

东海赤潮发生时的细菌学研究

黄 备,邵君波,王婕妤,唐静亮,胡颖琰,王一鸣,毛宏跃,魏 娜,胡序朋

(浙江省舟山海洋生态环境监测站,浙江 舟山 316021)

摘要:2010年5月对东海嵊泗海域、东极海域、朱家尖外侧海域和台州海域进行了赤潮专项调查,对这些海区的水质、海水细菌和浮游植物进行了研究。台州海区的东海原甲藻比例达到98.1%,发生东海原甲藻赤潮;嵊泗和东极海域的中肋骨条藻比例分别是61.1%和71.1%,发生以中肋骨条藻为主的混合型赤潮。未发生赤潮的朱家尖海区细菌第1优势种是短黄杆菌(*Flavobacterium breve*),第2优势种是杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)。3个赤潮发生海区的细菌优势种有一定的相似性:嵊泗和东极海区的第1优势种均为莫拉氏菌属,台州海区的第1优势种(创伤弧菌 *Vibrio vulnificus*)和东极海区的第2优势种(溶藻弧菌 *Vibrio alginolyticus*)均为弧菌属,嵊泗海区的第2优势种和台州海区的第3优势种同为泡囊假单胞菌(*Pseudomonas vesicularis*)。发生赤潮的3个海区细菌数量与未发生赤潮的朱家尖海区相比没有出现异常。

关键词:东海;赤潮;细菌种类

中图分类号:X55,Q938.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2013)06-0047-05

赤潮是当今全球海洋的一大公害。由赤潮引起的生态环境破坏问题日益严重,已经成为国内外生态学研究的重要内容之一(Kent et al,1995;Hall et al,2003)。伴随沿海地区经济的发展,近海赤潮发生的频率越来越高,出现的范围和危害程度也越来越大,成为当今世界普遍关注的海洋环境问题(周名江等,2001)。东海近海海域富营养化面积已居中国四大海区之首,并成为我国比较典型的赤潮高发区(王金辉等,2002;周名江等,2003)。东海近岸海域赤潮的发生频率远远高于我国其他近岸海区,尤其值得关注的是近年来有毒赤潮的发生呈现出快速增长的态势,对人民生命健康与海洋生态环境造成了长期潜在的不利影响,同时给海洋经济可持续发展战略带来了极大的威胁(陆斗定等,1994;陆斗定等,1996;黄韦良等,2005)。

赤潮藻类的生长和增殖,除了与环境中温度、光照、盐度、营养物等理化因子有密切关系外,还与海洋细菌有密不可分的联系。细菌吸收藻类产生的有机物质,一方面为藻类的生长提供营养盐和必要的生长因子,从而调节藻类的生长环境;另一方面细菌也可通过直接或间接作用抑制藻细胞的生长,甚至裂解藻细胞,从而表现为杀藻效应(Zheng et al,

2001;郑天凌等,2002;曹晓星等,2007)。在我国东海赤潮高发区的相关研究中,尚鲜见关于细菌学的相关报道。本文通过2010年对该区域生态环境诸要素的现场调查,研究赤潮发生时的浮游植物及细菌的数量及优势种类,并分析了相互之间的关系,探讨在赤潮发生时浮游细菌的特征和作用,以期为我国近海有害赤潮发生的生态学、海洋学机制及预测防治的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样站位

2010年5月使用专业海洋环境调查船“浙海环监”号对浙江沿海海域进行赤潮专项巡视性监测,根据历年的赤潮发生情况选择其中的4个区域为研究对象,分别为嵊泗海域(ZJ0901,ZJ0902)、东极海域(ZJ0907,ZJ0911)、朱家尖外侧海域(ZJ0918,ZJ0921)和台州海域(ZJ1002,ZJ1008),采样站位如图1。

1.2 采样及分析方法

1.2.1 生态环境调查 叶绿a、COD、pH及浮游植物分析方法参照国家质监总局《海洋监测规范》(GB17378-2007)进行,水温和盐度按国家质监总局《海洋调查规范》(GB/T12763.2-2007)进行,活性硅酸盐、硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、氨氮按美国国家环保署方法(EPA-1997)进行。

