

胶州湾异养细菌及大肠菌群的分布及对陆源污染的指示*

赵三军 肖 天 李洪波 徐剑虹

(中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071;

中国科学院研究生院 北京 100039)

*(中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071)

提要 2002年2月—2004年11月对胶州湾异养细菌和大肠菌群进行长期调查发现,胶州湾异养细菌丰度在 10^5 — 10^6 cells/ml之间,其中河口区域和近岸区域数量较高,其它区域相对较低。从季节上来看,夏季、秋季细菌丰度较高(分别为 7.4×10^5 、 7.2×10^5 cells/ml),冬季和春季丰度较低(分别为 4.1×10^5 cells/ml、 5.9×10^5 cells/ml),且在一年内呈现出一定的规律性波动。从季节尺度上看异养细菌丰度与温度呈现很好的正相关性($R = 0.54$)。对大肠菌群的研究表明,河口区域的大肠菌群数量显著高于其它区域,并且河口区域大肠菌群常年处于严重超标状态(最高为 1.1×10^6 cells/L,超过国家前三类水质标准的100倍)。根据大肠菌群的数量状况可以将胶州湾分为三个区域,即严重污染区、中度污染区和轻度污染区。该区域划分与通过营养盐对胶州湾区域的划分(富营养区、中度营养区、贫营养区)结果一致。

关键词 胶州湾, 异养细菌, 大肠菌群, 污染

中图分类号 Q938.1

胶州湾位于 $35^{\circ}38'$ — $36^{\circ}18'N$, $120^{\circ}04'$ — $120^{\circ}23'E$ 之间,在山东半岛南岸的西部,濒临南黄海西部,面积 390km^2 ,是一个典型半封闭中型海湾。胶州湾是一浅水湾,平均水深7m(刘瑞玉, 1992),它的自然条件优越,生物种类较多,水域生产力高,代表着北太平洋西岸温带海湾生态系统。大沽河、胶南河、海泊河、李村河、娄山河等十几条河流入胶州湾。以上入海的河流是周围地区工农业生产和居民生活污水等陆源物质进入胶州湾的主要通道。此外,海水养殖及港口码头、旅游、航运也是胶州湾陆源污染的重要途径。

海洋异养细菌既是分解者也是生产者,它可以利用溶解有机物(DOM)生长、增殖,将其变为颗粒有机物(POM),后者被微型浮游动物捕食利用

转化为更大的颗粒后进入主食物链(Fuhrman *et al.*, 1980)。异养细菌能有效利用陆源溶解有机污染,对净化海水化学环境、维持生态系统稳定性有重要作用。大肠菌群是海水陆源污染的重要生物之一,大肠菌群指数是环境状况评估的重要参数,大肠菌群总量是国家有关部门对养殖海域、码头、海水浴场等场所环境状况评估及污染情况评价的重要指标。以前关于胶州湾海洋异养细菌以及大肠菌群的研究大多只限于少数区域的个别月份(贺杰, 2002; 肖天, 1995),并没有全面揭示胶州湾水域陆源污染基本状况,因此作者针对胶州湾大肠菌群及异养细菌的分布状况及月变化进行了监测,为正确揭示和评价胶州湾这一典型海湾生态系统环境状况,从而进行有效开发、管理与保

* 国家自然科学基金资助项目,40376048号;中国科学院知识创新项目,KZCX3-SW-214号。赵三军,博士,助理研究员, E-mail: sanjunzhao@yahoo.com.cn

收稿日期: 2005-04-22, 收修改稿日期: 2005-06-30

护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样与样品处理

异养细菌的采样调查时间为 2002 年 2 月—2004 年 11 月,其中 2002 年 2 月、5 月、8 月、11 月各进行一次调查,2003 年 5 月—2004 年 12 月加大了调查密度,进行逐月调查。同时,增加了进行大肠菌群数量的采样调查,其中有 13 个月观测站为本研究的主要站位(图 1),覆盖大沽河河口、娄山河河口、李村河河口、海泊河河口、胶州湾湾口、浮山湾及大公岛等海域。用船载 Rossette 采水器采集水样,取表层海水 50ml 置入无菌样品瓶中。用于分析异养细菌的样品用戊二醛固定(终浓度为 1.0%),固定后样品于 4℃ 保存至分析完毕。大肠菌群测试样品于 0℃ 保存,4—5h 内进行接种培养。

