

## 太湖梅梁湾中碱性磷酸酶的活性 及其与藻类生长的关系\*

高 光 秦伯强 朱广伟 范成新 季 江

(中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

**提 要** 通过对1998年5月-1999年5月的太湖梅梁湾水体中碱性磷酸酶活性及其它水化学因子的同步实地监测, 初步探讨了富营养化较严重的太湖梅梁湾湖区的碱性磷酸酶活性的时空变化规律及其与藻类水华的相关性。研究表明, 水体中各种形态磷之间的转化非常快。在磷的循环、转化过程中, 碱性磷酸酶的作用至关重要。太湖梅梁湾各采样点水体中碱性磷酸酶的最大反应速率( $V_{max}$ )的年度变化有着显著的规律性, 各点位在春季(3-4月)及夏季(7-8月)均分别出现峰值, 与水体中水华出现的峰值相吻合。尤其在水体中水华暴发前的4月份, 各采样点中的碱性磷酸酶的活性急剧增加, 其 $V_{max}$ 均为年内的最大值或接近最大值, 预示着水体中其它形态磷的转化速率加快, 为水华的形成提供了充足的活性磷。水体中特异性碱性磷酸酶活性(总碱性磷酸酶活性/Chl. a)与水体中的 $PO_4^{3-}$ 存在着较好的负相关。尤其是在春季相关性更加显著, 可达-0.9以上; 夏季太湖梅梁湾水华暴发时, 水体中的磷酸盐浓度远低于碱性磷酸酶的激发阈值, 藻类体中的酶被诱导大量产生, 从而使得水体中碱性磷酸酶的数量、活性急剧增加, 达到较高的水平。这种短时间的有机质快速降解以及由此导致的营养盐释放, 维持了水体中藻类的生长。

**关键词** 碱性磷酸酶活性 动力学参数 磷循环 太湖

**分类号** P343.3

对湖泊等开放体系而言, 水体中可利用的氮、磷等营养盐及其它元素的浓度及其比例, 对浮游植物的初级生产力无疑有着重要的调控作用。一方面, 浮游植物可以吸收不同形态的氮、磷; 另一方面, 氮、磷等营养盐浓度的改变会导致浮游植物群落结构的改变<sup>[1]</sup>。磷作为湖泊中浮游植物的细胞结构及生化功能的重要组成部分, 在浮游植物的生长过程中起着极其重要的作用<sup>[2]</sup>。一些研究表明: 每年海洋中的初级生产力所消耗的氮、磷中, 99%的最终是由再循环的过程提供的, 其中80%的是由原位的再循环过程提供的<sup>[3]</sup>。由于缺乏类似生物固氮的生物输入过程, 水体中磷的代谢尤其依赖于从颗粒态或溶解态的有机磷快速转变为正磷酸盐(SRP)的循环过程。

碱性磷酸酶作为湖泊水体中的一种重要的酶类, 其在磷的生物地球化学循环过程中的作用, 已为日益增多的实验所证实<sup>[4-6]</sup>。作为一种诱导酶, 当水体中的溶解性无机磷的浓度

\* 中国科学院知识创新工程重大项目(KZCX1-SW-12-11-02)、“973”项目(2002CB412305)联合资助。  
2003-09-15 收稿; 2003-11-30 收修改稿。高光, 男, 1964年生, 博士, 副研究员。

较低时( $<2\mu\text{M}$ ), 浮游植物、细菌体中的酶被诱导大量产生, 通过酶的作用, 水体中的有机磷化合物被水解, 释放出无机磷<sup>[7,8]</sup>. 因此, 当水体中生物可利用的磷缺乏时, 碱性磷酸酶的作用尤其重要. 有关这方面的研究近来日益受到国际上的重视, 但在国内尚少见报道<sup>[9-11]</sup>. 本文通过对 1998 年 5 月 - 1999 年 5 月的太湖梅梁湾的监测, 初步探讨了富营养化较严重的梅梁湾湖区碱性磷酸酶活性的时空变化规律及其与藻类水华的相关性, 为深入研究太湖富营养化演变趋势、藻类水华爆发的机理、浅水湖泊磷循环的作用等提供一些理论依据.

