

巨大芽孢杆菌对池塘微碱性水体中磷的形态和含量的影响

吴 伟, 瞿建宏, 胡庚东, 陈家长

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 中国水产科学研究院内陆渔业生态环境与资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

摘 要:采用连续提取-比色法对江苏苏北池塘微碱性水体中磷的形态和含量进行了研究,结果表明:池塘微碱性水体中总磷的含量介于 $0.088\sim 0.102\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,总体含量不低;水中可溶性正磷酸盐的含量在 $0.004\sim 0.007\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,仅占总磷的 $4.2\%\sim 7.7\%$,其余的磷则以吸附态的无机磷(水溶性吸附态磷、铁结合磷和钙结合磷)和有机磷(酸提取有机磷和碱提取有机磷)的形式存在于水体的悬浮物中。最具生物可利用性的正磷酸盐含量的偏低是此类水体中浮游植物不易生长的主要原因。应用巨大芽孢杆菌的培养物于池塘微碱性水体后,可降低水体悬浮颗粒中除水溶性吸附态磷外的无机及有机磷含量的 $10.83\%\sim 24.92\%$,水体中可溶性正磷酸盐的含量可提高 $140\%\sim 260\%$ 。巨大芽孢杆菌的适宜用量为 $1\text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$,适宜作用时间为 3 d。研究表明,巨大芽孢杆菌具有一定的解磷功能,可促进水体的磷素循环。

关键词:巨大芽孢杆菌;池塘;碱性;水体;磷;形态;含量

中图分类号:X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)04-1508-06

Effects of *Bacillus megaterium* Treatment on Phosphorus Forms and Concentrations in the Water of Slight Alkaline Ponds

WU Wei, QU Jian-hong, HU Geng-dong, CHEN Jia-zhang

(Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Inland Fishery Eco-environment and Resource, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: The forms and concentrations of phosphorus in the water of slight alkaline ponds in the north of Jiangsu Province have been investigated by a sequential extraction-colorimetric analysis. The results showed that without *Bacillus megaterium* treatment, the concentrations of total phosphorus (TP) ranged from 0.088 to $0.102\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and those of phosphate-phosphorus ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) ranged from 0.004 to $0.007\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The latter accounted only for the $4.2\%\sim 7.7\%$ of the former. Except for $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, other phosphorus in the pond water bounded to the suspended matters and existed in the forms of absorbed inorganic- (exchangeable phosphorous, Ex-P; iron phosphates, Fe-P; calcium phosphates, Ca-P) and organic- (acid extractable organic phosphorus, O-Pac; alkaline extractable organic phosphorus, O-Palk) phosphorus. The lower concentration of $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ was the main reason that caused the growth inhibition of phytoplankton in the pond. In contrast, *Bacillus megaterium* applied to the pond water resulted in a significant ($10.83\%\sim 24.92\%$) decrease in the concentrations of absorbed inorganic- and organic-phosphorus (Except Ex-P), and a significant ($140\%\sim 260\%$) increase in those of $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$. The optimal dosage and treatment duration of *Bacillus megaterium* were $1\text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ and 3 days, respectively. The present study concluded that *Bacillus megaterium* has the capability of dissolving different forms of phosphorus and promoting the phosphorus cycle.

Keywords: *Bacillus megaterium*; pond; alkaline; water body; phosphorus; form; concentration

众所周知,氮、磷是水生生态系统中浮游植物的基础营养元素,其存在形式和数量决定了水体的初级

生产力,与水生生物的生命循环有着密切的关系。虽然氮和磷同为重要的植物营养物质,但藻类等水生生物对磷则更为敏感。当水体中的磷处于低浓度时,即使氮浓度能满足浮游植物的需要,其生产能力也会大受遏止。很多研究表明,由于自然界中存在的含磷化合物的迁移性较含氮化合物低,因此磷对水体中初级

收稿日期:2007-12-26

基金项目:江苏省水产三项工程项目(PJ2006-50)