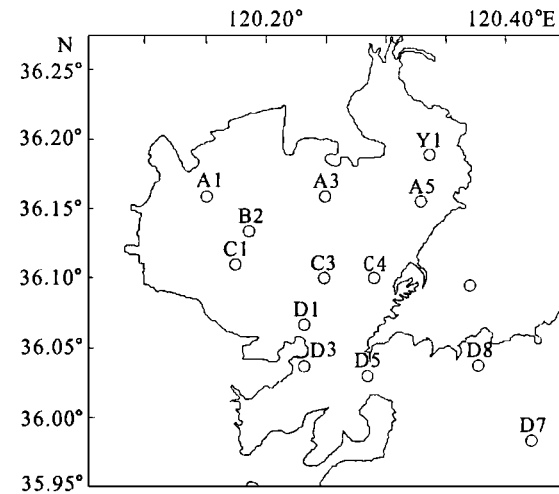


图 1 采样站位
Fig. 1 Sampling station map

1.2 海洋异养细菌及大肠菌群的计数方法

1.2.1 异养细菌计数 用移液器取 1—2ml 固定后海水样,加入丫啶橙(Acridine Orange, AO)(终浓度 0.1%)染色 1—2min,真空抽滤到黑色微孔滤膜(Nuclepore filter, 0.2μm, 25mm diameter)上(0.8atm)(Hobbie *et al.*, 1977)。将抽滤后滤膜置入载玻片上,盖上盖片,用 Olympus BH-2 型表面荧光显微镜(BH2-RFL filter set, BP490 excitation filter, EY455 supplementary exciter filter, O515 barrier filter)在 10×100 放大倍数下观测计数,随机选取

10—20 个视野,每个视野不少于 20 个细菌个体,然后将视野细菌数量转换为每升实际细菌细胞数(cells/L)即为异养细菌丰度。

1.2.2 大肠菌群检测方法 室温下用无菌移液管取样品 1ml,加入 9ml 无菌水稀释,制备 10⁻¹ 稀释样,再依次用无菌移液管按上述步骤将样品分别稀释,制备成 10⁻²、10⁻³ 稀释度的样本。根据实际情况分别取 10⁰、10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 稀释样本—将不同稀释梯度样品接种于乳糖蛋白胨培养基,用三管发酵法(MPN 法)检测大肠菌群数量,在 37℃ 下培养 48h,产酸产气的发酵管为阳性。根据对照表计算大肠菌群数量。

2 结果

2.1 异养细菌的数量变化

2.1.1 异养细菌的季节变化 对 2002 年 2 月—2004 年 12 月异养细菌季度数据分析发现,其季变化如图 2 所示,异养细菌数量变化范围在 1.8×10⁵—16×10⁵cells/ml 之间,最大值约是最小值的 9 倍。异养细菌数量在每年的夏季较高(约 9.0×10⁵cells/ml),在每年的冬季最低(约 3.6×10⁵cells/ml)。2002—2004 年异养细菌数量的变化趋势基本一致。数量平均值表现为 2002>2004>2003,2002 年与 2004 年大体相当(分别为 7.4×10⁵、6.6×10⁵cells/ml),2003 年数量偏低(4.5×10⁵cells/ml)。将 2002 年、2003 年及 2004 年的胶州湾温度及异养细菌数量取平均值进行相关性分析后发现,各年异养细菌与温度都呈正相关,其中 2003 年相关性相对较低,其它两个年份较高(图 3),其数值分别为 0.84、0.53 和 0.74,整体相关性达 0.54。

