

太湖磷转化细菌与水体磷形态关系*

冯 胜¹, 秦伯强², 高 光²

(1: 中国科学院厦门城市环境研究所, 厦门 361003)

(2: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

摘 要: 太湖水体中不同形态磷含量与磷转化细菌的关系研究结果显示: 太湖水体中总磷和活性磷的含量分别为0.113mg/L和0.011mg/L; 无机磷和有机磷分解菌在底泥中达 6.73×10^5 cells/g, 而在水体中仅为71 cells/ml, 且存在明显的时间和空间差异; 根据菌落形态特征, 分离筛选了3株有代表性的无机磷转化菌和7株占优势的有机磷分解菌. 3株无机磷转化菌经鉴定分别与巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)和类芽孢杆菌(*Paenibacillus* sp.)比较接近. 而7株有机磷分解菌则分别与为苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、无芽孢杆菌(*Bacterium* sp.)、氧化微杆菌(*Microbacterium oxydans*)、腊状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、简单芽孢杆菌(*Bacillus simplex*)接近; 太湖水体中磷分解细菌主要归属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*), 对细菌降解性能进行研究的结果显示: 无机磷分解细菌对太湖水体活性磷的贡献显著大于有机磷分解细菌的贡献率.

关键词: 磷; 磷分解细菌; 太湖

The relationships between phosphorus-transmuting bacteria and phosphorus forms in Lake Taihu

FENG Sheng¹, QIN Boqiang² & GAO Guang²

(1: Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361003, P.R.China)

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

Abstract: The average contents of total phosphorus and active phosphorus concentration were 0.113mg/L and 0.011mg/L, respectively; the inorganic phosphorus-degrading bacteria and organic phosphorus-degrading bacteria in the sediment was 6.73×10^5 cells/g dry sediment, but it was only 71 cells/g in the water, and there was also significant temporal and spacial difference. According to the bacteria group's shape, 3 representative inorganic phosphorus-degrading bacteria and 7 dominant organic phosphorus-degrading bacteria were isolated. Identification showed that the 3 representative inorganic phosphorus-degrading bacteria were similar to *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp. and *Paenibacillus* sp. The 7 dominant organic phosphorus-degrading bacteria were similar to *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus* sp., *Bacterium* sp., *Microbacterium oxydans*, *Bacillus cereus* and *Bacillus simplex*. The phosphorus-degrading bacteria of Lake Taihu were classified into *Bacillus* and *Pseudomonas*. The contribution of inorganic phosphorus-degrading bacteria for the aquatic bioavailable phosphorus was greater than that of organic phosphorus-degrading bacteria.

Keywords: Phosphorus; phosphorus-degrading bacteria; Lake Taihu

水体富营养化已成为一个世界性的环境问题, 高浓度氮、磷的不断增加, 一方面造成水体中藻类的过量繁殖^[1], 同时也造成了底泥中相应物质的积累. 即使随后采取有效的措施来削减外部的进入, 湖泊的富营养化状态也将在相当长的时间内持续存在, 因为底泥由于生物、物理、化学作用(尤其是浅水水体)

* 中国科学院知识创新方向性项目(KZCX2-YW-419)和国家自然科学基金(40573062)联合资助. 2007-08-24 收稿; 2007-10-05 收修改稿. 冯胜, 男, 1975年生, 博士.

而释放大量的营养盐阻碍这些湖泊生态系统的恢复^[2-3]。因此,富营养化湖泊中磷的形态、来源及其与蓝藻水华之间的关系受到人们的极大关注。目前,有关湖泊内源释放营养盐的研究大部分集中在水体磷的浓度、底泥中营养盐含量与释放、水—沉积物界面营养盐的源、汇关系与转换等问题上^[4-5]。而对其中的一些过程,如微生物参与的水体磷循环转化过程^[6-7]、水华过程中限制性营养盐的补偿途径^[8-9]等研究逐渐受到研究人员的关注。研究表明,水体中磷的主要存在形式是溶解性有机磷(DOP)和悬浮态颗粒磷(Sestonic P),可分别占到总磷的12%–30%和62%–82%,生物可直接利用的溶解性反应磷仅占5%–8%^[10]。很显然,这样的磷含量是不能满足水体中大量藻类生长繁殖所需。一般认为水体中生物有效磷是在细菌作用下,分解DOP释放出 PO_4^{3-} ,而藻类则吸收利用 PO_4^{3-} ^[11]。水体中磷的循环与再生依赖于细菌等微生物对颗粒态、溶解态有机质的分解释放^[12]。因此,水体中活性微生物的数量决定了有机质的分解速率和营养盐(N、P)的再生速率。本研究选择太湖不同生态类型的湖区,通过不同时期水体中各种形态磷含量、分布特征、磷分解细菌数量、藻类生物量等的同步检测,分析了水体中磷的循环与磷分解细菌之间的关系,以及一些环境因子对此过程的影响,为深入认识湖泊水体中磷的生物地球化学循环的过程、藻华爆发机理提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 采样位点

