

天然水体中生物膜对水环境中 磷的生物地球化学过程影响

付长营^{1,2}, 方 涛¹, 邓南圣²

(1. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072; 2. 武汉大学 资源与环境学院, 湖北 武汉 430079)

[摘要] 介绍了生物膜及其发育形成机理, 生源要素磷与底泥、悬浮颗粒、藻类及细菌之间的相互作用, 生物膜中微生物对生源要素磷循环的作用及其检测方法。通过对该领域近几年最新研究成果的总结, 得出生物膜尤其是细菌对元素磷迁移转化的影响起着重要作用; 对今后研究重点作出展望, 在考虑生物膜存在的条件下, 深入研究沉积物、悬浮颗粒、藻类及细菌与磷循环的相互作用机制, 将有助于弄清楚水体富营养化发生的过程及机理。

[关键词] 底泥; 生物膜; 细菌; 磷; ³¹P NRM; TEM

[中图分类号] X131.2 [文献标识码] A [文章编号] 1672-6561(2006)03-0097-05

Influence of Biofilm on Phosphorus Biogeochemistry in Natural Aquatic System

FU Chang ying^{1,2}, FANG Tao¹, DENG Nan sheng²

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, Hubei, China;
2. School of Resources and Environmental Sciences, Wuhan University, Wuhan 430079, Hubei, China)

Abstract Biofilm, especially bacteria has a signify effect on the process of phosphorus transference. This paper present a review on the composition and progresses of biofilm studies recently, including the interaction between biogenic phosphorus and sediment, suspended particulate, alge, bacteria, the influence of microorganisms on the biogenic phosphorus circulation and their detection methods. The future emphasis of research should be placed on the interaction mechanism between biogenic matter phosphorus and sediment, suspended particulate, alge, bacteria, which could give further insight on the process and mechanism of eutrophication.

Key words: sediment; biofilm; bacteria; phosphorus; ³¹P NRM; TEM

0 引言

在自然环境条件下, 生物膜存在于几乎所有暴露于水中的固体表面上, 代表了一类微生物群体, 其中有各种寄居者如固着细菌、原生动物、真菌和藻类^[1-2]。这些生物的存在不仅改变了泥/水界面的物质输送和交换过程, 也改变了泥/水界面的微

生态环境。泥/水界面生物层的生物过程会影响界面的物理化学性质, 进而直接影响营养物质在该界面的交换和转化, 同时影响界面生物层的生物组成、数量和分布。因而, 水生态系统内生物膜已成为近年来的研究热点^[3-4]。目前研究多集中在重金属及有机污染物方面^[5-7], 对营养元素的研究在国内尚未见报道。水生态系统中营养物质的循环发生在沉积物中、沉积物-水界面、上覆水体, 主要包

[收稿日期] 2005-10-07

[基金项目] 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-111); 国家重点基础研究发展规划项目(2002CB412300); 国家863项目(2002AA601013)

[作者简介] 付长营(1979-), 男, 天津人, 硕士研究生, 从事生物地球化学研究。

括有机质的分解与合成、氧化、还原、沉淀、溶解、吸附、解吸等。其中,生物膜发挥了重要作用。因此,研究生物膜与磷行为之间的关系具有重要的生态学意义。

1 生物膜的定义及天然水体中生物膜的形成

浸没在河流或湖泊中的表面常常被藻类、真菌、细菌及分泌的多聚合物基质和碎石中的单细胞生物聚集定居,而这些附着在底泥、石块、悬浮颗粒物和其他表面的物质就是生物膜^[8](图 1)。

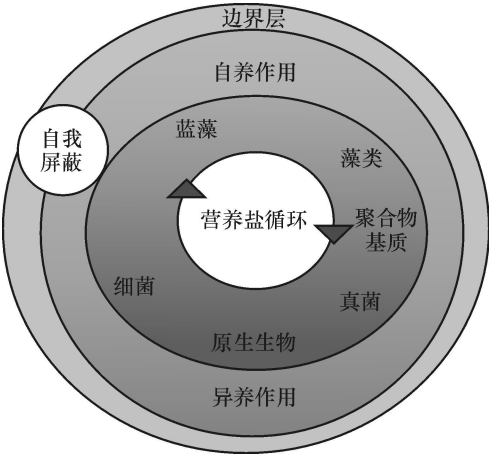


图 1 生物膜的构成
Fig. 1 The Structure of Biofilm

图 1 是生物膜一种狭义的表述,即自养生物(蓝藻和其他藻类)和异养生物(细菌、真菌和原生生物)在多聚合物基质中的简单组合。生物膜也能控制自己的微环境,比如在主体循环中包括自我屏蔽及营养盐在自养细胞和异养细胞间的循环。生物膜所产生的微环境的边缘层就是图中的灰色边缘带。

