



发光细菌监测沿岸水质 应用研究

郑天凌 王 斐 陈进才 黄建东 郑庆彬
(厦门大学环科中心, 厦门, 361005)

摘要:采用发光细菌测试毒性法(MICROTOX)检测了取自厦门大学海滨浴场、厦门大学医院排污口、厦门大学东大沟排污口的海水水样毒性;比较了四种稀释液:30%NaCl溶液、陈海水、人工海水Ⅰ及人工海水Ⅱ对发光菌发光强度的影响和在不同盐度条件下发光强度的变化。结果表明:(1)前两个站位水体无毒性反应,后一个站位水体存在毒性物质;(2)除人工海水Ⅰ对发光菌有较强的抑制作用外,其它两种稀释液的活化作用与常用稀释液(30%NaCl溶液)相近;(3)当盐度变化在25%~40%范围时,其对发光强度影响极小。

关键词:发光细菌;毒性;盐度

发光细菌在适宜的环境条件下会发出持续的肉眼可见的蓝绿色荧光。关于发光细菌的生态学问题已有许多报道^[1]。海洋发光细菌的发光机制被认为是由特异性荧光酶(LE)、还原性黄素(FMNH₂)、八碳以上的长链脂肪醛(RCHO)和氧分子所参与的复杂反应^[2],其发光易受外界各种因素影响而导致发光强度的改变,并可用发光光度计检测。这种特性已被用于环境污染监测^[3,7,9]、抗菌素效价测定^[5]、白血球免疫功能测定等多种领域^[4]。70年代末,Bulich, A. A 研究了一种以海洋发光细菌冻干制剂为基础的仪器测毒性法(MICROTOX),这是因为发光菌在仪器中的发光强度随样品中毒性物质的总体浓度的增大而呈线性降低的负相关性^[9]。该法作为一种新兴的微生物监测毒性的方法,与传统沿用的鱼体检测毒性法相比,具有快速、简便、费用低廉等优点,广泛应用于淡水污染、工业废水、废渣、土壤污染的毒性检测,已被正式列为环境质量生物监测的国家标准。

当今由于沿海地区人口剧增,工农业、水产养殖业的迅速发展,使得海洋环境污染日趋严重。因而探讨一种快速简便可行的方法用于监测海水毒性受到人们普遍关注。虽然国外有研究者认为MICROTOX法监测

海水毒性具有快速简便、精确、灵敏的特点^[9],但由于海水理化因子及生物学因子的复杂多样性对发光菌的影响,目前在国内尚未见有应用发光菌监测海水毒性的报道。本研究比较了四种稀释液对发光菌的活性影响;探讨了盐度变化对发光强度的影响程度;并实测了三个站位的海水毒性状况,对MICROTOX在海洋污染监测方面的应用进行了讨论。

1 材料和方法:

1.1 菌种:明亮发光杆菌(*photobacterium phosphoreum* T₃变种)冻干粉

1.2 仪器:国产DXY-2型毒性测试仪

1.3 稀释液:

1.3.1 30%NaCl溶液

1.3.2 陈海水,取自厦门港西海域

1.3.3 人工海水Ⅰ:参照《海水要素调查手册》

1.3.4 人工海水Ⅱ:按文献^[10]配制

1.4 样品采集

1995年5月21日采厦大海滨浴场,厦大医院排污口处表层海水

1995年5月23日采厦大东大沟排污口处表层海水

1.5 测试方法

1.5.1 毒性测试:把海水原样用稀释液配成10%、20%、40%、50%、60%、80%、100%七组待测样品,取2ml加入样品管,取2ml稀释液加入对照管,每个稀释度作三个平行样,按对照管、样品管、对照管、样品管……的顺序依次加入均匀的发光菌液10μl,测定各管15分钟后的发光强度,依下式求出相对发光强度,取三组的平均值。

$$A = \frac{K}{K_1} \times 100\%$$

A:相对发光度(%)

K:样品管发光度

本研究为国家自然科学基金和福建省自然科学基金资助课题

K1: 对照管发光度

1.5.2 不同盐度对发光强度的影响: 用 NaCl 配制不同盐度的溶液, 加入样品管, 依上述方法测定, 并求出相对发光度。

1.5.3 不同稀释液的发光度的比较: 取稀释液 2ml 加入测试管, 加菌液, 测定发光强度, 方法同(1)。

2 结果与讨论

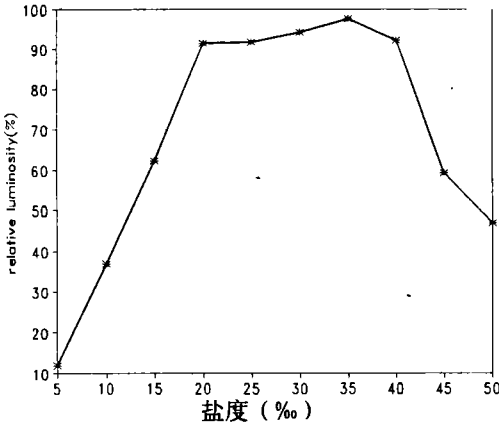


图1 不同盐度条件下样品相对发光度

2.1 盐度对发光菌发光强度的影响

从图1、图2可以看出盐度变化可影响发光菌的发光强度, 在盐度低于 25‰或高于 40‰时会抑制发光菌的正常发光, 对毒性测试会产生一定的干扰作用。实验表明当盐度值在 25‰~40‰范围内, 相对发光度的变化幅度小于 57%, 对毒性测试的干扰较小。