根据太湖的水文特征和富营养化程度,借助全球定位系统(GPS),在太湖选取32个代表性采样点(图1)。采样日期为2005年1月至2005年12月,每月中旬采样1次。

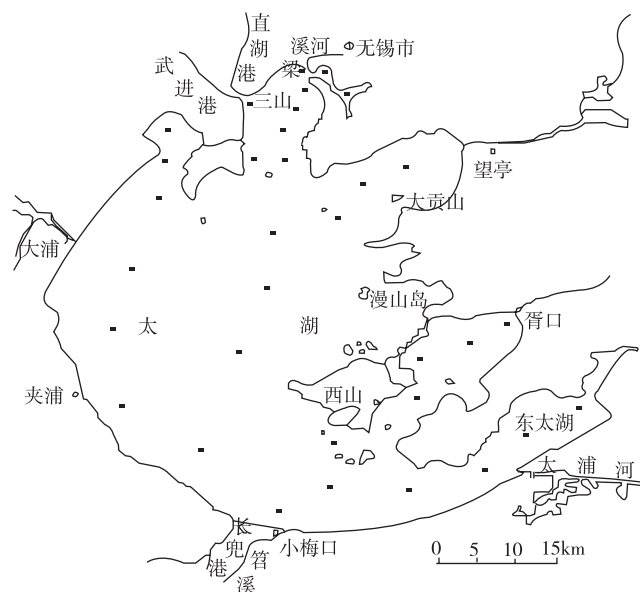


图1 采样点分布

Fig.1 Sampling sites in Lake Taihu

1.2 样品的采集

每月中旬定点采集水下0.5m处左右水样,微生物样品的采集,将水样注入经酸浸泡、清洗干净、预先灭菌的玻璃瓶中,带到实验室后立即处理。其它水样用预先洗干净的塑料瓶采集。

1.3 样品的分析

无机磷分解菌用传统的平板法分离和计数^[13]湖水经稀释后涂布在无机磷琼脂培养基(以磷酸钙作为唯一的磷源)上,无机磷培养基组成:葡萄糖 10g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 25g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g, NaCl 0.3g,

KCl 0.3g, FeSO₄ 0.03g, MnSO₄·H₂O 0.03g, 琼脂 13g, pH7.2的蒸馏水 1000ml, 115℃灭菌 20min. 细菌在 30℃ 培养 48h 后计数, 将特异性的菌落挑出并纯化培养.

有机磷分解细菌的计数用最大或然数法(most probable number, MPN), 用无菌水对湖水水样进行 10 倍梯度稀释, 稀释液按 10% 的浓度接种到有机磷的液体培养基中, 30℃ 暗培养 7d 后, 进行显色反应, 根据反应结果查 MPN 表, 推算每水样中有机磷分解细菌的数量. 有机磷培养基以卵磷脂作为唯一的磷源, 具体成分与无机磷培养基相似, 仅是用 0.2g 卵磷脂和 5g CaCO₃ 代替磷酸钙. 有机磷分解菌的分离用稀释涂平板法.

1.4 磷细菌的生理生化特征测定

根据菌落特征来挑取有机磷和无机磷分解菌, 结合细胞形态特征和氧化酶、接触酶试验来区分归类^[10]. 用这个方法, 分离了 7 株占优势的有机磷分解菌和 3 株有代表性的无机磷分解菌, 并根据伯杰氏细菌鉴定手册对这些菌的生理生化特征进行了初步测定^[14].

1.5 其它理化参数的测定

温度用水温计现场直接测定; 水体中活性磷、总磷用紫外分光光度计测定; 叶绿素 a 用 90% 丙酮萃取荧光分光光度法测定; DOC 用 1020A 型 TOC 仪(美国生产)测定. 具体操作参照文献[15].

1.6 主要磷细菌的分子特征测定

将所分离的菌株在有机磷选择性培养基平板上划线, 30℃ 培养 3d, 活化及检查纯度后, 转接到有机磷液体培养基中, 30℃ 培养 48h 后离心收集菌体, 分别用无菌水和 TE buffer 洗 2 次后, 加入 400μl 含溶菌酶 (10mg/ml) 的 TE buffer, 37℃ 保温过夜, 提取总 DNA, 检查纯度和浓度后, 于 4℃ 保存备用.

