

贵阳市“两湖一库”不同季节硫酸盐还原菌分布变化*

罗光俊, 何天容**, 安艳玲

(贵州大学喀斯特环境与地质灾害防治教育部重点实验室, 贵阳 550003)

摘要: 基于 MPN 法对贵阳市“两湖一库”——阿哈水库、红枫湖、百花湖不同季节沉积物中硫酸盐还原菌(SRB)分布规律及其影响因素进行了研究. 结果表明,“两湖一库”SRB 含量及分布季节差异显著,冬季 SRB 含量明显低于夏、秋季节. 冬季,SRB 含量峰值主要集中在沉积物中部,而在夏、秋季节,SRB 含量峰值主要集中在沉积物上部. 在受到酸性矿山废水污染的阿哈水库,硫酸根含量远高于红枫湖和百花湖,但沉积物中的 SRB 含量整体上和其它 2 个未受硫酸盐影响的湖泊差异不大,仅在夏、秋季节表层沉积物中明显升高,表明“两湖一库”丰富的有机质及适宜的 pH 为硫酸盐还原菌提供了良好的生长环境,硫酸根含量没有成为 SRB 含量的主要限制因素.

关键词: 阿哈水库;红枫湖;百花湖;沉积物;硫酸盐还原菌;季节分布

Variations of sulfate reducing bacteria's distribution in sediments of Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua, Guiyang City in different seasons

LUO Guangjun, HE Tianrong & AN Yanling

(Key Laboratory of Karst Environment and Geohazard Prevention, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550003, P. R. China)

Abstract: In the present study, we investigated spatial and temporal distributions of sulfate reducing bacteria (SRB) and controlling factors in sediment of Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua, Guiyang City based on the most probable number (MPN) method. The results indicate that there were discernible seasonal variations in the SRB content distribution. SRB contents of sediments in winter were much less than those in summer and fall. The peaks of SRB contents occurred in the middle of sediment cores in winter, while SRB generally increased towards the sediment-water interface in June and September. The contents of sulfate in the sediments in Aha Reservoir which has been polluted by acid mine drainage were much higher than those in the other two reservoirs: Lake Hongfeng and Lake Baihua. SRB contents, however, have no discernible spatial variations in the three lakes (reservoirs), except for elevated values only in the surface of sediment in Lake Aha in summer and autumn. This indicates that higher organic matter contents and optimum pH in these reservoirs favor the growth of SRB, and sulfate content was not the main significant factor of SRB growth.

Keywords: Aha Reservoir; Lake Hongfeng; Lake Baihua; sediments; sulfate reducing bacteria; distribution of different seasons

贵阳市“两湖一库”为贵阳市饮用水源地,且都属季节性分层水库,具有蓄水、供水和防洪等功能. 各流域都长期受到各种工业、农业、生活废水的污染,其中红枫湖、百花湖已经是富营养化湖泊^[1],阿哈水库由于长期受到煤矿废水的污染,其硫酸盐、铁、锰含量异常丰富^[2]. 此外,“两湖一库”都遭受到了不同程度的汞污染,尤其在百花湖及其流域,仅在 1971—1997 年间,接受贵州有机化工厂排放的汞就达 100 多吨. 硫酸盐还原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)是一类形态各异、营养类型多样、能利用硫酸盐或者其它氧化态硫化物作为电子受体来异化有机物质的微生物^[3]. 该类微生物参与硫的生物地球化学过程^[4-5],还在汞的甲基化、苯类的降解以及铀的转化等环境毒性污染物的生物转化迁移中起重要作用^[6-8],所以,弄清楚“两湖一库”不

* 国家自然科学基金项目(41063006)和贵州省科技厅重点实验室建设项目(黔科合计 Z 字[2012]4012)联合资助. 2013-01-09 收稿;2013-04-16 收修改稿. 罗光俊(1989~),女,硕士研究生;E-mail:hanhanluo@163.com.