作者简介:吴 伟(1967—),男,研究员,主要从事环境生物学方面的研究。E-mail:wuw@ffrc.cn; wuwzh@263.net

生产力的限制作用比氮更为广泛,是水体中藻类种群和密度的第一限制性营养元素^[1]。在池塘养殖中,适度的磷含量和有效形式可维护水体的生态平衡,为水体提供适量的浮游生物基础,而高浓度的磷则会导致养殖水体发生富营养化^[2]。因此对池塘养殖水体环境中磷素的形式和浓度的控制一直是渔业环境科研工作者研究和探索的问题。以往,池塘养殖水体中磷的控制主要侧重于防止富营养化,通过各种途径来削减水体中磷的负荷^[3]。近年来,江苏北部一些地区的水产养殖业者又遇到了一个新的问题,即该地区一些新开发的养殖池塘因底质土壤的盐碱性造成养殖水体呈微碱性,无论养殖初期使用何种肥料,池塘水体中浮游植物种群的增加都显得十分困难。与此同时,因施肥导致水体中氮素含量偏高,氨氮和亚硝酸氮大量积聚,对养殖生物产生危害。因此如何安全有效地促进池塘微碱性水体中浮游植物的生长成为相关专业的研究热点,特别是对微碱性水体中磷的形态、含量的研究值得重视。

在自然环境中磷的形态分布和含量变化上,除了物理化学等因素的影响,微生物则起着至关重要作用。利用微生物的作用来进行对磷的转化已越来越得到人们的重视。前苏联蒙金娜 1935 年从土壤中分离出一株解磷的巨大芽孢杆菌(*B. megaterium phosphaticum*),分解磷酸和卵磷脂的能力很强,据报道接种后土壤中 P_2O_5 提高了 15% 以上^[4]。我国从上一世纪 50 年代开始对磷细菌,尤其是巨大芽孢杆菌进行了研究,但大都停留在土壤肥效试验上,基础性研究并不多^[5],涉及对水体中磷素的转化则未见报导。因此本文探讨了巨大芽孢杆菌对池塘微碱性水体中磷素的形态和含量的影响,以便为科学合理地开发水体浮游植物营养素,有效控制水体磷素水平提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验菌种

试验菌种为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*),由江苏省微生物研究所提供。

1.2 试验器材

ZHJH-1214 双面气流式无菌工作台, TOMY Autoclave SS-325 型全自动高压灭菌器, SANYO MIR-153 型高低温恒温培养箱, ZHWY 200B 恒温振荡摇床, METTLER AL204 电子分析天平, 冰箱, 721 分光光度计, 7530 紫外分光光度计, 真空泵。

1.3 药品试剂

牛肉膏、蛋白胨为生化试剂,由上海试剂公司提

供;氯化钠、钼酸铵、氯化亚锡、盐酸、氢氧化钠、乙二胺四乙酸二钠等均为分析纯,由上海化学试剂厂提供。

1.4 试验池塘及水体

试验池塘采用江苏苏北地区的鱼类养殖池塘,每个池塘的面积均为 5 000 m^2 ,水深 1.5 m。其中 1 个为对照池,其他 3 个为试验池,试验设 3 个平行。试验水温为 22~24 $^{\circ}C$,初始 pH 值为 8.6~8.8。

1.5 菌种培养和使用

菌种培养基为普通的肉汤培养基,即牛肉膏 0.5 g,蛋白胨 1.0 g,氯化钠 0.5 g,水 100 mL,调 pH 为 7.0~7.2, 121 $^{\circ}C$ 灭菌 20 min 后备用。无菌条件下将巨大芽孢杆菌接入肉汤培养基, 30 $^{\circ}C$ 、120 $r \cdot min^{-1}$ 恒温振荡培养 48 h,以菌数达到 $2 \times 10^8 CFU \cdot mL^{-1}$ (菌体干物质质量为 $(3.10 \pm 0.12) g \cdot L^{-1}$) 为宜。培养好的菌液分别按每 1 000 m^3 水体 500、1 000 和 2 000 mL 的用量加入试验池塘。

1.6 水样的采集和处理

分别在试验开始后的 0、1、3 和 5 d 在每组池塘的水面下 30 cm 处和近池底 10 cm 处采集水样各 2 000 mL,立即处理或存于 4 $^{\circ}C$ 冰箱中待测。将所取水样分成 2 份,一份用于测定总磷,另一份用 0.45 μm 孔径的滤膜抽滤,分别在 4 $^{\circ}C$ 保留滤纸和滤液。水面下 30 cm 处的水样过滤后的滤渣为上层悬浮性颗粒,近池底处水样过滤后的滤渣为下层悬浮性颗粒,而滤液则用于测定水样中的正磷酸盐。