它们对环境条件的改变非常敏感,影响水环境中生物膜形成的主要因素是水文条件、基质类型、营养水平和光照条件。生物膜发育形成的条件和时间序列大致为^[9]:①存在着清洁的可用于聚居的固体表面;②一种有机分子膜快速形成;③聚结的细胞松散地附着;④聚居的细菌牢固地附着;⑤微生物群落形成,产生胞外聚合物;⑥群落向上和向外扩展,形成规则和不规则结构;⑦生物膜成熟,新的菌种进入生物膜并生长,有机和无机碎片被结合,并且形成溶液梯度,导致了生物膜空间的异相结构;⑧生物膜可能被噬细菌的原生动物捕食;⑨成熟的生物膜可以脱落,使这种循环交替地重复

进行;⑩形成了一种顶级群落。

2 水环境中的磷循环

2.1 沉积物-水界面的磷循环

沉积物-水界面营养物质的生物地球化学行为对湖泊尤其是浅水湖泊的水环境质量与生态系统有着极为重要的影响。长期以来,国内外学者对污染物的水-沉积物界面过程开展了诸多的研究,如采用放射性磷进行跟踪研究^[10]、柱状原样室内模拟实验法^[11-13]、原位围隔模拟实验法^[14]等,但绝大多数的研究主要考虑在水与沉积物两相之间进行的行为与过程,是基于水-沉积物界面“二相结构”这一基础上开展的,而没有考虑生物在界面的存在与作用,这样得出的许多结论可能存在偏差。最近有学者提出,在水-沉积物界面过程研究中应当充分考虑生物相的存在与作用,并进行了一些初步研究^[15]。沉积物中磷的存在形态和形式也影响其参与水体生物地球化学循环的进程和途径以及对磷循环的贡献大小,因而,可通过对磷形态研究来揭示沉积物中磷的生物地球化学循环。

2.2 悬浮颗粒物与磷循环

湖泊富营养化机理的研究已经有很长的历史,对于 C、N、S、P 等生源要素的循环,以往研究只注重沉积物方面的部分,这些生源要素进入水体后,与水体中悬浮颗粒物的相互作用几乎还是空白。湖泊上覆水中悬浮颗粒态物质与上覆水间的界面是湖泊生态系统中很少被关注的界面,但这一界面的物质交换对上覆水的影响作用日益受到科学界的重视。蓄积在沉积物中的营养物质在一定条件下通过形态变化、界面特性改变与释放等途径严重影响上覆水的质量。特别在浅水湖泊中,被污染的沉积物在水动力条件(潮汐、风、波浪、地震、航运、疏浚工程等)和生物扰动作用(底栖、钻孔等)下又可被扬起而形成悬浮颗粒,有研究表明沉积物再悬浮过程是贮存在沉积物中的污染物向上覆水中释放造成二次污染以及营养盐输移的^[16-17]。2000 年 Bostan V 等研究了多瑙河德耳塔底部沉积物和悬浮液中颗粒态磷酸盐的形态^[18]。2004 年,王芳等研究了长江输送颗粒态磷的生物可利用性及其环境地球化学意义^[19]。但这些研究都忽视了悬浮颗粒物表面生物膜存在对磷迁移转化的影响。