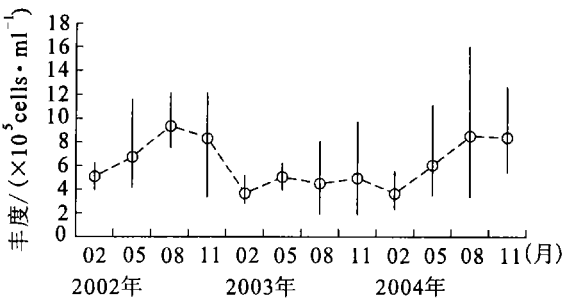


图 2 2002—2004 年胶州湾异养细菌丰度的季变化(单位: cells/ml)

Fig. 2 Seasonal variation of heterotrophic bacterial abundance in Jiaozhou Bay during 2002—2004 (unit: cells/ml)

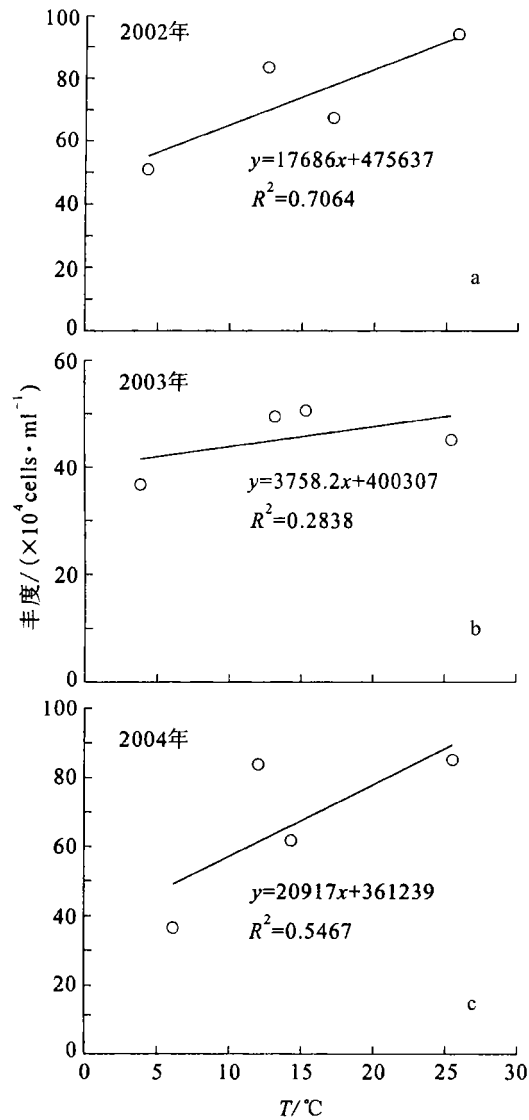


图3 胶州湾异养细菌丰度平均值与水温相关性
Fig.3 Correlation of average heterotrophic bacterial abundance and temperature in Jiaozhou Bay

2.1.2 异养细菌的月变化 自2003年5月以来加大了采样密度,改季度采样为月采样,以2003年5月—2004年12月数据为参考对异养细菌月变化进行分析发现,异养细菌数量变化在 $1.7 \times 10^5 - 31 \times 10^5 \text{ cells/ml}$,最大值是最小值的20倍左右。其中,最大值出现在2004年7月的A5站表层,最小值出现在2003年7月的D7站表层。异养细菌数量总体在12、1和2月处于较低水平(约 $3.1 \times 10^5 \text{ cells/ml}$),从3月开始数量有所增高,在4月达到最高值($12 \times 10^5 \text{ cells/ml}$),然后一直保持在较高水平(约 $7.0 \times 10^5 - 8.0 \times 10^5 \text{ cells/ml}$),直到9、10月以后开始出现下降趋势(图4)。

