

东海大陆架异养细菌的生态分布*

陈弼 钱振儒 王之珉 沈世泽 杨肇惠

(中国科学院海洋研究所)

从海洋物质循环的观点来看,异养细菌在分解有机物质和无机化过程中起着极重要的作用。从海洋食物链的角度来看,分解各种类型有机物而得以增殖的异养细菌自身也是海洋原生动物、浮游动物及底栖动物的营养源。异养细菌在海洋生态系中占有极重要的位置。对海洋中某些细菌的代谢活动与其他海洋生物之间的相互关系的研究日益受到普遍的重视^[6,8,9]。

海洋异养细菌的生态分布资料已有不少报道^[4,6,7,8,9,10]。但至今尚未有人发表过东海大陆架海域海洋微生物生态调查的报告。东海大陆架海域江河交汇入海,大陆对海洋的影响极为突出,水文和底质情况复杂,水产资源丰富,因而特别富有多样化的有机物来源。调查和了解这一海域中异养细菌生态分布规律,并研究其参与物质转化过程的特异性,不仅有助于深入研究海洋生态学问题,而且对于阐述东海大陆架的特点也极有价值。本文着重讨论异养细菌在东海大陆架的生态分布特征及菌群组成的特点。

一、方 法

1961 年、1972 年及 1973 年中国科学院海洋研究所调查船“金星”号先后在东海西部大陆架进行了异养细菌生态分布调查。在 124°E 以西的海域内布置微生物调查站,对底质泥样和海水样品分别作了微生物分析。

用 Nansen 采水器,按照 0, 10, 20, 30, 50, 75, 100 米……和底质以上 2 米等深度分层采集海水。采水器取到甲板上后,立即将出水口用火焰灭菌,并打开出水口开关,让流出的海水冲洗出水口约 1 分钟,然后再用无菌玻璃瓶接取海水样品,送入船舱试验室供微生物分析。为了适应微生物计数和菌株分离工作的需要,先将 40 毫升海水样品通过孔径 0.2—0.4 微米的硝化纤维超滤膜进行无菌过滤,然后,再把超滤膜的背面紧贴在海水营养琼脂平板表面,于 20—22℃ 培育七天后,分别观察、计算每片超滤膜上长出的菌落数目。根据菌落的不同形态特征,从单菌落挑取分离株,移种在琼脂斜面上,编号保存^[9]。

底质取样系采用底栖生物采泥器。采泥器取到甲板上后,立即启开采泥器,并尽量保持底质泥样呈完整块状。先用无菌刮刀铲去表面泥土约一公分,再用无菌玻璃管直接插入取样,样品速送船舱试验室供微生物分析。为了分离菌株,可取泥样少许(湿重一克)在 10 毫升无菌海水中稀释,制成悬浮液(根据样品含菌量情况亦可作适度稀释),静置片刻待土

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 544 号。

中国科学院微生物研究所王永成同志和海洋研究所微生物组其他同志参加部分工作。

收稿日期: 1979 年 5 月 2 日。

粒下沉后,取其上清液 0.1 毫升在平板上作涂布分离,并按上述方法从单菌落挑取菌株。

供分离用的培养基成分如下:牛肉膏 5 克,蛋白胨 8 克,陈海水 1000 毫升,琼脂 20 克,调 pH 到 7.2,于 121°C 灭菌 20 分钟。用底质样品作菌株分离时,可在上述分离培养基中加入少量海泥提取液。

菌株鉴定工作开始之前,全部菌株分别经纯化分离。根据菌株培养特征、细胞形态观察和一系列生理生化反应试验,参照伯吉细菌鉴定手册第八版鉴定菌株到属级^[1,2,3,5]。

二、结果与讨论

(一) 东海大陆架异养细菌数量分布特征

1961 年 11 月在东海大陆架特定海域 (29—32°N, 124°E 以西) 使用超滤膜培养法计数,研究海水中异养细菌的数量分布情况,共布置了 23 个微生物调查站,站位分布见图 1。