2.3 藻类与磷循环

富营养化湖泊的一个显著特征就是出现了藻类水华, 虽然影响藻类暴发的机理比较复杂, 但磷仍被认为是水体浮游藻类的限制性营养元素, 其水体含量与湖泊的营养程度密切相关。藻类的繁盛与沉积物中营养元素的生物地球化学循环有重要联系。藻类可减弱沉积物中再生的营养物质从沉积物-水界面释放, 并隔离吸收可能进入水体而促进沉积物表层物质循环的营养物质。藻类的光合作用消耗 CO_2 使上覆水 pH 值升高, 同时放出 O_2 , 使上覆水溶解氧出现过饱和现象。死亡后的藻体被微生物分解, 消耗溶解氧。藻类除了通过影响 pH 值和溶解氧而间接影响释磷外, 藻类对磷的吸收使上覆水磷浓度下降, 维持间隙水与上覆水之间的磷浓度梯度, 从而有利于沉积物中的磷向上覆水扩散。由于不同藻类种群之间及藻与营养元素之间存在着复杂的响应机制以及人们对各种藻类的营养生理及种群增殖机制了解的不透彻, 虽然国内外对此都已经进行了非常广泛的研究, 但得出的结论仍存在争议^[20-21]。藻类存在时, 磷在沉积物、水、悬浮物之间的迁移转化过程变得更加复杂, 目前尚缺乏这方面的研究。

3 生物膜对磷循环的影响

上述研究表明, 泥-水界面间的磷交换十分复杂, 包括物理、化学和生物的作用, 而直到现在, 磷在泥-水界面的转化才被认为是生物过程为主^[22], 以前只是认为底泥中的细菌间接影响了在氧化还原环境中磷的转化, 大量有关磷释放方面的研究忽视了沉积物中微生物的直接影响^[23]。1993 年, Thomas W 等研究了有氧和厌氧条件下沉积物中假单胞菌对磷的合成与释放^[24]。1994 年, 尹大强等研究了有、无微生物活动对沉积物磷释放的影响^[12]。1995 年, Hupfer M 等研究了利用³¹P NRM 为工具鉴定湖泊沉积物中的多磷酸盐^[25]。2002 年, Aazam K 等的研究表明, 沉积物中细菌能够将磷以多磷酸盐的形态储存起来^[23]。2003 年, 东野脉兴等通过实验得出云南滇池微生物对磷循环与沉积的重要作用^[26]。由以上大量研究和生物膜的定义可知, 微生物对元素磷迁移转化的影响起着主要作用。

在湖泊泥-水界面间的磷循环过程中, 微生物

起着重要的作用。一方面, 它们是湖泊生态系统的重要组成部分, 其数量和种类影响着磷元素的生物地球化学循环, 其体内的缩合磷酸盐最高可占沉积物有机磷的 50% 左右; 另一方面, 微生物可对环境中各种形态的磷进行转化, 分散于湖泊中各种形式的磷, 包括离子态、无机盐类、有机化合物(生物体内的磷蛋白、磷脂、核酸等)及矿物态(各种磷灰石、胶磷矿)等形式, 无论是无机还是有机的一切形式的不溶性磷, 都可以在解磷微生物的作用下不同程度地转化为可溶性磷, 这种分散态的可溶性磷被聚磷菌过量摄取, 当这些微生物死亡后会重新分解, 一部分磷素重新释放回水体, 另一部分在沉积界面上在氧化和氧化性强的微生物作用下生成难溶的磷酸盐沉积湖底, 或者当死亡的微生物沉积速率大于分解速度时, 磷也在底泥中聚集。当然, 细菌也会间接对磷的释放起作用。大量事实表明, 磷酸盐从底泥相向水相的迁移过程在很大程度上取决于泥水界面的氧化还原电位, 细菌通过消耗氧降低水体中的氧化还原电位, 以加大铁磷的释放。在磷降解菌存在的情况下, 三价铁被直接还原为二价铁, 原来吸附在铁氧表面的磷被释放。硫降解菌存在的情况下, 硫酸盐被还原为硫化物, 这个强烈的还原过程可以促进铁的还原释放。在贫营养化湖泊中, 底泥中的细菌矿化有机磷化合物没有营养化湖泊效率高。一般认为, 能对磷溶解、转化、迁移、聚集、沉积的微生物主要有解磷菌和聚磷菌两类, 通过对解磷菌和聚磷菌的种群和数量与底泥及水体中磷含量之间关系的研究表明, 当解磷菌的种群与繁衍量大于聚磷菌的种群和繁衍量时, 底泥中的磷向水体迁移, 反之, 水体中的磷向底质迁移、聚集^[26]。然而, 这只是通过对沉积物中的细菌分离后培养, 然后对培养菌研究得出的结论, 而实际自然环境十分复杂, 很多条件是很难模拟的。

