

武汉东湖磷细菌种群结构的研究*

李勤生 华俐

(中国科学院水生生物研究所,武汉)

提 要

对东湖磷细菌种群结构研究结果表明,至少有芽孢杆菌属、微球菌属、不动细菌属、气单胞菌属、产碱杆菌属、贝内克氏菌属、无色杆菌属、短杆菌属、肠杆菌属、黄杆菌属、微杆菌属、假单胞菌属、沙雷氏菌属、黄单胞菌属和发酵单胞菌属15个属的不同菌株以其对有机磷、无机磷化合物的分解能力推动着湖泊中磷的循环。其中以芽孢杆菌属和微球菌属居于明显的优势。

磷细菌在湖泊中的分布随水质的污染程度和磷化合物含量的不同而表现有明显的差别;在数量上,湖泥高于湖水,污染较重的I站高于水质较好的II站,在调查期间,有机磷细菌数在多数情况下亦高于无机磷细菌;在种群结构上,I站湖水中种类最多,III站次之,II站最少。

关键词 磷细菌,磷循环,种群结构,微生物生态

磷是控制湖泊富营养化的关键营养元素。它的存在形式、含量和转化速率对所在生态系统生物群落的结构与功能起着重要作用,因而磷的循环在生态系研究中居于重要地位。在此领域研究的最新进展表明,磷的循环过程较之以往的认识复杂得多。迄今,对其中许多重要环节了解仍然十分有限,特别是磷在低级食物链(细菌,浮游动、植物)中的生物学过程^[13,14]。因此,大量与磷循环有关的生物学定性、定量的研究是进一步从理论上阐明其机理与规律,在应用上模拟生态系行为所必需的重要内容。

细菌在磷循环中的作用早有论述^[4,5,9-12]。不少研究者对不同国家和地区磷细菌的数量、分布和季节变化等作过调查^[7-9];还有关于磷细菌在农业生产和污水去磷等应用方面的尝试^[15]。但在不同营养类型的水体中有关磷细菌种群结构,国内外尚未见有专门的研究报告,仅在文献中零星涉及到一些细菌种类。结构是功能的基础,了解磷细菌的种群结构将有助于进一步研究它们对磷化合物作用机理、转化速率与环境因子之间的相互关系,探讨可能的应用途径。为此,我们在对武汉东湖中大量菌株研究的基础上,提供一些湖泊生态系统中与有机磷矿化、无机磷分解有关的细菌种群结构的科学资料。

* 国家自然科学基金资助项目。

本文承武汉大学夏淑芬先生审阅,特此致谢。

武汉大学八四级洪葵、谢久永、胡江春、郑兴武、曹诚等同学曾参与部份实验。

1987年9月9日收到。

材料与方法

(一) 采样点

在东湖设三个采样点。I 站位于西部湖湾区，有大量生活污水流入；II 站位于郭郑湖中心区，水面开阔，环境相对稳定；III 站在小汤林湖区，周围为东湖风景区。采用 250 毫升无菌采样瓶，按常规方法采集水样。上层水样取自水面下 25 厘米处；下层水样则取自湖底以上 15 厘米处。湖泥采集按常规方法，用铝制采集器钻取湖泥。每月中旬采样，先后共计 6 次。样品采集后 4 小时内送实验室，细菌分离培养、计数与水质分析同步进行。

(二) 磷细菌的分离、计数和鉴定

1. 采用蒙金娜有机磷和无机磷培养基^[1]对样品中有机磷和无机磷细菌分别分离培养和计数。按常规十进位方法稀释样品，再取适宜稀释度样品 1 毫升，与培养基混合倾注于直径 9 厘米的培养皿中，30℃ 培养 7 天，对具有透明分解圈的菌落计数，取平行样品的平均值。