## 1 材料与方方法

### 1.1 采样点的位置

太湖 ( $30^{\circ}56' - 31^{\circ}34'N, 119^{\circ}54' - 120^{\circ}36'E$ ), 面积  $2338\text{km}^2$ , 最大水深 3.3m, 平均水深 2.1m, 是一典型的浅水湖泊. 梅梁湾系太湖北部的一较大湖湾, 地处无锡市郊, 面积约  $120\text{km}^2$ , 平均水深 1.5m. 是无锡市主要旅游区及水源地. 由于受人湖河道及沿岸污染源的影响, 水质严重恶化, 夏秋季节整个湾内滋生大量蓝藻水华, 属于典型的富营养化湖区. 1998 年 5 月 - 1999 年 5 月, 自梅梁湾底部梁溪河口向太湖湖心方向, 选取不同的间隔设置采样点(图 1), 每月 1 次进行采样. 样品采集完毕后, 立即送入实验室进行分析.

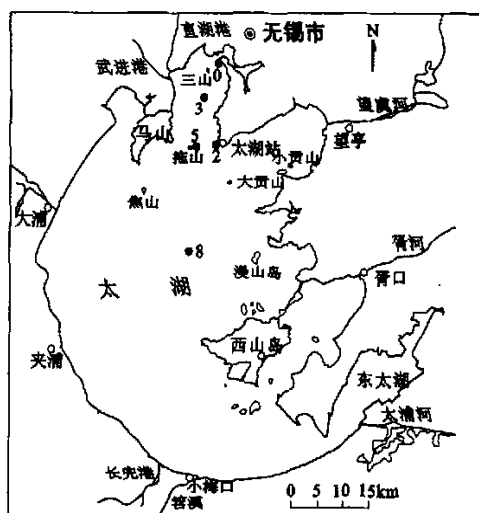


图 1 采样点位置图

Fig. 1 The map of sampling sites

### 1.2 样品的分析方法

1.2.1 总磷、总溶解性磷、总溶解性磷的测定<sup>[12]</sup> 总磷用过硫酸钾氧化法测定; 总溶解性磷, 将水样预先用  $0.45\mu\text{m}$  的醋酸纤维素滤膜过滤后, 用过硫酸钾氧化法测定; 正磷酸根磷, 将水样预先经  $0.45\mu\text{m}$  的醋酸纤维素滤膜过滤后, 用微量流动注射分析仪 Skalar 测定.

1.2.2 水体中碱性磷酸酶活性<sup>[9,11]</sup> 对硝基苯磷酸二钠(p-NPP, Sigma 公司), 本实验中所选择的反应条件为: pH8.4(用 Tris 缓冲溶液调)、温度  $30^{\circ}\text{C}$ 、反应物体积 5mL、反应时间 6h、

波长 410nm, 岛津 UV-2401 分光光度计测定。

1.2.3 不同粒级组分中碱性磷酸酶活性的分级测定<sup>[9,13]</sup> 将水样在不过滤、用 3.0 $\mu$ m 滤膜过滤及 0.2 $\mu$ m 滤膜过滤 (Millipore 公司) 的条件下, 分别测定其中的碱性磷酸酶活性。其中未过滤样品中的碱性磷酸酶活性 (APA) 即为总碱性磷酸酶活性 (TAPA); 0.2 $\mu$ m 滤膜过滤后的水样中的碱性磷酸酶活性即为溶解性碱性磷酸酶活性 (DAPA); 3.0 $\mu$ m 滤膜过滤后的水样中的碱性磷酸酶活性为细菌的碱性磷酸酶活性 (BAPA) + DAPA; 藻类的碱性磷酸酶活性 (PAPA) = TAPA - BAPA - DAPA。

1.2.4 碱性磷酸酶活性的最大反应速率 ( $V_{max}$ ) 及米氏常数 ( $K_m$ ) 的测定<sup>[14]</sup> 在 0.01 - 3mmol/L 范围内, 取 8 种不同的底物浓度, 分别测定 APA。根据 Michaelis - Menten 方程:

$$V = V_{max} \cdot [S] / (K_m + [S])$$

式中,  $V_{max}$ 、 $K_m$ 、 $[S]$  分别为最大反应速率、米氏常数及底物浓度。用 SigmaPlot 8.0 软件 (SPSS 公司) 中的 Enzyme Kinetics Module 直接求出  $V_{max}$  及  $K_m$ 。