4 不同磷形态的检测方法

微生物与生源要素地球化学过程的多学科交叉研究是湖泊研究的一大方向, 但由于技术手段的限制, 过去微生物氮磷代谢内部机制的研究发展缓慢。虽然可以应用生物标志物如可提取性磷脂表征沉积物中微生物的总生物量^[27], 但在水生态系统中, 传统分析微生物群落结构的方法基于微生物的分离培养, 能被分离培养的微生物种类只占自然界



图 2 沉积物中细菌的电镜照片显示两个清晰的多磷酸盐颗粒(0.5 μm)^[29]

Fig.2 TEM Micrograph of Bacteria with Two Visible Black Poly P Granules from Sediment

微生物总量的 1% 左右^[28],故其应用受到了很大限制。十余年来日益成熟的分子生物学分析如 CR 扩增技术、荧光原位杂交、克隆文库法等给群落结构的解析带来了可能。综合应用电镜技术及流式细胞仪可以较准确地监测出微生物的种类。聚磷菌细胞内所含的无机多磷酸盐的存在及位置可以通过 TEM 和³¹P NRM 来测定。微生物是以多磷酸盐的形式储备的(图 2)。

近年来,Barbara J 等^[30]及 Benjamin L 等^[31]利用³¹P NRM 为工具成功地鉴定了微生物中各种不同形态的磷,为研究磷在生物膜中的转化机制提供了可能。在环境样品研究中的磷化合物(有机或无机的)的³¹P NRM 化学位移一般落在(25 ~ -25)×10⁻⁶之间,如图 3。其他包括磷酸盐及 C-P 结合物,出现在 20×10⁻⁶;正磷酸盐,出现在(5~7)×10⁻⁶;正磷酸盐单脂及单 C 族/P,出现在(3~6)×10⁻⁶;正磷酸盐二酯,包括磷脂和脱氧核糖核酸

(DNA),出现在(2.5 ~ -1)×10⁻⁶,焦磷酸酯出现在(-4 ~ -5)×10⁻⁶;多磷酸盐出现在-20×10⁻⁶。由于³¹P 是唯一自然产生的 P 的同位素,因此,从理论上讲,同一个样品中所有磷的形态都能被 NRM 谱图检测到。

综上所述,很多学者认为底泥中细菌可以储备多磷酸盐,并应用两种独立的方法—³¹P NRM 和 TEM 定量地验证了富营养化水体底泥中多磷酸盐的存在。由于多磷酸盐在低温情况下,并不能进行非生物的合成,并且很可能在适当的 pH 值及所需酶在底泥中存在的情况下,迅速水解。多磷酸盐必须是底泥中生长的微生物或由水体转向底泥表面定居的微生物的一部分。细菌的数量会随着底泥深度的增加而迅速减小^[32],细菌在有氧环境下储存多磷酸盐,厌氧条件下分解多磷酸盐^[23],底泥多磷酸盐的含量也可能随着底泥深度的增加而迅速减小。细菌对多磷酸盐的储存是底泥中磷一个重要的枢纽。因此,研究浮游细菌与底泥中细菌对沉积物中磷及释放出来的磷的作用将是以后的重要研究方向。

