

采用光合细菌控制水体中亚硝酸盐的研究*

刘双江¹ 孙 燕² 岑运华² 杨惠芳¹

(中国科学院微生物研究所¹, 北京 100080) (中国环境科学研究院水所², 北京 100012)

摘要 分离筛选到一株利用亚硝酸盐的光合细菌。试验结果表明, 当亚硝酸盐浓度在 0.01—5.0 mmol/L 时, 该菌株在 7d 时间内能去除 80% 以上的亚硝酸盐, 该菌株去除亚硝酸盐的最适碳源是乙酸和乳酸。在养殖池塘中施用该菌株制成的菌剂, 池塘中亚硝酸盐浓度下降 50%—80%。

关键词 水产养殖, 光合细菌, 亚硝酸盐。

众所周知, 亚硝酸盐对人和许多其它生物具有毒害作用。在水产养殖业中, 水体中 NO_2^- 浓度高是引起鱼、虾等致病(如草鱼出血热病)的直接或间接因素。对北京地区养殖水体调查结果表明, 水体中 NO_2^- 浓度过高(达 0.004 mmol/L)是近年来鱼病频繁发生的不可忽视的原因。光合细菌近年来被广泛用于有机污水的处理及资源化过程中, 其活菌制剂用于水产养殖也取得了积极效果^[1-3]但迄今为止, 未见有利用光合细菌控制水体中 NO_2^- 的研究与报道。试验过程中, 笔者发现了不同种光合细菌对 NH_4^+ 、 NO_3^- 和 NO_2^- 的利用能力不同, 并筛选分离到一株利用 NO_2^- 能力较强的光合细菌, 以此为材料, 研究了 NO_2^- 存在对光合细菌生长的影响及光合细菌对水体中 NO_2^- 的转化与去除作用。

1 材料与方 法

1.1 菌种

菌种 S 菌株为本试验室经筛选分离得到, 根据其形态特征和已知的生理生化特性, 初步归为红杆菌属(*Rhodobacter* sp. S strain)。

1.2 培养条件和方法

培养基组成参见文献[4]。培养基中含有 3 g/L 的 NH_4Cl 作为光合细菌生长的氮源。培养温度为 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 。光照培养时以 60 W 白炽灯为光源, 黑暗培养则在无光源恒温培养箱中($30 \pm 1^\circ\text{C}$)进行。培养开始时加入不同浓度的 NO_2^- , 观察 NO_2^- 对光合细菌生长的影响和光合细菌对 NO_2^- 的去除能力。

1.3 分析方法

(1) 光合细菌细胞光吸收的测定 培养物经离心收集细胞后悬浮在 60% 蔗糖溶液夜中, 在 300—700 nm 波长范围内扫描, 观察细胞光吸收的变化。参见文献[5]。

(2) NO_2^- 浓度测定 采用对氨基苯磺酸和 α -萘胺比色法^[6]。

2 结果与分析

2.1 NO_2^- 对光合细菌生长及细胞光吸收的影响

NO_2^- 对细胞的毒性表现在当其浓度超过一定范围后对细胞生长呈现抑制作用。鉴于分离到的 S 菌株能够进行光能异养生长和化能异养生长, 因此, 研究了在光照和黑暗 2 种条件下 NO_2^- 对细胞生长的影响, 结果见表 1 和表 2。从表 1 可见, 在光照条件下, 当 NO_2^- 浓度低于 0.5 mmol/L 时, NO_2^- 的存在不但对 S 菌株没有抑制作用, 反而有一定的促进作用。当 NO_2^- 浓度达到 1 mmol/L 时, S 菌株的生长明显受到抑制, 且培养物外观无色(正常情况下光照培养

表 1 NO_2^- 对菌株生长的影响(30℃, 培养 3d)¹⁾

NO_2^- (mmol/L)	0	0.01	0.05	0.10	0.50	1.00	5.0
光照 OD ₆₆₀	1.38	1.61	1.41	1.58	1.34	0.26	0.19
黑暗 OD ₆₆₀	0.16	0.27	0.27	0.22	0.19	0.16	0.30

1) 表中数据为细菌培养液在 660 nm 波长处的光吸收值

* 国家“八五”科技攻关项目

收稿日期: 1995-03-07

表 2 NO₂⁻ 对 S 菌株光照培养细胞
光吸收峰的影响(30℃, 3d)