2.1.3 异养细菌的水平分布 异养细菌在胶州湾各月份的水平分布状况见图5。从各月份异养细菌丰度分布的状况来看,其主要表现为在娄山河、李村河、大沽河等河口区域及近岸区域的数量偏高,且不同季节高值出现的站位不同。

2.2 大肠菌群的月变化

为了更好的评价胶州湾的污染状况,自2003年5月开始按月对胶州湾大肠菌群分布状况进行调查。结果表明(图6),胶州湾的月变化主要表现为三种典型区域。

类型I是大沽河口、娄山河口、李村河口以及海泊河口的重度污染区域,主要站位为A1(大沽河口)、Y1(娄山河口)、A5(李村河口)和C4(海泊河口)。诸多河口每天向胶州湾注入大量生活及工业污水,该区域大肠菌群数量全年都在 10^4 个/L以上(国家3类水质标准 < 10000 个/L),其中Y1和A5站10月的大肠菌群数量最高值达到 10^6 个/L,严重超过了国家规定的前三类水质标准(超

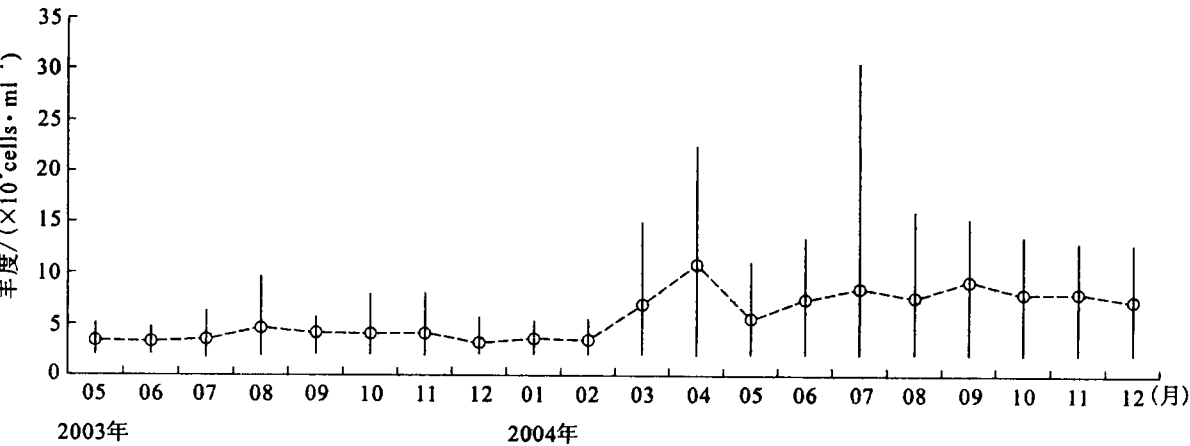


图4 2003年5月—2004年12月胶州湾异养细菌丰度月变化(单位: cells/ml)