1.2.5 其它理化因子的测定 pH、溶解氧浓度、TN、Chl. a 的测定, 参见文献<sup>[12]</sup> 分别进行。

## 2 实验结果

### 2.1 各采样点中的其它理化因子的分布状况

各采样点的理化因子的分布状况如表 1 所示。在上述的 5 个采样点中, 位于梁溪河口的 0\* 点由于受河道污水的影响, 水质最差; 位于湖心的 8\* 点, 由于受人为活动的干扰较少, 水质较好; 其它点位于点的水质处于两者之间。

表 1 各采样点的基本理化因子的分布状况\*

Tab. 1 The physical and chemical parameters of the sampling sites

采样点	水温 (°C)		pH		溶解 O <sub>2</sub> (mg/L)		TN (mg/L)		COD <sub>Mn</sub> (mg/L)	
	范围	平均	范围	平均	范围	平均	范围	平均	范围	平均
0	5.8-31.6	18.9	7.55-8.40	7.90	0-9.73	5.36	2.72-14.32	8.46	4.79-10.4	7.02
2	5.0-31.8	18.4	8.05-9.40	8.39	5.88-11.84	9.12	0.92-4.15	2.16	2.8-11.0	4.97
3	4.6-31.0	18.1	8.05-9.83	8.51	7.55-11.01	9.07	0.93-3.50	2.29	2.9-11.1	5.27
5	4.5-31.6	18.3	8.09-10.10	8.53	5.69-12.60	9.47	1.03-3.69	2.22	2.95-15.6	5.36
8	4.6-30.8	18.3	8.07-9.06	8.32	6.21-12.10	9.21	0.66-3.24	1.70	1.85-4.72	3.76

\* 表中的平均, 为各采样点全年 12 次采样的均值。

### 2.2 太湖梅梁湾水体中碱性磷酸酶的活性

图 2 显示, 太湖梅梁湾各采样点水体中碱性磷酸酶的最大酶反应速率的年际变化有着显著的规律性, 各点位在春季 (3-4 月) 及夏季 (7-8 月) 均分别出现峰值, 与水体中水华出现的峰值相吻合。尤其是值得注意的是, 在水体中水华暴发前的 4 月份, 各采样点中的碱性磷酸酶的活性急剧增加, 其最大反应速率均为年内的最大值或接近最大值, 预示着水体中其它形态磷的转化速率加快, 为水华的形成提供了充足的活性磷。

### 2.3 太湖梅梁湾水体中藻类体中的碱性磷酸酶活性

梅梁湾各采样点水体中, 藻类体中的碱性磷酸酶的活性的年际变化, 及其占水体中总碱

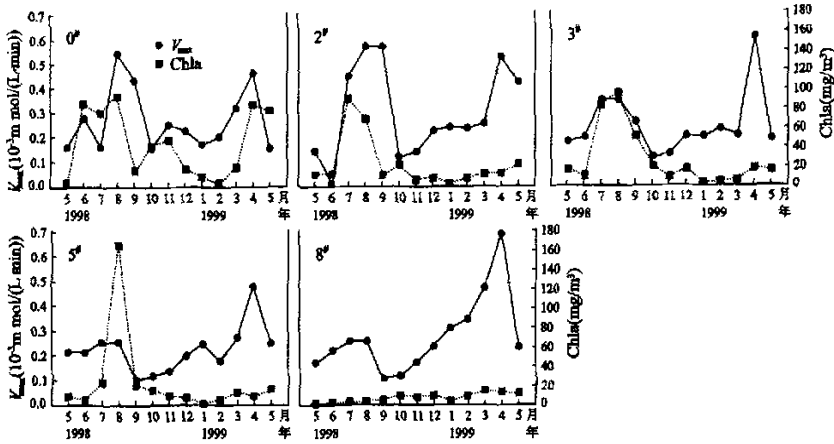
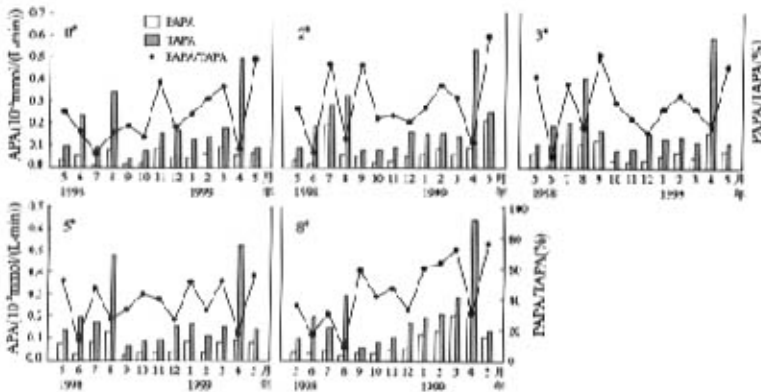
图2 各采样点中  $V_{max}$  和 Chla 的年度变化Fig. 2 The annual changes of  $V_{max}$  and Chla concentration along the sampling sites

