.44	0.203	0.369	0.294	0.146	0.688
叶绿素 ^a Chlorophyl a	0.404	0.247	0.412	0.237	0	1	0.258	0.472	—0.421	0.226	—0.19	0.602
有效磷 PO ₄ ³⁻ -P	—0.371	0.291	—0.61	0.061	—0.249	0.488	—0.648	0.044	0.439	0.205	0.347	0.327
氯氮 NH ₄ ⁺ -N	0.382	0.276	0.266	0.458	—0.557	0.095	0.149	0.682	—0.694	0.026	—0.45	0.194
硝酸盐 NO ₃ ⁻ -N	—0.356	0.313	—0.184	0.612	0.238	0.508	—0.059	0.871	0.172	0.634	—0.21	0.561
亚硝酸盐 NO ₂ ⁻ -N	—0.452	0.189	—0.56	0.093	—0.309	0.385	—0.491	0.15	0.377	0.283	0.638	0.048

泥; 反硝化菌为 $(0.15-25) \times 10^5$ 个/g 泥; 硝化菌波动范围为 $(0-450)$ 个/g 泥; 亚硝化菌波动范围为 $(15-2500)$ 个/g 泥。淤泥 II 层的细菌数量变化: 好氧异养菌变动区域在 $(0.6-390) \times 10^5$ 个/g 泥; 厌氧异养菌变动区域在 $(0.7-14) \times 10^5$ 个/g 泥; 氨化菌变动区域为 $(0.025-4.5) \times 10^5$ 个/g 泥; 反硝化菌变动区域 $(0.25-7.0) \times 10^4$ 个/g 泥; 亚硝化菌变动区域为 $(0-250)$ 个/g 泥; 硝化菌变动范围为 $(0-45)$ 个/g 泥。

2.3 细菌之间及与各主要理化因子的单相关分析

由表 3 可见, 细菌总体上与各主要理化因子的相关性较强, 其中氨化菌主要与溶氧 $(R=0.693, P=0.026)$ 和氨氮 $(R=-0.557, P=0.095)$ 相关程度较高; 反硝化菌主要与有效磷相关 $(R=-0.648, P=0.044)$ 和亚硝酸盐 $(R=-0.491, P=0.15)$ 相关程度较高; 亚硝化菌主要与氨氮 $(R=-0.694, P=0.026)$ 和有效磷 $(R=0.439, P=0.205)$ 相关程度较高; 硝化菌主要与亚硝酸盐 $(R=0.638, P=0.048)$ 和氨氮 $(R=-0.448, P=0.194)$ 相关程度较高。而在硝化类细菌之间的相关性则较弱, 其中氨化菌主要与亚硝化菌 $(R=0.458, P=0.183)$ 相关程度较高; 反硝化菌主要与亚硝化菌 $(R=-0.598, P=0.068)$ 相关程度较高; 亚硝化菌主要与硝化菌 $(R=0.586, P=0.075)$ 相关程度较高; 但这些菌与异养菌之间的相关性则很强, 如异养好氧细菌和厌氧细菌 $(R=0.929)$ 、反硝化菌与厌养菌 $(R=0.944)$ 皆显著正相关, 反硝化菌和好氧异养菌 $(R=-0.832)$ 、亚硝化菌和厌氧异养菌 $(R=-0.76)$, 显著负相关 $(R<0.01)$ 。

2.4 表层淤泥不同深度细菌之间的相关分析

由表 4 可见, 池塘淤泥 I 层的细菌除亚硝化细菌外, 都与 II 层细菌存在显著差异 $(P<0.01)$ 。

表 4 表层淤泥不同深度细菌之间的 T-检验

Tab. 4 T-test on bacteria from various depths of the superficial soils

	深度	测定次数	标准差	自由度	P 值
氨化菌		13	1.328		
Ammonifying bacteria		13	1.526	24	0.001
反硝化菌		13	1.621		
Denitrifying bacteria		13	1.144	24	0.001
亚硝化菌		9	1.648		
Nitrifying bacteria		8	1.154	15	0.139
硝化菌		7	1.356		
Nitrifying bacteria		7	0.997	12	0.008
好氧菌		13	1.063		
Aerobic bacteria		13	1.69	24	0.009
厌氧菌		13	2.181		
Anaerobic bacteria		12	1.015	23	0.002

3 讨论

3.1 含氮有机物降解与转化的场所

底泥是池塘生态系统中的一个重要组成部分, 它能吸附水中的磷、氮等营养元素, 水中来不及分解的有机碎屑也沉积到池塘底部, 成为底层鱼类的食料, 底泥中营养元素也会

不断地释放到水层中^[9]。方秀珍等认为淤泥表层0~9cm处是活性淤泥层,池塘氮循环的细菌动力学作用主要发生在活性淤泥层。本研究对硝化类细菌以及异养菌进行定量研究,再次表明含氮有机物降解与转化的场所主要在泥水界面层。泥水界面层是池塘生态系统物质流动的关键场所。由于泥水界面层在整个养殖期是随饵料、有机物时时更新的,是一个动态的场所,因此,可以利用现代生物技术制作能提高转化效率的菌剂,投入到泥水界面层,从而起到改善水质的目的。