NO ₂ ⁻ (m mol/L)	吸收峰处波长(nm)			
	480	450	375	370
0	+	+	+	+
0.1	+	+	+	+
0.05	+	+	+	+
0.1	+	+	+	+
0.50	+	+	+	+
1.0	-	-	±	±
5.0	-	±	±	-

“+”表示在该波长处有吸收峰,“-”表示无吸收峰,“±”表示此值光吸收较无 NO₂⁻ 时消减 10 倍以上

物呈红色),说明其色素合成系统被抑制。测定细胞光吸收特征发现(表 2 和图 1),NO₂⁻ 消除了 478—480 nm 和 368—370 nm 两处光吸收峰。

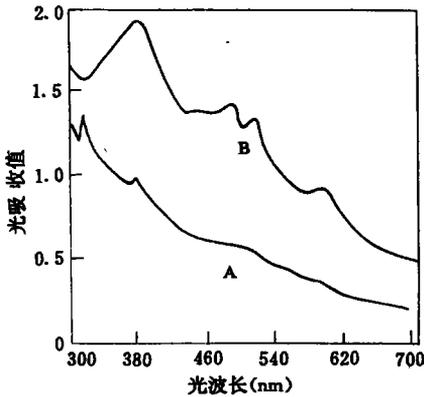


图 1 NO₂⁻ 存在对光合细菌光吸收的影响
A. [NO₂⁻]=1.0 m mol/L
B. [NO₂⁻]=0.5 m mol/L

从表 1 还可看出,在黑暗条件下当 NO₂⁻ 浓度在 0.01—5.0 m mol/L 范围时,NO₂⁻ 存在对 S 菌株的生长不但无明显的抑制作用,反而稍有促进其生长的作用。

2.2 S 菌株对 NO₂⁻ 的去除作用

(1) 不同浓度 NO₂⁻ 条件下 S 菌株的去除效率 NO₂⁻ 浓度在 0.01—5.0 m mol/L 范围内经 30℃、7d 培养后,S 菌株对 NO₂⁻ 的去除见表 3。从表 3 可见,无论在光照或黑暗条件下,S 菌株对 NO₂⁻ 的去除能力都很强(碳源为苹果酸),一般在 80%以上甚至接近 100%。尤其是 S 菌株

对 NO₂⁻ 的去除作用不受光照与否的影响,这十分有利于其实际应用。

表 3 S 菌株对不同浓度 NO₂⁻ 去除作用(39℃, 7d)

初始浓度 (m mol/L)	去除率(%)	
	光 照	黑 暗
0.01	83.3	73.3
0.05	100	86.1
0.10	96.5	100
0.50	97.5	98.9
1.0	100	99.5
5.0	98.1	100

表 1 表明,当 NO₂⁻ 浓度超过 1 m mol/L 时,细菌的光照生长受到明显的抑制,但表 3 结果表明,此时 NO₂⁻ 的去除率仍然很高,这可能是由于光合细菌的生长与 NO₂⁻ 的去除没有直接的相关性,细菌生长的氮源不是 NO₂⁻ 而是培养基中的 NH₄Cl,NO₂⁻ 的去除是伴随细菌生长过程发生的非生长代谢反应。

(2) 不同碳源对 NO₂⁻ 去除的影响 S 菌株可以利用包括小分子有机酸和单糖在内的多种有机物做碳源生长,表 4 列出了不同碳源为底物时 S 菌株对 NO₂⁻ 去除作用。从表 4 可以看到,在光照条件下只有乳酸钠、乙酸钠为碳源时 NO₂⁻ 的去除率与以苹果酸钠为碳源时接近(表 3),而在黑暗条件下,只有乙酸钠作碳源时 NO₂⁻ 的去除率与以苹果酸钠为碳源时接近。S 菌株利用不同碳源时对 NO₂⁻ 的去除效率相差较大。

表 4 S 菌株利用不同碳源对 NO₂⁻ 去除率(%)¹⁾

底 物	黑暗条件	光照条件
对照 ²⁾	12.7	5.4
乳酸钠	44.7	90.6
丁酸钠	15.5	17.6
乙酸钠	98.8	95.6
丙酮酸钠	50.4	36.8
葡萄糖	33.8	18.7