PCR 扩增: 采用细菌 16SrDNA 通用引物进行基因扩增(正向引物为 27F: 5'-GAGAGTTTGA-TCCTGGCTCAG-3', 反向引物为 1495R: 5'-CTACGGCTACCTTGTTACGA-3'), 95℃ 预处理 5min, 95℃ 变性 1min, 55℃ 复性 2 min, 72℃ 延伸 2min, 进行 30 个循环, 72℃ 延伸 10min. PCR 产物经检测纯化后, 直接用 Taq DyeDeoxy Terminator Cycle Sequencing Kit 测序, 电泳及数据收集用 Applied Biosystems DNA Sequencer(model377)自动进行. 将所测 16S rDNA 序列经校对后, 在 GenBank 数据库中进行 BLAST 比较. 所测序列进入 GenBank 数据库进行相似性分析, 并与 GenBank 中的相近序列在 ClustalX(1.8)程序包中进行多重序列匹配排列(Multiple Alignments)分析, 最后形成一个多重序列匹配列阵, 用 MEGA3 程序包中的 Neighbor-Joining 法构建系统进化树. 计算模型为 Kimura2-parameter, 计算次数为 1000 次. 测定的序列登录在 EMBL 核酸序列数据库中, 登录号为 DQ45737-DQ45746.

1.7 磷分解细菌释磷能力的测定

磷释放能力通过以下方法来估计, 将所选的细菌接入无机磷和有机磷液体培养基中(培养基配方同上, 不加琼脂), 150r/min 振荡培养. 经 30℃ 培养一定时间后, 培养物剧烈振荡, 使吸附的细菌释放, 然后静置 3min, 让 CaCO₃ 或 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀, 菌体生长量的测定: 无机磷液体培养基和有机磷液体培养基中细菌生长量的测定在日产岛津分光光度计上进行, 分别以无菌无机磷液体培养基和有机磷液体培养基为参照, 测定波长 600nm 处的 OD 值^[16]. 经 10000r/min 离心 10min, 去除细菌生物量后, 测定上清液中的生物活性磷. 磷释放能力用细菌的生长量和培养液中水溶性磷含量来表示^[17].

1.8 数据处理

所有实验数据在 Grapher 和 SPSS for windows 11.5 统计软件上进行处理.

2 结果分析

2.1 水体中磷的季节变化

2005 年太湖水体中的总磷和活性磷的的年平均值分别为 0.136±0.0698mg/L 和 0.007±0.0025mg/L (平均值±标准差, n=222). 总磷的含量保持全年都比较丰富的状态, 而且每个季节都比较稳定(最大值 0.167mg/L, 最小值 0.11mg/L); 而活性磷含量相对较低, 变化较大, 最小值 0.002mg/L, 最大值 0.016mg/L, 两者相差 8 倍(图 2). 根据磷含量计算得出的湖泊富营养综合指数(TSI)达 81.3, 远高于富营养化的临界指数值(TSI)54^[18], 说明湖泊仍处于超富营养状态. 然而, 太湖从 2000 年起, 已经开始了零

点排放行动, 几年过去了, 而湖泊水体的总磷含量仍然居高不下, 浅水湖泊的内源性释放可能是富营养的主要营养负荷之一.

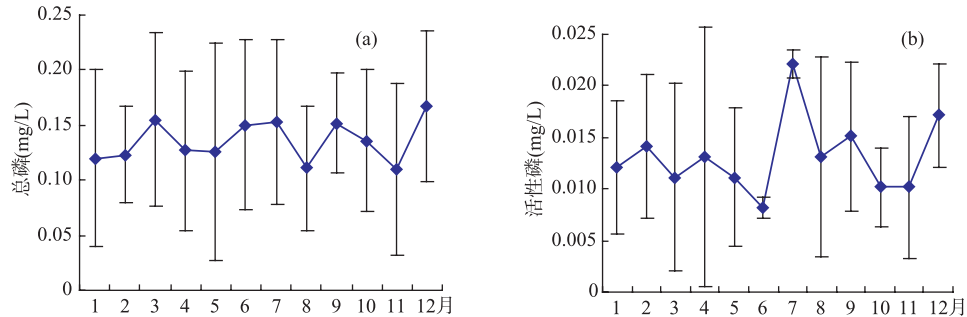


图 2 2005 年各月太湖水体中总磷(a)和活性磷(b)的浓度(各采样点的平均值)

Fig.2 Variety of total phosphorus(a) and water soluble inorganic phosphorus(b)in Lake Taihu in 2005

2.2 太湖水体中磷的空间分布

对太湖不同生态类型湖区水体中磷含量的统计分析表明(图 3), 太湖水体磷在不同生态类型湖区内存在显著差异, 总体表现为临近岸边的湖湾处, 营养盐含量普遍高于受人类干扰少的湖心区, 活性磷的含量在不同湖区间差异更为显著, 无论是草型湖区还是藻型湖区, 水体磷酸根含量都显著高于较贫营养的湖心区(梅梁湾: 0.011mg/L, 贡湖湾: 0.0091mg/L).

