

用指示菌监测环境污染的研究现状

张宗礼

(天津市环境保护科学研究所)

本世纪初就以微生物、化学分析与野外调查等手段来综合考察环境污染程度,并逐渐认识到用微生物方法较化学分析法更方便,近年文献对这方面的报道也较多,如有色自养菌类在污水中较清水环境生长旺盛,可用作水质变化的初步指标。在污水微生物生态分布上,如果假单胞菌,产气球菌,弧菌,克氏杆菌等属类的数量过多则可说明有机物污染太重。光合细菌的数量多寡可以表达水中有机物被降解的程度。生活污水可用粪大肠菌,粪链球菌作为病原菌、病毒的存活指示。某些细菌、真菌可用以监测环境中致畸致癌物。其他如用假丝酵母属(*Candida pseudotropicalis*, *Kluyveromyces fragilis*)指示镰刀菌 T-2 毒素的存在以及用大肠菌作为植物缺绿病病原菌(*Pseudomonas* sp.)产毒的指征,用枯草杆菌来指示环氧乙烷消毒效果等。由于环境污染涉及面广故作为污染的指示菌应具备下列条件:①当有病原菌时指示菌应存在,在清洁环境中指示菌不应存在。②指示菌在数量上必须大大超过病原菌。③指示菌必须能经受有关病原菌所经受的外环境如水处理过程,化学污染物在大气、水体及土壤中的存在、分解过程等。④指示菌应易于分离、鉴定和计数。本文拟从卫生微生物角度说明在危害机体的污染环境中指示菌的研究、应用概况。

(一) 指示菌在监测水体污染过程中的应用

直接检查水体中的病原菌不但费事耗时且收效低,由于早已认识到经口腔—肛门感染的许多微生物源疾病,使人们认识到粪源污染的重要性,因此使用检查粪源菌的办法代替直接分离病原菌以说明污染程度。应用大肠菌总数(包括沙门氏菌,志贺氏菌及粪大肠菌)监测水质虽早已为各国采用,但此法迄今并不完善,因来源于肠道外的大肠菌类约占总大肠菌总数的80%左右^[1],污水中粪链球菌与粪大肠菌的存在比例很近似,约为0.9—1.1:1^[2,3],其次粪大肠菌与沙门氏菌的存在数量有明显的相应关系即随粪大肠菌数量的增加沙门氏菌的检出率也相应提高,故多认为以粪大肠菌或粪链球菌做为指示菌更恰当。英国水质^[4]分析标准认为:在检验中如未发现粪大肠菌但有产气荚膜杆菌(*Cl. Perferingens*)存在时亦认作粪源污染。再进一步明确粪便污染源时如在样品中有双歧分支杆菌即可肯定有人粪便污染^[5],因此菌为人粪便所特有但对氯离子敏感,不适用于含氯废水。粪链球菌亦称

肠球菌,温血动物肠道中有各种链球菌但其与粪大肠菌的比值不同,在家畜及野生动物粪便中其比值小于人粪,当考察粪便污染源时可利用FC(粪大肠菌)与FS(粪链球菌)的比值来协助分析,人粪中FC/FS值为4.33而畜禽粪则为0.00042—0.61。美国Baltimore市抽查四个水源的FC/FS值^[6],其>1.0者分别占样品总数的88,54,73及77%,结论认为来自人粪便污染。从三重县河川及已知的畜舍排水所测得的FC/FS值有显著差别^[7]。畜舍排水样品的FC/FS值为0.004—0.76而生活排水则为9.2。据资料分析当FC/FS值≥4时表明主要由人粪便污染^[8];介于0.7及4.0之间则为人、畜混合粪便污染;比值<0.7时主要为畜粪便污染。由于FC及FS菌各自在污水中存活时间不同加以取样时受日光辐射而影响其存活率,因此在河流下游所取的样品不能代表污染源的FC/FS值。被畜粪污染较久的污水,其中大肠菌、粪大肠菌、粪链球菌先后相继消失,此时红球菌属的存在具有指示意义^[9],因此菌为牲畜粪便所特有(牛、马、羊、猪、鸡、鸭、鹅、火鸡)而在人粪便中绝无。此菌可在污水中存活12—26周,因此当污染时间较长,污染源较远的情况下可用作指示菌,如同时有FC/FS值<1.0时可判定为近期受畜粪污染。此外,污水中总菌数与有机负荷(BOD)有相应关系,当BOD≤5ppm时下列关系式可成立^[10],即 $N(\text{总菌数}/\text{ml})=a+b(\text{BOD})$,而BOD=5—10ppm或更高时则菌数饱和,上述关系式不能成立。人、畜粪便中的粪大肠菌与对应的BOD值不同,如一个大肠菌体与BOD,的对应值在人粪为3.9₀₂ng,而畜粪则为10.6—31.1₀₂ng。因此在考虑粪便污染源时此对应的BOD值与FC/FS值具有同样重要意义。对水体质量评价上除应用大肠菌总数、粪大肠菌及粪链球菌外也有用铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),产气荚膜杆菌以及白色假丝酵母(*Candida albicans*)作指示菌的报道。此外,敏感微生物如鼠伤寒沙门氏菌(*Sal. typhimurium*)变异株可用以监测污水中的(前)致畸物;使用酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)可以查出水体中所含重金属的毒性等,均系简易可行有应用前景的指示菌类。从卫生角度看粪源指示菌增加固然可以表达水质恶化但不能说明病原菌就绝对存在,如用木浆造纸的废水中常含大量的大肠菌及粪大肠菌而并无病原菌^[10],相反,