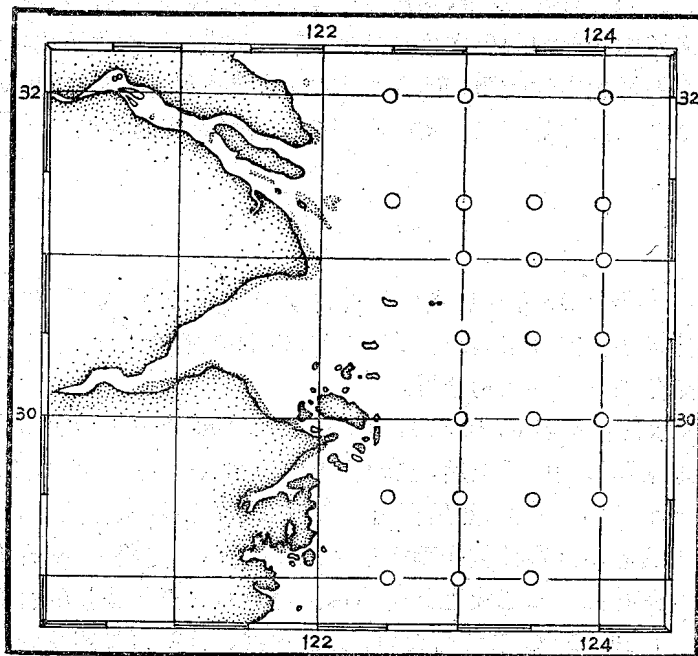


图 1 1961 年 11 月东海大陆架微生物调查站分布图

○表示调查站位

不少研究报告表明,在受河流等强烈影响的沿岸海域海水中细菌密度高,而在远海海水中细菌密度低^[6]。从我们调查的资料来看,东海大陆架海域异养细菌的密度是高的,但也具有其自身的特异性。图 2 表示东海大陆架海水中异养细菌数量分布概貌。从图中可看出,在不同站位或不同深度海水样品之间,异养细菌的数量差别极为悬殊,虽然都是抽滤同量的(40 毫升)海水样品,但是不同水样在超滤膜上所出现的菌落数目变化极大,波

