

# 太湖人工生态系统中氮循环细菌分布<sup>\*\*</sup>

王国祥 濮培民 黄宜凯 张圣照

(中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

**提 要** 对太湖五里湖的以水生高等植物为主的湖泊人工生态系统, 用最大可能数(MPN)法, 测定了该系统内各种生态类型水生高等植物群落内的 4 类氮循环细菌的分布. 结果表明, 反硝化细菌的最大可能数(MPN), 在水生高等植物群落内水体中较敞水区湖水高 2-5 个数量级, 差异极显著( $P < 0.01$ ), 漂浮植物群落内水体的反硝化细菌 MPN 值较沉水和浮叶植物群落内水体高 2-3 个数量级, 差异极显著( $P < 0.01$ ); 硝化细菌 MPN 值, 敞水区湖水高于凤眼莲、水花生群落内水体, 差异显著( $P < 0.05$ ), 菱群落与其他群落比较, 亦有极显著性差异( $P < 0.01$ ); 亚硝化细菌 MPN 值, 在水生高等植物群落内的水体中较敞水区高 3-4 个数量级, 差异极显著( $P < 0.01$ ); 氨化细菌 MPN 值, 在水生高等植物群落内的水体中高于敞水区水体. 除硝化细菌外, 反硝化、亚硝化及氨化细菌均在根际处最为密集, 且由根际向外呈现递减趋势.

**关键词** 细菌 水生高等植物 氮循环 人工生态系统 太湖

**分类号** Q178.1

用水生高等植物净化污水, 已被证明是有效的办法并得到广泛应用. 以往的研究普遍认为, 水生高等植物通过分解、吸收和截留水体中氮素, 有效去除水体氮素污染. 但是, 对水生高等植物根际氮循环细菌分布及其作用的研究却很少.

众所周知, 在氮素循环过程中, 微生物起着关键的作用<sup>[1-3]</sup>. 氮循环过程包括生物固氮、氨化、硝化、反硝化及同化等作用, 其中生物固氮、氨化、硝化及反硝化是微生物的特有过程. 对稻田氮循环研究表明: 由硝化—反硝化细菌所引起的硝化—反硝化作用是土壤、湿地中氮素损失的重要机制之一<sup>[4-6]</sup>. 在湿地究中, 国外提出了根区法, 认为根际微生物在湿地植物根际的氧化—还原微环境中, 进行着硝化—反硝化作用, 促进了湿地氮素释放<sup>[7,8]</sup>. 因此, 研究湖泊生态系统中氮循环细菌的分布, 对于深入研究湖泊氮循环过程, 对于利用氮循环细菌促进湖水氮素释放及富营养化防治, 均具有重要意义.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集及样品处理

在试验区中不同水生高等植物群落内及无水草的敞水区, 按标准方法<sup>[9]</sup>直接采集细菌水样; 并同时离凤眼莲群落根际 10cm、30cm 处用无菌针筒采集细菌水样. 采集凤眼莲根样, 在

\* 欧盟(No. C11 \* - CT93 - 0004(DG12 - HSMU))资助项目.

收稿日期: 1998 - 02 - 17; 收到修改稿日期: 1998 - 04 - 25. 王国祥, 男, 1963 年生, 高级工程师.

\*\* 本文图表缩写符号: T——菱(*Trapa bispinosa*); E——凤眼莲(*Eichhornia crassipes*); A——水花生(*Alternanthera philoxeroides*); N——荇菜(*Nymphoides peltata*); El——伊乐藻(*Elodea Nuttallii*); H——轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*); no——无植物敞水区(no plants).

实验室,经无菌处理<sup>[10]</sup>,分别获得根际菌和根面菌的菌悬液,与水样同法测氮循环细菌数量.