2.3 太湖磷分解细菌的分布

按季节对有机磷分解菌(OPB)和无机磷转化菌(IPB)进行了采样分析的结果表明, 有机磷分解菌的年平均数量为, 表层底泥中 5.31×10^5 cells/g(以干泥计), 水体中仅有 7.54×10^3 cells/ml. 在秋冬季节分布较多, 且不同采样点之间差异显著, 能在磷酸钙琼脂培养基上生长的无机磷转化菌在表层沉积物中约为 7.36×10^5 cells/g 以干泥计, 在水体中约为 5.46×10^5 cells/ml(图 4).

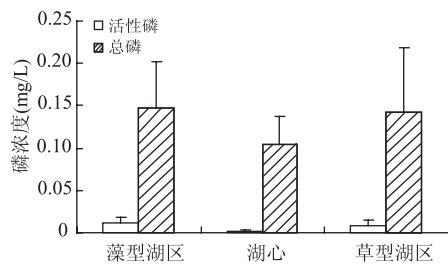


图 3 太湖不同生态类型湖区磷分布

Fig.3 The phosphorous distribution in different ecological types in Lake Taihu

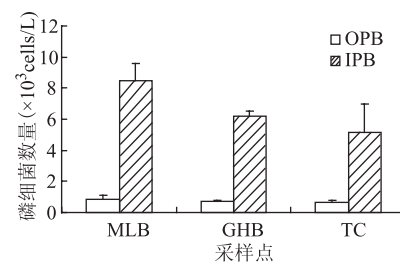


图 4 太湖不同湖区中磷分解细菌分布

Fig.4 Distribution of bacteria of phosphorus decomposition in Lake Taihu

2.4 磷细菌的特征

2.4.1 水体中可培养磷分解细菌的初步鉴定 太湖水体中磷分解细菌的菌落类型很少, 在 3 种不同营养类型湖区连续 1 年的采样分析中总共只出现 17 种菌落类型. 由于某些种出现频率很低, 而另有一些培养困难, 在多次的接种过程中逐渐死亡, 因此仅对 10 类菌落(表 1)进行了初步鉴定. 结果表明它们大致属于假单胞菌属(最有可能是荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens*)和芽孢菌属(最有可能是巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium*)两类.

表 1 太湖水体中可培养磷分解细菌的菌落特征

Tab. 1 The morphological characteristics of dominant cultivable Phosphorus-degrading bacteria in the water of Lake Taihu

	IPB1	IPB2	IPB3	OPB1	OPB2	OPB3	OPB4	OPB5	OPB6	OPB7
直径(mm)	3-5	1-3	3-5	1-3	<1	1-3	<1	1-2	2-4	1-3
形状	圆形	圆形	圆形	圆形	不规则	不规则	圆形	圆形	不规则	圆形
隆起	隆起	突起	隆起	突起	隆起	突起	隆起	突起	扁平	突起
边隆	全缘	全缘	波状	丝状	全缘	全缘	波状	波状	全缘	全缘
均一性	奶油状	膜状	脆性	膜状	奶油状	奶油状	膜状	膜状	奶油状	奶油状
表面	光滑	光滑	颗粒状	光滑	波状	皱褶	光滑	颗粒状	波状	皱褶
光泽	有光泽	不透明	不透明	暗淡	不透明	不透明	有光泽	不透明	不透明	不透明
颜色	浅黄	褐色	白色	黄色	白色	白色	黄色	浅黄	乳白	黄色

根据菌落形态和磷酸钙及卵磷脂琼脂培养基中水解圈的大小, 挑选了 7 株有机磷分解菌和 3 株无机磷转化菌, 对它们的形态和生理生化特征进行了测定(表 2).