将有透明圈的菌落在营养琼脂上划线，进一步纯化后，按其形态、生理生化特性，参照一般细菌常用鉴定方法^[2]和伯杰细菌鉴定手册^[3](第八版)鉴定主属。

2. 将直接由营养琼脂上分离所得的异养细菌菌株分别接种在蒙金娜有机磷、无机磷细菌培养基上，以检测它们对不同磷化合物的分解能力。

(三) 水质分析

按水质检验常规方法测定各采样点有关的理化参数。其中总磷含量采用硫酸消解钼蓝比色法、正磷酸盐用直接钼蓝比色法测定，两者之差为有机磷含量。

结果与讨论

(一) 东湖磷细菌的数量和分布

1987 年 1—3 月调查结果表明，湖泥中磷细菌数量均高于湖水；I 站湖泥和湖水中的磷细菌数量均相应高于 II 站。除 1—2 月份，II 站湖泥中无机磷细菌数量高于有机磷细菌数量外，多数情况下，有机磷细菌较无机磷细菌数量为高(表 1)。

为验证上述结果和了解磷细菌在异养细菌中所占的比重，以推断它们在湖泊物质循环中的重要性，我们对 1986 年 7、8、11 月由东湖各站湖水中分离的异养细菌菌株作了磷化合物分解能力的检测。发现在三批不同时间和湖区的分离物中，具有分解无机磷或有机磷，或兼有此双重功能的菌株数占检测菌株总数的 20% 以上(表 2)。

(二) 东湖中磷细菌种类组成

在东湖 I、II、III 站各采上、下层水样，分离和鉴定其中磷细菌种类。取 I 站水样和湖

表 1 东湖中磷细菌的数量和分布

Tab. 1 The amount and distribution of phosphate dissolving bacteria (PDB) in Donghu Lake (Cell/mL)

样品 Sample	数量 Amount	日期 Date		1987, 1, 14		1987, 2, 14		1987, 3, 16	
		OPB*	IPB*	OPB	IPB	OPB	IPB	OPB	IPB
Station I 站	湖水 Water	450	80	9 100	1 600	9 100	900		
	湖泥 Sediment	48 000	30 000	45 000	19 500	41 000	6 000		
Station II 站	湖水 Water	24	9	500	150	600	98		
	湖泥 Sediment	135	2 000	2 500	6 500	9 000	1 000		

* OPB—organic phosphate dissolving bacteria (有机磷细菌)

IPB—inorganic phosphate dissolving bacteria (无机磷细菌)

表 2 磷细菌在东湖异养细菌中所占比重

Tab. 2 The proportion of PDB in the heterotrophic bacteria in Donghu Lake

日期 Date	检测菌株数 Number of tested strains	有机磷细菌数 Number of OPB	无机磷细菌数 Number of IPB	有机-无机磷细 菌数 Number of OP-IPB	磷细菌总数 Total of PDB	磷细菌/异养 细菌 PDB/HB* %
1986 7, 21	70	0	9	5	14	20.0
1986 8, 15	169	17	14	6	37	21.9
1986 11, 17	226	17	17	14	48	21.2
合计 Total	465	34	40	25	99	21.3
PDB/HB* %	100	7.3	8.6	5.4	21.3	

* HB—heterotrophic bacteria (异养细菌)

泥, 比较两者在种类组成上的差别。参加鉴定的菌株系以上各次采样收集的磷细菌, 并在实验条件下可重复其分解作用者。

研究结果表明: 至少有 15 属不同的菌株具有分解有机、无机磷化合物的功能(表3)。其中除芽孢杆菌属、微球菌属、黄杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、气单胞菌属、沙雷氏菌属等曾有报道外^[1,4,9,10,12], 其余尚属首次记载。但亦有的种类在文献中有过报道, 如埃希氏菌属 (*Escherichia*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*) 等, 在我们的研究中却未能发现。分析其原因, 除了所研究的生境不同, 地理环境因素各异之外, 还可能与分离方法、鉴定菌株的数量有关。以 Niewalak 对 Ilawa 湖磷细菌的研究为例, 仅对其中 10 个菌株作了鉴定, 分别归于芽孢杆菌属、微球菌属、埃希氏菌属、假单胞菌属和气单胞菌属 5 个属^[9]。又如 I 站湖泥中磷细菌数量虽大, 但其中多为芽孢杆菌

表3 东湖水体中磷细菌的种类组成和分布

Tab. 3 Species composition and distribution of PDB in the water columns of Donghu Lake

