

胶州湾石油降解菌的分布*

丁美丽 高月华 岑作贵

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

胶州湾是我国的一个重要港口, 自从黄岛输油码头投入使用后, 海上油运事业发展很快。但近些年来, 随着油运和沿海石油工业的发展, 胶州湾受到较为严重的石油污染。这样它不仅影响海产养殖和盐业, 而且成为南黄海的污染源。因此, 研究并阐明海湾中油污自净化的规律, 是当前有重要意义的研究课题。

海洋石油降解菌在海洋石油污染的自净化过程中起着重要的作用^[1-3]。为了探索胶州湾石油污染自净化过程的规律, 我们进行了胶州

湾石油降解菌的数量及其种群组成的研究, 现报道如下。

材 料 和 方 法

一、取样地点

水样, 沉积样和油膜水样分别采自胶州湾

* 本研究得到青岛大港环境保护办公室的大力支持; 张景镛、陈皓文同志参加部分工作; 陈騷同志提出修改意见。

和湾口油污程度（即石油污染程度）不同的站
位。即：青岛石油化工厂排污口外约 1 公里处
（简称石化厂排污口外），大港 16 区修船码头
（简称大港 16 区），大港 1 号和 5 号码头，中港
机帆船停泊处（简称 6 号码头），中港，黄岛输油
码头，栈桥，小青岛西侧船只停泊处（简称小青
岛），太平角第二海水浴场东侧（简称太平角）。
用常规方法取样后，供试。

二、微生物的计数方法

异养菌总数的测定采用海水肉汁胨平板稀
释计数法。

石油降解菌菌数的测定采用稀释计数法。
其培养基为： NH_4Cl 2 克； K_2HPO_4 0.7 克； KH_2PO_4
0.3 克；陈海水 1000 毫升，胜利油田的原油
1—2%（体积/体积）。pH7.4。

三、石油降解菌的富集和分离的方法

在无机盐、原油的培养液里，接入一定量的
水样或泥样，置旋转式摇床上作富集培养。定
期取样后，分别移至上述海水肉汁胨和无机盐
原油培养基制得的平板上，进行菌株的分离和
纯化，将纯化好的、能利用原油做唯一碳源的石
油降解菌，保存在无机盐、原油培养基制备的试

管斜面上。

四、石油降解菌的生理生化试验

石油降解菌的形态，培养特征及生理生化
试验参照“细菌学培养手册”^[6]进行，并按照“伯
吉氏鉴定手册”（8 版）^[7]，将分离出的石油降解
菌鉴定到属。

实验中还测定了它们对液体石蜡，异辛烷，
萘和十氢化萘做唯一碳源时的利用情况。微生
物培养温度均为 24℃，并与空白对照比较。

实 验 结 果

一、石油降解菌的数量分布

试验结果表明：在全部样品中，均发现有
石油降解菌的存在。其中油膜水样的菌数最
高，沉积样次之，水样的菌数较低。在大多数站
位中，夏季时石油降解菌和异养菌的菌数均高
于冬季。详见表 1—4。

此外，试验还说明各站位样品中石油降解
菌的数量与该站位的样品中石油的含量有密切
关系，油污越重，菌数越多。以水样为例，据青
岛大港环保办公室测定，1977 年 10 月份大港
16 区的水样含油为 9.82 毫克/升，6 号码头水

表 1 胶州湾水样中石油降解菌的数量

取样站位	取 样 日 期							
	三 月 份				七 月 份			
	水 温 (℃)	异养菌数/ 毫升	石油降解菌 数/毫升	石油降解菌 数/异养菌 数(%)	水 温 (℃)	异养菌数/ 毫升	石油降解菌 数/毫升	石油降解菌 数/异养菌 数(%)
太平角	8.0	7.0×10^1	0.2	0.3	22.0	7.6×10^4	4.0×10^2	0.5
黄岛输油码头	7.8	5.3×10^2	4.0×10^1	7.6	27.0	2.9×10^3	$< 10^1$	
中 港	5.8	1.7×10^4	4.5×10^3	25.0				
石化厂排污口*	15.0	2.5×10^3	$> 2.0 \times 10^4$	> 8.0	32.0	2.7×10^7	1.4×10^5	0.7

* 水深不超过 5 米。

表 2 胶州湾水样中石油降解菌数

取样站位	取样日期	水 温 (℃)	异养菌数/毫升	石油降解菌数/毫升	石油降解菌数/ 异养菌数(%)
栈 桥	1977.10	19.5	2.5×10^3	1.4×10^2	5.6
6 号码头	1977.10	19.5	8.2×10^4	9.0×10^3	10.9
大港 16 区	1977.10	19.5	5.6×10^4	1.9×10^4	33.9

