

# 一株分离自太湖有机聚集体上的有机磷降解细菌的鉴定及其降解特性研究

段雪梅<sup>1,2</sup>, 冯 胜<sup>1,2</sup>, 王小冬<sup>1,2</sup>, 汤详明<sup>1,2</sup>, 高 光<sup>1</sup>, 秦伯强<sup>1</sup>

(1. 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 江苏 南京 210008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘 要:** 水体中磷的循环与再生依赖于微生物的分解作用, 因此对水体中有机磷分解细菌的研究是弄清水体磷循环的关键所在。本研究从太湖有机聚集体上分离纯化出一株能对有机磷(卵磷脂)进行降解的菌株, 命名为 pjj-1。从形态、生理生化、Biolog 和 16S rDNA 序列等方面, 对该有机磷降解细菌 pjj-1 进行了鉴定。结果显示, 其为不动杆菌属中的琼氏不动杆菌(*Acinetobacter junii*), 该菌株与已报道琼氏不动杆菌的 16S rDNA 核苷酸序列有 99.5% 的同源性。对其降解有机磷特性的研究结果表明, 该菌株在 pH=7.5、温度 30 ℃、透气性好的条件下表现出对卵磷脂有较好的降解性能。在 pH 中性、30 ℃ 条件下该菌株对不同形态有机磷的降解速率分别为: 甘油磷酸钠(0.045 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)>卵磷脂(0.019 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)>微囊藻残体(0.011 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 表明该菌株对水体中的有机聚集体存在相当的分解能力, 对小分子有机磷的降解性能更为明显。

**关键词:** 有机磷; 微生物降解; 16S rDNA; 琼氏不动杆菌

**中图分类号:** X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0741-07

## Isolation, Identification and Characterization of an Organic Phosphorus-degrading Bacterial Strain from Organic Aggregates in Taihu Lake

DUAN Xue-mei<sup>1,2</sup>, FENG Sheng<sup>1,2</sup>, WANG Xiao-dong<sup>1,2</sup>, TANG Xiang-ming<sup>1,2</sup>, GAO Guang<sup>1</sup>, QIN Bo-qiang<sup>1</sup>

(1. Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** The regeneration of phosphate depended on the decomposition of microbe in water ecosystem, so it was important to isolate and study the phosphorus-degrading bacteria in the eutrophic water. Classical physiological and biochemical methods, Biolog and 16S rDNA coding genes analysis were applied to identify the strain pjj-1 which could degrade organic phosphorus isolated from the organic aggregates of Taihu Lake. Physiological and biochemical identification showed that it belonged to *Acinetobacter* sp. Biolog identification showed the similarity index reached to 0.757. 16S rDNA determination and analysis was used for further identification, which indicated that the 16S rDNA sequence of pjj-1 shared 99.5% homologies with that published sequence of *Acinetobacter junii* from GenBank. All these results suggested that this strain belonged to one strain of *Acinetobacter junii*. The most optimum degrading condition was at 30 ℃ and pH 7.0 on organic phosphorus medium, the decomposition speed characterization for different forms of organic phosphorus was: natrium-β-glycerophosphate (0.045 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)>lecithin (0.019 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)>algae dross (0.011 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) respectively, which showed that pjj-1 not only could decompose the organic aggregates in the water, but had more efficient degradation ability for the simple organic phosphorus.

**Keywords:** organic phosphorus; biodegradation; 16S rDNA; *Acinetobacter junii*

在许多湖泊中,浮游植物的生长和生产力常常被认为是受磷限制的,而其中的溶解性反应磷(DRP)又

被认为是浮游植物可直接利用磷的主要形态。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<sup>[1,2]</sup>。而水体中磷的循环与再生则依赖细菌等微生物对颗粒态、溶解态有机质的分解<sup>[3]</sup>。浅水湖泊由于强烈的水动力扰动及不稳定的水-沉积物界面使得更多的有机颗粒物滞留在水体中,研究表明水体中颗粒有机物中的磷含量可高出周

收稿日期:2007-06-14

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:40573062);中科院知识创新方向性项目(KZCX2-YW-419)