	I 站 Station I	II 站 Station II	III 站 Station III
上层水样 Upperlayer water sample	不动杆菌属 (<i>Acinetobacter</i>)	不动杆菌属 (<i>Acinetobacter</i>)	气单胞菌属 (<i>Aeromonas</i>)
	无色杆菌属 (<i>Achromobacter</i>)	黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>)	肠杆菌属 (<i>Enterobacter</i>)
	产碱杆菌属 (<i>Alcaligenes</i>)	微球菌属 (<i>Micrococcus</i>)	微球菌属 (<i>Micrococcus</i>)
	芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)	革兰氏阴性球菌株 (Gram negative coccus strain)	沙雷氏菌属 (<i>Serratia</i>)
	贝内克氏菌属 (<i>Beneckea</i>)		
	肠杆菌属 (<i>Enterobacter</i>)		
	黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>)		
	假单胞菌属 (<i>Pseudomonas</i>)		
	黄单胞菌属 (<i>Xanthomonas</i>)		
	发酵单胞菌属 (<i>Zymomonas</i>)		
下层水样 Underlayer water sample	芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)	不动杆菌属 (<i>Acinetobacter</i>)	不动杆菌属 (<i>Acinetobacter</i>)
	短杆菌属 (<i>Brevibacterium</i>)		芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)
			黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>)
			微球菌属 (<i>Micrococcus</i>)
			微杆菌属 (<i>Microbacterium</i>)

属的菌株,看来与分离培养磷细菌的条件有关,一些厌氧和微嗜氧的种类未能包括在内。因此,可以预料,在不断深入研究和积累之后,还将有新的补充。

表3清楚表明I站上层水样中磷细菌种类较之下层和II、III站丰富得多。I站下层水样中主要是不同种类的芽孢杆菌株。不动杆菌属、黄杆菌属的一些菌株在I、II、III站的上层或下层水样中均有发现;微球菌属主要出现在II站上层、III站上、下层水样中。肠杆菌属则出现在I、III站上层水样中。

I站湖水和湖泥中磷细菌的种类组成相差甚远。湖水中种类甚多,上、下水层中共发现有包括不动杆菌属等在内的11个属的不同菌株;而在湖泥中出现的除两株未能明确其分类位置的革兰氏阴性和革兰氏阳性杆菌外,其余均属芽孢杆菌属成员。

从经鉴定的66株磷细菌的分类地位、不同种类菌株的数量、推测它们在东湖中的优势种类,结果发现以芽孢杆菌属所占比例最高,达检测菌株总数的39.4%;微球菌属次之,为15.2%。其它种类则显然低于此两属。

按66株磷细菌功能,其中有机磷细菌27株,分别属于芽孢杆菌属、微球菌属、不动杆菌属、无色杆菌属、贝内克氏菌属5个属和两株未知菌,占检测菌株总数的40.9%;无机磷细菌23株,分别属于芽孢杆菌属、不动杆菌属、产碱杆菌属、肠杆菌属、气单胞菌属、

表 4 东湖磷细菌优势种类及其对磷化合物分解功能分析

Tab. 4 The dominant species of PDB and their function in dissolving phosphate in Donghu Lake

细菌属名 Name of Genus	无机磷细菌 IPB	有机磷细菌 OPB	有机-无机磷 细菌 OP-IPB	合计 Total	各属菌株/检 测菌株%
芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)	10	13	3	26	39.4
微球菌属 (<i>Micrococcus</i>)		7	3	10	15.2
不动杆菌属 (<i>Acinetobacter</i>)	2	3		5	7.6
产碱杆菌属 (<i>Alcaligenes</i>)	1		2	3	4.5
肠杆菌属 (<i>Enterobacter</i>)	2		1	3	4.5
黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>)	2		1	3	4.5
发酵单胞菌属 (<i>Zymomonas</i>)			3	3	4.5
气单胞菌属 (<i>Aeromonas</i>)	2			2	3.0
沙雷氏菌属 (<i>Serratia</i>)			2	2	3.0
假单胞菌属 (<i>Pseudomonas</i>)	1			1	1.5
黄单胞菌属 (<i>Xanthomonas</i>)			1	1	1.5
无色杆菌属 (<i>Achromobacter</i>)		1		1	1.5
短杆菌属 (<i>Brevibacterium</i>)	1			1	1.5
微杆菌属 (<i>Microbacterium</i>)	1			1	1.5
贝内克氏菌属 (<i>Beneckea</i>)		1		1	1.5
革兰氏阳性杆菌株 (Gram-positive bacterium)	1				
革兰氏阴性杆菌株 (Gram-negative bacterium)		1			
革兰氏阴性球菌株 (Gram-negative coccus)		1		3	4.5
合计 Total of PDB	23	27	16	66	
各类磷细菌数/检测磷细菌总数%	34.8	40.9	24.2	100	