1) 初始 NO₂⁻ 为 1 m mol/L
2) 对照培养不加任何碳源

2.3 S 菌株在池塘养殖中的应用效果

NO₂⁻ 是水体中一个重要生态因子,它对淡水鱼的影响主要为 NO₂⁻ 和血红蛋白的亲合作

用,由于 2 者的结合而导致血红蛋白失去携带 O_2 的功能,结果使其供氧能力下降,机体的代谢和免疫力受到影响。一些研究者从鱼病和环境因子的关系上论证了 NO_2^- 是草鱼出血病和鲢、鳙、鲂、鲫等暴发性鱼病的重要诱发因子。消除 NO_2^- 是渔业生产上迫切需要解决的问题,也是池塘生态管理上一个难以控制的因子。光合细菌在水产养殖上的增产防病效果已经得到肯定^[7-8],但用它控制水体中 NO_2^- 浓度尚未有报道。

为了确认 S 菌株在实际应用中对 NO_2^- 的去除效果,在北京郊区选择了 8 个池塘进行试验,单个池塘 0.63—0.80 hm^2 ,水深 2—2.5 m,池塘养殖类型分为精养鲤鱼池塘和以鲢鳙为主的混养池塘。每组试验池塘施用 S 菌株培养液的数量分别为 45 kg/hm^2 、90 kg/hm^2 和 135 kg/hm^2 3 个级别,每 7—10 d 施用 1 次,共使用 4 个月。试验结果见表 5。从表 5 可以看到,无论是精养鲤鱼池塘还是以鲢、鳙为主的混养池塘,采用 S 菌株处理的池塘中 NO_2^- 浓度比对照池塘降低许多,下降幅度在 50%—80%,平均只有 0.001—0.002 $m mol/L$,而对照池平均为

表 5 S 菌株对养殖池塘中 NO_2^- 的去除效果($m mol/L$)

S 菌株处理剂量	精养鲤鱼池塘	混养池塘
CK(0)	0.006	0.008
45 kg/hm^2	0.002	0.002
90 kg/hm^2	0.001	0.002
135 kg/hm^2	0.002	0.001

0.006—0.008 $m mol/L$ 。

3 讨论

根据文献[4]紫色非硫光合细菌共有 21 种,其中有 6 种能够利用 NO_3^- 做氮源生长,但对 NO_2^- 的利用与否未进行特别描述。本试验结果表明,S 菌株不仅能够在试验室条件下去除 NO_2^- ,而且在复杂的自然水体环境中仍能有效地去除 NO_2^- ,这为水产养殖业中控制池塘中 NO_2^- 浓度提供了一条新的有效途径。

NO_2^- 的去除可能有 3 条途径,即转变为细胞氮、被氧化为 NO_3^- 或是被还原为 N_2 ,S 菌株去除水体中 NO_2^- 的确切机理尚不清楚。从本试验结果(表 1 和表 3)中可以看到,在 NO_2^- 浓度为 1.0 和 5.0 $m mol/L$ 时,细胞生长受到了明显的抑制,但其 NO_2^- 去除率却仍然很高。因此,可推测 S 菌株去除 NO_2^- 不是通过把 NO_2^- -N 同化为细胞这一途径进行的,而更有可能是把 NO_2^- 氧化为 NO_3^- 或还原为 N_2 。

参 考 文 献

- 1 Kabayashi M and Shin-ichiro Kurata. *Process Biochemistry*. 1978, 13:26
- 2 王育锋等. *水产学报*. 1990, 14:347
- 3 Kabayashi M. *Adv. in Agri. Microbiology*. Oxford and IBH Publishing Corp. 1982: 643—661
- 4 Trüper H G and Imhof J P. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. 1989. 1658—1682
- 5 刘双江等. *微生物学通报*. 1993, 20:259
- 6 俞毓馨等. *环境工程微生物检验手册*. 北京:中国环境出版社, 1990
- 7 马述发等. *齐鲁渔业*. 1991, (3):25
- 8 陈正宇等. *珠江水产*. 1991, (17):104

· 环境信息 ·

欢迎购阅《白洋淀污染调查与控制专集》

《白洋淀污染调查与控制文集》(《环境科学》增刊)于 1995 年 12 月出版。《文集》精选了关于白洋淀污染现状调查、污染控制措施、治理对策和作为白洋淀主要污染源之一的棉浆废水、糠醛废水、粘胶人造丝含锌废水等的处理技术的论文 35 篇。论文简练明晰,实用性较强,可供其他平原浅水湖的污染防治和类似废水的处