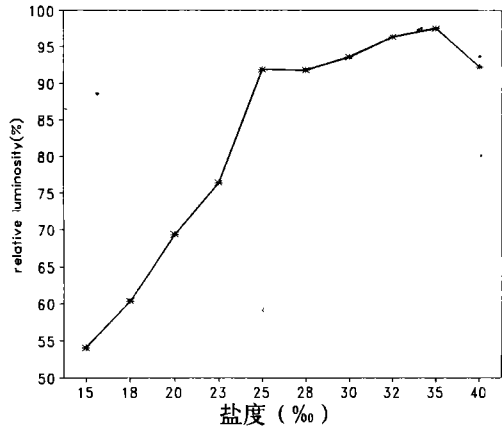


图2 不同盐度条件下样品相对发光度

2.2 不同稀释液对发光菌活性的影响比较

不同的稀释液对发光菌活性的影响作用不同, 较强的活化或抑制作用都会影响样品的测试精度^[8]。表1给出了四种稀释液的相对发光度, 其中人工海水 I 在三次测试中的相对发光度均为最低, 表现出一定的抑制作用。陈海水、人工海水 I 对发光菌活性的影响与常用稀释液 30‰NaCl 相近。当分别用上述四种稀释液稀释东大沟排污口处的样品进行毒性测试时, 结果均表现出显著的负相关性($P < 0.01$) (图3、图4、图5、

图6), 比较四种稀释液针对同一水体的 EC_{50} 值, 人工海水 I 最小, 说明抑制作用较强, 另三者的值比较接近, 与表1所示结果相一致。据报道, 天然海水、人工海水对发光菌的活化作用较强, 一定稀释度的人工海水可免除上述不良影响^[9]。本实验所用人工海水 I 的盐度为 28‰, 与他们的结果相似; 而人工海水 I 的配方是针对藻类的培养, 高浓度的浓度营养盐可能抑制菌体的发光, 因而不适合用作稀释液。

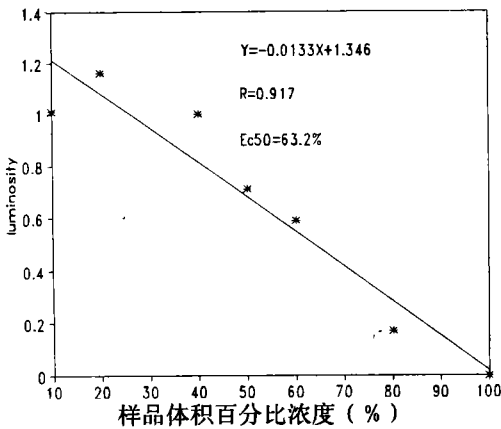


图3 稀释样品的毒性测试(30‰NaCl)

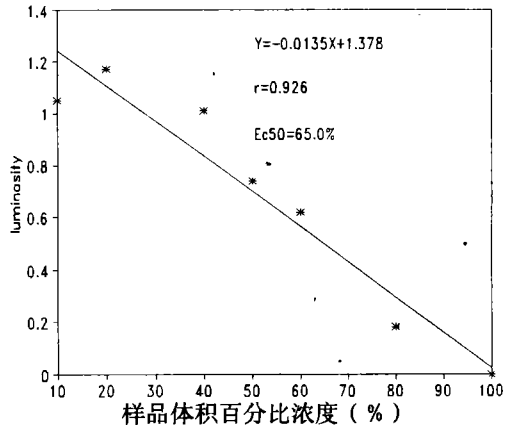


图4 稀释样品的毒性测试(陈海水)

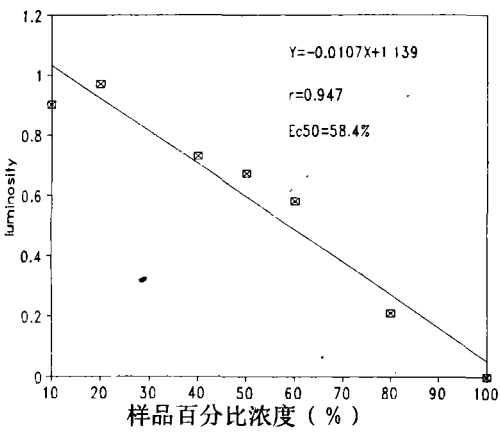


图5 稀释样品的毒性测试(人工海水 I)