1.2.2 细菌 用无菌500 mL广口瓶无菌采样后,在船上的微生物实验室进行样品分析。水样经适当

收稿日期:2013-01-23

基金项目:国家高科技863(中国东海微生物资源数据库的建设和应用 No. 2006AA09Z416)和浙江省环保厅(No. 200516)。

作者简介:黄备,1969年生,男,高级工程师,从事海洋生态监测和研究工作。E-mail:highb@163.com

稀释,按平板涂布法在 2216E 培养基上 25℃ 培养 5 ~7 d 后计数细菌总数。

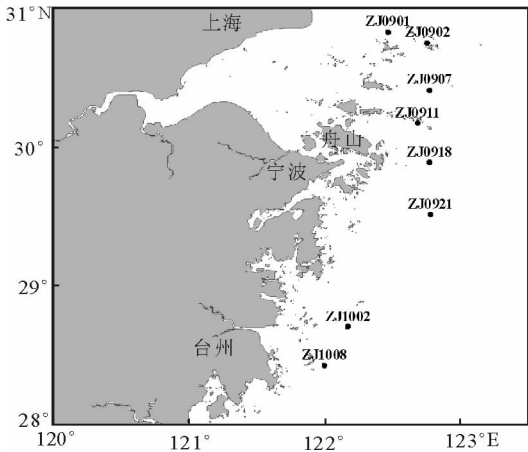


图1 采样站示意图

Fig.1 The location of sampling sites

1.2.3 细菌鉴定 革兰氏阴性菌:细菌鉴定主要采用法国生物梅里埃公司的 API-20E 系统。API-20E 由 20 根含有脱水基质的微型管组成,对所鉴定的菌株进行 23 个生化试验,并以其自身代谢产物的颜色变化或加入试剂后的颜色变化加以鉴定,其结果以数字形式查对检索表而得到相应的种名。具体步骤:从菌种管或平板中挑取单菌落,首先进行经革兰

氏染色,将阴性菌用无菌蒸馏水(海洋菌用 2% 的 NaCl 溶液)制成菌悬液,把该菌液接入 API-20E 的微型管中,在 37℃ 下培养 18 ~ 24 h 后取出,记录自身颜色变化或加入试剂后的颜色变化,把阳性反应管以数字形式填入表中,查对数字检索手册,即可得到种名(倪纯治,1990)。

革兰氏阳性菌:按《一般细菌常用鉴定方法》(中科院微生物研究所细菌分类组,1978)和美国马里兰大学微生物系的《细菌分类与鉴定方法手册》(Department of Microbiology, University of Maryland, 1965)观察菌株形态和测定生理生化特征,根据《伯杰氏细菌鉴定手册》(第九版)(Buchanan et al, 1984)和《海洋细菌分类鉴定系列》(James et al, 1993)将细菌鉴定到属。

2 结果与分析

巡视监测过程中,分别在嵊泗、东极和台州列岛海域发生赤潮。现场水体呈深褐色,以块状分布,伴有腥臭味。

2.1 调查海域生态环境现状监测

监测结果见表 1。

表 1 各海区生态环境因子监测结果

Tab.1 Monitoring results of ecological environmental factors in every sea area

项目		嵊泗	东极	朱家尖	台州	平均
叶绿素 a/mg · m ⁻³		28.25	9.68	1.28	33.20	16.99
水温/℃		17.9	18.2	18.2	17	17.8
盐度		24.4	24.6	26.4	25.6	25.4
COD/mg · L ⁻¹		1.78	0.86	0.72	1.75	1.27
pH		8.38	8.26	8.59	8.51	8.44
亚硝酸盐氮/mg · L ⁻¹		0.008	0.006	0.005	0.006	0.006
硝酸盐氮/mg · L ⁻¹		0.414	0.590	0.092	0.234	0.321
氨氮/mg · L ⁻¹		0.009	0.005	0.017	0.007	0.010
活性硅酸盐/mg · L ⁻¹		0.686	0.814	0.520	0.730	0.666
浮游植物	种类数/种	63	46	44	43	81
	丰度/10 ⁶ 个 · L ⁻¹	15.47	3.86	0.14	8.10	7.19
	多样性指数	1.49	1.67	3.06	0.39	1.74
	中肋骨条藻丰度/10 ⁶ 个 · L ⁻¹	9.46	2.93	0.0046	0.0159	3.65
	中肋骨条藻比例/%	61.1	76.1	3.4	0.2	50.7
	东海原甲藻丰度/10 ⁶ 个 · L ⁻¹	3.41	0.314	0.0287	7.94	2.53
	东海原甲藻比例/%	22.0	8.1	21.0	98.1	35.1

