第 15 卷第 3 期　　湖 泊 科 学　　Vol.15, No.3
2003 年 9 月　　Journal of Lake Sciences　　Sep., 2003

磷化氢及其氧化产物动态释放对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响*

牛晓君[1]　张景飞[1]　史小丽[1]　王晓蓉[1**]
高 光[2]　季 江[2]　Dietmar Glindemann[3]
(1：污染控制和资源化研究国家重点实验室，南京大学环境学院，南京 210093；
2：中国科学院南京地理与湖泊研究所，　南京 210008；　3：莱比锡大学动物卫生保健研究所，德国)

提 要　就磷化氢释放对铜绿微囊藻的生长进行了研究.采用藻类生长潜力试验(AGP)的方法，研究了磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对水华暴发优势藻类（铜绿微囊藻）的生长的影响，结果表明：磷化氢及其氧化产物对铜绿微囊藻的生长有重要的影响.富营养水体磷化氢的释放可能在引起湖泊水华暴发中起到了重要的作用.

关键词　磷化氢　亚磷酸盐　次亚磷酸盐 动态释放 铜绿微囊藻
分类号　X172

水华是在一定的营养、气候、水文条件和生物环境下形成的藻类过度繁殖和聚集现象，因而在种类组成、发生时间及水平分布上具有一定的规律性.在水华发生的优势种类上，其中以微囊藻最为普遍，而对于水华突然暴发的促进因子目前还不得而知[1].

作为引起水体富营养化的关键元素之一，磷所起的作用已有很多的研究，其中，正磷酸盐、无机缩聚磷酸盐、有机正磷酸盐、有机缩聚磷酸盐等几种磷形态对水华生物的影响已有相关报道[2，3].

磷化氢作为大气中普遍存在的痕量气体已经得到了公认[4-12]，其对环境的影响也越来越引起人们的注意.同时磷化氢也被认为在水圈中普遍存在．2002 年 1 月，在太湖首次发现了湖泊底泥磷化氢的释放，并在湖泊水体中检测出磷化氢．水圈中湖泊的富营养化早已成为我国主要的水环境问题之一，但在以往的研究中均未曾考虑磷化氢的存在及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐在湖泊磷循环中的作用.本文首次研究了磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对铜绿微囊藻的贡献，这对于湖泊的富营养化、水华暴发以及湖泊富营养化的治理具有重要的科学价值.

目前国内外关于磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对富营养化湖泊水华暴

* 国家自然科学基金资助项目（批准号 20177007）.
2002-10-10 收稿；2003-02-23 收修改稿．牛晓君，男，1973 年生，博士研究生.
** 联系人.

发的影响尚无研究.由于磷化氢及其氧化产物在实验过程中容易发生形态转化，因此本文的研究仅在一定的程度上说明磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对铜绿微囊藻生长状况的影响.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验藻种　铜绿微囊藻（*Microcystis aeruginosa*）（由中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库提供）.

1.1.2 试验物质　标准 PH_3 气体(南京特种气体厂)；H_3PO_3(AR，南京化学试剂一厂)；$NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ (AR，上海化学试剂一厂)

1.1.3 试验器皿　显微镜(Nikon, Made in Japan)、光照培养箱（LRH-250-G，广东医疗器械厂）、锥形瓶（250ml）、过滤器等.

1.2 方法

1.2.1 试验原理　藻类增长潜力试验（Algal Growth Potential Test,简称 AGP 试验）[13-15]，它是专门为研究富营养化问题而制定的一种试验方法.

1.2.2 试验方法

(1) 水样的采集、处理和保存：本试验的水样是在太湖水华暴发期间 2002 年 6 月采集.采样点位于湖心 8 号航标处，采得的水样在装满聚乙烯桶后置于暗处冷藏.然后将该水样用 0.45um 孔径的微孔滤膜过滤，以除去水中吸附在悬浮物上的各种形态磷，使之为磷营养盐限制的水样.并将过滤水样置于 1.5kgf/cm^2 压力和 121℃温度下灭菌 30min.