在指示菌数量少时却仍可能有病原菌^[11]。致病性沙门氏菌、大肠菌可在净水中存活并繁殖的事实说明：尽管指示菌与可能致病菌的来源有一致性但在数量的相关性上却难断言。经用漂白粉处理的污水中粪源菌的死亡率可达99.999%但粪源病毒的死亡率却为85—99%，因此粪源指示菌尚不能代表粪源病毒的存灭，但迄今尚未发现较粪源菌更合适的指示菌类。总之，指示菌增加可表达水质腐化但不一定有病原菌。

(二) 指示菌在监测大气污染过程中的应用

大气中各种化学污染物与气挟菌类之间关系复杂，常表现为拮抗或协同作用。目前虽认为用单细胞生物监测大气污染较一般物理、化学方法灵敏企图使用单一菌类表达复杂的大气综合危害性还未成功。

1. 化学污染物与气挟菌之间的关系：空气中菌类主要来自地面并以飘尘或气溶胶形式存在，大气中总飘尘量与总菌数成线性关系^[12]，气挟菌总数与一氧化碳及总烃浓度呈显著负相关^[13]，其相关系数分别为-0.61及-0.51。粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)暴露在有光照的NO₂(0.5ppm)条件下时菌体变异明显，SO₂对上述菌有明显杀菌作用(RH=40—80%)^[14]。微球菌，产气球菌，葡萄球菌，小杆菌及球菌总数与NO₂浓度成负相关，其相关系数为-0.45，但与NO₂浓度及颗粒物量均为正相关^[15]，相关系数分别为0.43及0.50。大肠杆菌对O₃及烃类烟雾敏感^[16]，Pbm级浓度即可使细胞裂解。磷光细菌(*Photobacterium phosphoreum*)在丁烯与NO存在时可降低荧光素(Luciferine)，荧光细菌对烃类二次污染物PAN(硝酸过氧乙酰胺)尤为敏感，2μl/l浓度即可抑制荧光。使用单一菌反映复杂的大气危害度虽不易，但选用敏感菌监测空气中某些特殊组分含量还是可行的。有报道提示以粪大肠菌作为空气污染指示菌^[17]，此菌对化学污染物的敏感度虽不如粘质沙雷氏菌，但对致畸物敏感并在一定程度上可代表粪源性。气挟菌类是低空无组织排放的非能源性污染。本文作者在城市(天津)气挟菌研究中自随机挑选的749株大肠菌中曾分离鉴定粪大肠菌数量占52.3%，被看做空气污染的重要参数^[18]。

2. 应用指示菌监测空气中(前)致畸致癌物：筛选致畸物的敏感菌类有：大肠菌，沙门氏菌，酵母菌，粗糙脉孢霉(*Neurospora crassa*)构巢曲霉(*Asp. nidulans*)^[19]。其中应用鼠伤寒沙门氏菌变异株的报告较多(Ame's Test)，当有致畸物存在时此菌的回复突变数量与致畸物量成正比，用此法监测城市工业区空气中致畸物含量比农村大10倍^[20]，比居民区约大2—3倍。城市中致畸物含量在秋、冬季高于春、夏季且与PAH(多环芳烃)量成正相关^[21]。多环芳烃中如3-4苯并(a)芘可使蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)、巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)代谢加强而致畸变^[16]，其