2.1.1 主要赤潮种类 没有发生赤潮的朱家尖海域叶绿素浓度为 1.28 mg/m³,属于该海域正常测值(周伟华 等,2006)范围内,而发生赤潮的 3 个海域的叶绿素浓度远大于此数值。从浮游植物的密度来看,发生赤潮的 3 个海域均在 1 × 10⁶ 个/L 以上,嵊泗海域藻类密度达到了 1.5 × 10⁷ 个/L。从藻类的

组成来看,台州海区的东海原甲藻比例达到98.1%,可以认为是一次东海原甲藻赤潮;嵊泗和东极海域均以中肋骨条藻为主,比例分别是61.1%和71.1%,可以认为是以中肋骨条藻为主的混合型赤潮。

2.1.2 各海区主要水质因子 发生中肋骨条藻赤潮的嵊泗和东极海区活性磷酸盐高于其他 2 个海

区,COD、活性硅酸盐、硝酸盐氮略高于没有发生赤潮的朱家尖海区,盐度、氨氮要略低于朱家尖海区。发生东海原甲藻赤潮的台州海区 COD、活性硅酸盐、硝酸盐氮略高于没有发生赤潮的朱家尖海区,盐度、氨氮要略低于朱家尖海区。

表 2 各海区细菌学调查结果

Tab.2 Survey results of bacteria in every sea area

海区	细菌数量/个·mL ⁻¹	第 1 优势种	第 2 优势种	第 3 优势种
嵊泗	2.5 × 10 ²	腔隙莫拉氏菌 <i>Moraxella lacunata</i>	泡囊假单胞菌 <i>Pseudomonas vesicularis</i>	杀鲑气单胞菌 <i>Aeromonas salmonicida</i>
东极	4.7 × 10 ²	莫拉氏菌属 <i>Moraxella</i> spp	溶藻弧菌 <i>Vibrio alginolyticus</i>	有毒威克斯菌 <i>Weeksella virosa</i>
台州	2.7 × 10 ²	创伤弧菌 <i>Vibrio vulnificus</i>	溶血巴斯德菌 <i>Pasteurella haemolytica</i>	泡囊假单胞菌 <i>Pseudomonas vesicularis</i>
朱家尖	1.1 × 10 ³	短黄杆菌 <i>Flavobacterium breve</i>	杀鲑气单胞菌 <i>Aeromonas salmonicida</i>	有毒威克斯菌 <i>Weeksella virosa</i>

本次调查过程中发生赤潮的 3 个海区细菌数量与未发生赤潮的朱家尖海区相比,并没有明显上升。本次调查的各海区的细菌数量均在这些海区多年来监测调查结果(黄备等,2000)的范围内,细菌数量并没有因为海域有赤潮发生而出现异常。

从细菌优势种组成来看,朱家尖海区与其他海区相对区别较大,其主要优势种分别是短黄杆菌(*Flavobacterium breve*)和杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*),这 2 类细菌经常在调查海区的细菌学调查中被检出(黄备等,2009),但朱家尖海区与其他 3 个海区的细菌种类差别较大。3 个赤潮发生区的细菌优势种有一定的相似性,其中嵊泗和东极海区的第 1 优势种均为莫拉氏菌属,二者比较接近;台州海区的第 1 优势种和东极海区的第 2 优势种均为弧菌属,其中台州的是创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)、东极的是溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*),而嵊泗海区的第 2 优势种和台州海区的第 3 优势种同为泡囊假单胞菌(*Pseudomonas vesicularis*),台州海区的主要细菌种类与其他 2 个海区有一定的相似性。

3 讨论

韩秀英等(2003)的研究表明,长江口邻近海区浮游植物生长往往受到活性磷酸盐的限制。本次调查正是在含有较高浓度活性磷酸盐的嵊泗和东极海区发生了中肋骨条藻赤潮。洪君超等(1994)通过对长江口中肋骨条藻赤潮的营养盐分析,结论为对于氮的吸收主要倾向于利用氨氮,只有在铵盐不能满足其生长所必需的氮情况下才会去摄取硝酸盐。本次的调查显示在发生中肋骨条藻赤潮的嵊泗和东极海区,氨氮和硝酸盐氮浓度要高于其他海区,