(2) 接种用藻种的预培养：在准备 AGP 试验前，将保存的铜绿微囊藻转移到盛有 Allen BG-11 培养基的三角烧瓶（500mL 容积）进行扩大和驯化培养.培养温度为 26±2^{0}C，光强 500 E/(m^2·s)，光暗比为 12:12，于培养箱中培养，每隔 2-4h 人工摇动一次.培养 2-3d 后，再将藻种转接到新的培养基中，按同样的培养条件培养.所有转接均在无菌条件下进行. 这样连续转接预培养共 2-3 次.如果生长良好，达到同步生长，就可作为进行试验的藻种液.

(3)磷化氢及其氧化产物的生物有效性试验：藻类生长潜力测试参照标准方法进行，用量筒准确量取 20mL 的铜绿微囊藻溶液，在 3000-4000 转/min 条件下离心 5-10min，弃去清液.沉淀的藻细胞用 1.5%的碳酸氢钠液重新悬浮藻细胞，再加离心，以除去营养物及其它物质.这样的洗涤过程要进行 2 次.最后再用碳酸氢钠悬浮，即成为测试的母液，铜绿微囊藻的初始密度为 50×10^{3}cell/L.

磷化氢的平衡水样及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐溶液都用采集并处理过的太湖水配制.试验容器为 250mL 的锥形瓶，每天加入磷化氢的平衡水样及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐溶液和处理的湖水各 5mL 于测试总量为 100mL 的铜绿微囊藻试验溶液中，培养箱中培养 24h 后，取样，在显微镜下计数，计数后再分别向三角瓶中投入影响因子磷化氢的平衡水样及其氧化产物溶液，然后放入培养箱中继续培养. 共分磷化氢、亚磷酸盐、次亚磷酸盐三组，每组分五个不同浓度添加水平，每个水平三个重复，同时设湖水对照组.

采用显微镜视野法计数藻类浓度，当试验组藻类每天平均增长值低于 5%时，认为该组已达到最大现存量，即停止测定.求出每天现存量.

2 结果与讨论

2.1 不同含磷浓度的磷化氢及其氧化物对铜绿微囊藻生长的影响

2.1.1 不同浓度的 PH_3 对铜绿微囊藻生长的影响　将 20mL，浓度分别为 0.01mg/L、0.02mg/L、0.04mg/L、0.06mg/L 和 0.08mg/L 的 PH_3 与处理后的太湖水 30mL 进行剧烈震荡，使 PH_3 尽可能溶解到水中，然后注入铜绿微囊藻溶液中，进行生长刺激试验.由于 PH_3 是易挥发的气体，所以根据亨利定律 $P=KC$，由气液两相平衡常数可计算水体中磷化氢的含量.根据计算得到 PH_3 的分配系数为 0.4596（本文分配系数在室温下测定）. 所以加入铜绿微囊藻溶液中的 PH_3 的实际浓度分别为 0.0054mg/L、0.0108 mg/L、0.0216 mg/L、0.0324 mg/L、0.0432mg/L.由图 1 可知，不同浓度的 PH_3 对铜绿微囊藻生长都有一定的促进作用，其中 0.04mg/L 的 PH_3
的影响程度最大.一般 5-7d 后微囊藻细胞数达到最大，一周后细胞数会逐渐减少.