动在几个到几百个广泛的范围之内,这种悬殊差异显然是由多种因素造成的。除了海流运动的影响作用外,江水倾入该海域以及来自大陆或岛屿的各种影响起着重要的作用。

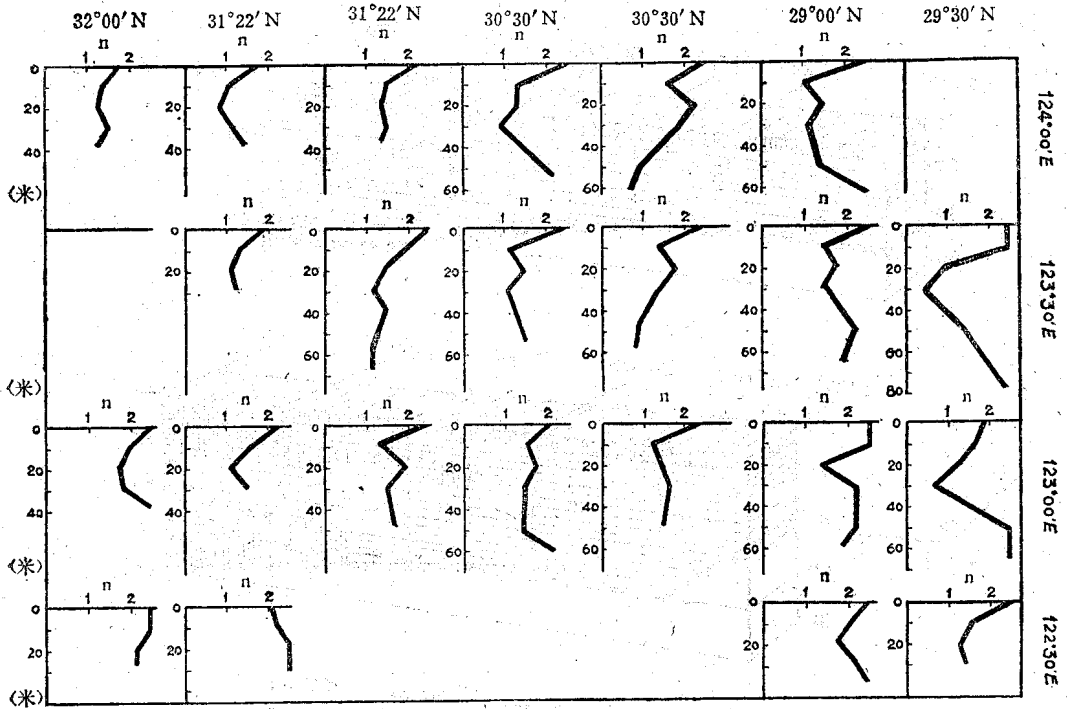


图2 东海大陆架调查区各站异养细菌的垂直分布情况

n——每40毫升海水中异养细菌数量的对数

为了便于比较、观察各调查站海水样品中异养细菌数量分布特征,我们把图2中的数字整理成表1,从表1可以看出,在靠近大陆的断面I上(122°30'E),菌落数目少于40

表1 含有不同菌落数的样品在不同经度断面上分布情况

样 品 来 源	少于40个菌落的 样品百分数(%)	40—99个菌落的 样品百分数(%)	100个菌落以上的 样品百分数(%)
断面 I (122°30'E)	11	11	78
断面 II (123°E)	38	24	38
断面 III (123°30'E)	64	12	24
断面 IV (124°E)	68	10	22

注: 菌落数表示40毫升海水通过超滤膜抽滤、培育后,超滤膜上出现的菌落数目。

个/40毫升的海水样品数目只占11%,而超过100个/40毫升的海水样品数目却占78%,相反,在离大陆和岛屿较远的断面III和IV上(123°30'和124°E),菌落数目少于40个/

40 毫升的海水样品数目占 64—68%，而超过 100 个/40 毫升的海水样品数目只占 22—24%。由此可见，陆地对东海大陆架水域中异养细菌数量分布的影响是明显的。