机制是一种感光氧化作用，有应用前景。

(三) 指示菌在监测土壤污染过程中的应用

土壤为人、畜粪便及垃圾的处理场地，也是大气、水体的会合点。近年来对化学污染物、致畸致癌物经土壤转移进入食物链的事实已广泛引起人们关注。粪源菌类可在垃圾中存活一年以上^[22]，由于大量使用农药及抗生素类而导致土壤中出现大量抗药、耐药的动植物病原菌株。不同性质的农药可以引起土壤微生物组成的明显变化。大肠菌及沙门氏菌埋在不同海拔地面下10cm处经8周后，其数量明显减少^[23]，而粪链球菌却可存活12周以上，且经过土壤冻融交替后仍存活95%^[24]。污泥厌氧发酵时大肠菌及粪大肠菌均先后消失而粪链球菌不易死亡，且与粪源病毒在土壤中的存活率有一致性^[25]。由于粪链球菌耐力强，故在土壤远期污染指示上有参考价值。有报告认为从卫生学角度考虑应以该菌做为土壤污染指示菌^[26]。但土壤中的链球菌尚可来自植物、野生动物及淤泥沉淀物。区别其来源尚较难，但由于广泛使用抗菌素结果导致土壤中各种来源的链球菌株抗药性也不同，试验表明污泥源的粪链球菌菌株的典型抗药性者占试验的16/25株，而在植物源及土壤源的典型抗药株分别为11/25株及7/25株^[27]。用鼠伤寒沙门氏菌变异株监测美国34个城市污水处理厂的污泥，结果发现33个城市污泥中均含有不同程度的致畸致癌物^[28]。由于用污水灌田并施用污泥、垃圾肥加以来自空气中的化学污染物都使土壤污染加重，首先导致土壤微生物的改变，这种改变也正标志土壤被污染的程度。综上所述，在污染的环境中为追踪粪源污染及考查致畸致癌物的无害化程度，应用指示菌的办法是经济简便且有实用价值的。

参 考 文 献

- [1] 微生物生态研究会：微生物の生态(5)——環境汚染をめぐって，学会出版センター，東京，PP.40—64,147—163,1978。
- [2] 加藤 进等：三重县環境科学センター研究报告，第2号：39—43,1980。
- [3] ORSANCO Water users Committee: *J. WPCF*, 43: 630, 1971。
- [4] Oragui, J. I. et al.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 46(2): 356—360, 1983。
- [5] Mara, D. D. et al.: *J. of Appl. Bact.*, 55(2): 349—357, 1983。
- [6] Pipes, W. O.: *Bacterial Indicators of Pollutions*, pp. 26, 39, 70. CRC Press USA. 1982。
- [7] 加藤 进等：三重县環境科学センター——研究报告，第3号：39—43,1982。
- [8] Geldreich, E. E. et al.: *J. WPCF*, 41: 336, 1969。
- [9] Rowbotham, T.J.: *J. Gen. Microbiol.*, 100: 231—240, 1977。
- [10] Dutka, B. J.: *J. Env. Health*, 36: 39, 1973。

- [11] Shunel, H. I. et al.: *Water Res.*, 7: 753, 1973.
- [12] Захарченко, М. И.: *Реф. Жур. Биол.*, B2:125, 1981.
- [13] Lee Robert, et al.: *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. April*: 164—170, 1973.
- [14] Lighthart Bruce et al.: *J. Air. Pollu. Control Assoc.*, 21(10): 639—642, 1971.
- [15] Manicelli, Rocco. L. et al.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 35(6): 1095—1101, 1978.
- [16] Mitchell Ralph: *Introduction to Environ. Microbiol.* Prentice Hall USA. P. 231, 1974.
- [17] Miller, P. D. et al.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 39(5): 1000—1009, 1980.
- [18] 张宗礼等: *中国环境科学*, 7(3):43—48, 1987。
- [19] Concil of Environ. Mut. Soc.: *Science*, 187: 503—504, 1975.
- [20] Takeda Nobuyuki et al.: *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, 32(6): 688—692, 1984.
- [21] 後藤純雄等: *大气污染学会誌*, 17(4): 295—303, 1982。
- [22] Edmond, R. L.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 31(3): 537—546, 1976.
- [23] Temple, K. L. et al.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 40(10): 794—797, 1980.
- [24] Kirby, H. J. et al.: *ibid*, 35(4): 711—717, 1978.
- [25] Berger Gerald et al.: *ibid*, 39(2): 361—368, 1980.
- [26] Babish John, G. et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 17(5): 272—277, 1983.