图3 藻类中的碱性磷酸酶活性及其占总碱性磷酸酶活性的比例

Fig. 3 The alkaline phosphatase activity of algal and its ratio to total alkaline phosphatase activity

性磷酸酶活性的比例的变化幅度亦呈现出春季及夏季两个峰值(图3)。尤其是在5月份,藻类中的碱性磷酸酶活性最多可占到水体中总碱性磷酸酶活性的80%以上,但在水体中总碱性磷酸酶活性出现最大峰值的4月份,藻类中的碱性磷酸酶活性在水体总碱性磷酸酶活性中所占的比例却较小,仅有20%左右。

#### 2.4 特异性碱性磷酸酶活性及其与水体中 $PO_4^{3-}$ 的关系

水体中特异性碱性磷酸酶活性(总碱性磷酸酶活性/Chla)与水体中的  $PO_4^{3-}$  存在着较好的负相关,其数值变动在-0.4至-0.9之间。并且这种相关性伴随藻类生物量的波动而变

化. 尤其是在春季 (4-5 月), 这种相关性更加显著, 可以达到 -0.9 以上(图 4).

### 2.5 水体中碱性磷酸酶活性与 TP、 $PO_4^{3-}$ 浓度

水体中 TP、 $PO_4^{3-}$  的浓度的变化与水体中碱性磷酸酶的活性的波动有着密切的关系. 当水体中的  $PO_4^{3-}$  浓度较低时, 碱性磷酸酶的活性得以激发、增加, TP 中的部分被水解, 释放出  $PO_4^{3-}$ , 使得水体中的活性磷的浓度增加; 随着水体中  $PO_4^{3-}$  浓度的增加, 水体中碱性磷酸酶的活性受到抑制, 使得水体中磷的分解、释放速率减缓, 再加上藻类、细菌的利用, 导致水体中  $PO_4^{3-}$  浓度的又逐渐减少, 最终又使得水体中碱性磷酸酶的活性逐渐增加. 这种循环往复的波动如图 5 所示.

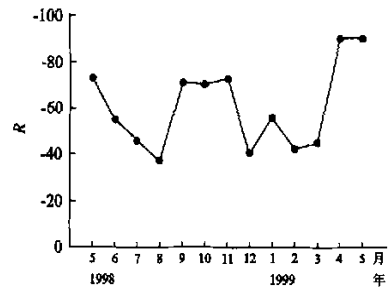


图 4 水体中碱性磷酸酶特异性活性 ( $V_{max}/Chla$ ) 与  $PO_4^{3-}$  的相关性

Fig. 4 Alkaline phosphatase specific activity ( $V_{max}/Chla$ ) and its relationship with  $PO_4^{3-}$