作者简介:段雪梅(1974—),女,博士研究生,主要从事环境污染研究。E-mail: xmduan@niglas.ac.cn

通讯作者:秦伯强 E-mail: Qinbq@niglas.ac.cn

围水体的 720~3 180 倍<sup>[4]</sup>,细菌对有机颗粒物的分解代谢是水体营养盐再生的核心场所<sup>[5,6]</sup>。微生物与有机质之间密切的代谢耦联,可通过微食物网(Microbial food web)作用将有机碎屑中的物质及能量转移到更高的营养级中<sup>[7]</sup>。这不仅会影响水体营养盐的循环、矿化速率和再生通量,甚至改变水体营养盐的生物地球化学循环方式和途径。在水生生态系统中有关有机质代谢的生物学作用过程的研究报道不是很多<sup>[8]</sup>,而关于对有机磷矿化作用的研究更多的集中在对土壤中相关微生物的研究<sup>[9]</sup>,水环境中微生物对磷转化的研究报道甚少<sup>[10]</sup>。

利用分子生物学手段,包括非培养(culture-independent)的方法为生态系统中微生物系统发育的研究提供了强有力的手段<sup>[11]</sup>。而对于功能菌的研究,传统培养的手段还是行之有效的办法,它不仅可以从形态、生理生化反应和 16S rDNA 序列等方面对微生物进行鉴定,还可以深入地研究微生物在环境中生理生化特性的变化规律<sup>[12]</sup>。本文从富营养化的太湖水体有机聚集体上分离出一株有机磷分解细菌,运用生理生化反应及 Biolog 和 16S rDNA 序列测定等手段对其进行鉴定并对其降解性能作了初步的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

蒙金娜培养基:葡萄糖 10.0 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.3 g, NaCl 0.3 g, KCl 0.3 g, FeSO<sub>4</sub> 0.03 g, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.03 g, 蒸馏水 1 000 mL, 115 °C 灭菌 20 min。

有机磷液体培养基:1 000 mL 蒙金娜培养基加 0.4 g 酵母膏,再加 0.2 g 卵磷脂;在有机磷液体培养基中添加琼脂 13~16 g 即为有机磷固体培养基。

LB 培养基:胰化蛋白胨 10.0 g, 酵母提取物 5.0 g, NaCl 10.0 g, 用 5 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 调 pH 值至 7.0。用去离子水定容至 1 000 mL, 115 °C 灭菌 20 min。用于菌种保藏、活化。

样品采集<sup>[13]</sup>:用灭菌采水瓶进行,在太湖梅梁湾中采集 0.5 m 深处水样,无菌操作注入灭菌螺口玻璃瓶,立即带回实验室,无菌条件下用微孔滤膜(Nucleopore Filter, 3 μm, 47 mm diameter)过滤,收集滤膜于无菌水中在超声波震动仪上处理 1.6 min (工作时间 20 s/20 s, 型号:SCQ-3000F 超声波细胞粉碎机,上海声彦超声波仪器有限公司),作为接种液。

### 1.2 试验方法

有机磷降解细菌的分离和纯化<sup>[14]</sup>:用稀释平板涂布分离法,将接种液均匀涂布于有机磷培养基平板上,在 30 °C 的恒温培养箱倒置培养,在 24、36、48 h 取出观察生长情况。能产生透明圈的菌株即为有机磷降解细菌,按菌落特征挑出菌落,于相应条件下进一步通过划线法纯化。斜面 4 °C 保存备用。

菌体生长量的测定:LB 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 LB 液体培养基和有机磷液体培养基为参照,测定波长 600 nm 处的 OD 值<sup>[15]</sup>。

细菌解磷能力测定:将待测菌株等量接种于液体培养基中,于 30 °C、150 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养。试验分组:(i) 环境因子对 pjj-1 菌株降解性能的影响:温度对降解性能影响的实验设计为:取 250 mL 三角瓶,装液量为 100 mL,接种后分别在 5、15、25、30、35、45 °C, 150 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养,每个梯度设 3 个重复及空白对照,3 d 后测定磷酸根含量;pH 值对降解性能的影响:分别调节其 pH 值为 5.5、6.5、7.5、8.5、9.5,其他处理同上;通气量对降解性能的影响,也采用 250 mL 三角瓶进行测定,在瓶中分别装液 50、100、150、200 mL,其它处理同上。(ii) pjj-1 菌株对不同形态磷降解性能的研究,在蒙金娜培养基中分别添加 3 种磷源,A:甘油磷酸钠,B:卵磷脂,C:灭菌微囊藻残体。对 A、B、C 3 组设置分别以无菌含磷培养基为对照,从 0 h 至 12 h 时间内,每 4 h 取样一次,自 12 h 起,每 12 h 取样一次至 72 h。样品于 5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 30 min 后,测定溶液中磷酸根和总磷含量。