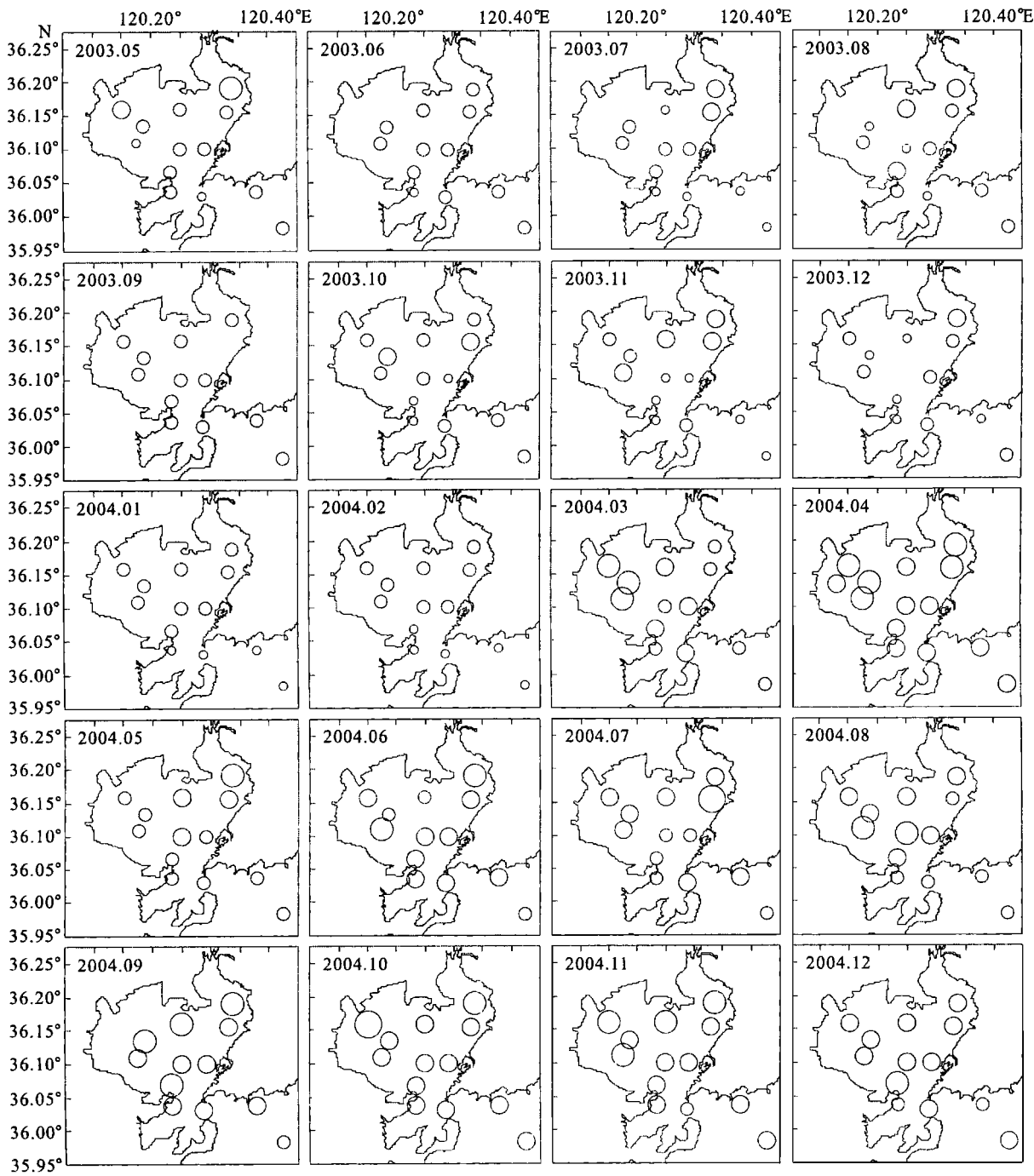


图 5 2003 年 5 月—2004 年 12 月胶州湾异养细菌月分布(单位: cells/ml)

Fig. 5 Monthly distribution of heterotrophic bacteria in Jiaozhou Bay during May 2003 to Dec. 2004 (unit: cells/ml)

○ 150000—300000; ○ 300000—600000; ○ 600000—1200000; ○ 1200000—2400000; ○ 2400000—4800000

过国家 3 类水质标准 100 倍)。数据显示, 处于娄山河河口的 Y1 和处于李村河河口的 A5 站大肠菌群污染最为严重, 处于大沽河河口的 A1 站和海泊河河口的 C4 站污染相对较轻。大肠菌群数量指标显示: 该区域水质全年基本低于国家规定的前三类水质标准, 属于受人类活动严重影响的

重度污染海域。

类型 II 是胶州湾湾口、黄岛轮渡码头、浮山湾、大公岛等中度污染区域, 主要站位为 D1(湾口)、D3(轮渡码头)、D7(浮山湾)、D8(大公岛), 该区域是码头、航道及锚地等所在场所, 大肠菌群数量基本在 10^4 个/L 徘徊, 其总体表现为 9 月、11