理借鉴。

《文集》约 13 万字,定价 8 元/册(含邮资)。欲购者请将书款汇到北京 2871 信箱《环境科学》编辑部,邮编 100085。请在汇款单上写清所购书名和数量。联系电话:2545511—2138,联系人:万维纲

alleviation of aluminum toxicity to wheat. Silicon was added as solutions of sodium silicate with a pH value of 4.8 and the unamended soil was used as control. Plant biomass and contents of some elements in wheat seedlings were measured. The concentrations of some species of active aluminum in rhizosphere soils were also determined. It was found that the biomass of wheat seedlings increased and the uptake of Ca, Mg etc. by wheat seedlings was improved with 0.3 mmol/kg of Si added. When the amount of Si added reached 0.9 mmol/kg, more significant effects can be observed for the growth and uptake of nutrients by wheat seedlings. Moreover, silicon treatments slowed down the pH decline and the increment of soluble and exchangeable aluminum content in rhizosphere soils. Considering the resources and the effects for mitigating aluminum toxicity, application prospect of silicon materials such as some industrial waste products and crop residues in acid soils were discussed.

Key words: silicon, acid soil, aluminum toxicity, alleviating effect, wheat, rhizosphere.

Study on Degradation Mechanism of Organophosphorus Pesticide Isocarbofos by Immobilized Microorganism. Luo Qifang et al. (Institute of Environmental Medicine, Tongji Medical University, Wuhan 430030); *Chin. J. Environ. Sci.*, **16**(6), 1995, pp. 14—16

Gas chromatography/mass spectrometry and other analytical methods were applied in this study. The test has given a mass-spectrum of refined isocarbofos. Analytical results demonstrated that the cyclic structure of isocarbofos might be broken into simple inorganic compounds such as CO₂, H₂O, NH₃, H₂S and H₃PO₄ by immobilized microorganism. Organic compounds such as isopropyl salicylate were products of degradation process by inference. The primary research on the degradation mechanism of isocarbofos has also been done.

Key words: immobilized microorganism, isocarbofos, degradation mechanism.

Comparison of the Mutagenicity of Water Samples Disinfected with Several Disinfectants.

Tang Fei et al. (Inst. of Environ. Med., Tongji Medical University, Wuhan 430030), Cheng Maoyi et al. (Shashi Station of Sanitation and Antiepidemics, Shashi 434000); *Chin. J. Environ. Sci.*, **16**(6), 1995, pp. 17—20

In this study, the mutagenicity was detected and compared after treatment of the Wuhan East Lake water with chlorine, chlorine dioxide or ozone. The concentrates of untreated and ozone-treated water at all sample collection dates were nonmutagenic in the Ames test. Both chlorine and chlorine dioxide treatment of the water resulted in increases of TA98 mutagenicity. Comparative analysis of these treated waters for mutagenicity showed a consistent pattern of mutagenic potency, with decreasing activity in the order: chlorine > chlorine dioxide > ozone. The study also found that pretreatment of water with potassium permanganate prior to chlorination was effective in reducing the level of mutagenicity which formed during chlorination.

Key words: chlorine, chlorine dioxide, ozone, mutagenicity of drinking water.

Biological Control of Nitrite in Fish Farming Ponds by Photosynthetic Nonsulfur Bacteria.

Liu Shuangjiang et al. (Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080), Sun Yan et al. (Institute of Water Research, Chinese Academy of Environmental Science, Beijing 100012); *Chin. J. Environ. Sci.*, **16**(6), 1995, pp. 21—23

Nitrite, a toxic factor for most aquatic animals and causing a great loss for fishery if it was kept at a higher level in water, was found to be utilized and removed screened and isolated strains of photosynthetic nonsulfur bacteria. Experiments indicated that the isolated strains removed nitrite by more than 80% when the nitrite in the bulk ranged from 0.01 to 5.0 mmol/L, regardless they were cultured under illumination or in dark. Results also show that acetate and lactate were the optimal C sources for nitrite removal. Field surveys on the nitrite concentration in fish farming ponds in Beijing area found that it was about 0.006—0.008 mmol/L. By using the isolated strains in the ponds, their nitrite concentrations decreased by 50%—80%.

Key words: photosynthetic bacteria, nitrite, fishery.

Study on the Motor Soot Combustion Performance over Different Catalysts.

Chen Min et al. (Catalytic Institute, Hangzhou University, Hangzhou 310028); *Chin. J. Environ. Sci.*, **16**(6), 1995, pp. 24—25

In this paper, the soot collected from automobile