5 结语

水生生态系统中生源要素磷的生物地球化学循环研究是当前国际研究的热点和前沿领域之一。

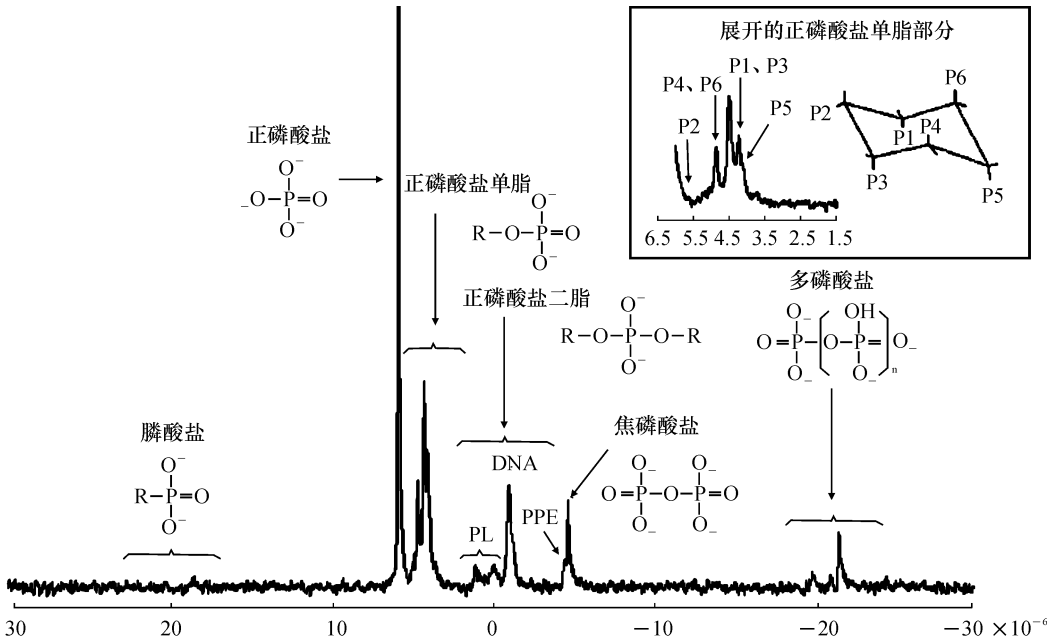


图 3 磷化合物的³¹P NRM 谱图

Fig.3 The ³¹P NRM Spectroscopy of P Compounds

在水环境中, 营养盐的迁移转化及最终归宿都可能受到生物膜的影响; 生物膜形成隔离层, 营养盐接触到支撑生物膜的基底之前, 必须与生物膜发生作用; 颗粒物表面吸附作用在水中营养盐的迁移过程中也起着决定性作用; 而水体中营养盐的含量直接影响着藻类的生长繁殖。因此, 在考虑生物膜存在的条件下, 深入研究沉积物、悬浮颗粒、藻类及细菌与磷循环的相互作用机制, 将有助于弄清楚水体富营养化发生的过程及机理。

[参 考 文 献]

[1] Hunt A P, Parry J D. The Effect of Substratum Roughness and River Flow Rate on the Development of a Freshwater Biofilm Community [J]. Biofouling 1998, 12 (4): 287 - 303.

[2] Fuchs S, Haritopoulou T, Wilhelmi M. Biofilm in Freshwater Ecosystem and Their Use As a Pollutant Monitor Water [J]. Sci Technol 1996, 34(7/8): 137 - 140.

[3] 王文军, 王文华, 黄亚冰, 等. 生物膜的研究进展[J]. 环境科学进展, 1999, 7(5): 43 - 51.

[4] 王文军, 王文华, 张学林, 等. 水环境中生物膜对污染物环境化学行为的影响[J]. 环境科学进展, 1999, 7(6): 58 - 65.

[5] 董德明, 杨帆, 李鱼, 等. 湖水中的颗粒物对水体生物膜吸附铅、镉的影响[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(7): 1240 - 1244.

[6] 董德明, 杨帆, 李鱼, 等. 自然水体生物膜吸附 Co, Ni 和 Cu 的特征研究[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(2): 247 - 251.

[7] 李久义, 栾兆坤, 朱宝霞, 等. 胶体态有机物对生物膜硝化过程的影响[J]. 环境科学, 2003, 24(5): 70 - 74.

[8] Burns B A, Ryder D S. Potential for Biofilms As Biological Indicators in Australian Riverine Systems[J]. Ecological Management and Restoration, 2001, 2(1): 53 - 63.

[9] Wimpenny J. Ecological Determinants of Biofilm Formation [J]. Biofouling, 1996, 10 (1/3): 43 - 63.

[10] Rigler F H. A Tracer Study of the Phosphorus Cycles in Lake Water[J]. Ecology, 1956, 37: 550 - 562.

[11] 汪家权, 孙亚敏, 钱家忠, 等. 巢湖底泥磷的释放模拟实验研究[J]. 环境科学学报, 2002, 22(6): 738 - 742.