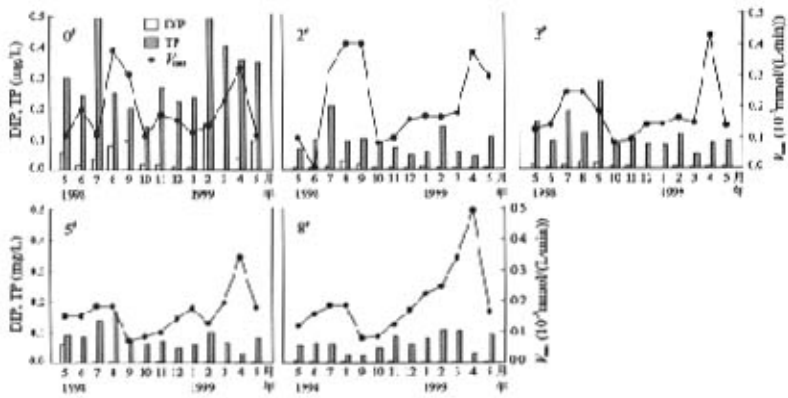


图 5 水体中碱性磷酸酶活性与水体中磷形态的转变

Fig. 5 Alkaline phosphatase activity and the phosphorus forms change

事实上, 水体中可酶解的磷在酶的作用下, 其分解的速率是非常快的. 其分解及磷的释放导致水体中  $PO_4^{3-}$  浓度的变化如图 6 所示.

## 3 讨论

(1) 碱性磷酸酶作为一种诱导酶, 当水体中正磷酸盐含量较低, 不足以维持藻类生长时, 藻类、细菌等受到诱导, 会大量产生, 释放到水体中, 并且其活性也相应地显著增加<sup>[8]</sup>. 太湖水体中生物可直接利用的 P(DIP) 的含量一般不高, 仅占水体中 TP 的 8% 左右(图 5). 水体中磷的主要存在形式是可溶性有机磷 (DOP) 和悬浮态 P. 且水体中  $PO_4^{3-}$  的浓度一般较低,

大多数时间一般不超过  $0.020\text{mg/L}$  (占总数的  $84.6\%$ ), 最低时低于检测限 (图 5). 相对于其它的富营养化湖泊而言, 太湖中碱性磷酸酶的活性一直保持较高的活性 (图 2). 在太湖湖心的 8# 点, 1999 年 4 月的  $V_{\max}$  高达  $494\text{nmol}/(\text{L} \cdot \text{min})$ , 1998 年 5 月 - 1999 年 5 月间, 所有点位的  $V_{\max}$  的均值为  $191\text{nmol}/(\text{L} \cdot \text{min})$ , 远大于同是浅水富营养化的武汉东湖的中碱性磷酸酶的活性, 其  $V_{\max}$  约为  $80\text{nmol}/(\text{L} \cdot \text{min})$  [15]. 这可能是由于太湖中的  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度较低 (实验期间  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度的均值为  $0.0137\text{mg/L}$ ), 低于激发浮游植物体中碱性磷酸酶活性的阈值浓度 [16], 藻类、细菌体中的酶被诱导大量产生, 从而使得水体中碱性磷酸酶的数量、活性急剧增加, 达到并一直保持着较高的水平.

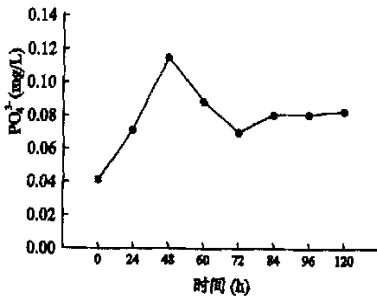


图 6 水体中可酶解的磷 (EHP) 的分解

Fig. 6 Hydrolyzing of the enzymatic hydrolyzable phosphorus

在秋季, 60d 后, 96% 的有机磷会分解、矿化. 事实上, 湖泊水体中各种形态的磷之间的转化是非常快的. 水体中的溶解性的有机磷在碱性磷酸酶的作用下, 在很短的时间内就可以分解, 释放出正磷酸盐 (图 6).

夏季太湖水华暴发时, 这种短时间尺度的有机质快速的降解以及由此导致的营养盐的释放, 使得水体中由于水华暴发所消耗的  $\text{PO}_4^{3-}$  得到补偿, 水体中藻类的生长得以维持. 尤其是当外源的磷负荷已得到一定的削减、控制后, 这种磷盐的内循环途径就成为藻类水华暴发所需磷源供给的关键因素. 这也在一定程度上说明了为什么仅仅靠控制外源性的营养盐, 对富营养化湖泊的水质的改善不会迅速取得效果.