** 通信作者;E-mail:hetianrong@163.com.

同季节硫酸盐还原菌的分布规律,有利于研究者们更好地理解贵阳市“两湖一库”中某些污染物的迁移转化尤其是汞的甲基化过程,为正在开展的“两湖一库”治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

阿哈水库是位于贵阳市西南的一个底层滞水带季节性缺氧人工水库,湖水面积 3.4 km²,汇水面积为 190 km²,平均水深 13.2 m,最大水深 24 m,汇水区域分布大小煤矿 200 余个^[9],大量酸性矿山废水长期入湖,且该水库为各处水流交汇区域,具有煤矿废水和生活污水复合污染的综合特征。红枫湖、百花湖地处贵州中部乌江主要支流猫跳河的上、中游,是典型的深水分层人工水库。红枫湖最大库容 6.01 × 10⁸ m³,湖水平均深度为 10.25 m,最大深度为 45 m。百花湖是红枫湖的下一级水库,以红枫湖的下泄水为主要补给,流域面积 1895 km²,蓄水面积 1415 km²,最大库容 1.91 × 10⁸ m³,湖水平均深度为 12.55 m,最大深度为 45 m。近年来,工业污水与生活污水的排入,使得红枫湖和百花湖富营养化严重^[10]。

1.2 样品的采集

1) 采样点的选择:选择贵阳市“两湖一库”作为采样点,分别是阿哈水库大坝(26°32′36″N,106°39′2″E; H = 1094.37 m)、阿哈水库长滩(26°32′9″N,106°38′39″E; H = 1108.07 m)、百花湖码头(26°39′57″N,106°32′2″E; H = 1204.17 m)、红枫湖大坝(26°32′27″N,106°25′36″E; H = 1235.68 m)。其具体分布见图 1。

2) 沉积物的采集:利用 SWB-1 型便携式不扰动湖泊沉积物采样器分别于 2012 年 2、6、9 月在贵阳市“两湖一库”选择 1~2 个完整水-沉积物剖面采集沉积物柱^[11]。所采集的沉积物界面水清澈,沉积物保存完好未受明显扰动。

3) 样品的分割:测量硫酸盐还原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)的沉积物柱子密封保存带回实验室在保持充氮条件下进行分割(前 10 cm 按 2 cm 间距进行分割,10 cm 后按 3 cm 间距分割)。测定硫酸根的柱子在厌氧袋充氮条件下前 10 cm 按 1 cm 分割,10 cm 后按 2 cm 分割,离心后在厌氧袋中用 0.45 μm 滤膜(Millipore)过滤提取间隙水测量其硫酸根含量。相应的沉积物冷冻烘干,磨细过筛后测其有机质含量及 pH。

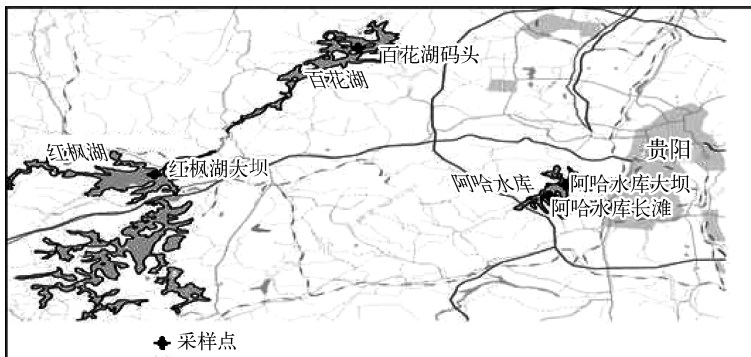


图 1 研究区采样点分布

Fig. 1 Location of the sampling sites in the study area

1.3 样品的测定

1) 硫酸盐还原菌的测定:充氮条件下称取 10 g 沉积物于无菌无氧、装有 100 ml 无菌无氧水的厌氧三角瓶中,在摇床上振荡 20 min,用 1 ml 无菌注射器取 1 ml 上清液于 KBC-SRB 试剂瓶(北京华运安特科技有限责任公司)中进行梯度稀释,每个样品做 3 个平行,6 个梯度。将注射好的试剂瓶放入 35℃ 培养箱中培养 7 d。根据测试瓶的阳性反应(出现黑色沉淀或者铁钉变黑)数查 MPN 计数表确定其 MPN 数^[12],再计算其实际含量(按沉积物湿重计)。