## 1.2 氮循环细菌的测定——MPN 法

用最大可能数(MPN)法测定水样中硝化、亚硝化、氨化及反硝化细菌的数量<sup>[11-14]</sup>.分别配制硝化、亚硝化、氨化及反硝化细菌培养基<sup>[12,13]</sup>,调节 pH 值,分装于 150mm×14mm 的试管中(装氨化和反硝化细菌培养基的试管内倒置 30mm×5mm 的小指管),加塞,用高压锅在 121℃ 下灭菌 20min.每个水样作 3-4 倍系列稀释,分别接种水样和稀释水样各 1mL,每一稀释度做 5 个平行.在 28±1℃ 条件下,氨化细菌、反硝化细菌培养 15d,硝化和亚硝化细菌培养 30d.以红石蕊试纸、纳氏试剂、格里斯(Griess)试剂、二苯胺试剂、醋酸-硫酸亚铁试剂等检测各种形态氮的产生和消失情况,定期观测发酵管内发酵、产气情况<sup>[12-14]</sup>.

根据阳性试验管数量 MPN 表<sup>[9]</sup>,用下列公式换算成每升样品的 MPN 值.

MPN 值 = MPN 指数 × [10(mL) ÷ 接种量最大的一管样品量(mL)]

根样及根表附着物样,亦用上式换算成每千克鲜样品的 MPN 值.

## 2 实验结果

### 2.1 敞水区与水生高等植物群落内氮循环细菌分布的比较

在水生高等植物群落内,水体中反硝化细菌最大可能数(MPN)明显高于无水生高等植物覆盖的敞水区湖水,平均高 2-5 个数量级(图 1、表 1).Q 检验结果表明,各种水生高等植物群落内反硝化细菌最大可能数与敞水区比较均有极显著性差异( $P < 0.01$ ).

表 1 各种水生高等植物群落内外氮循环细菌最大可能数(MPN/L)的几何均值

Tab.1 Geometric mean of MPN of nitrogen cycle bacteria in vegetated and unvegetated water

细菌	T	E	A	N	El <sup>+</sup>	H <sup>+</sup>	no
反硝化菌	$3.99 \times 10^4$	$8.44 \times 10^6$	$2.18 \times 10^7$	$4.94 \times 10^5$	$2.50 \times 10^5$	$2.50 \times 10^4$	$2.61 \times 10^2$
硝化菌	$2.92 \times 10^4$	$1.48 \times 10^2$	$1.61 \times 10^2$	$8.07 \times 10^2$	$9.00 \times 10^3$	$1.70 \times 10^4$	$3.08 \times 10^3$
亚硝化	$4.25 \times 10^6$	$7.57 \times 10^5$	$2.11 \times 10^5$	$4.60 \times 10^5$	$9.00 \times 10^6$	$4.50 \times 10^6$	$1.68 \times 10^2$
氨化菌	$2.62 \times 10^5$	$1.30 \times 10^5$	$1.40 \times 10^5$	$9.94 \times 10^4$	$1.40 \times 10^3$	$1.40 \times 10^3$	$4.28 \times 10^3$

\* 仅 1 次测定值,不参与方差分析.

在敞水区,硝化细菌 MPN 值略高于凤眼莲、水花生及苻菜群落内的水体(图 2、表 1).在水生高等植物群落内,水体中亚硝化细菌 MPN 值比敞水区湖水高 3-4 个数量级(图 3、表 1).Q 检验结果表明,各种水生高等植物群落内亚硝化细菌最大可能数与敞水区比较均有极显著性差异( $P < 0.01$ ).而菱、凤眼莲、水花生及苻菜群落内氨化细菌 MPN 略高于敞水区,但差异性并不显著( $P > 0.05$ ,图 4、表 1).

### 2.2 不同生态类型水生高等植物群落内水体氮循环细菌分布的比较

反硝化细菌的分布,在漂浮植物凤眼莲和水花生群落内水体中明显高于浮叶植物菱、沉水植物伊乐藻、轮叶黑藻群落内的水体(图 1、表 1),平均高 2-3 个数量级.Q 检验结果表明,漂浮植物凤眼莲与水花生、浮叶植物菱与苻菜群落内水体的反硝化细菌 MPN 值之间均无显著性差异( $P > 0.05$ );而凤眼莲与菱及苻菜、水花生与菱及苻菜群落内水体的反硝化细菌 MPN 值之间均有显著性差异( $P < 0.01$ ).