## 参 考 文 献

- Peterson B J, Barlow J P & Savage A E. The physiological state with respect to phosphorus of Cayuga Lake phytoplankton. *Limnol Oceanogr*, 1974, 19: 396 - 404
- Wetzel R G. *Limnology-Lake and river ecosystems*. Third edition. New York: Academic Press, 2001: 266 - 269
- Harrison W C. Nutrient regeneration and primary production in the sea. In: Falkowski P G ed. *Primary production in the sea*. New York: Plenum Press, 1980: 443 - 460
- Robert T H & Cooke G D. The significance of alkaline phosphatase in a eutrophic lake. *Verh Internat Verein Limnol*, 1975, 19: 959 - 965.
- Cage M A & Gorham E. Alkaline phosphatase activity and cellular phosphorus as an index of the phosphorus status of hyto-

- plankton in Minnesota lakes. *Freshwater Biology*, 1985, 15: 227 - 233
- 6 Jansson M, Olsson H & Pettersson K. Phosphatases: origin, characteristics and function in lakes. *Hydrobiologia*, 1988, 170: 157 - 175
- 7 Reichardt W. Catalytic mobilization of phosphate in lake water and by Cyanophyta. *Hydrobiologia*, 1971, 38: 377 - 394
- 8 Wynne D, Kaplan B & Berman T. Phosphatase activities in lake Kinneret phytoplankton. In: Chróst R J ed. Microbial enzymes in aquatic environments. New York: Springer-Verlag, 1991: 220 - 226
- 9 洪华生等. 海水中碱性磷酸酶活性的测定及其在磷循环中的作用初探. *海洋与湖沼*, 1992, 23: 415 - 419
- 10 周易男, 付永清. 水体磷酸酶: 来源、特征及其生态学意义. *湖泊科学*, 1999, 11: 274 - 279
- 11 Berman T. Alkaline phosphatases and phosphorus availability in Lake Kinneret. *Limnol Oceanogr*, 1970, 15: 663 - 674
- 12 金相灿等编著. 湖泊富营养化调查规范. 第二版. 北京: 中国环境科学出版社, 1990
- 13 张龙翔等主编. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1987: 145 - 152
- 14 Chróst R J & Overback J. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in lake Plußsee (North German Eutrophic lake). *Microb Ecol*, 1987, 13: 229 - 248
- 15 Zhou Yiyong & Zhou Xinyu. Seasonal variation in kinetic parameters of alkaline phosphatase activity in a shallow Chinese freshwater lake (Donghu Lake). *Wat Res*, 1997, 31: 1232 - 1235
- 16 高 光, 高锡芸, 秦伯强. 太湖水体中碱性磷酸酶的作用阈值. *湖泊科学*, 2000, 12: 353 - 359
- 17 Roe C & Axler R P. Use of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency. *Hydrobiologia*, 1998, 361: 145 - 156
- 18 Feuillade J, Feuillade M & Blanc P. Alkaline phosphatase activity fluctuation and associated factors in eutrophic lake dominated by *Oscillatoria rubescens*. *Hydrobiologia*, 1990, 207: 233 - 240
- 19 Halemejkó G Z & Chróst R J. The role of phosphatases in phosphorus mineralization during decomposition of lake phytoplankton blooms. *Arch Hydrobiol*, 1984, 101: 489 - 502

## Seasonal Variation of Alkaline Phosphatase Activity in Meiliang Bay, Lake Taihu

GAO Guang, QIN Boqiang, ZHU Guangwei, FAN Chengxin & JI Jiang

(Nanjing Institute of Geography & Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

### Abstract

Seasonal variation of the alkaline phosphatase activity (APA) and its kinetic parameters was studied from May, 1998 to May 1999 in five sampling sites of Meiliang Bay. The results show that there were stronger variations of the alkaline phosphatase activity and its kinetic parameters ( $V_{max}$ ,  $K_m$ ) in different seasons and different sampling sites. The  $V_{max}$  of APA were higher in this lake and the APA was the negative correlation with orthophosphate, especially in summer. Phytoplankton seem to compensate for their phosphorus deficiency by increasing the alkaline phosphatase activity and changing the kinetic parameters to improved the ability to use lower concentration phosphorus.

**Keywords:** Alkaline phosphatase active; kinetic parameters; phosphorus recycling; Lake Taihu