2) 硫酸根的测定:采用离子色谱直接上机测定^[13]。

3) 有机质的测定:重铬酸钾氧化-外加加热法测定(GB/T 7857-1987)。

4) pH、温度(T)、溶解氧(DO):便携式水质参数仪测定。

2 结果与讨论

2.1 沉积物中硫酸盐还原菌分布特征

“两湖一库”不同季节 SRB 含量分布表明,阿哈水库 2012 年 2 月份 SRB 含量范围在 $0.095 \times 10^4 \sim 0.45 \times 10^4$ cells/g 之间,SRB 含量峰值主要集中在沉积物中部 7~17 cm 范围内(图 2)。阿哈水库 6、9 月 SRB 含量范围分别在 $0.95 \times 10^4 \sim 45 \times 10^4$ cells/g 与 $0.45 \times 10^4 \sim 45 \times 10^4$ cells/g 之间,比冬季高出 2 个数量级,SRB 含量峰值主要集中在沉积物中上部。红枫湖 6、9 月 SRB 含量范围分别在 $0.95 \times 10^4 \sim 25 \times 10^4$ cells/g 与 $0.95 \times 10^4 \sim 9.5 \times 10^4$ cells/g 之间,SRB 含量峰值主要集中在沉积物中部,其最大含量在表层,这与汪福顺的结果有较大差异^[2],但与王明义等的结果接近^[9]。而百花湖 SRB 含量范围在 $0.95 \times 10^4 \sim 25 \times 10^4$ cells/g 之间,SRB 含量峰值主要集中在沉积物中上部 1~9 cm 处。百花湖、红枫湖夏、秋季节 SRB 含量和阿哈水库沉积物 SRB 含量基本处于同一数量级范围,但从整个剖面分布看,沉积物表层 5 cm SRB 含量明显低于阿哈水库。陈皓文研究表明^[14]海洋沉积物中 SRB 含量可达 10^7 cells/g,淡水湖泊沉积物 SRB 含量较海洋沉积物低,通常认为海洋沉积物由于有较高浓度的硫酸盐,使得 SRB 含量高于湖泊沉积物。

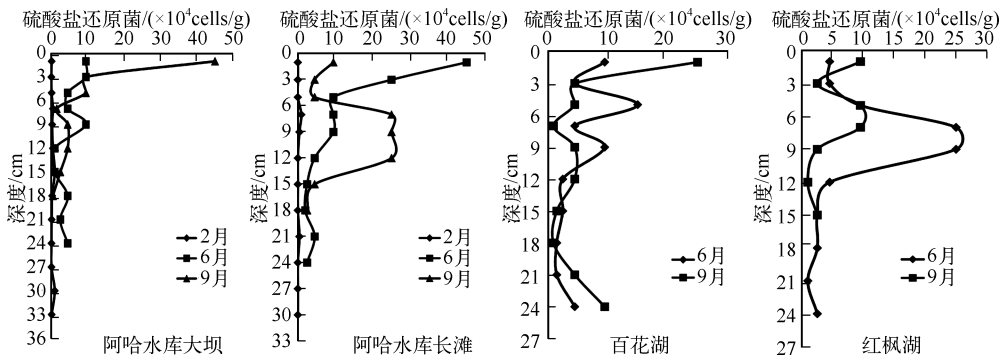


图 2 “两湖一库”不同季节 SRB 含量

Fig. 2 SRB distributions in the sediment of Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua

2.2 温度、DO 对 SRB 的影响

由于沉积物中 DO、T 不易检测,所以用湖泊界面水的 DO、T 示意沉积物表层的 DO、T(表 1)。王建军等^[15]的研究结果表明,湖泊的氧气侵蚀深度(Oxygen Penetration Depth, OPD)均值为 5.34 mm,变化范围在 3.92~7.60 mm 之间,说明湖水 DO 对沉积物表层的影响很大。

阿哈水库长滩 2 月份界面水温度为 7.2℃;6、9 月份界面水温度分别为 12.9、17.5℃(表 1)。由此可以看出,6、9 月份界面水温度分别高出 2 月份约 6~10℃;红枫湖和百花湖也表现出了同样的变化规律。有文献显示,温度将影响 SRB 的代谢活性和生长速度,至今所分离到的 SRB 为中温性^[16]。这就很好地解释了 6、9 月份整个沉积物剖面 SRB 含量远远高于 2 月份的原因。同时也表明,温度是限制 SRB 生长的重要因素。