表 2 磷转化细菌的形态和生理生化特征

Tab.2 The morphological and biochemical characteristics of phosphobacteria

菌株	IPB1	IPB2	IPB3	OPB1	OPB2	OPB3	OPB4	OPB5	OPB6	OPB7
细胞形状	圆形	杆状	杆状	杆状	杆状	杆状	圆形	圆形	杆状	圆形
革兰氏染色	G ⁻	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺	G ⁺
芽孢	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-
氧化酶试验	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
接触酶试验	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
氧化葡萄糖产酸、产气	-	W	+	+	+	W	+	-	-	-
发酵葡萄糖产酸、产气	-	W	+	-	+	W	+	-	+	-
氧化麦芽糖产酸、产气	-	+	+	-	+	W	+	-	-	-
氧化蔗糖产酸、产气	W	-	-	+	-	-	+	-	-	-
氧化甘露醇产酸、产气	W	-	-	W	W	-	-	-	W	-
氧化甘露糖产酸、产气	-	W	-	W	W	-	-	W	-	-
甲基红试验	-	-	-	-	W	-	-	-	+	-
V. P 试验	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
吲哚试验	-	-	-	-	W	W	W	W	-	-
硝酸盐还原	-	-	-	-	-	W	+	+	-	-
明胶液化	+	+	+	W	W	W	+	+	-	W
柠檬酸盐利用	W	+	+	+	+	+	+	+	+	-
硫化氢产生	-	-	-	+	+	W	+	+	-	-
运动性	-	W	W	+	+	W	-	+	-	-

* 30℃培养 48h, +: 阳性, -: 阴性, W: 反应弱.

以分离菌株的总DNA为模板, 利用细菌16S rDNA的通用F341和R907引物进行PCR扩增, 得到长约800bp左右的PCR扩增产物并进行测序. 用BLAST程序对所用菌株的16S rDNA序列和Genbank中已登录的序列进行核苷酸同源性比较, 构建的系统发育树(图5), 表明这些菌株大体上分别属于芽孢杆菌属和假单胞菌属.

2.4.2 优势菌株的磷分解能力 各菌株的解磷能力OPB1与OPB7很接近, OPB4与OPB5比较类似, 而OPB2、OPB3和OPB6都差别不大, 因此只选择了其中一个菌株进行研究. 磷释放能力可用释放出的生物活性磷来衡量, 它们或溶解在培养液里, 或被细菌吸收. 分离菌株IPB1和OPB1的生长速率都比较高, 同时培养基中磷酸根的含量也相当高, 而IPB3细菌的生长量并不明显, 但释放的生物活性磷的量却相对较大, 说明菌株IPB3自身吸收的量比较低, 同等条件下对磷的释放能力更强(图6).