表1 发光菌在各稀释液中相对发光度的比较

| | 陈海水 | 人工海水 I | 人工海水 I | 30% NaCl |
|--------|------|--------|--------|----------|
| 盐度 (%) | 28.9 | 28 | 31.2 | 30.0 |
| 发光度 | 1 | 307 | 297 | 404 |
| 平均值 | 2 | 564 | 481 | 662 |
| (mv) | 3 | 243 | 557 | 163 |

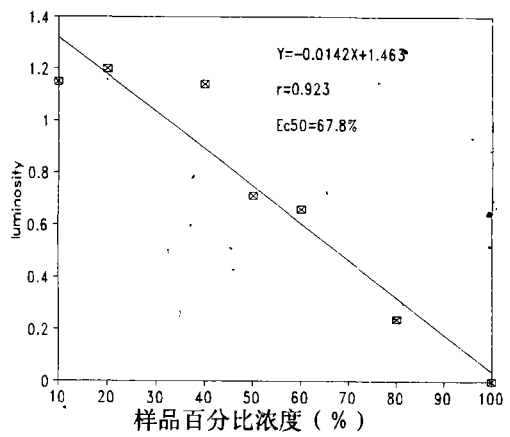


图6 稀释样品的毒性测试(人工海水 I)

的毒性等级划分标准(见表2),1、2号站位水样无毒性;3号站位的水样有毒。图7、图8所示线性关系的相关程度不如图3~6显著,这与文献[6]用该法测试土壤溶液中金属离子毒性实验所示的结果一致,即在无毒情况下,样品浓度与相对发光度的线性相关性较差。参照对1、2号站位水样病原菌检测结果(表3),厦门大学排海口的海水受生活区及医院污水的污染较为严重。上述结果表明,在海洋环境质量的监测评估中,MICROTOX法与病原菌检测法具有互补的作用,从两个方面检测海水水质污染程度,可用于综合评价水质污染状况。

2.3 海水毒性现场测试

站位1(厦大海滨浴场)的水样盐度为30.5‰,站位2(厦门大学排海口的海水)盐度为32.6‰,用30% NaCl溶液稀释测定后结果见图7、图8。其EC₅₀值都远大于100%,而站位3(东大沟排污口)的EC₅₀值为63.5%。按照美国著名微生物学家 Bwlich. A. A 博士提出

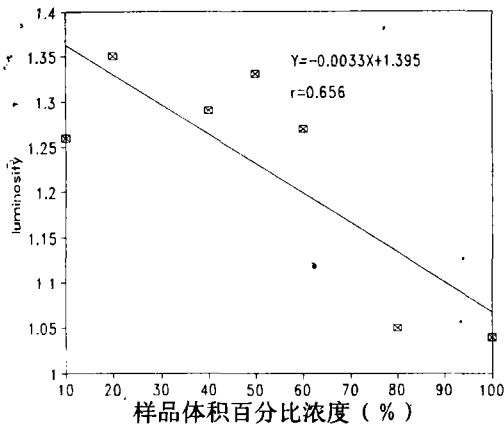


图7 站位1样品的毒性测试

表2 毒性等级划分标准

| EC ₅₀ | 毒性级别 | 等级 |
|--------------------|------|----|
| (废水稀释百分浓度) <25% | 很毒 | 1 |
| 25~75% | 有毒 | 2 |
| 75~100% | 微毒 | 3 |
| >100% | 无毒 | 4 |

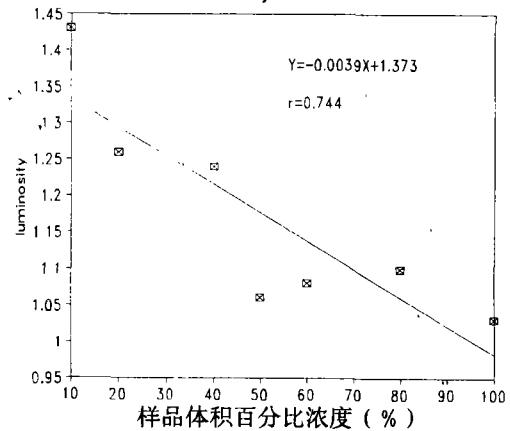


图8 站位2样品的毒性测试

表3 样品中大肠菌群的数量

| 站位 | 总大肠菌群 (cells/100ml) | 粪大肠菌群 (cells/100ml) | 粪大肠菌群 (cells/100ml) | 粪大肠菌群 (cells/100ml) |
|----|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 1 | 950 | 250 | 45 | 45 |
| 2 | 4500 | 14000 | 1500 | 3000 |