SRB 是严格厌氧菌,并发现其中有些菌种在无硫酸盐存在时仍能通过发酵获得能量而生长,但是所有的 SRB 都不能以氧作为电子受体,一般来说,氧严重地抑制其生长^[17]。湖泊中 2 月份界面水 DO 含量在 6~7 mg/L,而在 6、9 月份界面水 DO 仅有 1 mg/L(表 1)。张小里等^[18]的研究结果表明,虽然 SRB 具有一定的耐氧性,但是当水体中 DO 浓度在 5 mg/L 时,其 SRB 含量仅有 100 cells/ml,而 DO 浓度为 0.2~3.0 mg/L 时,SRB 含量大于 10^3 cells/ml。夏、秋季表层沉积物 SRB 含量高于冬季 500~1000 倍左右;而在中、下部沉积物中,夏、秋季 SRB 含量仅高于冬季 10~100 左右(图 2)。由此可以看出,DO 含量的季节变化严重影响表层沉积物中 SRB 的生长。因此,对于表层沉积物,DO 与温度同时影响其 SRB 的生长;而对于中、下部沉积物,SRB 含量主要受到温度变量的影响,这也是表层沉积物的季节分布差异大于中下部沉积物的一个原因。

表1 “两湖一库”界面水溶解氧浓度与温度

Tab. 1 Dissolved oxygen concentration and temperature of interfacial water in Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua

采样点	时间	DO/(mg/L)	T/°C
阿哈水库长滩	2012年2月	7.71	7.2
	2012年6月	0.05	12.9
	2012年9月	0.90	17.5
阿哈水库大坝	2012年2月	6.15	7.3
	2012年6月	1.09	11.9
	2012年9月	1.50	12.3
百花湖	2012年6月	3.47	14.0
	2012年9月	1.10	15.5
红枫湖	2012年6月	0.93	10.8
	2012年9月	0.80	22.9

百花湖、红枫湖富营养化严重,水质受到严重污染^[21].同时,阿哈水库大坝与阿哈水库长滩有机质平均含量为8.05%和8.30%,这可能是由于阿哈水库汇水区域内200余个大小煤矿使得阿哈水库大面积受到工业废水污染,导致有机质含量丰富.由此可以看出,“两湖一库”都属于有机质非常丰富的沉积物,远远高于同一流域的东风水库(2.20%~4.88%)^[22]等,因此,“两湖一库”丰富的有机质为硫酸盐还原菌的生长提供了很好的营养物质.

2.3 pH、有机质对SRB的影响

“两湖一库”沉积物的pH范围在6.22~7.10,基本在7.00左右(图3a).有文献表明^[19],当pH在6.0~8.0之间时,硫酸盐还原效果最好,反应器中的pH范围为6.0~8.0时,反应器中的硫酸盐还原是可行的.由此可见,“两湖一库”沉积物的pH满足硫酸盐还原菌的生长范围.

SRB属于异养微生物,即其生长代谢转化硫酸盐需要一定的碳源,这些碳源既是增加生物量所需,又作为电子供体对硫酸盐进行还原异化^[16].“两湖一库”沉积物有机质分布表明,百花湖沉积物有机质含量范围为8.08%~13.04%,平均为11.59%;红枫湖有机质含量范围为8.94%~11.99%,平均为9.79%(图3b);大于王春雨等^[20]的测量结果(百花湖3%~7%、红枫湖2%~9%),这主要是由于近年来