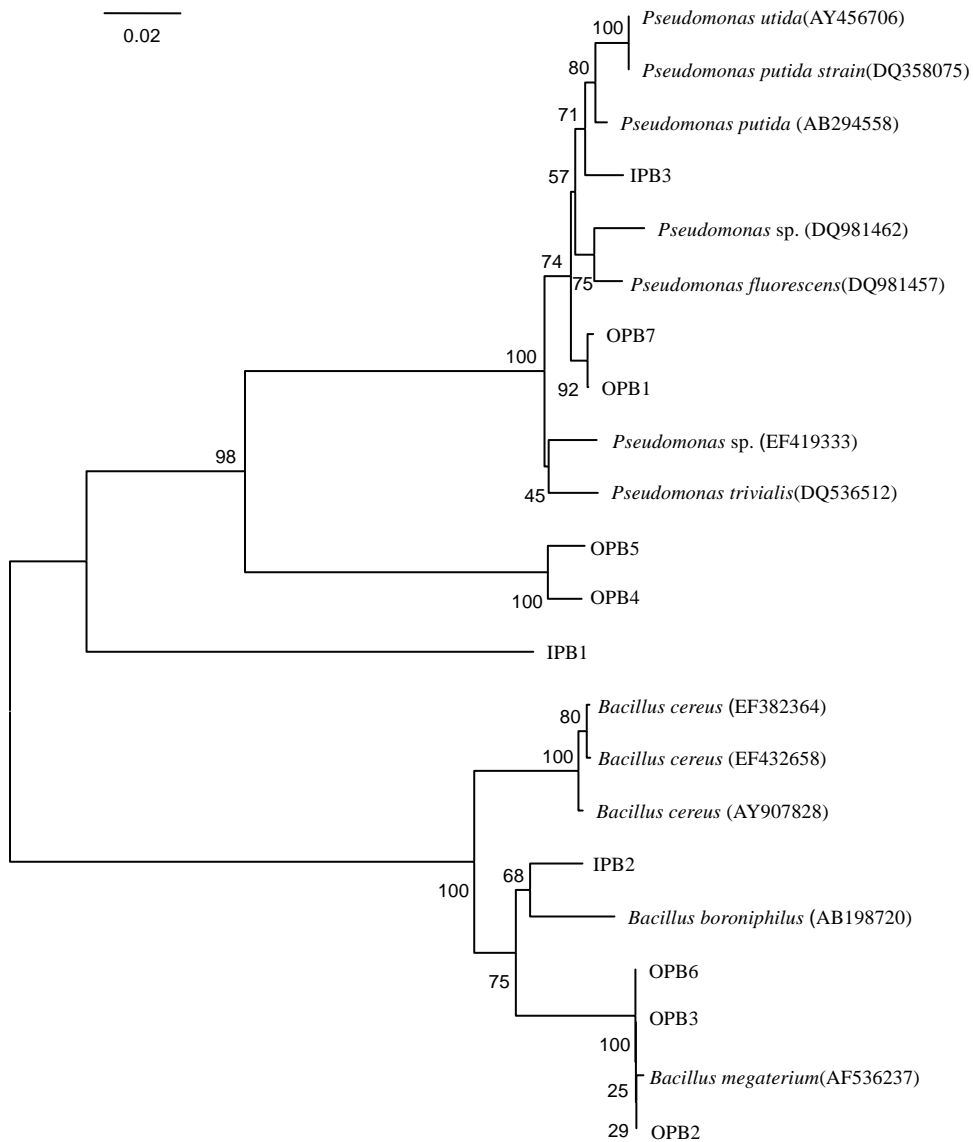


图5 磷转化细菌的系统发育分析(用最近距离法, bootstrapping; 1000次, 分叉处的数字表示稳定性, 括号内的数字表示该菌株在 EMBL 上的登录号, 最上方的 bar 表示 5% 的遗传距离)

Fig.5 Phylogenetic tree of phosphorus bacteria

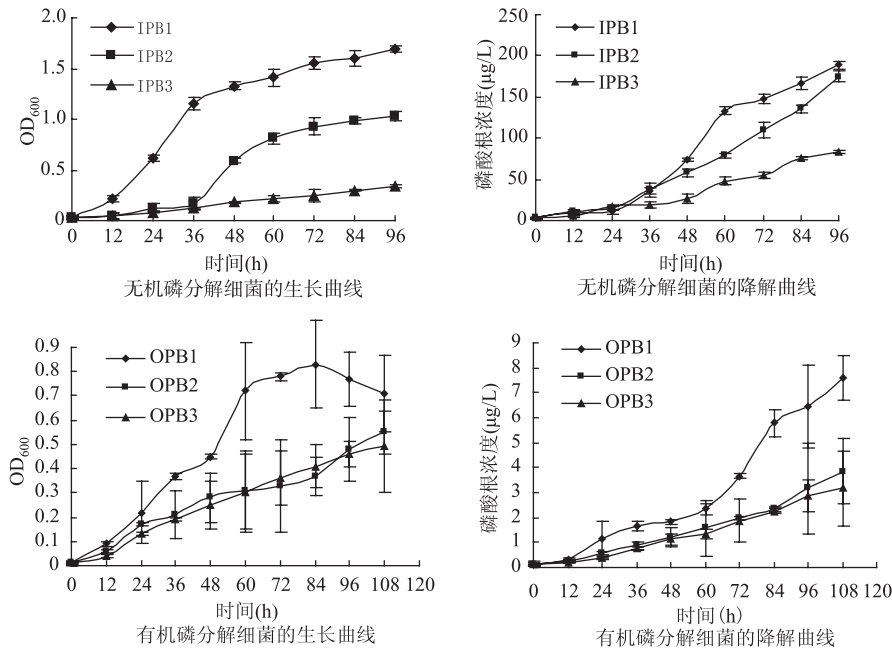


图6 磷分解细菌的生长和降解情况

Fig.6 Growth and decomposition curves of phosphorus release bacteria

通过比较有机磷分解细菌和无机磷分解细菌的解磷能力,可以发现有机磷分解菌矿化卵磷脂积累的生物活性磷浓度不足 $10\mu\text{g/ml}$,而无机磷分解细菌在好氧条件下能分解产生 $90\mu\text{g/ml}$ 以上的生物活性磷.此外,有机磷分解菌的繁殖速率也远远高于有机磷细菌分解的速度.这可从一个侧面说明,矿化卵磷脂的酶可能是一些诱导酶,它们在生物活性磷缺失的条件下可被诱导,而溶解无机态磷的物质可能是一些酸性物质,因而不会受到高浓度活性磷的抑制.