硝化细菌 MPN 值,在菱及沉水植物(轮叶黑藻和伊乐藻)群落内的水体中较高(图 2、表 1);Q 检验结果表明,菱与凤眼莲、水花生及苻菜群落内的水体硝化细菌 MPN 比较均有极显

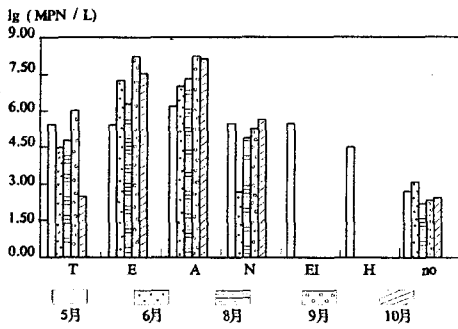


图 1 不同水生高等植物群落内反硝化细菌分布(1997年)

Fig.1 Distribution of denitrifying bacteria in different macrophytes, 1997

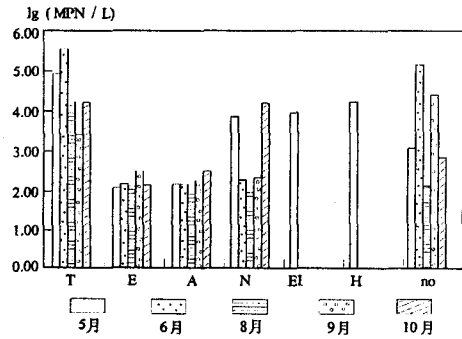


图 2 同一水生高等植物群落内硝化细菌分布(1997年)

Fig.2 Distribution of nitrobacteria in different macrophytes, 1997

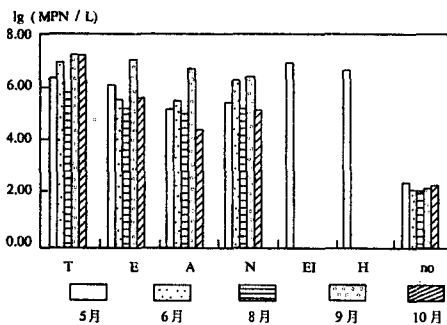


图 3 不同水生高等植物群落内亚硝化细菌分布(1997年)

Fig.3 Distribution of nitrosobacteria in different macrophytes, 1997

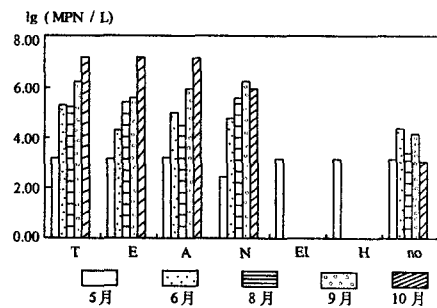


图 4 不同水生高等植物群落内氨化细菌分布(1997年)

Fig.4 Distribution of ammonifying bacteria in different macrophytes, 1997

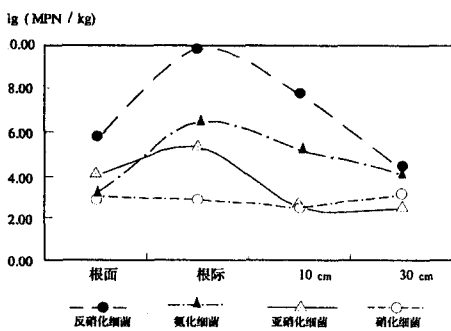


图 5 凤眼莲根际周围氮循环细菌分布

Fig.5 Nitrogen cycle bacteria distribution in the root-zone of water hyacinth and water

显著性差异( $P < 0.01$ ),而在其余群落之间无显著性差异( $P > 0.05$ ).