1.7 水体中磷的形态和含量分析

水样中的总磷和滤液中的正磷酸盐的测定按文献^[6]的方法,而悬浮(滤渣)颗粒中的磷形态分析采用 Gilbin 改进的 EDTA 提取法,具体见表 1。

2 结果与讨论

2.1 巨大芽孢杆菌作用前后池塘水体中磷的形态与含量

为了了解巨大芽孢杆菌对池塘水体中磷的形态与含量的影响,选择经巨大芽孢杆菌(作用剂量为 1.0 $mL \cdot m^{-3}$)处理后 3 d 的池塘,进行作用前后水体中磷的形态和分布的比较,具体结果见表 2。

由表 2 可以看出,对于水深为 1.5 m 的池塘微碱性水体(pH 值在 8.6~8.8),其水体中磷的本底水平为:水体上层水中总磷含量在 0.088~0.095 $mg \cdot L^{-1}$ 之间,下层水总磷含量在 0.092~0.102 $mg \cdot L^{-1}$ 之间,总体含量并不低,与其他类型的池塘水体相仿,且上下层

表 1 磷的连续提取方法
Table 1 Sequential extraction method of phosphorus

形 态	提 取 方 法
水提取弱吸附态磷(Ex-P)	0.5 g 滤渣加入 25 mL 水洗涤 5 min,4 500 r·min ⁻¹ 离心 15 min,取上清液 10 mL,过 0.45 μm 滤膜后测
铁结合态磷(Fe-P)	上步残渣中加入 35 mL CaEDTA/连二亚硫酸钠缓冲溶液,200 r·min ⁻¹ 25 ℃提取 2 h,4 500 r·min ⁻¹ 离心 15 min,重复 1 遍
钙结合态磷(Ca-P)	上步残渣中加入 35 mL Na ₂ EDTA 溶液,200 r·min ⁻¹ 25 ℃提取 17 h,4 500 r·min ⁻¹ 离心 15 min,重复 1 遍
酸提取有机磷(O-P _{ac})	上步残渣中加入 10 mL 0.5 mol·L ⁻¹ HCl 溶液,200 r·min ⁻¹ 25 ℃提取 30 min,4 500 r·min ⁻¹ 离心 15 min,重复 1 遍
碱提取有机磷(O-P _{alk})	上步残渣中加入 10 mL 2 mol·L ⁻¹ NaOH 溶液,90 ℃水浴提取 30 min,离心,上清液中加入 50%硫酸至 pH 为 1,静置 2 h,重复 1 遍。过滤,分别测定滤膜上和滤液中的磷

表 2 巨大芽孢杆菌作用前后池塘水体中磷的形态和含量
Table 2 Forms and concentrations of phosphorus in pond water treated by *Bacillus megaterium*

项 目		对照组 0 d	试验组 0 d	对照组 3 d	试验组 3 d
水体上层/mg·L ⁻¹	TP	0.088±0.002	0.090±0.002	0.095±0.004	0.128±0.008 ^b
	PO ₄ ³⁻ -P	0.006±0.001	0.007±0.001	0.005±0.001	0.018±0.004 ^b
水体下层/mg·L ⁻¹	TP	0.095±0.001	0.092±0.002	0.102±0.005	0.130±0.010 ^b
	PO ₄ ³⁻ -P	0.004±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.012±0.003 ^b
上层悬浮颗粒/mg·kg ⁻¹	Ex-P	18.0±1.2	18.2±0.9	16.8±0.3	20.2±0.4 ^a
	Fe-P	36.5±1.1	37.2±1.3	37.8±0.2	31.2±0.5 ^a
	Ca-P	48.4±0.9	50.2±1.4	50.6±0.3	44.6±0.1 ^a
	O-P _{ac}	52.2±0.9	50.9±1.1	53.1±0.4	42.6±0.6 ^b
	O-P _{alk}	89.2±1.4	90.4±0.8	90.2±0.3	78.6±0.4 ^b
下层悬浮颗粒/mg·kg ⁻¹	Ex-P	8.2±1.1	8.8±1.4	8.6±1.2	12.4±0.9 ^b
	Fe-P	22.4±0.8	22.6±1.2	22.6±1.3	18.1±1.3 ^a
	Ca-P	65.8±1.2	66.2±1.3	68.4±1.1	49.7±1.4 ^b
	O-P _{ac}	66.2±1.2	67.4±1.6	66.8±1.5	58.8±0.9 ^b
	O-P _{alk}	128.2±1.6	126.5±2.0	131.7±1.6	112.8±2.4 ^b