3 讨论

磷通常是控制湖泊生产力的最重要的营养元素^[19].由于周围河流水体中携带的水溶性无机磷进入太湖后,流速降低,部分与 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Ca^{2+} 结合转变成水不溶性无机磷而沉积到底泥中,部分被藻类或其他水生植物吸收而转变成细胞中的有机成分如磷脂、核酸及脂酸等.随着细胞的死亡和裂解,这些有机组分从生物有机体中释放出来,或者悬浮在水体中,或沉积于底泥.因此,不溶性无机磷和有机磷是藻类生长的最主要来源^[20],对长江中下游湖泊的磷分布研究结果表明,湖泊沉积物中较难被生物利用的有机磷、碎屑钙磷、自生钙磷、闭蓄态磷等4种形态的磷占了总提取磷的大部分,除个别湖泊外,在长江中下游湖泊的沉积物样品中4种形态都占总提取磷量的90%以上^[21].这说明,在自然状态下(沉积物样品未经风干、磨碎),沉积物较易发生释放的交换态磷、铝磷和铁磷的含量一般不足沉积物中总磷含量的10%^[21].在水生生态系统中,生物能够直接利用的磷是无机正磷酸盐(即水溶性磷)非常有限的.而在太湖水体中,组成生物细胞的有机磷是主要的磷存在形式,水溶性磷只占总磷的9.5%(图2);底泥中,Ca-P是主要的存在形式.因此,Ca-P的溶解和OP的矿化是湖泊水体磷来源的两个重要方面.

一般认为凡是能够产生酸性代谢产物的微生物都会对无机磷产生溶解作用^[22].对太湖的长期观测结果表明,水体常年保持偏碱性的状态,太湖湖水的年均pH为8.3,底泥中为7.5.这样的偏碱性环境适于Fe-P的释放而不利于Ca-P的释放.这也从一个方面解释了沉积物中Ca-P含量高,而Fe-P较少的原因.1、2

号无机磷分解菌在葡萄糖氧化发酵试验的结果表现都偏阴性,说明它们都不能产生足够的酸使溴麝香草酚蓝呈黄色(表2)。虽然在甲基红试验中,两株无机磷分解菌最终pH值为6.3和5.7,说明pH值并非是磷释放的唯一因素。有机代谢物(包括有机酸)对磷酸盐阳离子的络合可能是另外一个重要的原因^[23]。Nautiyal也发现在pH高达12的碱性土壤中仍然分布着Ca-P溶解细菌,它们通过产生有机化合物来络合钙离子而释放磷^[10]。

在太湖表层底泥中,有大约 6.73×10^5 cells/g无机磷分解细菌(以干泥计),而在水体中只有71 cells/ml。筛选得到的菌株在实验条件下每天可释放63 μ g/ml以上的生物活性磷。无机磷分解细菌的耗氧并通过氧化还原电位的降低可促使铁结合磷的释放^[24],对不溶性无机磷分解起到关键作用。因此微生物能调节沉积物—水界面磷交换的非生物过程^[25]。

至于有机磷,只有少部分溶解性有机磷组分如ATP和6-磷酸葡萄糖能被生物直接吸收。大多数有机磷组分不能被直接利用,但可被细菌产生的胞外酶分解而转化为生物可利用磷^[26]。因为不溶性有机磷主要是磷脂(细胞膜的组分)和核苷酸(DNA或RNA的组分),水生微生物相应地进化发展出2种酶介导的磷再生系统。第一个系统被认为是磷限制式的快速激活反应,这类酶能被几乎所有的浮游生物,包括细菌、藻类、真菌和浮游动物所分泌,它的活性主要依靠于非特异的碱性磷酸酶(APA),因为APA能被生物活性磷强烈地抑制,其在湖泊生态系统中的作用仅限制在磷缺失的时期^[27]。微生物在磷的循环过程中起重要作用,磷转化细菌对不溶性磷酸盐的分解,使湖泊中可溶性磷含量增加,同时磷细菌死亡后又会发生有机磷的矿化,成为湖泊中水合磷酸盐矿物沉积的重要途径。

4 小结

(1) 太湖水体中磷分解细菌数量与水体中生物活性磷含量无显著相关性,这可能是由于水体中活性磷的快速转化而造成的。

(2) 从太湖水体中分离出7株有机磷分解细菌和3株无机磷分解菌,通过形态观测、生理生化实验和序测定结果初步表明太湖中磷分解细菌主要归属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

(3) 不同磷分解细菌对水体活性磷的贡献率差异显著,无机磷转化细菌对太湖水体生物活性磷的贡献远高于有机磷转化细菌的作用。

致谢:感谢朱丽平师妹在样品测定过程中的热心帮助!