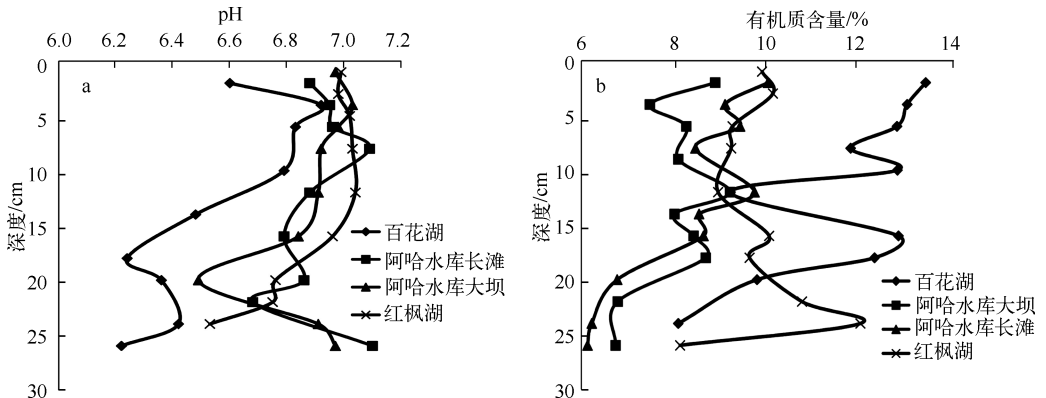


图3 “两湖一库”沉积物pH(a)与有机质含量(b)分布

Fig. 3 pH(a) and organic matter content(b) distributions in the sediment of Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua

2.4 硫酸根对SRB的影响

SRB通常指的是能通过异化作用进行硫酸盐还原的一类细菌.湖泊沉积物中硫酸根离子含量在所有季节都呈从上层到下层逐渐减少的趋势,在表层达到最大,随着深度增加硫酸根含量开始下降.在阿哈水库,2月份沉积物中硫酸根含量达到所有季节中的最大值,表层达到288 mg/L左右,6月份表层孔隙水硫酸根含量在30 mg/L左右;在红枫湖9月份沉积物中硫酸根含量在3 mg/L左右,6月份大约为10 mg/L;百花湖6、9月硫酸根含量分别为15 mg/L与10 mg/L左右.因此,百花湖与红枫湖沉积物孔隙水硫酸根含量明显低于阿哈水库,表明阿哈水库长期受煤矿酸性废水影响,其硫酸根含量异常(图4).

百花湖、红枫湖上部(沉积物1~5cm)硫酸盐还原菌含量低于阿哈水库一个数量级,这可能是硫酸根含量差异导致的结果(图2).但在中下部,SRB含量只是稍低,基本处于同一个水平.表明当硫酸根达到一定量时,就不再限制SRB的生长;有机质作为SRB异养生长的重要食物,在贵阳市“两湖一库”中含量充足,是

导致 SRB 含量差异变小的重要原因。

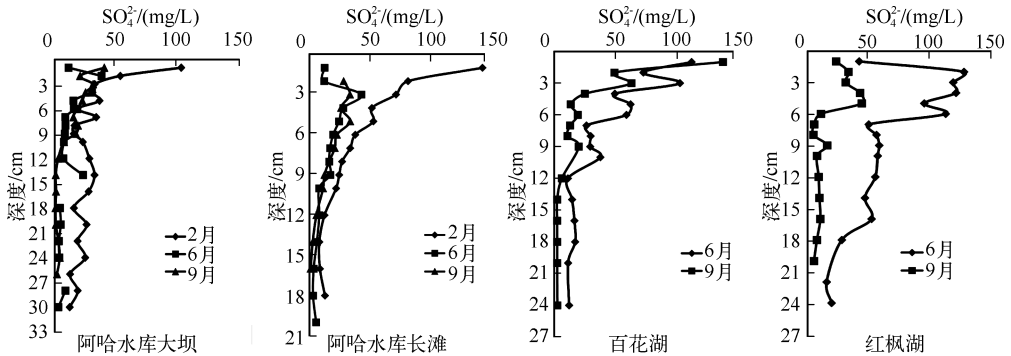


图4 “两湖一库”沉积物 SO_4^{2-} 含量季节分布

Fig. 4 Seasonal distributions of sulfate content in the sediment of Aha Reservoir, Lake Hongfeng and Lake Baihua

3 结论

本文分别采用 MPN 计数法与离子色谱法测定了贵阳市“两湖一库”沉积物中硫酸盐还原菌与硫酸根的含量,并同时测定了其有机质含量及相应的水质参数。主要结论如下:

1) 硫酸盐还原菌受温度、DO 的影响极大,在 2 月份,所有湖泊中硫酸盐还原菌含量极低,仅约 0.095×10^4 cells/g,而在 6、9 月份,其硫酸盐还原菌含量在 10×10^4 cells/g 左右,高出 2 月份 3 个数量级。同时,受溶解氧的影响,夏、秋季节表层沉积物 SRB 含量高于冬季 500 ~ 1000 倍左右;而在中下部,夏、秋季节 SRB 含量仅高于冬季 10 ~ 100 左右,说明溶解氧含量的季节变化严重影响表层沉积物中 SRB 的生长。