水温、pH、亚硝酸盐氮从本次现场监测的结果来看,各海区间相差不大,并且在赤潮海区和非赤潮海区间没有明显的差别。

2.1.3 各海区的主要细菌种类 4 个海区海水中的异养细菌调查结果见表 2。

因此较高浓度的铵盐是海区发生赤潮的必要条件之一。

从表 2 的监测结果可以发现,发生东海原甲藻赤潮的台州海区,各项营养盐浓度均要低于嵊泗和东极海区,有些指标甚至接近未发生赤潮的朱家尖海区。王宗灵等(2006)研究发现东海原甲藻能耐受低营养盐环境,甚至磷酸盐浓度下降到低于检出限值。本次调查的结果与实验室内的研究非常吻合,台州海区不仅营养盐浓度总体较低,而且活性磷酸盐浓度也是低于检出限值,因此在东海海域较低营养盐的海区同样存在着发生东海原甲藻赤潮的可能性。

海洋细菌和藻类在同一环境中紧密地结合,它们分别能合成不同类型的代谢物,而这些代谢物又能对双方分别产生有利或有害的影响,细菌代谢物能特异地阻碍甚至中止藻类的繁殖(Sawayama et al,1993),同时也可能促进藻类的增殖,这种机制在控制藻类和海洋细菌种群动力学过程中起着重要作用。

细菌不仅为藻类的生长提供无机氮和磷,分解环境中的有机物为藻类的生长提供营养,还可把 3 价铁还原为易溶性的 2 价铁,为藻类的生长提供必需的铁元素,并合成藻类必需的生理活性物质如维生素 B₁₂(郑天凌等,2003)。Riquelme 等(1988)研究发现当海水发生硅藻(*Asterionella glacialis*)赤潮期间,细菌优势种群为假单胞菌 *Pseudomonas*022,且细菌量与叶绿素浓度之间存在着正相关关系。Furuki 等(1991)发现,当古老卡盾藻(*Chattonella antiqua*)水华达到最大细胞密度时,该区域中存在着能促进该藻生长的细菌类群。

发生中肋骨条藻赤潮的嵊泗和东极海区海水中第1优势菌均为莫拉氏菌属,这是一种革兰氏阴性菌,无鞭毛杆菌(或球菌),好氧但有些菌株可在厌氧条件下缓慢生长,一般来说其生长需要复杂的营养。通常这类细菌与人体呼吸道和眼部感染有关,但在有关海水及海洋生物的细菌学调查中也常发现有这类菌。李会荣等(2001)调查青岛附近海域挂片上细菌种类时,莫拉氏菌属是主要的种类之一;薛超波等(2005)在舟山海域的网箱养殖水体中发现莫拉氏菌属是最主要的优势菌,在全年都占有较高的比例;祝玲(2005)在广东汕尾的养殖水体中也分离到了莫拉氏菌属;杨星星等(2003)在乐清养殖的缢蛏和泥蚶中发现莫拉氏菌属是这些生物体内的第1优势菌。从大量的研究报道来看,这类细菌都是在养殖水体、生物体内等营养盐较丰富的环境中大量存在的,嵊泗和东极海区也正是本次调查中营养盐比较丰富的海区。由于莫拉氏菌属与人类及水生生物多种疾病感染有关,因此本身无毒的中肋骨条藻赤潮由于其共生的主要细菌类群,可能也会对水产养殖和人类的健康带来潜在的威胁。这类无毒型的赤潮也应该给予一定的关注。