5 参考文献

- [1] Sondergaard M, Jensen JP, Jeppesen E. Role of sediment and internal of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia*, 2003, **506-509**(1-3): 135-145.
- [2] Sigua GC, Tweedale WA. Watershed scale assessment of nitrogen and phosphorus loadings in the Indian lagoon basin. *Florida J Environ Management*, 2003, **67**(4): 363-372.
- [3] 秦伯强,朱广伟,张 路等. 长江中下游地区湖泊水和沉积物中营养盐的赋存、循环及其交换特征. *中国科学*, 2005, **35**(增刊II): 1-10.
- [4] Wetzel RG. *Limnology-lake and river ecosystems*(Third edition). New York: Academic Press, 2001: 266-269.
- [5] Schindler DW. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*, 1977, **195**: 260-262.
- [6] Jenkins RO, Morris TA, Craig PJ *et al.* Phosphine generation by mixed and monoseptic cultures of anaerobic bacteria. *The Science of the Total Environment*, 2002, **50**(1-3): 73-81.
- [7] Wu GF, Zhou XP. Characterization of phosphorus-releasing bacteria in a small eutrophic shallow lake, Eastern China. *Water Research*, 2005, **39**(19): 4623-4632.
- [8] 王 强,耿金菊,金红梅等. 太湖沉积物中微生物和磷化氢的时空分布及关系. *中国环境科学*, 2006, **26**(3): 350-355.
- [9] 蒋丽娟,史小丽,杨柳燕等. 游离附着假单胞菌对铜绿微囊蓝细菌中³²P释放的影响. *环境科学学报*, 2003, **23**(4): 521-524.
- [10] Halemejkó GZ, Chróst RJ. The role of phosphatases in phosphorus mineralization during decomposition of lake phytoplankton

- blooms. *Arch Hydrobiol*, 1984, **101**: 489-502.
- [11] Hudson JJ, Taylor WD. Measuring regeneration of dissolved phosphorus in planktonic communities. *Limnol & Oceanogr*, 1996, **41**: 1560-1565.
- [12] Simon M, Grossart HP, Schweitzer B *et al*. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat Microb Ecol*, 2002, **28**: 175-211.
- [13] Nautiyal CS. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, **170**: 265-270.
- [14] John GH, Noel RK, Peter HAS *et al*. *Bergey's manual of determinative Bacteriology* (9th edition). Williams & Wilkens, Lippincott, 1994: 23-26.
- [15] 金相灿, 屠清瑛. 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: 136-159.
- [16] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程. 北京: 北京大学出版社, 2000: 99-100.
- [17] Nautiyal CS, Bhadauria S, Kumar P *et al*. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiol Lett*, 2000, **182**: 291-296.
- [18] Aizaki M. Application of modified Carlson's trophic state index to Japanese lakes and its relationships to other parameters related to trophic state. *Res Rep Nat Inst Envir on Study*, 1981, **23**: 13-31.
- [19] 窦鸿身, 王苏民. 中国湖泊志. 北京: 科学出版社, 1998: 27-29.
- [20] Jarvie HP, Neal C, Warwick A *et al*. Phosphorus uptake into algal biofilms in a lowland chalk river. *The Science of the total Environment*, 2002, **282**: 353-373.
- [21] 朱广伟, 秦伯强, 高 光. 长江中下游浅水湖泊沉积物中磷的形态及其与水相磷的关系. *环境科学学报*, 2004, **24**: 381-388.
- [22] Istvanovics V. Seasonal variation of phosphorus release from the sediment of shallow lake Balaton. *Wat Res*, 1988, **22**: 1472-1481.
- [23] Jones DL, Darrah PR. Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil*, 1994, **166**: 247-257.
- [24] Martinek K, Levashov AV, Klyachko NL *et al*. Micellar enzymology. *European of Biochemistry*, 1986, **155**: 453-468.
- [25] 沈亦龙, 何晶晶, 邵立明. 太湖五里湖底泥污染特性研究. *长江流域资源与环境*, 2004, **13**(6): 584-588.
- [26] Hayes VEA, Ternan NG, McMullan G. Organophosphonate metabolism by a moderately halophilic bacterial isolate. *FEMS Microbiol Lett*, 2000, **186**: 171-175.
- [27] 宋春雷, 曹秀云, 李建秋等. 湖泊磷酸酶与微生物活性对内源磷负荷的贡献及其与富营养化的关系. *中国科学*, 2005, **35**(增刊II): 90-100.