测定方法:取 10 mL 培养液,5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,消解后取 5 mL 上清液,于 Skalar 微量流动注射分析仪(荷兰 Skalar San++ 连续流动分析仪)上测定总磷含量,用钼-锑-抗法测定培养液中磷酸根离子的含量<sup>[16]</sup>。

### 1.3 细菌生理、生化指标测定

参照文献<sup>[17]</sup>对菌株 pjj-1 进行生理、生化指标测定,如革兰氏染色、糖发酵、淀粉水解、吲哚试验、甲基红试验等。

### 1.4 电镜观测

将分离的菌株于有机磷固体培养基上培养 24 h 后,用磷钨酸负染,制成超薄切片用 JEM-1200 型透射电镜观测。

### 1.5 碳源利用

将待测菌株在 BUG 琼脂培养基上培养得到新鲜菌体,通过用 BIOLOG 浊度仪,配置成一定浊度的菌悬液,用 8 通道移液器将菌悬液加入 BIOLOG 96 孔 GN2 型鉴定板中,将鉴定板放入恒温箱培养,于 37 °C、培养 24 h 后。用 Biolog 菌种鉴定仪检测显色反应,用 MicroLog4 菌种鉴定软件进行数据分析(均为 Biolog 公司)。

### 1.6 16S rDNA 全序列分析

将所分离的菌株在有机磷选择性培养基平板上划线,30 °C 培养 3 d,活化及检查纯度后,转接到有机磷液体培养基中,30 °C 培养 48 h 后,离心收集菌体,分别用无菌水和 TE buffer 洗 2 次后,加入 400  $\mu\text{L}$  含溶菌酶 (10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的 TE buffer,37 °C 保温过夜后,提取总 DNA。检查纯度和浓度后,于 4 °C 保存备用。

PCR 扩增:采用细菌通用引物(正向 27F:5'-GAGA-GTTTGATCCTGGCTCAG-3',反向 1495R:5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3')进行 16S rDNA 基因扩增,95 °C 预处理 5 min,95 °C 变性 1 min,55 °C 复性 2 min,72 °C 延伸 2 min,进行 30 个循环,72 °C 延伸 10 min。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 AppliedBiosystems DNA Sequencer (model 377)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。

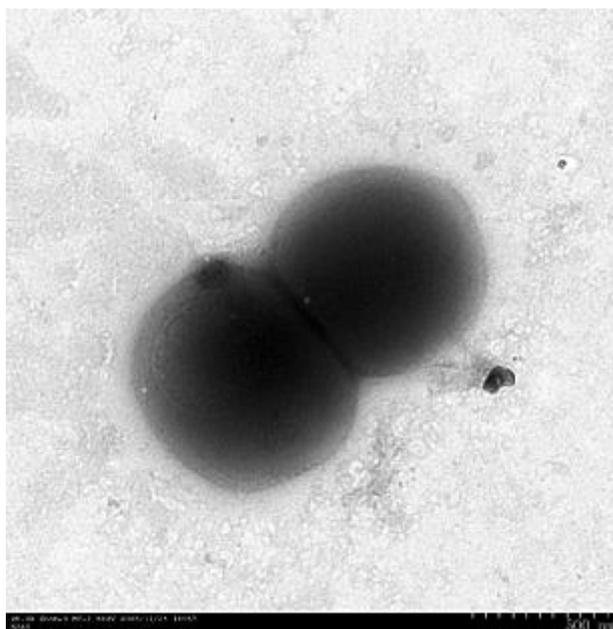


图1 菌株 pjj-1 的电镜照片(25 000  $\times$ )

Figure 1 Electron micrograph of the strain pjj-1 (25 000  $\times$ )

### 1.7 序列数据分析

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排列阵,用 MEGA3 程序包中的 Neighbor-Joining 法构建系统进化树。计算模型为 Kimura 2-parameter,计算次数为 1 000 次。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株的鉴定

#### 2.1.1 菌株的形态及生理生化特征

pjj-1 菌体形态为粗短杆状,近乎球形(图 1),大小约为 0.8~1.2  $\mu\text{m}\times$ 1.0~1.5  $\mu\text{m}$  左右,革兰氏染色阴性,不产芽孢,无鞭毛,无荚膜和纤毛(图 1),氧化酶阴性,吡啶阴性,不发醇糖类,对青霉素有抗性,好氧。菌落为光滑圆形,浅黄色,色素不扩散。最适生长温度为 30 °C 左右,最适 pH 值为 7.5 左右。