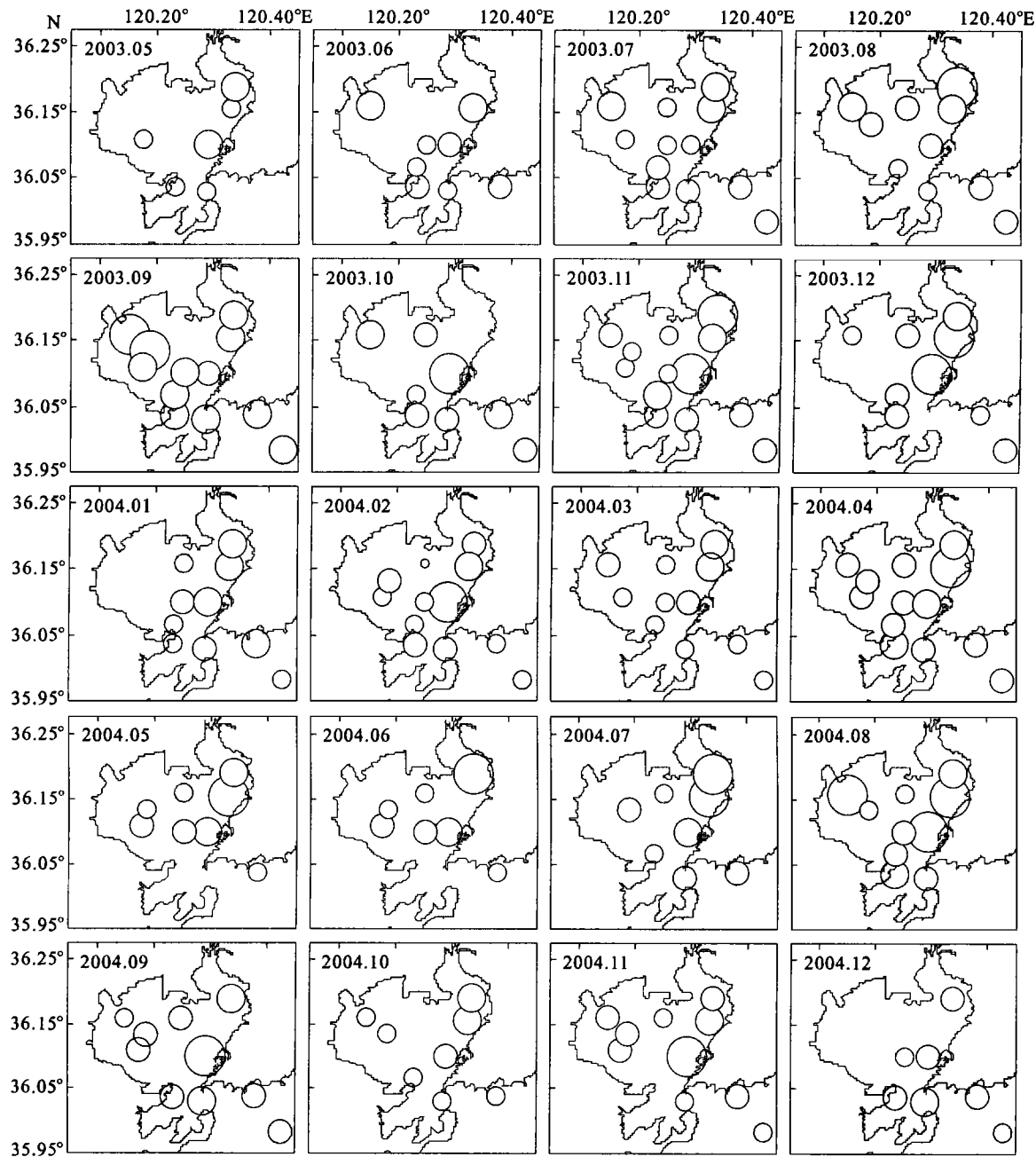


图6 2003年5月—2004年12月胶州湾大肠菌群月分布(单位: cells/L)