弧菌是海洋环境中常见的细菌类群之一,广泛分布于近岸河口、养殖水域和生物体内,是一类条件致病菌。本次调查中台州海区的第1优势菌为创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)、东极的第2优势菌是溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)。在有关海洋弧菌的研究中经常报道有这2种弧菌。倪纯治等(1995)在厦门港和大亚湾检出了大量的弧菌,其中主要种类有溶藻弧菌、副溶血弧菌、创伤弧菌、河弧菌和模拟弧菌这5种。吴建平等(2006)、金珊等(1999)分别在广东和浙江的网箱养殖水体中分离到了大量的弧菌,其中主要种类有河弧菌、创伤弧菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌、霍乱弧菌等。林继灿等(2006)在外来船舶(主要来自中国台湾、菲律宾、朝鲜、日本、新加坡和印尼等)的压舱水也发现了大量的弧菌,主要种类为溶藻弧菌、副溶血弧菌、沙鱼弧菌、创伤弧菌和弗氏弧菌。总之弧菌是海洋细菌中的主要种类之一,在特定条件(如高温等)下会大量繁殖,其中的大部分种类是人和水生生物的条件致病菌。同样原因,正常情况下在养殖水体、生物体内等被检测到的这些弧菌,由于赤潮的原故在台州和东极海区大量繁殖成为细菌群落中主要的优势种。

参考文献

曹晓星,苏建强,郑天凌. 2007. 海洋微生物多样性在赤潮调

- 控中的利用[J]. 海洋科学, 31(5): 63-69.
- 洪君超, 黄秀清, 蒋晓山, 等. 1994. 长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析-营养盐状况[J]. 海洋与湖沼, 25(2): 179-184.
- 韩秀荣, 王修林, 孙霞, 等. 2003. 东海近海海域营养盐分布特征及其与赤潮发生关系的初步研究[J]. 应用生态学报, 14(7): 1097-1101.
- 黄韦良, 丁德文. 2005. 赤潮灾害预报机理与技术[M]. 北京: 海洋出版社: 46-53.
- 黄备, 唐静亮. 2000. 舟山市排污废水和附近海水的细菌学研究[J]. 海洋环境科学, 19(1): 29-34.
- 黄备, 闵怀, 唐静亮. 2009. 浙江沿海海洋微生物群落的研究[J]. 中国环境监测, 25(2): 44-47.
- 金珊, 王国良, 薛良义, 等. 1999. 海水网箱养殖水域异养细菌和弧菌的数量动态[J]. 海洋渔业, 21(4): 154-156.
- 陆斗定, 张志道, 楼毅. 1994. 浙江近海夜光藻的分布及其生态学特点[J]. 东海海洋, 12(3): 62-69.
- 陆斗定, 张志道. 1996. 浙江马鞍列岛附近海域浮游植物与赤潮生物研究[J]. 东海海洋, 14(1): 44-51.
- 李会荣, 付玉斌, 李筠, 等. 2001. 海洋细菌在不同基质表面微生物膜中的组成[J]. 青岛海洋大学学报, 31(3): 401-406.
- 林继灿, 杨泽, 吴博慈, 等. 2006. 进出境船舶压舱水致病性弧菌的调查[J]. 感染性疾病控制, 32(7): 761-767.
- 倪纯治. 1990. API20E 用于弧菌的鉴定[J]. 海洋环境科学, 9(4): 46-49.
- 倪纯治, 叶德赞, 林燕顺, 等. 1995. 大亚湾和厦门港水域的嗜盐弧菌[J]. 海洋学报, 17(5): 124-129.
- 王金辉. 2002. 长江口及其邻近海域赤潮生物[J]. 海洋环境科学, 21(2): 37-41.
- 吴建平, 蔡创华, 周毅频, 等. 2006. 大亚湾网箱养殖水体弧菌种类组成及变化[J]. 湛江海洋大学学报, 26(4): 42-48.
- 王宗灵, 李瑞香, 朱明远, 等. 2006. 半连续培养下东海原甲藻和中肋骨条藻种群生长过程与种间竞争研究[J]. 海洋科学进展, 24(4): 495-503.
- 薛超波, 王建跃, 王世意, 等. 2005. 大黄鱼养殖网箱内外细菌数量分布及区第组成[J]. 中国微生态学杂志, 17(5): 336-338.
- 杨星星, 管嘉兴, 房文红, 等. 2003. 乐清湾泥蚶、缢蛏体内及养殖水环境细菌菌群的初步调查[J]. 海洋渔业, 25(2): 73-76.
- 郑天凌, 田蕴, 苏建强. 2002. 海洋赤潮生物与厦门海域几种细菌的生态关系研究[J]. 生态学报, 22(2): 2063-2070.
- 郑天凌, 苏坚强. 2003. 海洋微生物在赤潮生消过程中的利用[J]. 水生生物学报, 27(3): 291-295.