#### 2.1.2 碳源利用

根据革兰氏反应结果,将预处理过的 pjj-1 细胞悬液接种到 95 种碳源的 GN2 Biolog 板微孔中,分别在培养 4~6 h 和 20~24 h 后,取板于 BIOLOG Reader 上读数,测定 pjj-1 菌株对不同碳源的利用情况,表 1 为 pjj-1 对 95 种碳底物的利用能力。根据 pjj-1 的“代谢指数”,经 BiologMicroLog3(4.20)细菌鉴定数据库系统分析,pjj-1 与琼氏不动杆菌(*Acinetobacter junii*/genospecies 5)最相近,相似性指数 (SIM INDEX) 达 0.757,远大于 0.5。

#### 2.1.3 pjj-1 菌株的系统发育分析

以分离菌 pjj-1 总 DNA 为模板,利用细菌 16S rDNA 的特异引物进行 PCR 扩增,得到长约 1876 bp 的 PCR 扩增产物并进行测序。pjj-1 的 16S rDNA 核苷酸序列登录号为 DQ322071,用 BLAST 程序对 pjj-1 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,结果发现与多株不动杆菌属的序列同源性在 95% 以上,如与 *Acinetobacter junii* 的 16S rDNA 同源性达到 99%,与多株 *Acinetobacter* 的 16S rDNA 同源性达到 98%。依据细菌分类学家普遍认可的原则:当 16S rDNA 全序列同源性大于 97% 为属内同一种,小于 93%~95% 为属外成员<sup>[18]</sup>。说明该菌在分子系统发育分类学上属于不动杆菌属不动杆菌,与生理生化和 Biolog 鉴定结果吻合。pjj-1 菌株的系统发育树见图 3。

表1 pjj-1对Biolog板上95种碳底物的利用能力  
Table 1 Utilization of 95 carbon substrates by strain pjj-1 using Biolog microplat

底物	利用情况	底物	利用情况	底物	利用情况	底物	利用情况
水	-	环糊精	±	糊精	-	淀粉	+
吐温40	+	吐温80	+	N-乙酰基-D-半乳糖胺	-	N-乙酰基-D-葡萄糖胺	-
侧金盏花醇	-	L-阿拉伯糖	-	D-阿拉伯糖	-	D-纤维二糖	-
赤藻糖醇	-	D-果糖	-	L-果糖	-	D-半乳糖	-
龙胆二糖	-	α-D-葡萄糖	-	m-肌醇	-	α-D-乳糖	-
乳果糖	-	麦芽糖	-	D-甘露醇	-	D-甘露糖	-
D-蜜二糖	-	β-甲基-D-葡萄糖苷	-	阿洛酮糖	-	D-棉子糖	-
L-棉子糖	-	D-山梨醇	-	蔗糖	-	D-海藻糖	-
松二糖	-	木糖醇	-	甲基丙酮酸	+	单甲基琥珀酸	-
乙酸	+	顺-乌头酸	±	柠檬酸	±	甲酸	-
D-乳糖酸内酯	-	D-半乳糖醛酸	-	D-葡萄糖酸	-	D-葡萄糖胺酸	-
D-葡萄糖酸	-	α-羟基丁酸	±	β-羟基丁酸	-	γ-羟基丁酸	-
p-羟基苯乙酸	-	衣康酸	-	α-酮丁酸	±	α-酮戊二酸	+
α-酮戊酸	+	D,L-乳酸	+	丙二酸	-	丙酸	-
奎尼酸	-	D-葡糖二酸	-	癸二酸	-	琥珀酸	-
溴丁二酸	+	琥珀酰胺酸	±	葡糖醛酰胺	-	L-丙氨酸胺	-
D-丙氨酸	-	L-丙氨酸	+	L-丙氨酰甘氨酸	-	L-天冬酰胺酸	+
L-天门冬氨酸	-	L-谷氨酸	+	甘氨酸-L-天门冬氨酸	-	甘氨酸-L-谷氨酸	-
L-组氨酸	-	羟基-L-脯氨酸	-	L-亮氨酸	-	L-鸟氨酸	-
L-苯丙氨酸	-	L-脯氨酸	+	L-焦谷氨酸	-	D-丝氨酸	-
L-丝氨酸	-	L-苏氨酸	-	D,L-肉碱	-	γ-氨基丁酸	-
尿刊酸	-	肌苷	-	尿苷	-	胸腺嘧啶核苷	-
苯乙胺	-	丁二胺	-	2-氨基乙醇	-	2,3-丁二醇	-
丙三醇	-	D,L-α-磷酸甘油	-	1-磷酸葡萄糖	-	6-磷酸葡萄糖	-