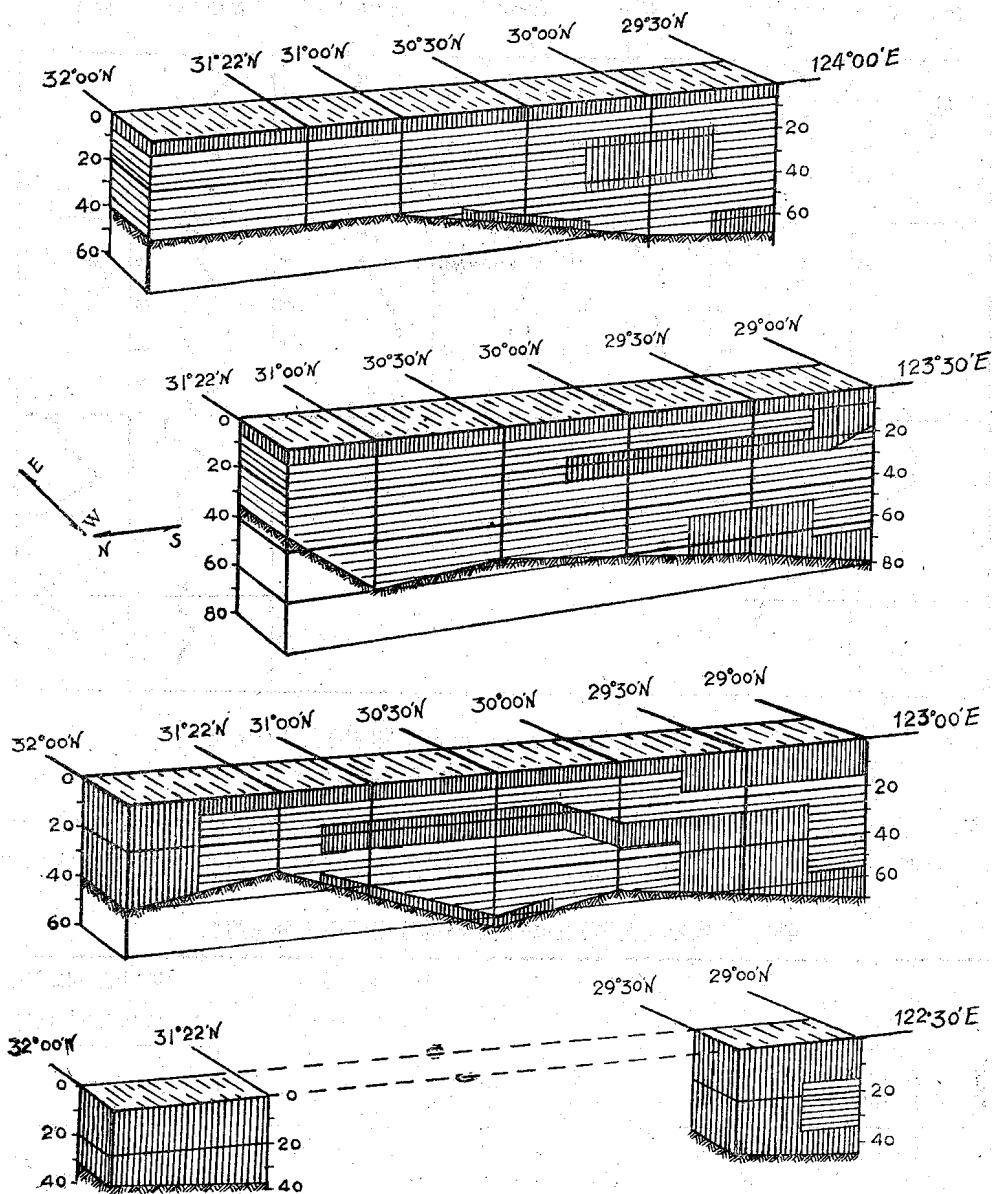


图3 异养细菌在不同经度断面上数量分布情况

在离大陆较远的断面 III 和 IV 的海水样品中异养细菌数量虽有减少的趋势,但是,在某些水层的海水样品中却出现异养细菌数量剧增的现象,从图 2 可以看到,含菌量较高的样品在该海域海水中垂直和水平分布的概貌,所有表层海水样品中异养细菌数量都较

高,这种现象显然是由于表层海水生物群集、营养丰富以及直接与外界接触影响的结果。此外,几乎所有异养细菌数量较高的海水样品都集中分布在南部海域的狭窄范围内,即 29° — 30° N之间。相反,在北部海域(即 $30^{\circ}30'$ — 32° N之间)的海水样品中异养细菌的数量却普遍较低。除了表层海水和个别靠近底层的水样外,其他海水样品中异养细菌的数量都在40个/40毫升以下。在我们所调查的东海海域海水中异养细菌数量分布的不均衡现象是一种规律的特征,特别是在南部海域的某些海水样品中,异养细菌数量的剧增现象以及如此有层次和条理成片的分布状况,绝非偶然的巧合。一般认为,海水中微生物的分布密度,主要取决于作为碳源和能源的有机物的分布状况,这些有机物是导致微生物增殖的主要因素。由于海流运动,在不同水团相混合的界面积聚大量的生物遗骸和渣滓等多样化的有机物质,因而引起异养细菌的迅速繁殖^[9]。在东海大陆架海域,江河交汇入海,岛屿星罗棋布,鱼场资源丰富、有机物来源多种多样,因此,在图3所表示的异养细菌数量立体分布概况可以用来标示某些易被细菌利用的有机物在海水中积聚和分布的动态。根据微生物调查资料分析判断,在东海南部海域的有机物分布状况和水文结构显然要较北部海域复杂得多。