黄杆菌属、假单胞菌属、短杆菌属、微杆菌属 9 个属和 1 株革兰氏阳性杆菌, 占检测菌株总数的 34.8%; 值得注意的是同一菌株, 兼有对有机磷、无机磷化合物分解作用者为数不少, 它们隶属于 8 个细菌属: 芽孢杆菌属、微球菌属、产碱杆菌属、肠杆菌属、黄杆菌属、发酵单胞菌属、沙雷氏菌属、黄单胞菌属, 占检测菌株总数的 24.2% (表 4)。

(三) 东湖磷细菌数量、种类组成与水质的关系

在东湖不同水域, 磷细菌无论在数量或种类组成上均表现有明显的差异 (表 1, 3)。

参照同步进行的水质分析结果，这种差异显然与水体污染和环境中磷的含量有关(表 5)。

东湖 I 站接近湖岸，受周围生活污水的影响比较严重。其中磷细菌数量高于 II 站，种类组成亦复杂得多，包括肠杆菌属在内的 11 个属的不同菌株。II 站则不仅数量低于 I 站，种类亦少，仅 3 个属和 1 株革兰氏阴性球菌(表 3)。

表 5 东湖 I、II 站水质、磷含量和磷细菌数量的比较

Tab. 5 Comparison of water quality, phosphoric compounds concentration and amount of PDB in Station I and II (1987, 1—3)

采样日期 Date	1987, 1, 14		1987, 2, 14		1987, 3, 16	
	I	II	I	II	I	II
采样站 Sampling station						
水深 Depth (m)	2.15	3.80	2.45	3.90	2.50	3.95
水温 Temperature (°C)	7.8	6.6	12.0	11.2	11.0	9.8
透明度 Transparency (cm)	60	100	50	100	40	120
酸碱度 pH	7.83	8.68	8.00	8.20	7.95	8.18
溶解氧 Dissolved oxygen (mg/L)	4.50	10.87	8.29	9.76	9.33	5.83
化学耗氧量 COD (mg/L)	9.69	5.05	4.40	3.59	4.63	2.97
总溶解氮 Total dissolved nitrogen (mg/l)	6.44	1.50	4.88	1.31	/	1.33
正磷酸盐 Orthophosphate (mg/L)	0.351	0	0.094	0	0.164	0
有机磷 Organic phosphorus (mg/L)	0.23	0.072	0.236	0.062	0.273	0.050
总磷 Total phosphorus (mg/L)	0.583	0.072	0.330	0.062	0.437	0.050
I、II 站总磷含量之比 I/II Total phosphorus	8.1	1.0	5.3	1.0	8.7	1.0
磷细菌数量 PDB (cells/mL)	530	33	10,700	650	10,000	698
I、II 站磷细菌数量之比 I/II PDB	16	1.0	16.5	1.0	14.3	1.0

如表 5 所示，I 站磷、氮和有机物含量均高于 II 站。I 站总磷含量为 II 站的 5.3—8.7 倍，磷细菌数量为 II 站的 14—16 倍；I 站有机磷含量为 II 站的 3.2—5.5 倍，有机磷细菌数量为 II 站的 15—18 倍。调查期间，II 站湖水中无机磷未能检出，I 站无机磷含量在 0.094—0.351 mg/L 范围，无机磷细菌数量 I 站为 II 站的 9—11 倍(表 1)。根据东湖历年化学分析资料，湖泥中磷含量均高于湖水，比较湖水和湖泥中的磷细菌数量，后者高于相应上层湖水的几倍乃至几百倍(表 1)。以上结果虽不能在环境磷含量与磷细菌数量之间作出定量关系的结论，因为磷细菌本身的生理状态和对磷化合物的分解和摄取过程，必

然还要受到其它环境因子(包括生物或理化因子)的影响,但是,磷细菌的数量和分布与环境中磷含量的高低表现了一致的趋势。这与 Niewalak 在 Ilawa 湖^[9]、Jana 及其同事^[8]在对不同池塘调查所获的结论是相似的。表明在不同时间和地区,在环境条件相差很大的水体中所反映的共同规律。