注:“+”可利用,“-”不能利用,“±”有微弱利用能力。

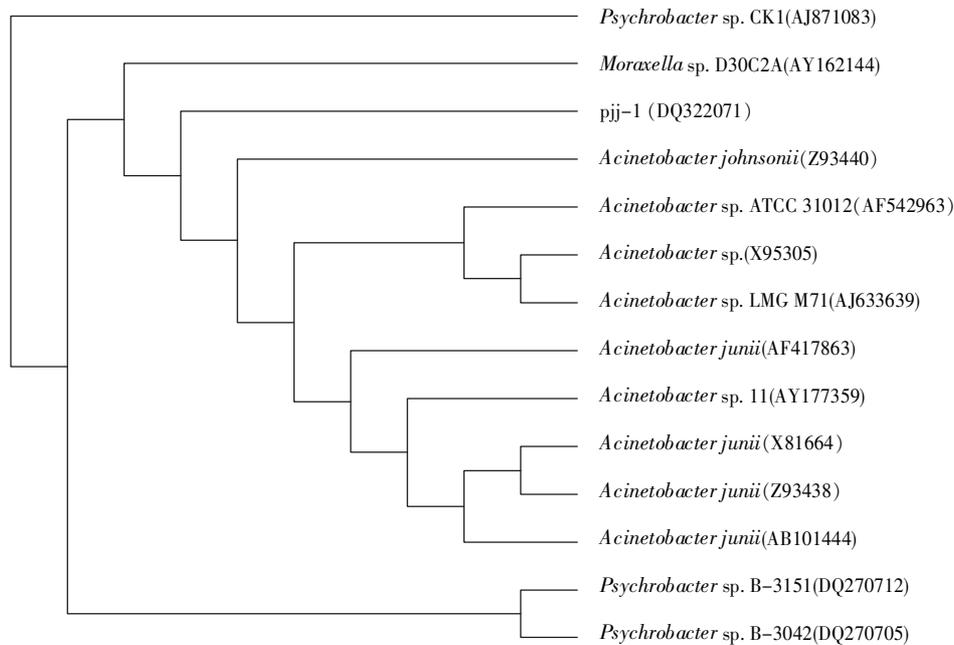


图2 菌株 pjj-116S rDNA 全序列系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree from the full-length 16S rDNA of pjj-1