2) 在温度、有机质等适宜的条件下,夏、秋季硫酸根含量在一定程度上影响硫酸盐还原菌的分布,阿哈水库由于矿山废水污染使得其硫酸根含量高于红枫湖和百花湖,但是 SRB 含量差异主要表现在夏、秋季节的上部沉积物,在中下部沉积物中没有明显差异。

3) 总体来看,“两湖一库”丰富的有机质、适宜的 pH 等为硫酸盐还原菌的生长提供了良好的环境,从而使得同一季节湖泊中 SRB 含量差异较小。

4 参考文献

- [1] 张 维. 红枫湖、百花湖环境特征及富营养化. 贵阳:贵州科技出版社,1999:20-21.
- [2] 汪福顺,刘丛强,梁小兵等. 阿哈水库沉积物-水界面硫酸盐还原菌作用的微生物及其同位素研究. 第四纪研究, 2003, **23**(5):20.
- [3] 胡德容,林 钦. 硫酸盐还原菌(SRB)生态特性及其研究进展. 南方水产,2007, **3**(3):67-72.
- [4] Rudd JWM, Kelly CA, Schinder DWA. Comparison of the acidification efficiencies of by two whole-lake addition experiments. *Limnology and Oceanography*, 1990, **35**(5): 663-679.
- [5] Kuhl M, Jørgensen BB. Microsensor measurements of sulfate reduction and sulfide oxidation in compact microbial communities of aerobic biofilm. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**: 1164-1174.
- [6] Edwards EA, Wills LE, Reinhard M *et al.* Anaerobic degradation of toluene and xylene by aquifer microorganisms under sulfate-reducing conditions. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**: 794-800.
- [7] King JK, Kostka JE, Frischer ME *et al.* Sulfate-reduction bacteria methylate mercury at variable rates in pure culture and in marine sediments. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 2430-2437.
- [8] Lovley DR, Phillips EJP. Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**: 850-856.
- [9] 王明义,张 伟,梁小兵等. 阿哈水库与洱海沉积物硫酸盐还原菌研究. 水资源保护,2007, **23**(3):9-19.

- [10] 吕迎春,刘丛强,王仕禄等. 贵州喀斯特水库红枫湖、百花湖 $p(\text{CO}_2)$ 季节变化研究. 环境科学, 2007, **28**(12): 2764-2781.
- [11] 王春雨,黄荣贵,万国江. SWB-1 型便携式沉积物-界面水取样器的研制. 地质地球化学, 1998, (1): 91-96.
- [12] 吴浩. 中国主要红树林湿地中甲基汞的分布规律及其微生物甲基化作用[学位论文]. 厦门:厦门大学, 2009.
- [13] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法: 第4版. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
- [14] 陈皓文. 海洋硫酸盐还原菌及其活动的经济重要性. 黄渤海海洋, 1998, **16**(4): 64-74.
- [15] 王建军,沈吉,张路等. 湖泊沉积物-水界面氧气交换速率的测定及影响因素. 湖泊科学, 2009, **21**(4): 474-482.
- [16] 梁宇. 硫酸盐还原菌的生长因子的探讨. 山西建筑, 2012, **36**(30): 199-200.
- [17] 赵宇华,叶央芳,刘学东. 硫酸盐还原菌及其影响因子. 环境污染与防治, 1997, **19**(5): 41-43.
- [18] 张小里,陈志昕,刘海洪等. 环境因素对硫酸盐还原菌生长的影响. 中国腐蚀与防护学报, 2000, **20**(4): 224-228.
- [19] Renze T, Van Houten, Letting G. A novel reactor design for biological sulphate removal. Proc. 8, International Conf. on Anaerobic Design, 1997: 25-29.
- [20] 王雨春,万国江,王仕禄等. 红枫湖、百花湖沉积物中磷的存在形态研究. 矿物学报, 2000, **20**(3): 273-277.
- [21] 李旗. 红枫湖、百花湖近年来富营养化状况分析. 贵州工业大学学报, 2001, **30**(5): 98-101.
- [22] 潘鲁生. 乌江流域东风水库水体/沉积物中汞形态分布及界面扩散通量估算[学位论文]. 贵阳:贵州大学, 2010.