- 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 1978. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社.
- 周名江, 颜天, 邹景忠. 2003. 长江口邻近海域赤潮发生区基本特征初探[J]. 应用生态学报, 14(7): 1031 – 1038.
- 周名江, 张经, 朱明远. 2001. 中国赤潮的发生趋势和研究进展[J]. 生命科学, 13(2): 54 – 59.
- 周伟华, 殷克东, 朱德第. 2006. 舟山海域春季浮游植物生物量及东海原甲藻赤潮频发机制初探[J]. 应用生态学报, 17(5): 887 – 893.
- 祝玲, 蔡创华, 周毅频, 等. 2005. 九孔鲍肠道及其养殖水体中异养细菌抗药性研究[J]. 海洋环境科学, 24(3): 17 – 20.
- Buchanan P R, Schubert H W, Holt J K, et al. 1984. Bergey's manual of determinative bacteriology: 9th [M]. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Department of Microbiology, University of Maryland. 1965. Characteristics and methods for numerical taxonomy [M]. Park: Bill CompAny.
- Furuki M, Kobayashi M. 1991. Interaction between *Chattonella* and bacteria and prevention of this red tide [J]. EMECS, 90(23): 189 – 193.
- HALL EGRA EFF G A, ANDERSON D M, CAMBELLA A D. 2003. Manual on harmful marine microalgae [R/OL] // IOC. Manuals Guides No. 33. Paris: IOC/UNESCO.
- James D Oliver. 1993. Taxonomic scheme for the identification of marine bacteria [J]. Deep-sea Research, 29(6A): 795 – 798.
- KEN T M L, WHYTE J, LA TRACE C. 1995. Gill lesions and mortality in seawater pen-reared Atlantic salmon associated with a dense bloom of *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira* species [J]. Dis Aquat Org, 22(1): 77 – 81.
- Riquelme C E, Fukami K, Ishida Y. 1988. Effects of Bacteria on the growth of a marine diatom, *Asterionella glacialis* [J]. Bulletin of Japanese society of microbial Ecology, 3(1): 29 – 34.
- Sawayama S, Sako Y. 1993. Bacterial inhibitions for the mating reaction of *Alexandrium catenella* [C] // Smayda T L, Shimizu Y. Toxic Phytoplankton blooms in the sea. BV, Amsterdam: Elsevier Sci Publ: 177 – 181.
- Zheng T L, Zhong T C, Cai L Z. 2001. The role of microbes in bioremediation of marine polluted environment [J]. Journal of Xiamen University (in Chinese), 40(2): 524 – 534.

(责任编辑 张俊友)

Bacteria Study During Occurrence of Red Tide in East China Sea

HUANG Bei, SHAO Jun-bo, WANG Jie-yu, TANG Jing-liang, HU Hao-yan,
WANG Yi-ming, MAO Hong-yue, WEI Na, HU Xu-peng

(Zhoushan Marine Ecological Environment Monitoring Station, Zhoushan 316021, P. R. China)

Abstract: The investigations on red tide were made in four sea areas (Shengsi, Dongji, outside Zhujiajian and Taizhou) of East China Sea focusing on the water quality, bacteria and phytoplankton species in May, 2010. The results showed that three sites (Shengsi, Dongji and Taizhou) had occurred red tide while outside Zhujiajian hadn't occurred red tide. The *P. donghaiense* bloom in Taizhou was caused by *Prorocentrum donghaiense* accounting for 98.1% of the total algae, whereas the red tides in Shengsi and Dongji were mainly caused by *Skeletonema costatum* accounting for 61.1% and 71.1% of the total algae, respectively. The first dominant species of bacteria in Zhujiajian was *Flavobacterium breve* and the second one was *Aeromonas salmonicida*. The dominant species of bacteria in three sites occurred red tide were similar. The first dominant species of bacteria in Shengsi and Dongji belonged to *Moraxella* spp., and the first dominant species of bacteria (*Vibrio vulnificus*) in Taizhou and the second one (*Vibrio alginolyticus*) in Dongji both belonged to *Vibrio*. *Pseudomonas vesicularis* was the second and third dominant species of bacteria in Shengsi and Taizhou, respectively. The quantity of bacterias in the three sites occurred red tide had no remarkable change compared with outside Zhujiajian.

Key words: East China Sea; red tide; bacteria