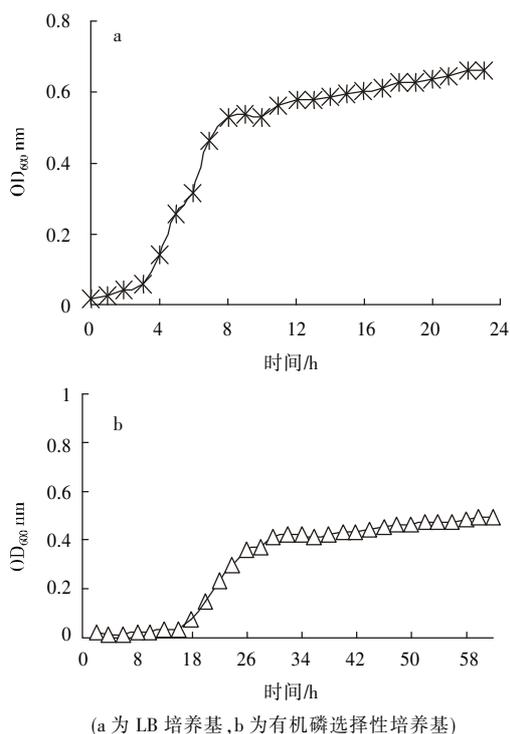


图3 菌株 pjj-1 在 LB 培养基和有机磷选择性培养基中的生长曲线

Figure 3 The growth of pjj-1 strain in substrate of LB and organic phosphorus

### 2.2 pjj-1 菌株在不同培养基中的生长情况

在 LB 液体培养基中, pjj-1 的停滞期大约在 3 h 以内, 3 h 后开始进入对数生长期, 随后进入稳定增长期, 并保持相当长的时间, 24 h 左右达到最高生长浓度, 其吸光值约为 0.79 左右; 在有机磷选择性液体培养基中, pjj-1 大约 16 h 进入对数生长期, 56 h 左右达到最高生长浓度, 其吸光值约为 0.58 左右。由此可见, pjj-1 在 LB 中生长速度比较快, 在有机磷选择性培养基中有较长的停滞期, 而且 4~6 h 时段出现吸光值略微的下降, 表明菌体对选择性培养基有一个适应的过程。不管是在哪种培养基中, pjj-1 都表现出较长时段的稳定生长期。但是从最大生长量来说, pjj-1 在 LB 中要远远大于有机磷选择性培养基。

### 2.3 环境因子对 pjj-1 菌株降解性能的影响

#### 2.3.1 温度对 pjj-1 菌株降解性能的影响

温度是生物生长的关键性因子之一, 图中(图 4-a)结果显示 pjj-1 菌株在不同的温度条件下对有机磷的降解性能有所不同, 这可能是有机磷降解主要靠生物酶作用的结果<sup>[9]</sup>, 温度的改变影响了细菌的活性进而造成了分解酶产量的变化。在不同温度下培养 5 d

后, 测定结果表明在 30 °C 的有机磷液体培养基中的  $PO_4^{3-}$  含量最高, 达  $99.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  而较低 (5 °C) 和较高 (45 °C) 温度都不利于 pjj-1 的生长和对有机磷的降解。说明 pjj-1 属于中温型细菌, 在 25~32 °C 之间, 菌体生长良好, 30 °C 为 pjj-1 菌株生长及降解有机磷的最佳温度, 这与梅梁湾蓝藻爆发的温度比较一致。

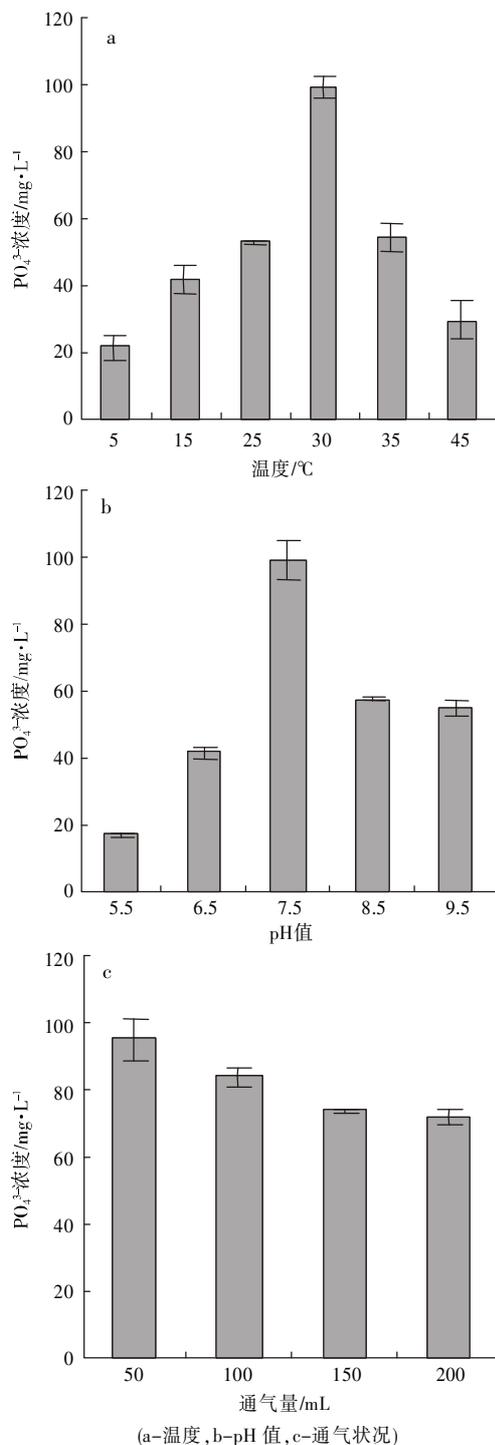


图4 环境因子对 pjj-1 菌株生长的影响

Figure 4 The influence of environmental factors on growth of pjj-1

### 2.3.2 pH 值对 pjj-1 菌株降解性能的影响

从对酸碱性的适应程度来看, pjj-1 菌株的最适 pH 约在 7.5 左右, 对酸敏感, 而对碱性环境的耐受度较强(图 4-b), 在 pH 值小于 6 时, 该菌株降解有机磷能力明显下降, 表明该菌株的活力显著下降; 当 pH 值从 8.5 升到 9.5 的时候, pjj-1 菌株分解出的磷酸根量有所下降, 但变化不甚明显, 这与太湖水体 pH 值偏碱性<sup>[2]</sup>比较一致, 可能是微生物长期环境适应的结果。