注:沿岸水标准值为10,000/1(大肠菌群)

(下转第33页)

变废为资源

日本开发成功了以废纸和甘蔗渣为原料的造纸新技术,这类纸张可广泛用于复印、印刷等。

1. 制作用具 新加坡等国利用废旧报纸、书刊卷成圆条外裹裱胶纸用于手工编织地毯、坐垫、提包、门帘及茶几、书桌、床等用具。

2. 生产树脂 日本王子造纸公司将废纸溶于苯酚中,用于生产酚醛树脂。

3. 制作人造板 捷克采用五层废纸加上合成树脂,在摄氏八十度的温度下制成胶合硬纸板,用于制作各种箱包。

4. 生产甲烷 瑞典伦道大学将废纸打成浆,加上厌氧微生物后置于反应炉,使废纸纤维素、甲醇和碳水化合物转化为甲烷。

5. 制造建材 印度利用废纸、棉纱头、椰子纤维和沥青模压出隔热性能好、不透

水、不易燃、耐腐蚀的沥青瓦楞板新型建筑材料。

6. 改良土壤 美国阿拉巴马州采用废纸纸屑与鸡粪混合,用于改良部分农场土壤板结,并取得了理想的结果。

7. 制造酒精 美国能源部专家利用特制的酵素用于破坏废纸中的纤维素,再经发酵转化为标准酒精。

8. 加工饲料 美国将废纸切碎,加2%的盐酸,煮沸2小时,使纤维素发生分解断裂,再加进一定的营养添加剂,按20%~40%的比例混入一般饲料中,用以喂养牛、羊,能比普通饲料喂养的增重30%。

现在,不少发达国家都在探索将废旧物品作为一种资源加以再生利用的途径,并向多层次发展,经济效益十分可观。

(郭瑞泉)



在林中散步,不能漫不经心,需要有一定的速度,中老年人的「步行摄氧运动」要求每分钟至少走七十至八十步。这样的快速行走,才能使肺部充分地摄入氧气,心脏强烈收缩,血液加快排出,从而促进血液循环,大大有利于心脏的健康。

(王大任)

森林中光线不足,到处朦朦胧胧,这种环境无疑可以锻炼人的五官敏锐感觉能力。眼睛可以享受树木之绿,鼻子可以细品嫩枝新叶之香,耳边飘过风声、鸟啼……大自然的交响诗对人的身心都是一种莫大的陶醉,使人心绪益加稳定。树木能散发出一种富含芬香物质的气味,具有杀灭病菌的能力,被称为「植物杀菌素」。这种气味被人体吸入,就能对体内许多种病菌产生作用。

在森林中散步,本是一种雅兴。现在有人将其归纳为一种新的健身法——森林浴。森林浴为什么会对人体有什么好处呢?



(上接第11页)

另外,1、2号站位水样的各稀释度样品的相对发光度都大于1,表现了一定的活化作用,但相对发光度和浓度间具有一定的负相关性,这显然是毒性作用与活化作用的共同结果,而且随样品浓度的增大,毒性因素的作用要强于活化作用,否则相对发光度应随浓度升高而增大。若单纯用水体中溶解氧和有机物含量作为活化因子去解释该现象,存在着一定的矛盾,因此活化作用的成因及其对毒性测试的影响程度有待进一步实验去探讨。

参考文献

1 郑天凌等. 闽南一台湾浅滩上升流区发光细菌的生态分布与种类组成. 厦门大学学报(自然科学版), 1993, 32(5): 653-658.
2 朱文杰等. 东方弧菌的无细胞系统的发光: 一种大链脂肪醛启动的生物发光. 微生物学报, 1991, 31(2): 122-127.
3 韩桂春等. 发光菌监测海水毒性实验研究. 环境微生物学

学术论研讨会论文摘要. 北京: 国家教委高教司编(92-93).

4 朱文杰等. 多种有毒离子共存时对明亮发光杆菌的影响. 环境污染与防治, 1988, 10(5): 7-12.
5 朱文杰等. 海洋发光细菌快速测定四环素效价的方法研究. 海洋科学, 1985, 9(1): 48-51.
6 顾宗濂等. 土壤中镉、砷、铊的微生物效应及其临界. 土壤学报, 1987, 24(4): 318-323.
7 顾宗濂等. 黄棕壤添加重金属的毒性评价及其临界浓度确定. 土壤学报, 1992, 29(2): 158-167.
8 俞毓馨等主编. 环境工程微生物检查手册. 北京: 中国科学出版社, 1990.
9 P. Vasseur et al. Luminescent marine bacteria in active toxicity testing. Presented at international symposium on Ecotoxicological Testing for the Marine Environment, Ghent chelgium, 1993, 12(9).
10 Janet. R stein. Culture Methods & Growth Measurements, 1988, 37-P43. Cambridge University Press.