(二) 东海大陆架异养细菌生理生化特征

早期 Zobell 从加利福尼亚海滨海水中分离的60株细菌中,有一半能分解酪蛋白,有47株能液化明胶^[8]。Крисс 从黑海分离733株细菌中,有61%能液化明胶,60%以上能利用葡萄糖,其百分数均较大洋海水中同类菌株百分数高得多^[9]。相似的结果一致说明从海滨或内陆海海水中分离出的大多数异养细菌菌株都具有较强的分解有机物质能力;相反,从大洋海水中分离出的异养细菌菌株,分解有机物质能力较强者只占少数。

表2 东海大陆架不同海域异养细菌对各种作用物生化反应比较统计表

阳性反应菌 株百分数(%)	试验项目 菌株来源	分解蛋 白类物 质产生 H ₂ S	陈化 牛乳	液化 明胶	利用无 机氮源	还原硝 酸盐为 亚硝酸 盐	水解 淀粉	发 酵 糖 类 产 酸					
								蔗糖	麦芽糖	葡萄糖	甘露醇	乳糖	半乳糖
	断面 I ($122^{\circ}30'E$)	32.0	48.1	75.3	75.9	33.9	49.3	48.8	61.8	67.9	47.6	18.21	16.5
	断面 II ($123^{\circ}E$)	30.8	51.4	69.5	77.4	35.5	58.0	43.5	65.5	67.4	49.5	22.1	17.9
	断面 III ($123^{\circ}30'E$)	17.2	33.6	50.0	75.0	35.8	67.0	30.8	47.2	50.8	20.0	9.4	11.9
	断面 IV ($124^{\circ}E$)	17.2	44.8	56.1	73.5	36.7	67.1	35.1	74.1	63.9	41.2	16.3	12.2
	四个断面 平均值	25.3	45.1	63.1	75.8	35.7	60.3	39.5	62.0	62.7	40.4	17.1	15.0
	太平洋中部 (172° — $174^{\circ}E$)	1.3	8.2	7.6	91.4	35.6	71.0	9.5	11.7	13.3	5.2	7.3	—

注:太平洋中部数字引用 Крисс 调查资料。

1961年我们从东海大陆架海水中分离出500株异养细菌,并分别测定其对不同作用物的生化活性反应。表2表明对各种作用物具有生化活性反应的菌株百分数在东海海域的分布情况。如果把我们的试验结果与从太平洋海水中分离出的细菌的试验结果相比较,就可以发现,从东海分离的菌株,能够分解蛋白类物质和发酵糖类的菌株百分数是太平洋海水中异养细菌同类菌株百分数的许多倍:分解蛋白类物质产生 H_2S 的是19倍,脲化牛乳的是5倍,液化明胶的是8倍,发酵糖类的是4—5倍。从表2还可以看出,即使在远离大陆的 $124^\circ E$ 断面的站位上分离出的菌株中,脲化牛乳的菌株百分数为44.8%;液化明胶的为56.1%;发酵葡萄糖产酸的为63.9%。这些数字不但较太平洋海域同类菌株百分数高得多,而且非常接近于其他海滨和内陆海海水的调查资料^[8,9,10]。

综上所述,在东海大陆架海域海水中,异养细菌不仅在数量上具有较高的密度,而且具有活跃的分解有机质能力,其分布特性说明,东海大陆架海域的异养细菌具有显著的亲陆性。看来这种趋势也会在外大陆架海域出现。高密度的异养细菌生物量及其活跃的分解有机物能力对于保持和促进这一海域中生物的繁衍是一个重要的因素。