Fig.6 Distribution of coliform in Jiaozhou Bay during May 2003 to Dec. 2004 (unit: cell/L)
○ 1—10; ○ 10—100; ○ 100—1000; ○ 1000—10000; ○ 10000—100000; ○ 100000—1000000

月和4月较高;3月、5月、8月较低。处于浮山湾的D8站及大公岛锚地海域的D7站较高,黄岛轮渡周边海域较低。大肠菌群数量指标显示,该海域大肠菌群指标常年在国家规定的前三类水质标准< 10000个/L左右徘徊,属于中度污染海域。

类型Ⅲ是以C1、B2、A3、C3等站位为代表的湾内轻度污染区域,该区域大肠菌群数量只在8

月有个较明显的高值(达到 10^5 个/L),其它月份均在 10^4 个/L以下。该区域大肠菌群数量全年波动较大,表明该区域受季节影响较大。大肠菌群数量指标显示,该海域水质基本处于国家规定的前三类水质标准水平,属于轻微污染海域。

2.3 大肠菌群的季节变化

从季节变化来看,胶州湾大肠杆菌在夏季和

秋季超标严重(最高超出国家三类水质标准 100 倍,最高值达到 $> 10^6$ cells/L),冬季和春季较弱,其中河口及沿岸地区污染严重,湾中心污染较轻。大公岛及浮山湾等锚地、航道附近污染也较严重。胶州湾在一年当中基本均处于大肠菌群超标或接近超标状态(本调查的 18 个月当中有 12 个月的大肠菌群数量平均值高于 10000 个/L 的国家三类水质标准)。

3 讨论

3.1 异养细菌数量变化

胶州湾异养细菌 2002 年—2004 年的季度变化及 2003 年—2004 年的月变化表明,季度变化基本能体现出胶州湾异养细菌的变化状况,异养细菌数量基本在 10^5 — 10^6 cells/ml 的范围内。2002 与 2004 年异养细菌数量显著高于 2003 年(约 2 倍)。异养细菌在近岸及河口地区数量相对较高。在季节的尺度上来看,异养细菌数量变化与温度呈正相关,且相关性显著。

本调查的异养细菌数量与以前的研究结果基本相当(肖天等, 1995),异养细菌的数量变化与温度在季节尺度上有很好的正相关性,但是在月尺度上该相关性不明显,这可能是由于异养细菌数量变化的总体趋势与温度有关,但在更小的时间尺度上它的值还受到其它因素的影响。另外,作者的研究发现,2003 年异养细菌丰度略低于其它年份,是否异养细菌数量变动本身具有更大的一个周期性呢?这需要进一步的更长时间尺度的调查来确认。另外,河口近岸区域的异养细菌数量较高的现象可能是由于该区域有机及无机营养盐浓度较高造成。

3.2 大肠菌群数量变化

本研究中作者根据大肠菌群污染状况对胶州湾进行区域划分,将胶州湾分为严重污染区、中度污染区和轻度污染区。

胶州湾河口区域大肠菌群数量在一年当中都处于超标状态,以 8—10 月污染最为严重。大沽河、娄山河、李村河及海泊河带来的大量生活污水

和工业污水是胶州湾污染的重要原因之一,其中以李村河污染最为严重(大肠菌群数量最高超过 1.1×10^6 个/L,超过国家三类水质标准 100 倍以上),大沽河污染较轻。而青岛重要的海水养殖区红岛及黄岛附近养殖海域的大肠菌群数量常年基本在国家规定的养殖区域水质标准,即 < 10000 个/L 以下,但在个别月份(如 8 月份)有超标的情况。