亚硝化细菌分布,除在菱与水花生群落内的水体之间有显著性差异( $P < 0.05$ )外,在其余群落内的水体之间均无显著性差异( $P > 0.05$ ). Q 检验结果还表明,各群落的水体之间,氨化细菌最大可能数均无显著性差异( $P > 0.05$ ).

### 2.3 水生高等植物根际周围氮循环细菌的分布

为了便于比较,将水样、根际附着物样及根系的 MPN 值均以  $MPN \cdot kg^{-1}$  表示(1L 水视为 1kg)<sup>[15]</sup>.由图 5 可见,除硝化细菌外,氨化、反硝化及亚硝化细菌在凤眼莲根际上密度均高于根表面及远离群落根际的区域,尤其是反硝化细菌根际高于根表面 4 个数量级、较远离群落根际

10cm 和 30cm 处分别高 2 个和 5 个数量级;根际氨化细菌和亚硝化细菌较根表面分别高 3 和 2 个数量级,较远离群落根际处亦分别高 2-3 个数量级。

### 3 讨论

国内外的研究业已证明,反硝化作用,在有水生植物生长的湿地或水体中较无水生植物生长的湿地或水体强烈<sup>[6-8,11]</sup>。本研究结果表明,反硝化细菌在水生高等植物群落内水体中明显高于敞水区湖水,在漂浮植物群落内水体中明显高于沉水和浮叶植物群落内水体;而且漂浮植物群落内的水体,由于受其上群落的覆盖影响,溶解氧较低,处于相对缺氧状态(0.19 - 0.90mg·L<sup>-1</sup>)。这一研究结果进一步揭示,正是由于水生高等植物群落内存在密集的反硝化细菌及有利的反硝化微环境,所以反硝化作用特别强烈。

水生高等植物是水体氮循环细菌的重要载体。研究结果表明,反硝化、亚硝化及氨化细菌在水生高等植物群落内的水体中均高于敞水区,而且在植物根际处最为密集。这说明,水生高等植物是水体反硝化、亚硝化及氨化细菌的重要载体。用水生高等植物净化受污水体,由于同时引入了大量的氮循环细菌,从而促进了水体氮循环过程,增强了水体自净功能。

最大可能数(MPN)法测定硝化及亚硝化细菌的培养时间。Matulewich<sup>[12]</sup>曾研究了水和沉积物的硝化及亚硝化细菌 MPN 值随培养时间延长(5-113d)的变化情况,他的研究表明,亚硝化细菌 MPN 值在培养 20-30d 后基本不再变化,而硝化细菌 MPN 值在培养到 113d 时仍有增加趋势,但从他的试验结果看,30d 与 40d 的硝化细菌 MPN 值呈显著相关( $\gamma = 0.9865 < \gamma_{(4,0.001)}$ ),30d 与 70d 的结果亦呈显著性相关( $\gamma = 0.9919 < \gamma_{(4,0.001)}$ )。因此,可以用 30d 的测定结果比较硝化细菌的分布差异。

### 4 结论

研究结果表明,太湖人工生态系统中,水生高等植物群落内水体氮循环细菌具有明显的分布特征。反硝化细菌的最大可能数(MPN),在水生高等植物群落内水体中较敞水区湖水高 2-5 个数量级,差异极显著( $P < 0.01$ ),漂浮植物群落内水体的反硝化细菌 MPN 值较沉水和浮叶植物群落内水体高 2-3 个数量级,差异极显著( $P < 0.01$ )。硝化细菌 MPN 值,敞水区湖水高于凤眼莲、水花生群落内水体,差异显著( $P < 0.05$ ),菱群落与其他群落比较,亦有极显著性差异( $P < 0.01$ )。亚硝化细菌 MPN 值,在水生高等植物群落内的水体中较敞水区高 3-4 个数量级,差异极显著( $P < 0.01$ )。氨化细菌 MPN 值,在水生高等植物群落内的水体中高于敞水区水体。除硝化细菌外,反硝化、亚硝化及氨化细菌均在根际处最为密集,且由根际向外呈现递减趋势。