### 2.3.3 通气量对 pjj-1 菌株降解性能的影响

从通气量来看, 该菌株对氧气的需求量不是太大, 因为当 250 mL 的三角瓶装液 200 mL 时, 充氧效率已经很低了, 但是对它降解有机磷的性能影响却不大, 与 50 mL 装液量的分解效能差别并不显著 ( $P > 0.05$ , Oneway ANOVA)。在太湖这样的浅水湖泊中, 由于经常受风浪扰动的作用<sup>[20]</sup>, 水体溶解氧含量较高, pjj-1 菌株可以很好地发挥其对有机磷的降解功能。

### 2.4 pjj-1 菌株对不同形态有机磷的降解作用

pjj-1 菌株对甘油磷酸钠、卵磷脂和微囊藻残体的降解在接种初期差异并不明显(0~8 h), 这一时段微生物处于对溶液中现存少量可利用态磷的吸收及分解后用于自身繁殖的需求, 这与附生假单胞菌对磷代谢的规律类似<sup>[21]</sup>, 是生物对环境适应过程的一种反应。随着对环境的逐渐适应, 接种菌液中活性磷的含量开始增加, 各菌株在满足自身生长需要外, 向环境中释放生物活性磷 ( $\text{PO}_4^{3-}$ 形态的磷), 12 h 后各溶液中磷酸根有明显上升趋势, 但对不同形态磷的降解存在显著差异(图 5)。对小分子有机磷甘油磷酸钠的降解速率达  $0.045 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ , 而对分子量最大的藻残体的降解速率相对较低, 为  $0.011 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ , 但都大于对有机磷有分解功能的炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*)和蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)的降解速率<sup>[22]</sup>。表明 pjj-1 菌株对有机磷有较好的降解性能, 对大分子物质的分解相对困难, 而微生物对有机质的矿化通常是通过产生分解酶来完成, 推测该菌株可能主要产生短链有机磷消化酶而释放出  $\text{PO}_4^{3-}$ , 进而为藻类的生长提供磷素。对实验溶液中的总磷进行跟踪测定的结果表明, 3 d 后水体中总磷减少的数量比较大(最小为  $0.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最大达  $0.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (图 6)。表明该菌株生长繁殖过程中也吸收了大量的磷元素, 这与其他有机磷分解细菌的释放与吸收活性磷共存<sup>[23]</sup>的降解特性类似。

## 3 结论

(1) 从太湖水体中分离到的降解有机磷的细菌

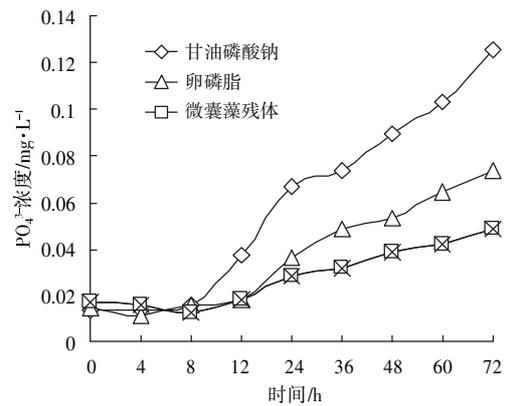


图 5 溶液中  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度变化

Figure 5 Variation of  $\text{PO}_4^{3-}$  concentrations in solution

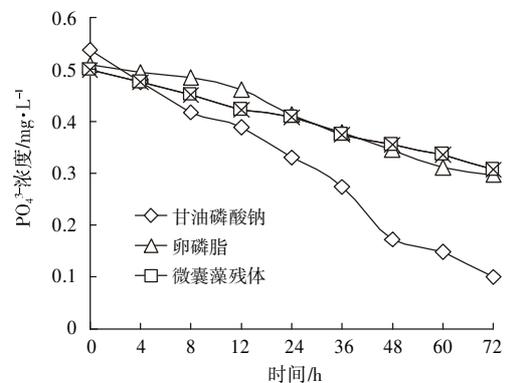


图 6 溶液中总磷浓度变化

Figure 6 Variation of total phosphorus in solution

pjj-1 菌株, 通过生理生化反应及 16S rDNA 同源性比较和 Biolog 细菌鉴定系统分析, 确定该菌株为琼氏不动杆菌 (*Acinetobacter junii*)。