[12] 尹大强, 覃秋荣, 阎航. 环境因子对五里湖沉积物磷释放的影响[J]. 湖泊科学, 1994, 6(3): 240 - 244.

[13] 朱广伟, 陈英旭, 周根娣, 等. 运河(杭州段)沉积物磷释放的模拟试验[J]. 湖泊科学, 2002, 14(4): 343 - 349.

[14] 韩伟明. 底泥释磷及其对杭州西湖富营养化的影响[J]. 湖泊科学, 1993, 5(1): 71 - 77.

[15] 金相灿, 王圣瑞, 姜霞. 湖泊水-沉积物界面三相模式的初步研究[J]. 环境科学研究, 2004, 17(增刊1): 1 - 5.

[16] Scarlatos P D. Experiments on Water Sediment Nutrient Partitioning Under Turbulent, Shear and Diffusive Condi-

tions [J]. Water, Air and Soil Pollution, 1997, 99: 411 - 425.

[17] 张路, 范成新, 秦伯强, 等. 模拟扰动条件下太湖表层沉积物磷行为的研究[J]. 湖泊科学, 2001, 13(1): 35 - 42.

[18] Bostan V, Dominik J, Bostina M, et al. Forms of Particulate Phosphorus in Suspension and in Bottom Sediment in the Danube Delta[J]. Lakes and Research and Management, 2000, 5: 105 - 110.

[19] 王芳, 晏维金. 长江输送颗粒态磷的生物可利用性及其环境地球化学意义[J]. 环境科学学报, 2004, 24(3): 418 - 422.

[20] 王宝利, 刘丛强. 水体藻类的生物地球化学[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2004, 23(1): 79 - 82.

[21] Nan Chunrong, Dong Shuanglin, Jin Qiu. Test of Resource Competition Theory between Microalga and Macroalga under Phosphate Limitation[J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(3): 282 - 288.

[22] Rolf C, Gunnar E, Charlotta D. Distribution of Organic and Inorganic Phosphorus Compounds in Marine and Lacustrine Sediments: A ³¹P NMR Study [J]. Chemistry Geology, 2000, 163: 101 - 114.

[23] Aazam K, Barry T H, Anabelle D, et al. Luxury Uptake of Phosphorus by Sediment Bacteria[J]. Water Res, 2002, 36: 774 - 778.

[24] Tomas W, Mats J, Kurt P. Phosphorus Composition and Release in Sediment Bacteria of the Genus *Pseudomonas* During Aerobic and Anaerobic Conditions[J]. Hydrobiologia, 1993, 253: 131 - 140.

[25] Hupfer M, Gächter R, Ruegger H. Polyphosphate in Lake Sediments: ³¹P NMR Spectroscopy as a Tool for Its Identification[J]. Limnol Oceanogr, 1995, 40: 610 - 617.

[26] 动脉滕兴, 樊竹青, 张灼, 等. 云南滇池微生物对磷循环与沉积作用的实验研究[J]. 化工矿产地质, 2003, 25(2): 65 - 75.

[27] 陈进才, 林庆梅, 郑天凌, 等. 应用可提取性磷脂表征沉积物中微生物的生物量[J]. 台湾海峡, 1999, 18(4): 407 - 412.

[28] Amann R L, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic Identification and In-situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation[J]. Microbiol Rev, 1995, 59(1): 143 - 169.

[29] Gerard J J K, Klaas J A. Biology of Polyphosphate accumulating Bacteria Involved in Enhanced Biological Phosphorus Removal[J]. FEMS Microbiology Review, 1994, 13(2/3): 137 - 153.

[30] Barbara J, Cade Menun. Characterizing Phosphorus in Environmental and Agricultural Samples by ³¹P Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy[J]. Talanta, 2005, 66(2): 359 - 371.

[31] Benjamin L, Nathalie M, Leo M C. Phosphorus ³¹P Nuclear Magnetic Resonance Assignments of Phosphorus Compounds in Soil NaOH-EDTA Extracts[J]. Soil Sci Soc Am J, 2003, 67: 497 - 510.

[32] Gächter R, Meyer J S, Marea A. Contribution of Bacteria to Release and Fixation of Phosphorus in Lake Sediment[J]. Limnol Oceanogr, 1988, 33: 1542 - 1558.