(三) 东海大陆架异养细菌菌群分布特征

为了便于比较研究东海大陆架异养细菌菌群分布特征,1972年5—6月和1973年9月在东海大陆架特定海域($36^\circ 30'—39^\circ N$, $120—123^\circ 30' E$),先后作了三个航次的海洋微生物调查,共调查了84个站次,站位分布情况见图4。对每一站位的沉积物和海水样品逐一作菌株分离,共分离获得769株异养细菌。全部菌株按照其形态特征划分为革兰氏阴性杆菌、革兰氏阳性无芽胞杆菌、革兰氏阳性芽胞杆菌和革兰氏阳性球菌四个类群。这些菌群在不同海域海水或沉积物中的数量分布特征分述如下:

1. 海水中异养细菌菌群分布特征

一般认为,在海水中革兰氏阴性杆菌是大量存在的,革兰氏阳性杆菌则极少发现^[6]。从表3可以看出,在东海大陆架和渤海湾海域的海水中革兰氏阴性杆菌的菌株百分数分别为91.43%和91.67%,这与太平洋调查资料相比较显然减少。相反,革兰氏阳性细菌的菌株百分数(包括革兰氏阳性芽胞杆菌、无芽胞杆菌和球菌)在东海大陆架海水样品中

表3 不同海域海水样品中异养细菌菌群数量组成比较表

菌株百分数(%) 菌株来源	菌群类别	革兰氏 阴性杆菌	革 兰 氏 阳 性 细 菌		
			无芽胞杆菌	芽胞杆菌	球 菌
东海大陆架海域		91.43	4.90	1.63	2.04
渤海湾海域		91.67	3.78	1.51	3.04

注:东海大陆架海域表示 $28—32^\circ 30' N$, $124^\circ E$ 以西各调查站。渤海湾海域表示 $36^\circ 30'—39^\circ N$, $120—123^\circ 30' E$ 各调查站。

为8.57%,在渤海湾海水样品中为8.33%,百分数显著增加。海水中阴性杆菌百分数减

少,阳性细菌百分数增多的现象可以视为大陆性影响增强或海洋性影响减弱的一种标志。值得特别指出的是,东海大陆架海水中异养细菌菌群的组成百分数与远离该海域的内陆海湾——渤海湾的百分数非常接近。其原因显然可以归结为大陆的严重影响。