参 考 文 献

- [1] 许光辉、郑洪元主编, 1986。土壤微生物分析方法手册。农业出版社。
- [2] 中国科学院微生物研究所细菌分类组, 1978。一般细菌常用鉴定方法。科学出版社。
- [3] 张水元, 刘衡霞, 华俐, 1987。武汉东湖沉积物和沉积物间隙水中氮、磷含量及其分布。水生生物学报, 11(2): 131—138。
- [4] Alexander, M., 1978. Introduction to soil microbiology. 2nd ed. Wiley Eastern Ltd. p. 467. New Delhi.
- [5] Babenko, Yu. S., Tyrygina, G. I., 1984. Biological activity and physiologo-biochemical properties of bacteria dissolving phosphates. *Mikrobiologiya*, 53(4): 533—539.
- [6] Buchanan, R. E., Gibbons, N. E., 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- [7] Diab, A., Al-Gounaim, M. Y., 1984. Distribution of *Azotobacter*, *Actinomycetes*, cellulose-degrading, acid-producing and phosphate-dissolving bacteria in desert and salt marsh soils of Kuwait. *Zentralbl. Mikrobiol.*, 139(6): 425—433.
- [8] Jana, B. B., Patel, G. N., Kalyani, 1984. Spatial and seasonal variation of phosphate solubilizing bacteria in fish ponds of varying fish farming managements. *Arch. Hydrobiol.*, 101(4): 555—568.
- [9] Niewalak, S., 1971. The microbiological decomposition of tribasic calcium phosphate in the Ilawa Lake. *Acta Hydrobiol.*, 13(2): 131—145.
- [10] Ohtake, H., Takahashi, K., Tsuzuki, Y., et al., 1984. Phosphorus release from a pure culture of *Acinetobacter calcoaceticus* under anaerobic conditions. *Environ. Technol. Lett.*, 5(10): 417—424.
- [11] Sardina, M. G. et al., 1986. Solubilization of phosphate from low-grade minerals by microbial action. *Biotechnol. Lett.*, 8(4): 247—252.
- [12] Shinabarger, D. L., Schmitt, E. K., Braymer, H. D. et al., 1984. Phosphorus utilization by the glyphosate-degrading *Pseudomonas* sp. strain PG 2982. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48(5): 1049—1050.
- [13] Tarapchak, S. J., Czesia Nalewajko, 1986. Introduction: Phosphorus-plankton Dynamics Symposium. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43(2): 293—301.
- [14] —————, —————, 1986. Synopsis: Phosphorus-plankton Dynamics Symposium. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43(2): 416—419.
- [15] Wingfield, G. I. et al., 1985. Microbial immobilization of phosphorus as a potential means of reducing phosphorus pollution of water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34(4): 587—596.

POPULATION STRUCTURE OF THE PHOSPHATE DISSOLVING BACTERIA IN DONGHU LAKE, WUHAN

Li Qinsheng and Hua Li

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

Abstract

The population structure of the phosphate dissolving bacteria (PDB) in the Donghu Lake was studied.

66 PDB strains, including 27 strains of organic phosphate dissolving bacteria (OPB), 23 strains of inorganic phosphate dissolving bacteria (IPB) and 16 strains with both functions, were isolated from Stations I, II, and III of the Donghu Lake. According to their morphological, physiological and biochemical properties, they should belong to 15 bacterial genera, namely: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Beneckea*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Xanthomonas*, and *Zymomonas*, apart from 3 unidentified strains.

The species composition of PDB in the 3 sampling stations was quite different. 11 genera were isolated from Station I, 8 genera from Station III, and only 3 genera were found from Station II. *Bacillus* and *Micrococcus* are the dominant genera of PDB in this lake.

The amount, species composition and distribution of PDB vary with the degree of pollution and the content of phosphate compounds in the water column and the bottom deposit. There are much more PDB in sediments than in water columns. The polluted Station I contains more PDB. In most cases the number of OPB overrun that of IPB.

Key words Phosphate dissolving bacteria, Phosphorus cycling, Bacterial population structure, Microbial ecology