表 3 胶州湾沉积样中石油降解菌的数量

取样站位	取 样 日 期							
	三 月 份				七 月 份			
	泥 温 (°C)	异养菌数/克	石油降解菌 数/克	石油降解菌 数/异养菌 数(%)	泥 温 (°C)	异养菌数/克	石油降解菌 数/克	石油降解菌 数/异养菌 数(%)
太平角(低潮带)	8.0	5.8×10^5	2.4×10^3	0.4	25.0	1.2×10^6	3.0×10^4	2.5
黄岛输油码头	5.8	2.5×10^5	9.5×10^3	3.8	20.0	1.4×10^7	2.2×10^4	15.7
石化厂排污口外	14.0	3.1×10^8	$>2.5 \times 10^7$	>8.0	32.0	2.3×10^7	$<10^4$	<0.04
中 港	6.0	6.0×10^5	9.5×10^4	15.8	20.0		$<10^5$	
大 港					20.0	1.0×10^5	$<10^4$	
小青岛东侧(低潮带)					23.0	3.3×10^4	6.0×10^5	18.1

表 4 胶州湾表面油膜水样石油降解菌数量

取样站位	日 期	水 温 (°C)	异养菌数/毫升	石油降解菌数/毫升	石油降解菌数/ 异养菌数(%)
6 号码头	1977.5	15	6.0×10^3	3.0×10^7	5000
	1977.5	14.5	2.5×10^4	9.5×10^7	3800
大港 16 区	1977.5	15.5	9.3×10^4	$>2.2 \times 10^8$	>225800
	1977.5	13.5	4.4×10^4	$>1.4 \times 10^9$	>3181800

样为 1.73 毫克/升, 栈桥为小于 1.00 毫克/升。这三个站位的海水中石油降解菌的数量, 按顺序是大港 16 区 $>$ 6 号码头 $>$ 栈桥。这与各站位的取样中的石油含量的多少结果是一致的。

值得提出的是, 在各站位样品中的石油降解菌(HC)的数量和异养菌的菌数(AA)比值(HC/AA)的百分率与石油污染程度有关。油膜水样含油量最高, 其 HC/AA 的百分率也最高。按各站位海水样品中的含油量, 由低到高的顺序为: 太平角、栈桥、黄岛、中港、6 号码头和大港 16 区。经计算, 这些站位水样的 HC/AA 百分率分别为: 0.5, 5.6, 7.6, 8.8, 10.9 和 33.9。由此可以看出, 石油降解菌菌数和异养菌菌数之间比值的百分率是水域油污程度的一个重要指标。

二、石油降解菌的种群组成

从胶州湾水样和沉积样品中, 我们共分离出 308 株能降解石油的微生物, 其中从水样中分出 158 株, 从沉积样中分出 150 株。这些菌株除了 5 株是放线菌, 1 株是酵母菌外, 其余都

是细菌。

在 302 株细菌中, 革兰氏阴性菌约占 65%, 有运动能力的细菌约占 42%。能产生色素的菌株约占 38%。所有的细菌抗酸染色和芽孢染色均为阴性反应。有 25% 菌株能产生氧化酶, 有 91% 的菌株能产生接触酶。多数菌株不能氧化或发酵葡萄糖。

根据它们的形态, 培养特征, 以及生理生化反应, 参照 Bergey's 鉴定手册(8 版), 初步归为以下几属: 假单胞杆菌属(*Pseudomonas*), 不动杆菌属(*Acinetobacter*), 短杆菌属(*Brevibacterium*), 产碱杆菌属(*Alcaligenes*), 棒状菌属(*Corynebacterium*), 节细菌属(*Arthrobacter*), 弧菌属(*Vibrio*), 另外还发现有肠道杆菌科和类似奈瑟氏球菌属。而假单胞杆菌属, 不动杆菌属和短杆菌属的细菌普遍存在于各站位的样品中。但不同站位石油降解菌的种群组成有所差异(见表 5)。

三、石油降解菌对几种烃类的利用

我们还考查了上述菌株利用液体石蜡, 异

表 5 不同站位样品中石油降解菌的组成*

结果 属 名	取样处	黄 岛		太平角		小青岛	中 港		6 号码头	1 号码头	大港16区	5 号码头		石化厂排污口	
		水样	泥样	水样	泥样	泥样	水样	泥样	水样	水样	水样	水样	泥样	水样	泥样
假单胞杆菌属		+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
短杆菌属		-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
不动杆菌属		-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
黄杆菌属		-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+
产碱杆菌属		-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
棒状杆菌属		-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
节杆菌属		-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+
弧菌属		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
肠道杆菌科		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
类似奈氏球菌属		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
放线菌		-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
酵母菌		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

* 表中“+”表示有这属细菌存在;“-”表示没有。

辛烷,十氢化萘和萘的能力。结果表明:绝大多数菌株能利用液体石蜡,少数菌株能利用异辛烷,十氢化萘或萘。362a 菌株(短杆菌属)不能利用液体石蜡,但能利用萘。通常一株菌只能利用一种或二种烃类,但也有个别菌株如 248 号菌(假单胞杆菌属)能利用上述 4 种烃类。