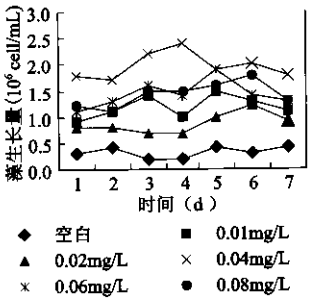

图 1 不同浓度磷化氢对铜绿微囊藻生长的影响

Fig.1 Different concentrations of PH_3 affecting on the growth of *Microstis aeruginosa*

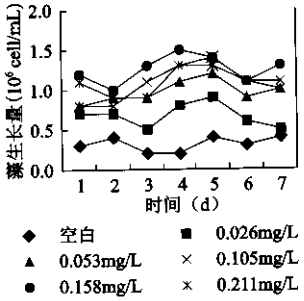

图 2 不同浓度亚磷酸盐对铜绿微囊藻生长的影响

Fig.2 Different concentrations of phosphite affecting on the growth of *Microstis aeruginosa*

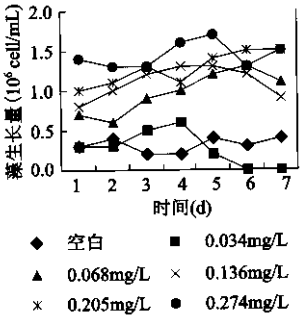

图 3 不同浓度次亚磷酸盐对铜绿微囊藻生长的影响

Fig.3 Different concentrations of hypophosphite affecting on the growth of *Microstis aeruginosa*

2.1.2 不同浓度的 H_3PO_3 对铜绿微囊藻生长的影响　每天定时将 0.026mg/L、0.053mg/L、0.105mg/L、0.158mg/L、0.211mg/L 浓度的 H_3PO_3 加入铜绿微囊藻溶液中，然后进行生长刺激试验. 由图 2 可知，不同浓度的 H_3PO_3 对铜绿微囊藻生长均有一定的促进作用，其中 0.158mg/L 的 H_3PO_3 对铜绿微囊藻生长的影响程度最大，而 0.026 mg/L 的 H_3PO_3 影响程度较小.

2.1.3 不同浓度的 $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ 对铜绿微囊藻生长的影响(图 3)　每天定时将 0.034mg/L、0.068mg/L、0.136mg/L、0.205mg/L、0.274mg/L 浓度的 $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ 加入铜绿微囊藻溶液中，然后进行生长刺激试验. 由图 3 可看出，适当浓度的次亚

图 3 可看出，适当浓度的次亚磷酸盐对铜绿微囊藻的生长具有促进作用，其中浓度为 0.136mg/L 的 $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ 对铜绿微囊藻的生长最为适宜.