以前关于胶州湾大肠菌群的研究大多只限于个别区域的个别月份(贺杰, 2002),并没有全面揭示胶州湾水域陆源污染基本状况,并且所得结果显示,作为胶州湾陆源污染的大肠菌群数量较低,基本在国家三类水质标准内。本研究站位覆盖胶州湾各典型区域,在近两年的持续研究监测中发现情况并非如此。本研究结果显示,在调查的 13 个站位进行为期 18 个月的连续调查期间,有 12 个月的大肠菌群数量平均值高于 10000 个/L 的国家三类水质标准,因此本研究认为,胶州湾陆源污染状况令人担忧。

参 考 文 献

- 刘瑞玉, 1992. 胶州湾生态学和自然资源. 北京: 科学出版社, 4—9
- 肖天, 焦念志, 王荣, 1995. 胶州湾蓝细菌、异养细菌的数量分布特点. 胶州湾生态学研究. 北京: 科学出版社, 118—124
- 贺杰, 2002. 渤、黄海沿岸几种经济贝类及其生存环境中的粪大肠菌群. 海洋环境科学, 21(2): 42—46 [He J, 2002. The coliform in scallop and its environment near the shore of the China Yellow Sea and Bo hai Sea. Marine Environmental Science, 21(2): 42—46]
- Fuhrman J A, Azam F, 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica and California. Appl Envir Microbiol, 39: 1085—1095
- Hobbie J E, Daley R J, Jasper S, 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. App Envir Microbiol, 33(5): 1225—1228

DISTRIBUTION OF HETEROTROPHIC BACTERIA AND COLIFORM IN JIAOZHOU BAY AND ITS INDICATION TO POLLUTION FROM LAND

ZHAO San-Jun, XIAO Tian, LI Hong-Bo, XU Jian-Hong

(Key Lab of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;

Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039)

(Key Lab of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Marine heterotrophic bacteria have been recognized as critical components in oceanic biogeochemical cycles and food web dynamics. They consume dissolved organic materials (DOM) through which the dissolved materials were converted to particle organic materials (POC) and was then preyed by predator. The latter would transport carbon to the conventional food web. The process is called the secondary production.

Coliform is one of the important indicators to measure the degree of pollution by human activity in the continent. The distribution pattern and variation of heterotrophic bacteria can reflect the pollution status by human activity in Jiaozhou Bay.

In this study, heterotrophic bacteria was quantified by using epifluorescence microscopy observation, and the coliform was quantified in dilution using the most probable number technique. Samples were collected using Rosette into 50 ml sterilized vials. Some of them were fixed by glutaraldehyde (1%, final concentration) and kept in 4 °C in dark for counting heterotrophic bacteria. The analysis was taken in one week. The rest were stored at 4 °C directly and incubated within 4 hours.

The heterotrophic bacterial abundance was about 10^5 — 10^6 cells/ml in Jiaozhou Bay. It was higher in estuary and near shore than in any other parts of the bay, and higher (about 7.0×10^5 — 9.0×10^5 cells/ml) in summer and autumn than in winter and spring (about 3.6×10^5 — 5.0×10^5 cells/ml). The bacterial abundance varied seasonally. A rough positive correlation existed between bacterial abundance and temperature ($R = 0.56$).

The coliform abundance was higher in estuary than any other parts of the bay. The highest coliform abundance was found in estuary (1.1×10^6 cells/L) which exceeded about 100 times of China's national Grade-3 water quality standard. Every year, land-sourced effluents have seriously polluted the area with high concentration of coliform. In terms of coliform content level, the Jiaozhou Bay can be divided into three districts: heavily polluted, mildly polluted and slightly polluted zones, corresponding to the division identified in trophic levels: eutrophic, mesotrophic and oligotrophic zones, respectively. After one-year investigation, we concluded that the pollution in Jiaozhou Bay was even more serious than most people expected and the human activities have influenced the marine environment of Jiaozhou Bay deeply.

Key words Jiaozhou Bay, Heterotrophic bacteria, Coliform, Pollution