讨 论

试验过程中,发现异辛烷,十氢化萘和萘对某些菌类的生长有抑制作用,其中以十氢化萘和萘的抑菌作用较强。

一般认为,海洋石油降解菌广泛分布在油污海域里,且油污越重菌量越大^[2,8,9]。而石油降解菌菌数与异养菌菌数比值的百分率,大多数学者认为,这个百分率与海水油污程度有关,并可以作为海洋水质良好的指标^[10,11]。根据我们的调查结果,在胶州湾和胶州湾口大多数站位的水样和沉积样中,石油降解菌菌数和异养菌菌数的百分率能较好地反映海洋的油污程度。

石油降解菌在油污自净化过程中起着重要的作用,这不仅表现在菌数与油污相关,还表现在石油降解菌显著地富集在海水表面的油膜上。Humitake Seki 等(1974)报道^[12],在菲律

宾附近的海水中,石油降解菌基本上都富集在石油珠表面上。我们在实验室进行石油降解菌富集培养或纯种培养时,观察到细菌首先聚集在油膜表面,随着培养时间的延长,菌数不断增多,直到细菌挤满油膜表面。然后油膜变薄、破裂,有的渐渐消失,有的慢慢下沉。这些现象也说明石油降解菌在海洋油污的自净化过程中起着重要作用。

必须指出,水样和沉积样中石油降解菌数量不仅与油污密切相关,而且也受海区环境条件的影响^[13,14],如黄岛输油码头,它所处位置正对胶州湾口,水流较急,所以水交换较好,因此水中的石油降解菌的数量偏低。又如青岛石油化工厂排污口外,7 月份沉积样为黑色泥样,有明显油味和硫化氢味,当泥样移接到无菌海水中作稀释液时,水面立即出现油膜,可见含油量很高。但菌量却很低,少于 10⁴/克。其原因可能是多方面的,推测缺氧是一个重要因素。

已知能利用石油的细菌约有 28 个属^[15]。各海区的石油降解菌的属的组成彼此有差异^[12,16,17]。胶州湾分解石油的细菌主要由假单胞杆菌属,短杆菌属,不动杆菌属组成,这与马赛沿岸^[17],Chedabucto 湾等处的海水中石油降解菌的种群组成较为近似。在青岛石油化工厂

(下转 25 页)

(上接 14 页)

排污口外沉积样中还分离出肠道杆菌科和类似
奈氏球菌属的革兰氏阴性球菌。

前者 Austin 等 (1977) 已有报道^[16], 但至今尚未见到在海洋中分离出能利用石油的类似
奈氏球菌属的阴性球菌的报道。

参 考 文 献

- [1] 丁美丽 海洋细菌对石油烃的降解 海洋科学 1978 年第二期 48—52.
- [2] Mulkins-Phillips, G. J. and Stewart, J. E.: *Can. J. Microbiol.* 20(7): 955—962, 1974.
- [3] Stewart, J. E. and L. J. Marks: *J. fish. Res. Bd. Can.*, 35(5): 581—584, 1978.
- [4] Полякова, И. Н.: *Микробиология*, 31(6): 1076—1081, 1962.
- [5] Миронов, О. Г.: *Океанология*, 10(5): 820—827, 1970.
- [6] Conn, H. J.: *Manual of Microbiological Methods*. ed. McGraw-Hill book company, INC. New York, 1957.
- [7] Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. (eds): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8Th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore 1974.
- [8] IMCO., FAO. et al.: *Reports and studies* No. 6.

FAO. Rome 1977.

- [9] Mckenzing, P. and D. E. Hughe: *Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food*, 91—107. Skinner, F. A. and Carr, J. G. (ed) Academic pr. London 1976.
- [10] Hood, M. A. et al.: *Appl. Microbiol.* 30(6): 982—987, 1975.
- [11] Walker, J. D. et al.: *Can. J. Microbiol.* 22(3): 423—428, 1976.
- [12] Humitake seki et al.: *J. Oceanogr. Soc. Japan* 30(3): 151—156, 1974.
- [13] Rashid, M. A: *Estuarine and Coastal marine science* 2(2): 137—144, 1974.
- [14] Petroleum in the marine environment 58—60 National Academy of science. Washington D. C. 1975.
- [15] Zobell, C. E: In *Microbiol Degradation of oil pollutants* 3—14 Ahearn, P. G. and Meyers, S. P. (eds) Publ. no. Lsu-Sg-73-01. Louisiana state University, Baton Rouge 1973.
- [16] Austin, B. and R. R. Colwell, et al.: *Development in industrial Microbiol.* 18: 685—695, 1977.
- [17] Petit, J. Le.: *Ann. Microbiol.* 126A No3, 367—380, 1975.