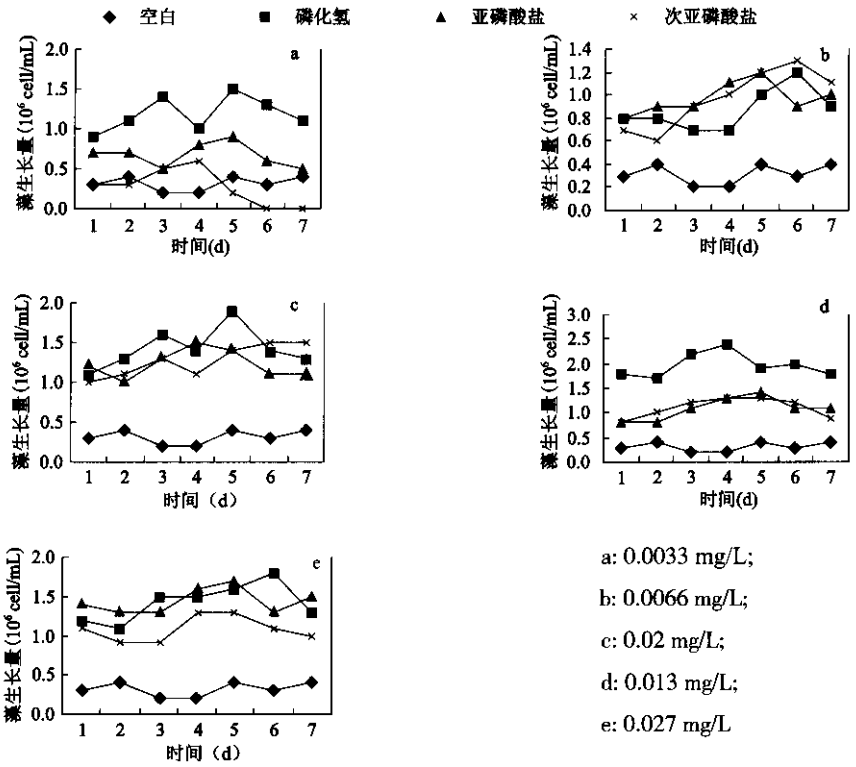

图 4 不同浓度的磷化氢及其氧化产物对铜绿微囊藻生长的影响

Fig.4 Different concentrations of P about phosphine and its oxides affecting on

2.2 含磷浓度相同的磷化氢及其氧化产物对铜绿微囊藻生长的影响

同一浓度的磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对铜绿微囊藻生长的影响(图4)结果表明，不同的磷形态对铜绿微囊藻的生长刺激存在明显差异. PH_3 对铜绿微囊藻生长的影响最大，而 H_3PO_3 和 $NaH_2PO_2 \cdot H_2O$ 的影响较小. 对水华暴发的已有研究证实，磷化氢对水华暴发的优势藻类铜绿微囊藻的生长有重要的刺激作用，而在水华暴发期间，作者已经测到湖泊磷化氢的释放量突然猛地增加，由此可以得出水华暴发的促进因子与湖泊磷化氢的释放有一定的关系.但由于之前国内外尚未开展磷化氢及其氧化产物对富营养化湖泊水华暴发的影响这一研究，同时磷化氢及其氧化产物在实验过程中容易发生形态转化，因此本文的研究仅在一定程度上说明磷化氢及其氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐与水华暴发的相互关系.

3 结论

3.1 磷化氢、亚磷酸盐和次亚磷酸盐都具有强还原性，在空气中或光照的条件下容易被氧化，而微囊藻在生长过程中会进行光合作用产生氧气，这就导致磷化氢、亚磷酸盐和次亚磷酸盐发生形态变化，从而给试验的定量和定性工作带来了很大困难.故本试验中磷化氢、

亚磷酸和次亚磷酸盐对微囊藻的影响作用，是一种动态影响作用的初步研究.为了能够更真实的模拟湖泊磷化氢释放和其释放后形态变化的动态过程，本试验设计中选取了磷的各种价态，并动态注入影响物质进行模拟研究.其中正磷酸盐已有相关研究，因此在本试验中没有进行正磷酸盐的重复研究.

3.2 在试验中考虑到界定富营养化水体的磷浓度值，每天加入的磷化氢、亚磷酸盐和次亚磷酸盐最后转变为正磷酸盐形态，相应的正磷酸盐形态的磷浓度分别为 0.0033、0.0066、0.013、0.02 和 0.027mg/L.

3.3 磷是太湖藻类的生长的限制因子之一

实验结果表明，加入不同浓度的磷化氢以及氧化物对铜绿微囊藻的生长均有增长促进反应.在一定范围，随着磷化氢、亚磷酸和次亚磷酸盐浓度增加，藻类增长作用增强.但磷化氢以及氧化物并不能无限的刺激铜绿微囊藻的增长，达到一定的浓度后铜绿微囊藻的增长和磷化氢以及氧化物亚磷酸盐和次亚磷酸盐的存在已经没有必然的联系.

3.4 不同的磷存在形态（磷化氢和及其氧化物）对藻类的生长影响存在明显差异性.

由图 4 可以看出，在同一浓度下，PH_3 对铜绿微囊藻生长的刺激影响最大，而亚磷酸盐和次亚磷酸盐的刺激影响较小.同时，由于磷化氢具有强还原性，很快会被氧化成亚磷酸盐、次亚磷酸盐等，所以磷化氢的氧化产物亚磷酸盐、次亚磷酸盐对铜绿微囊藻作用也是由磷化氢的释放引起的.