注:与对照组相比,a 为 $P<0.05$ 显著,b 为 $P<0.01$ 显著。

水体差异不明显($P>0.05$);水中可溶性正磷酸盐的含量在 0.004~0.007 mg·L⁻¹ 之间,仅占总磷的 4.2%~7.7%,表明最具利用性的磷的水平较低,无法满足水体中浮游植物生长的需求。而其余的磷则以其他方式存在于水体的悬浮物中。在水体的上层悬浮颗粒中,吸附态的无机磷(Ex-P、Fe-P、Ca-P)占 42.12%~43.54%,略低于有机磷(O-P_{ac}和 O-P_{alk})的 56.46%~57.88%。其中 Ex-P 的含量最低,仅占 6.76%~7.37%,而 O-P_{alk} 最高,占 36.51%~36.61%;Fe-P 略低于 Ca-P。在水体的下层悬浮颗粒中,吸附态的无机磷(Ex-P、Fe-P、Ca-P)只占 33.15%~34.57%,大大低于有机磷(O-P_{ac}和 O-P_{alk})的 65.43%~66.85%。其中 Ex-P 的含量更低,仅占 2.82%~3.02%,而 O-P_{alk} 最高,占 42.24%~44.09%;但 Fe-P 远低于 Ca-P,含量比为 1:3。由此可见,池塘微碱性水体中的总磷含量并不低,只是磷素以不同的形态存于悬浮物中。水体上层悬浮物中各类吸附态磷的总量为 244.3~248.5 mg·kg⁻¹,下层悬浮物中各类吸附态磷的总量为 288.1~290.8 mg·

kg⁻¹。在各类吸附态磷中,浮游植物相对较易利用的 Ex-P 和 Fe-P 主要分布在上层悬浮物中。因此池塘微碱性水体中磷的形态和分布是导致此类水体不易培养基础浮游植物的主要原因。

同样可从表 2 看出,当以 1.0 mL·m⁻³ 的用量使用巨大芽孢杆菌 3 d 后,池塘水体中的磷素形态和水平则发生了明显的变化,而对照组则变化不大。与试验组 0 d 相比,上层水体中的总磷由 0.090 mg·L⁻¹ 上升为 0.128 mg·L⁻¹,增加了 42.2%;可溶性正磷酸盐的含量由 0.007 mg·L⁻¹ 增至 0.018 mg·L⁻¹,增加了 157.1%。下层水体中的总磷由 0.092 mg·L⁻¹ 上升为 0.130 mg·L⁻¹,增加了 41.3%;可溶性正磷酸盐的含量由 0.005 mg·L⁻¹ 增至 0.012 mg·L⁻¹,增加了 140%。与此同时,水体悬浮性颗粒中除了 Ex-P 有所增加外,其他各种形式的 P 则有一定的下降。在水体上层悬浮颗粒中,Fe-P 由 37.2 mg·kg⁻¹ 下降为 31.2 mg·kg⁻¹,下降率为 16.13%;Ca-P 由 50.2 mg·kg⁻¹ 下降为 44.6 mg·kg⁻¹,下降率为 11.51%;O-P_{ac} 由 50.9 mg·kg⁻¹ 下降为 42.6

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 16.31%; O-P_{alk} 由 $90.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 下降为 $78.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 13.05%。而在水体下层悬浮颗粒中, Fe-P 由 $22.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 下降为 $18.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 19.91%; Ca-P 由 $66.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 下降为 $49.7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 24.92%; O-P_{ac} 由 $67.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 下降为 $58.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 12.76%; O-P_{alk} 由 $126.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 下降为 $112.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 下降率为 10.83%。水体中总磷、可溶性正磷酸盐的增加与水体悬浮颗粒中吸附态磷的变化存在着一定的联系。因此可以认为, 巨大芽孢杆菌进入水体环境后, 其本身并没有给水体增加多少磷的负荷 (1 L 菌液中的含磷量为 800 mg, 其中 200 mg 为 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, 剩余为包含菌体细胞在内的有机磷), 但其可改变水体中磷的存在方式。其可将生物利用度较差的吸附态无机磷或有机磷转化为正磷酸盐, 同时将磷从颗粒物中析出, 使其再次溶于水以供浮游植物利用。