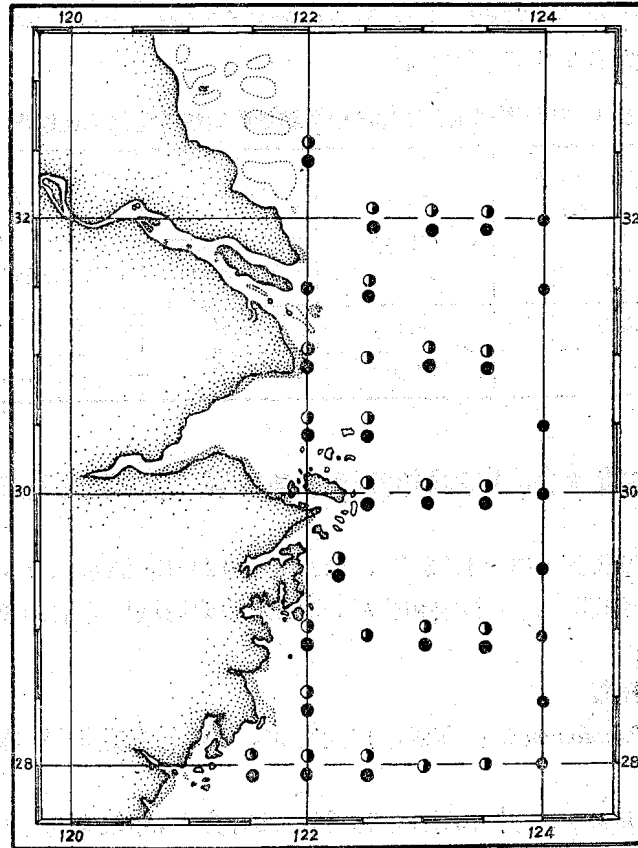


图4 1972—1973年东海大陆架海域微生物调查站位分布图

- 表示1972年5—6月调查站位
- 表示1973年9月调查站位

2. 沉积物中异养细菌菌群数量分布特征

从表4可明显看出,不论是在东海大陆架海域或是在渤海湾沉积物样品中,革兰氏阳性细菌的菌株百分数显然占优势,分别为81.80%和77.42%。其中尤以阳性芽胞杆菌所占的比率更为突出,菌株百分数分别为43.13%和47.58%,曾有报道,芽胞杆菌属(*Bacillus*)多在大陆架的沉积物中发现,更经常在河口沉积物中发现^[6]。显然,像芽胞杆菌属这类细菌不是海洋中本源的细菌,在一般土壤中也并不占优势。但它能适应不良的环境,只要所在环境中可被利用的物质一旦增多,它就能很快繁殖起来成为非常活跃的优势菌群。芽胞杆菌属细菌在东海大陆架海水中只能偶尔发现,但在东海大陆架和渤海湾的沉积物中则很容易分离到,占菌株总数的近半数,是明显的优势菌群。这显然是长期选择性发展的结果。在大陆架海域,特别是江河入海处,来自大陆的各种有机物流入大海后,逐渐沉降海

底,参与沉积过程,尤其是表层沉积物中的各种类型有机物不断得到补充和更新。这就确保了芽孢杆菌属在沉积物中维持稳定的优势,所以,上述海域沉积物中芽孢杆菌属的优势分布现象是一种规律性的反映。尽管我们所调查的两个海域在地理位置上并不直接相连,但是它们同样处于大陆的延伸地段,共同受到来自大陆的各种因素的影响,这些共同点就是这两个海域中异养细菌菌群组成相近似的基本原因。因此,把芽孢杆菌属视为大陆架海域的一种标志微生物是有根据的。

表 4 不同海域沉积物样品中异养细菌菌群数量组成比较表

菌株百分数(%) 菌株来源	菌株类别 革兰氏 阴性杆菌	革 兰 氏 阳 性 细 菌		
		无芽孢杆菌	芽孢杆菌	球 菌
东 海 大 陆 架 海 域	18.12	22.50	43.13	16.25
渤 海 湾 海 域	22.58	18.55	47.58	11.29

(四) 东海大陆架海域异养细菌各类群、属的组成及其分布

从东海大陆架调查区(28—32°30'N, 122°30'—124°E)海水和沉积物样品中先后分离出约 1300 株异养细菌。经过鉴定和分析,东海大陆架海域异养细菌类群及所包括的属分布概况列述如下:

1. 革兰氏阴性杆菌

假单胞菌属 (*Pseudomonas*): 海水中广泛分布,很容易分离获得,在沉积物样品中只是偶有发现。

产碱杆菌属 (*Alcaligenes*): 海水和沉积物中都有分布,亦较容易分离获得。

弧菌属 (*Vibrio*): 海水中有分布,也易分离获得,但在沉积物中极少发现。

黄杆菌属 (*Flavobacterium*): 海水中偶有发现。

柄细菌属 (*Caulobacter*): 海水中偶有发现。

气单胞菌属 (*Aeromonas*): 海水中发现。

2. 革兰氏阳性杆菌

芽孢杆菌属 (*Bacillus*): 沉积物中广泛分布,海水中偶有发现。

短杆菌属 (*Arthrobacter*): 海水中偶有发现。

棒状杆菌属 (*Corynebacterium*): 海水中偶有发现。

3. 革兰氏阳性球菌

微球菌属 (*Micrococcus*): 沉积物中时常发现,海水中偶有发现。

在调查区内还偶尔发现发光细菌和肠杆菌类群。

从以上分布概况中可以看出,海水中革兰氏阴性杆菌属的分布占优势,而沉积物中芽孢杆菌属的分布占优势,这也说明大陆的影响突出。

本文虽从几个方面阐明,该海域具有明显的海陆过渡特色,但是为了进一步了解异养

细菌在东海大陆架海域的作用和重要性,除了需要继续调查这海域中异养细菌的种类和数量分布规律外,还应深入研究某些生理代谢类型的异养细菌与其他海洋生物之间的相互关系及其在不同海洋生态系统中所起的特殊作用。