3.2 硝化类细菌与主要理化因子的相关性

有关细菌与池塘水环境理化因子的相关性研究,国内较早报道的都属好气性异养细菌^[2~5],有关池塘主要功能菌——硝化类细菌与池塘主要理化因子的研究至今尚未见报道。从表3可见,氨化菌主要与溶氧正相关($R=0.693, P<0.05$)。意味着充足的溶氧能提高有机物降解为氨氮的效率;反之,池塘缺氧特别是塘底缺氧,有机物就腐败发酵,影响池塘水质。反硝化菌主要与有效磷负相关($R=-0.648, P<0.05$)。反硝化菌的主要作用是把硝酸盐转化为 N_2, N_2O 等气体,保持池塘氮平衡。有效磷的升高会抑制池塘中的反硝化作用,使池塘中的氮素营养过剩,造成氮污染,所以在池塘中氮磷比值常常偏高^[10, 11]。

亚硝化菌主要与氨氮负相关($R=-0.694, P<0.05$)。由于池塘中经常投饵、增氧以及鱼类的排泄等因素,因此氨氮含量会较高,池塘中的亚硝化作用有受抑制现象(池塘中的亚硝酸盐含量较氨氮、硝酸盐为最低也证实这一点)。硝化菌主要与亚硝酸盐正相关($R=0.638, P<0.05$)。硝化菌的主要作用是转化亚硝酸盐为硝酸盐,由于池塘中的硝化菌的转化率最强^[12],因此池塘中的硝态氮含量最高。

从理论上讲,好氧菌应与溶氧正相关而与厌氧菌负相关,而实际上好氧菌与厌氧菌显著正相关($R=0.929, P=0.001$),却与溶氧负相关($R=-0.665, P=0.036$),合理的解释只能是虽然存在严格的好氧菌、厌氧菌,但绝大多数菌为兼性好氧或厌氧菌,以适应溶氧的变化。由于在泥水界面层溶氧常处于低氧水平,因此异养细菌更适应厌氧条件。而硝化类细菌之间的相关性甚弱($R<0.60, P>0.05$),表明硝化类细菌在池塘中是各自独立发挥作用的,相互依赖性不高。

综上所述,泥水界面层的异养菌以兼性异养菌为主,以适应池塘复杂多变的溶氧环境,这是池塘本身自然选择的结果。硝化类细菌之间的相关程度较差,但与池塘理化因子却有较强的相关性,表明这些菌与理化因子相互之间发挥较大的影响。本研究还表明池塘中的亚硝化作用受到重抑制,认为如果采用现代微生物技术筛选具有高转化效率的硝化类细菌尤其是亚硝化细菌,以改善池塘水质,减少病害,可能是实现养殖业可持续发展的一条新途径、新方法。

参考文献:

- [1] 张扬宗. 中国池塘养鱼学[M]. 北京: 科学出版社, 1989
- [2] 郭贤桢. 水生细菌对施肥养鱼池塘生态系统和鱼产量影响的初步研究[J]. 中国水产科学研究院学报, 1988, 1(1): 18~28
- [3] 方秀珍. 高产鱼池中异养细菌的初步研究[J]. 水产学报, 1989, 13(2): 101~109
- [4] 刘国才. 鱼塘内细菌数量消长和季节变动[J]. 水产学报, 1992, 16(1): 24~31
- [5] 刘国才. 池塘底泥中细菌的初步研究[J]. 水生生物学报, 1992, 16(3): 284~286

- [6] 方秀珍 . 鱼池淤泥中参与氮循环的细菌和淤泥活性[J]. 水产学报, 1993, 17(2): 137- 145
- [7] 湛江水产专科学校主编 . 淡水养殖水化学[M]. 北京, 农业出版社, 1980
- [8] Molongoski JJ, Clug M T. Anaerobic metabolism of particulate organic matter in the sediment of a hypereutrophic lake[J]. Freshmat, Biol. 1980, 10: 507- 518
- [9] 吴锐金 . 池塘淤泥的理化性质和微生物活性的初步研究[J]. 珠江水产, 1990, 16: 77- 84
- [10] 雷衍之 . 无锡市河埒口高产鱼池水质研究 I、水化学和初级生产力[J]. 水产学报, 1983, 7(3): 185- 199
- [11] 施正峰 . 中国鱼池生态学研究[M], 上海: 上海科学技术出版社, 1995, 21- 26
- [12] 方秀珍等 . 鱼池淤泥中细菌对含氮物质的转化效率的研究[J]. 大连水产学院学报, 1999, 14(1): 70- 74

STUDIES ON THE CORRELATION AMONG VARIOUS BACTERIA AND PHYSICOCHEMICAL FACTORS IN THE NITROGEN CYCLE IN FISHPOND

XIE Jun, FANG Xiu-zhen and YU Tong-bing

(Freshwater Fisheries Research Center Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081)

Abstract: A good number of samplings were taken from pond water and pond bottom soil. The statistic analytic results show that the biomass of the nitrite bacteria (including ammonifying bacteria, nitrobacteria, nitrifying bacteria and denitrifying bacteria) in general are closely correlated with various physicochemical factors ($R > 0.06$): Ammonifying bacteria are mainly correlated with dissolved oxygen; denitrifying bacteria are reversely correlated with available phosphorus; nitrobacteria are reversely correlated with ammoniac nitrogen; Nitrifying bacteria are closely correlated with nitrates. The bacteria are more closely correlated with heterotrophic bacteria: aerobic heterotrophic bacteria are significantly correlated with anaerobic heterotrophic bacteria; Denitrifying bacteria are significantly correlated with anaerobic heterotrophic bacteria; Denitrifying bacteria are significantly with aerobic heterotrophic bacteria. Nitrobacteria are significantly reversed correlated with anaerobic heterotrophic bacteria. But the proportion is quite weak among all the nitrite bacteria ($R < 0.60$) which indicates that the nitrite bacteria has a somewhat regulating function in water quality and there is no interdependant relation, each plays a role in its own.

Key words: Nitrite bacteria; Physicochemical factors; Correlation; Interface between water and mud