2.2 巨大芽孢杆菌对池塘水体中磷的形态与含量影响的最适作用剂量

为了掌握巨大芽孢杆菌对池塘水体中磷的形态与含量影响的最适作用剂量, 分别选择巨大芽孢杆菌的作用剂量为 0.5、1.0 和 $2.0 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$, 作用时间均为 3 d, 进行作用前后水体中磷的形态和分布的比较, 具体结果见图 1(a~c)。

由图 1(a~c)可见, 使用巨大芽孢杆菌 3 d 后, 根

据对水体中总磷和正磷酸盐含量的影响、水体中悬浮性颗粒中吸附态无机磷的变动、水体中悬浮性颗粒中吸附态有机磷的转化这三方面因素的分析, 发现除了 $0.5 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ 浓度组的效果稍差外, 1.0 和 $2.0 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ 浓度组的结果相差无几。本着经济有效的原则, 巨大芽孢杆菌的最适作用剂量以 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ 为佳。

2.3 不同作用时间下巨大芽孢杆菌对水体中磷的形态与含量的影响

为了掌握巨大芽孢杆菌对水体中磷的形态与分布影响的最佳作用时间, 选择巨大芽孢杆菌的作用剂量为 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$, 作用时间分别为 1、3 和 5 d, 进行水体中磷的形态和分布的比较, 具体结果见图 2(a~c)。

由图 2(a~c)可见, 在使用 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ 的巨大芽孢杆菌 1、3 和 5 d 后, 根据对水体中总磷和正磷酸盐含量的影响、水体中悬浮性颗粒中吸附态无机磷的变动、水体中悬浮性颗粒中吸附态有机磷的转化这三方面因素的分析, 发现作用 1 d 后的影响较小, 作用 5 d 的效果最好, 但与作用 3 d 的效果无显著性差异 ($P > 0.05$)。因此使用巨大芽孢杆菌的作用时间以 3 d 以上为宜。

3 讨论

3.1 巨大芽孢杆菌对水体中磷的形态影响的机制

在本文的研究中可以发现, 巨大芽孢杆菌不仅

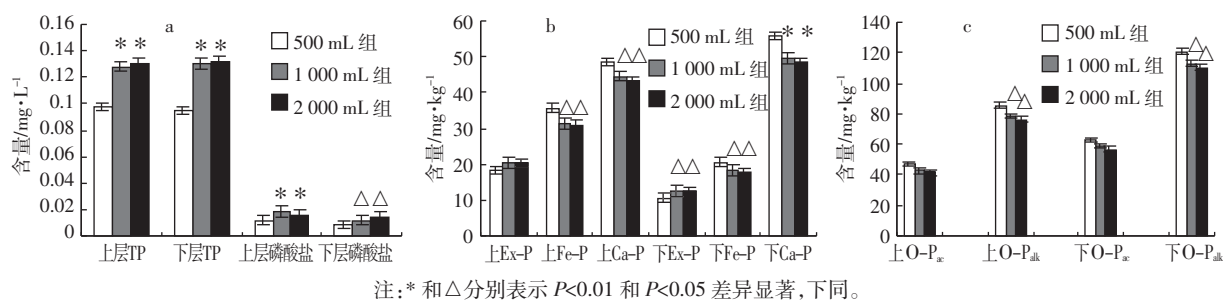


图 1(a~c) 不同剂量的巨大芽孢杆菌对池塘水体中磷的形态与含量的影响

Figure 1(a~c) Effects on the forms and concentrations of phosphorus in pond water treated by *Bacillus megaterium* at different dosage