参 考 文 献

- [1] Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons, 1974, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. The Williams and Wilkins Company/Baltimore, U. S. A. 1268 pp.
- [2] Conn, H. J. 1957. *Manual of Microbiological Methods*. McGraw-Hill. New York. 305 pp.
- [3] Shewan, J. M. 1963. The Differentiation of Certain Genera of Gram Negative Bacteria Frequently in Marine Environments. In symposium on marine microbiology, pp. 499—521, Ed by C. H. Oppenheimer, Springfield, Illinois: C. C. Thomas.
- [4] Skerman, T. M. 1963. Nutritional Patterns in Marine Bacterial Populations. In Symposium on marine microbiology. pp. 685—698, Ed by C. H. Oppenheimer, Springfield, Illinois: C. C. Thomas.
- [5] Skerman, V. B. D. 1959. A Guide to the identification of the genera of bacteria. The Williams & Wilkins Co.; Baltimore 2, Md. U. S. A. 217 pp.
- [6] Wood, E. J. F. 1965. *Marine Microbial Ecology*. Chapman and Hall Ltd., London. 234 pp.
- [7] Zhukova and M. V. Fedosov. 1963. Significance of Microorganisms of Upper Sediment Layer of Shallow Water Basin in Transformation of Organic Matter. In Symposium On Marine Microbiology, pp. 711—719 Ed by C. H. Oppenheimer, Springfield, Illinois: C. C. Thomas.
- [8] Zobell, C. E. 1946. *Marine Microbiology*, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. 240 pp.
- [9] Крисс, А. Е. 1959. Морская Микробиология (глубоководная), Изд-во АН СССР 455pp.
- [10] Крисс, А. Е., И. Е. Мишустина, и Э. В. Земецова, 1962. Биохимическая активность гетеротрофных микроорганизмов, выделенных из различных областей мирового океана. Микробиология 31: № 2 pp. 314—324.

ECOLOGICAL DISTRIBUTION OF HETEROTROPHIC BACTERIA IN THE CONTINENTAL SHELF OF EAST CHINA SEA*

Chen Dou Qian Zhenru Wang Zhimin Shen Shize and Yang Zhaohui

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ABSTRACT

Through 1961—1973 more than 100 microbiological stations had been set up for studying the ecological distribution of heterotrophic bacteria in continental shelf of the East China Sea (28—32°N, 122—124°E). Samples were collected from bottom muds and sea waters in different depths. Heterotrophic bacterial population in sea water were counted by incubating the membrane filter on nutritional sea water medium. The number of heterotrophic bacterial colonies growing on the membrane filter ranged from several to hundreds per 40 ml sea water. The result of our investigation showed that the density of bacterial population in sea water samples collected from the area near the coast and estuary was generally higher, but the higher density of bacterial population had also been found in some samples collected from the area farther south, i.e. the open sea. It is interesting to note that these samples characterized by increasing bacterial population were regularly linked together and concentrated in some limited zones. In this case the distribution features of heterotrophic bacteria can be used as an indicator for the dynamic distribution of some kinds of organic matter. According to the result of microbiological investigation, the hydrological structure in this area of East China Sea are more complicated than in the North.

About 1300 strains of heterotrophic bacteria were isolated as pure cultures from the sea water and sediments. It was found that the biochemical reactions of these isolates are more active than that of isolates from open sea. All isolates were classified according to Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Most of them belong to the genera: *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Caulobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter* and *Corynebacterium*. We found that the *Bacillus* strains were the dominant bacteria and widely distributed in the sediments of continental shelf. It is our opinion that the *Bacillus* strains can be used as an indicating microorganism for studying the sediments of continental shelf. According to the result of our study we believe that this investigated area of East China Sea has been under the serious influence of the continent.

* Contribution No. 544 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.