致谢 感谢中国科学院太湖湖泊生态系统研究所杨龙元副研究员给予的支持和帮助。

### 参 考 文 献

- 1 Rheinheimer G. Aquatic Microbiology (Third Edition). New York: John Wiley & Sons, 1985
- 2 Matulewich V A, M S Finstein. Distribution of autotrophic nitrifying bacteria in a polluted river (the Passaic). *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, 35(1):67-71
- 3 Northup R R, Zengshou Yu, Randy A, et al. Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. *Nature*, 1995, 377

- (21):227 - 229
- 4 Reddy K R, W H Patrick Jr, C W Lindau. Nitrification-denitrification at the plant root-sediment interface in wetlands. *Limnol Oceanogr*, 1989, **34**(6):1004 - 1013
  - 5 蔡贵信, 朱兆良, 朱宗武等. 水稻田中碳铵和尿素的氮素损失的研究. *土壤*, 1985, **17**:225 - 229
  - 6 Reddy K R, W H Patrick Jr. Denitrification losses in flooded rice fields. *Fert Res*, 1986, **9**:99 - 116
  - 7 Brix H. Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetland plants - the root -zone method. *Water Sci Tech*, 1987, **19**:107 - 118
  - 8 Rogers K H, Breer P F & Chlick A J. Nitrogen removal in experimental wetland treatment systems: evidences for the role aquatic plants. *Res JWPCF*, 1991, **63**(7):934 - 941
  - 9 国家环保局《水生生物监测手册》编委会. 水生生物监测手册. 南京: 东南大学出版社, 1993
  - 10 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1985
  - 11 Christensen P B and Jan Sorensen. Temporal variation of denitrification activity in plant-covered, littoral sediment from lake Hampen, Denmark. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, **51**(6):1174 - 1179
  - 12 Matulewich V A, P F Strom and M S Finstein. Length of incubation for enumerating nitrifying bacteria present in various environments. *Applied Microbiology*, 1975, **29**(2):265 - 268
  - 13 李阜楦, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 1996
  - 14 陈荣三, 黄孟健, 钱可萍. 无机及分析化学. 北京: 人民教育出版社, 1978
  - 15 詹发萃, 邓家齐, 夏宜峥等. 凤眼莲根区异养细菌的群落特征与异养活性的研究. *水生生物学报*, 1993, **17**(2):150 - 156

## Distribution of Nitrogen Cycle Bacteria in an Artificial Ecosystem of Taihu Lake

WANG Guoxiang    PU Peimin    HUANG Yukai    ZHANG Shengzhao  
(*Nanjing Institute of Geography & Limnology, Academia Sinica Nanjing 210008*)

### Abstract

This paper first report the distribution and role of four nitrogen cycle bacteria in the artificial ecosystem of Taihu Lake. These nitrogen cycle bacteria include ammonifying bacteria, denitrifying bacteria, nitrobacteria and nitrosobacteria, determined with MPN method. The MPN values of denitrifying bacteria in the water covered by *Alternanthera philoxeroides* and *Eichhornia crassipes* are about 2 - 3 and 2 - 5 order-of-magnitudes higher than the water vegetated with other macrophytes and unvegetated water respectively. There is significant difference between them ( $P < 0.01$ ). The MPN values of ammonifying bacteria in vegetated water are markedly higher than that in unvegetated water. The MPN values of nitrosobacteria in vegetated water are notably higher than those in unvegetated water ( $P < 0.01$ ). The MPN values of nitrobacteria and nitrosobacteria in the water vegetated with submerged plant are higher than those in the water covered by floating plant. The MPN values of ammonifying and denitrifying bacteria, nitrosobacteria are very dense in rhizosphere, and decrease from rhizosphere to outside.

**Key Words** Nitrogen cycle, bacteria, macrophytes, artificial ecosystem, Taihu Lake