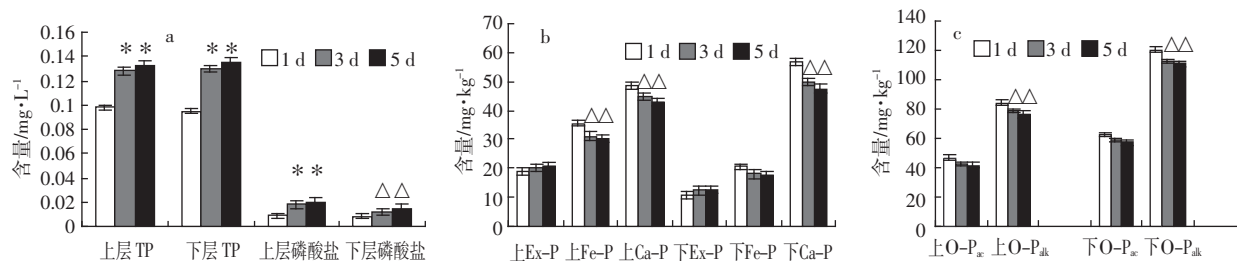


图 2(a~c) 不同时间下巨大芽孢杆菌对池塘水体中磷的形态与含量的影响

Figure 2(a~c) Effects on the forms and concentrations of phosphorus in pond water treated by *Bacillus megaterium* at different action time

可使水体环境中的难溶性无机磷化物发生改变, 而增加可溶性磷的含量, 而且可大幅度地转化有机磷化物, 增加其可利用性。巨大芽孢杆菌对难溶性无机磷酸盐的解磷机理普遍认为是菌体生长过程中产生各种有机酸, 使介质中的 pH 值降低, 从而将其中的磷释放出来, 即“酸解作用”^[7]。本文的试验过程中曾测定了菌种培养液的 pH 值, 肉汤培养基的初始 pH 值为 7.2, 菌种接入后培养 48 h 时培养液的 pH 值为 3.5, 呈现明显的酸性, 表明菌种在生长过程中对基质的利用时可产酸。同时, 按 $1\ 000\ \text{mL} \cdot 1\ 000\ \text{m}^{-3}$ 的用量加入池塘水体 3 d 后, 池水 pH 值为 7.8~8.0, 比对照(pH 值为 8.6~8.8)明显下降。室内试验表明, 此 pH 值条件与对照相比对水中可溶性磷酸盐的影响很小, 但可增加难溶性磷酸盐 12% 的溶解率。这些试验结果都证实了酸解作用的观点。除了酸解作用外, 还有些研究认为巨大芽孢杆菌对难利用性有机磷酸盐的分解作用存在着“酶解作用”。据报道^[8], 在巨大芽孢杆菌利用卵磷脂能力的测定试验中发现, 有机磷培养基接菌处理的 pH 值比对照略高, 其释放的水溶性磷显然不是酸的作用, 其 pH 值升高的原因可能是细菌产生的酶作用于卵磷脂产生胆碱的影响。由此可以推测, 巨大芽孢杆菌对水体中各种形态磷的影响是分步进行的, 首先随着菌体的代谢生长产酸, 对难溶性磷素进行酸解, 随着菌体生长速率的下降, 其体内所积聚的功能性酶在不断增多, 从而对有机磷化物实行酶解。但具体的作用机制还有待于做进一步的研究。

3.2 悬浮颗粒中的磷是水体可利用磷源的补充

水体中的磷素包括外部进入水体中的磷素以及水体内部各种颗粒释放进入水体中的磷。水体中悬浮颗粒物是水体营养物质的重要蓄积库。来自各种途径的营养物, 经过一系列物理化学及生物作用, 其中一部分结合形成水体中的各种颗粒物, 成为水体营养物的内负荷。在一定条件下, 部分营养元素又可以从颗粒物中向水体中释放, 使水体营养负荷增加。不少水体调查资料表明^[9~11], 当进入水体的营养盐减少后, 水体仍处于富营养化状态, 甚至出现“水华”。可见在一定条件下, 颗粒物中的营养盐有可能成为水体营养的主导因子。适宜环境下, 颗粒物磷可向水体释放并转化成生物可利用磷, 从而促进浮游藻类的急剧增长。据报道, 颗粒物中的磷主要以吸附态、有机态、铁结合态、钙结合态、铝结合态等形式存在^[12~15], 这与本文的研究相一致。