(2) pjj-1 菌株在 pH7.5 左右, 温度 25~35 °C, 一般通气状况下对卵磷脂表现出良好的降解性能。

(3) pjj-1 菌株不仅对小分子有机磷表现出很好的降解性能, 对于微囊藻残体这种太湖中大量存在的有机碎屑也有明显的降解作用。

### 参考文献:

- [1] Sondergaard M, Jensen J P, Jeppesen E. Role of sediment and internal of phosphorus in shallow lakes[J]. *Hydrobiologia*, 2003, 506-509(1-3): 135-145.
- [2] 高 光, 朱广伟, 秦伯强. 太湖水体中碱性磷酸酶的活性及磷的矿化速率[J]. *中国科学 D 辑*, 2005, 35, (S2): 157-165.
- [3] Simon M, Grossart H P, Schweitzer B, et al. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems[J]. *Aquat Microb Ecol*, 2002, 28: 175-211.
- [4] Grossart H P, Simon M. Limnetic macroscopic organic aggregates (lake snow): occurrence, characteristic and microbial dynamics in Lake Constance [J]. *Limnol Oceanogr*, 1993, 38: 532-546.

- [5] Kaner M, Herndl G J. Extracellular enzymatic activity and secondary production in free-living and marine snow-associated bacteria [J]. *Mar Biol*, 1992, 113: 341-347.
- [6] Smith D C, Simon M, Alldredge A L, et al. Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution [J]. *Nature*, 1992, 359: 139-142.
- [7] Dilling L, Alldredge A L. Fragmentation of marine snow by swimming macrozooplankton: a new process impacting carbon cycling in the sea [J]. *Deep-Sea Res*, 2000, 47: 1227-1245.
- [8] 李勤生, 华 俐. 武汉东湖细菌种群结构的研究 [J]. *水生生物报*, 1989, 13(4): 340-347.
- [9] 冯月红, 姚 拓, 龙瑞军. 土壤解磷菌研究进展 [J]. *草原与草坪*, 2003, 100(1): 3-5.
- [10] Wu G F, Zhou X P. Characterization of phosphorus-releasing bacteria in a small eutrophic shallow lake, Eastern China [J]. *Water Research*, 2005, 39(19): 4623-4632.
- [11] Eschenhagen M, Schuppler M, Roske I. Molecular characterization of the microbial community structure in two activated sludge systems for the advanced treatment of domestic effluents [J]. *Water Res*, 2003, 37: 3224-3232.
- [12] Broderick N A, Raffa K F, Goodman R M, et al. Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture-independent methods [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 293-300.
- [13] 陈绍明, 郑福寿. 水生微生物学实验方法(上) [M]. 北京: 海洋科学出版社, 1985. 186-189.
- [14] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学出版社, 1985. 57-63.
- [15] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2000. 99-1001.
- [16] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范 [M]. (第二版). 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 233-237.
- [17] 中国科学院微生物研究室细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1978. 46-51.
- [18] 傅君芬, 洪文澜. 16S-23S 基因序列—一种新的细菌分类鉴定方法 [J]. *国外医学流行病学传染分册*, 1998, 25(6): 245-249.
- [19] Molla M A Z, Chowdhury A A. Microbial mineralization of organic phosphate in soil [J]. *Plant and Soil*, 1984, 78: 393-399.
- [20] 秦伯强, 胡维平, 高 光, 等. 太湖沉积物悬浮的动力机制及内源释放的概念性模式 [J]. *科学通报*, 2003, 48(1): 1822-1831.
- [21] 邹 迪, 肖 琳, 杨柳燕, 等. 不同形态磷源对铜绿微囊藻与附生假单胞菌磷代谢的影响 [J]. *环境科学*, 2005, 26(3): 118-121.
- [22] 李 翠, 袁红莉, 黄怀曾. 官厅水库底泥中解磷细菌垂直分布特征 [J]. *中国科学 D 辑*, 2005, 35(S1): 241-248.
- [23] 赵小蓉, 林启美. 微生物解磷的研究进展 [J]. *土壤肥料*, 2001, 3: 7-11.