参 考 文 献

1 宋立荣等. 蓝藻水华的发生和危害机理研究. 见: 许厚泽、赵其国主编. 长江流域洪涝灾害与科学对策. 北京: 科学出版社, 1999: 313-317

2 尹大强, 吴重华, 王晓蓉, 严 山. 太湖湖水及沉积物磷释放对藻类生长潜力研究. 南京大学学报, 1996, 32 (2), 253-260

3 吴重华, 王晓蓉, 孙 昊. 几种物质磷形态的生物有效性模拟研究. 环境科学,1998:58-62

4 Roels J, van Langenhove H, Verstraete W. Determination of phosphine in biogas and sludge at ppt-levels with gas chromatography-thermionic specific detection. *Journal of Chromatography A*, 2002, 952: 229-237

5 Gassmann G, Schorn F. Phosphine from harbor surface sediment. *Naturwissenschaften*, 1993, 80:78-80

6 曹海峰, 刘季昂等. 环境中磷化氢的源及厌氧条件下前体物类型的研究. 中国科学（B 辑）, 2000, 30(1): 63-67

7 Caraco N F, Cole J J, Likens G E. New and recycled primary production in an oligotrophic lake: Insights for summer phosphorus dynamics. *Limnol Oceanog*, 1992, 37: 590-602

8 Lewis W M, Grant MC, Hamilton SK. Evidence that filterable phosphorus is a significant atmospheric link in the phosphorus cycle. *Oikos*, 1985, 45: 428-432

9 Garry VF, Griffith J, Danzl TJ, Nelson RL, Whorton EB, Krueger LA and Cervenka J. Human genotoxicity: Pesticide applications and phosphine. *Science*, 1989, 246: 251-255

10 Jenkins RO, Morris T-A, Craig P J, Ritchie AW, Ostah N. Phosphine generation by mixed- and monoseptic-cultures of anaerobic bacteria. *The Science of Total Environment*, 2000, 250: 73-81

11 Sheng HH, Zhuang YH, Liu JA, Glindermann D. Phosphorus cycling through phosphine in paddy fields. *The Science of the Total Environment*, 2000, 258: 195-203

12 Eismann F, Glindemann D, Bergmann A, Kuschk P. Effect of free phosphine on anaerobic digestion. *Water Research*,

1997, 31(11): 2771-2774

13 APHA *et al*. Standard methods for examination of water and wastewater. 16ed.Washington D C: American Health Association, 1985:726-735

14 US EPA. Algal assay procedure bottle test. Corvallis. Ore: USEPA. National Environ Res Center, 1971:1-82

15 《全国主要湖泊水库富营养化调查研究》课题组. 湖泊富营养化调查规范，北京:中国环境科学出版社,1987:235-245

Studies on *Microcystis aeruginosa* Affected by Phosphine and Its Oxidation Dynamically Released from Eutrophic Lakes

NIU Xiaojun[1], ZHANG Jingfei [1], SHI Xiaoli[1], WANG Xiaorong [1],

GAO Guang[2], JI Jiang[2] & Dietmar Glindemann[3]

(1:State key laboratory of pollution control and resource reuse Nanjing University, Nanjing 210093, P.R. China;

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

3: Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, Germany)

Abstract

The effects of the release of phosphine on the growth of *Microcrystis aeruginosa* were experimentally studied. Using the method of Algal Growth Potential Test, the effects of phosphine and its oxidation products, such as phosphite and hypophosphite, on the growth of *Microcystis aeruginosa*, one of the dominant algae during water bloom seasons, were examined. The results showed that phosphine products had great influence on the growth of *Microcystis aeruginosa.* The release of phosphine from eutrophical waterbody perhaps may play an important role on the breakout of water bloom in lakes.

Keywords: Phosphine; phosphite; hypophosphite;dynamic release; *Microcystis aeruginosa*