水体颗粒物与水体之间磷的交换过程十分复杂, 它包括磷的生物循环, 含磷颗粒的沉降与再悬浮、溶解态磷的吸附与解吸附、磷酸盐的沉淀与溶解等物理、化学、生物过程及其相互作用。影响颗粒物磷释放的因素主要有颗粒物组成、磷浓度、氮氧化物浓度、氧化还原电位、温度、pH、光照、生物扰动、水体扰动等。生物、微生物过程对磷在颗粒物/水界面交换有重要的影响^[16]。如细菌能自颗粒物中的有机磷转化成无机态磷, 并且把不溶性的磷化合物转化为可溶性磷。而微生物有这样的能力, 依靠的是它们所特有的酶体系。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALPase)是该系统中重要的微生物酶之一, 生长在碱性环境中的细菌通常合成较多的碱性磷酸酶。该酶能催化有机磷分解释放正磷酸盐, 这种转化是生物可利用性磷的重要补充途径, 所以碱性磷酸酶对于磷的生物地球化学循环过程起重要作用, 在水生生态系统磷循环, 尤其是以微生物为主体的水体颗粒物生态系统中具有重要的作用^[17, 18]。

由此可见, 磷的存在形态对水体初级生产的影响极大。而作为微碱性水体, 其总磷的含量并不缺乏, 但其可利用磷的含量极低, 因此不但不会引起富营养化, 反而造成水体初级生产能力的不足, 影响水产养殖的开发。这是江苏苏北一些地区的所面临的主要问题。而巨大芽孢杆菌在解磷方面有着很大的作用, 其通过对微碱性水体中磷的存在形式的改变, 提高水体中可利用性磷的含量。至于使用巨大芽孢杆菌后水体中初级生产力(藻类)和生态系统的变化以及对磷形态的反馈作用有待作进一步的后续研究。

4 结论

(1) 池塘微碱性水体中总磷的含量在 $0.088\sim0.102\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 总体含量并不低; 水中可溶性正磷酸盐的含量在 $0.004\sim0.007\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 仅占总磷的 4.2%~7.7%。其余的磷则以吸附态的无机磷 (Ex-P、Fe-P、Ca-P) 和有机磷 (O-P_{ac} 和 O-P_{alk}) 的形式存在于水体的悬浮物中。水体中最具利用性的正磷酸盐含量的偏低是浮游植物不易生长的主要原因。

(2) 巨大芽孢杆菌具有一定的解磷功能, 可促进水体的磷素循环。应用巨大芽孢杆菌的培养物于池塘微碱性水体后, 可大大降低水体悬浮颗粒中主要的吸附态无机及有机磷的含量, 提高水体中可溶性正磷酸盐的水平。巨大芽孢杆菌的适宜用量为 $1.0\ \text{mL} \cdot \text{m}^{-3}$, 适宜作用时间为 3 d。

参考文献:

- [1] Smith V H, Tilman G D, Nekola J C. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine and terrestrial eco-systems[J]. *Environmental Pollution*, 1999, 100: 169-179.
- [2] 刘光钊. 水体富营养及其藻害 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2005. 116-135.
- LIU Guang-zhao. Toxic cyanobacteria in water[M]. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2005. 116-135.
- [3] 李慧韞, 张天胜. 磷和水体富营养化[J]. 日用化学品科学, 2002, 25(5): 12-14.
- LI Hui-yun, ZHANG Tian-sheng. Phosphorus and eutrofication in water system[J]. *Detergent & Cosmetics*, 2002, 25(5): 12-14.
- [4] 谢明杰, 程爱华. 我国微生物肥料的研究进展及发展趋势[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(4): 42-45.
- XIE Ming-jie, CHEN Ai-hua. Advanced and development tendency of microbial fertilizer in China[J]. *Journal of Microbiology*, 2000, 20(4): 42-45.
- [5] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展[J]. 土壤肥料, 2001, 3: 7-11.
- ZHAO Xiao-rong, LIN Qi-mei. A review of phosphate-dissolving microorganism[J]. *Soils and Fertilizers*, 2001, 3: 7-11.
- [6] 国家环保局. 水和废水监测分析方法(第四版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 222.
- EPA. Methods for the monitoring and analysis of water and wastewater (4th, Editic)[M]. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2002. 222.
- [7] 郑传进, 黄林, 龚明. 巨大芽孢杆菌解磷能力的研究 [J]. 江西农业大学学报, 2002, 24(2): 190-192.
- ZHEN Chan-jin, HUANG Lin, GONG Ming. A study on the capacity of *Bacillus megaterium* in dissolving P compounds[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2002, 24(2): 190-192.
- [8] 赵小蓉, 林启美, 孙炎鑫, 等. 细菌解磷能力测定方法的研究[J]. 微生物学通报, 2001, 28(1): 1-3.
- ZHAO Xiao-rong, LIN Qi-mei, SUN Yan-xin, et al. The methods for quantifying capacity of bacteria in dissolving P compounds[J]. *Microbiology*, 2001, 28(1): 1-3.
- [9] Smith V H. The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: An empirical and theoretical analysis[J]. *Limnol Oceanogr*, 1982, 27: 1101-1111.
- [10] 吴重华, 王晓蓉, 孙昊. 羊角月牙藻的生长与湖水中几种磷形态关系的建立[J]. 环境化学, 1997, 16(4): 341-346.
- WU Chong-hua, WANG Xiao-rong, SUN Hao. Establishment of models between the growth of *Selenastrum Capricornutum* and several phosphorus fractions in the lake water [J]. *Environmental Chemistry*, 1997, 16(4): 341-346.
- [11] 王少梅. 武汉东湖沉积物中氮和磷释放试验 [J]. 水生生物学报, 1991, 15(4): 379-380.
- WANG Shao-mei. Experiment of release of nitrogen and phosphorus from sediment of Lake Donghu, Wuhan[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1991, 15(4): 379-380.
- [12] Michael R P, Martin T A, Eric L V, et al. Phosphorus diagenesis in lake sediments: investigation using fractionation techniques [J]. *Mar Freshwater Res*, 1995, 46: 89-99.
- [13] 王雨春, 万国江, 尹澄清, 等. 红枫湖、百花湖沉积物全氮、可交换态氮和固定铵赋存特征[J]. 湖泊科学, 2002, 14(4): 301-309.
- WANG Yu-chun, WAN Guo-jiang, YIN Cheng-qing, et al. Distribution of total, exchangeable and fixed nitrogen in the sediment of two lakes in Guizhou Province [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2002, 14(4): 301-309.
- [14] 杨龙元, 蔡启铭, 秦伯强, 等. 太湖梅梁湾沉积物-水界面氮迁移特征初步研究[J]. 湖泊科学, 1998, 10(4): 41-47.
- YANG Long-yuan, CAI Qi-ming, QIN Bo-qiang, et al. Characteristics of nitrogen removing between sediment-water interface in Meiliang Bay, Taihu Lake[J]. *Journal of Lake Sciences*, 1998, 10(4): 41-47.
- [15] 杨龙元, GARDNER W S. 休伦湖 Saginaw 湾沉积物反硝化率的测定及时空特征[J]. 湖泊科学, 1998, 10(3): 548-553.
- YANG Long-yuan, GARDNER W S. The sediment denitrification rates measurement and their spatial and temporal character analysis in Saginaw Bay, Lake Huron[J]. *Journal of Lake Sciences*, 1998, 10(3): 548-553.
- [16] 宋炜, 袁丽娜, 肖琳, 等. 太湖沉积物中解磷细菌的分布及其与碱性磷酸酶的关系[J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2355-2360.
- SONG Wei, YUAN Li-na, XIAO Lin, et al. ALPase activity and the distribution of phosphate solubilizing bacteria and the relationship between them in sediment of Lake Taihu [J]. *Environmental Science*, 2007, 28(10): 2355-2360.
- [17] 叶琳琳, 朱燕, 徐圣友. 微生物对巢湖沉积物生物可利用磷的稳定性影响[J]. 资源环境与工程, 2007, 21(3): 339-343.
- YE Lin-lin, ZHU Yan, XU Sheng-you. Effects of microbe on stability of bioavailable phosphorus in sediment of Chaohu Lake [J]. *Resources Environment & Engineering*, 2007, 21(3): 339-343.
- [18] 孙晓杭, 张昱, 张斌亮, 等. 微生物作用对太湖沉积物磷释放影响的模拟实验研究[J]. 环境化学, 2006, 25(1): 24-27.
- SUN Xiao-hang, ZHANG Yu, ZHANG Bin-liang, et al. Microbial effects on phosphorus release in Taihu Lake sediment [J]. *Environmental Chemistry*, 2006, 25(1): 24-27.

致谢: 杨健研究员对本文的研究给予了一定的帮助, 在此谨表谢意!