

## 引江济太对太湖水体碱性磷酸酶活性的影响

李香华<sup>1</sup>, 胡维平<sup>2</sup>, 翟淑华<sup>3</sup>, 逢勇<sup>1</sup>

(1. 河海大学 环境科学与工程学院, 江苏 南京 210098; 2. 中国科学院 南京地理与湖泊研究所, 江苏 南京 210008;  
3. 水利部 太湖流域管理局, 上海 200434)

**摘要:** 本文通过对2003年7~9月引江济太期间太湖水体中碱性磷酸酶活性的测定, 以及总磷、总氮、正磷酸盐和叶绿素等其它水化学因子的同步监测, 初步探讨了太湖水体在引入长江水之后, 其碱性磷酸酶活性、营养盐和叶绿素含量的变化趋势, 以及碱性磷酸酶活性与营养盐、叶绿素含量之间的关系。研究表明: (1) 调水期间, 碱性磷酸酶活性的最大反应速率( $V_{max}$ )值降低, 而米氏常数( $K_m$ )值普遍增高, 表明引入长江水后, 太湖水体碱性磷酸酶的总催化效率降低; (2) 太湖水体碱性磷酸酶的 $V_{max}/K_m$ 与叶绿素含量之间具有良好的相关性, 叶绿素含量随着酶活性的降低而降低。

**关键词:** 调水; 碱性磷酸酶; 活性; 太湖

**中图分类号:** X524 **文献标识码:** A

太湖流域地处长江三角洲, 是我国经济和社会最发达的地区之一, 流域面积36900km<sup>2</sup>, 人口3600万, 城市化水平50.6%<sup>[1]</sup>。然而, 太湖流域的水资源在支撑整个流域经济社会发展的同时, 其水环境也明显地恶化, 大量污染物被排入太湖流域水体, 导致太湖局部水域严重污染, 藻类水华频发, 水环境质量明显下降, 造成太湖流域局部地区水质型缺水, 制约了地区经济、社会的健康发展和人们的身体健康。

碱性磷酸酶作为湖泊水体一种重要的酶类, 在湖泊磷循环过程中具有关键的作用。当水体磷营养缺乏时, 浮游植物、细菌经诱导作用产生大量磷酸酶, 并通过酶的催化作用水解水体中的有机磷, 释放出无机磷。当水体磷营养充足时, 酶的合成则受到抑制<sup>[2, 3]</sup>。研究表明: 每年海洋中的初级生产力所消耗的氮、磷等营养盐中, 99%最终是由再循环的过程提供的, 而这部分由再循环过程提供的氮、磷营养盐80%是由原位的再循环提供的<sup>[4]</sup>。湖体中磷酸盐的含量受藻类的自然生长过程的影响变化很快, 而碱性磷酸酶这种特殊的诱导-抑制机制对湖泊水体藻类的生长具有极其重要的作用。目前太湖水域平均磷浓度达0.1mg/L, 且氮磷比值在25以上, 因此表明磷为影响太湖藻类大量繁殖的重要因子<sup>[5, 6]</sup>。由于江水的总磷含量高于太湖水体, 引入长江水后, 会不会加剧太湖水体的富营养化, 是引江济太令人关注的问题。本文通过对2003年7~9月引江济太调水期间太湖水质参数的跟踪监测、水样采集与室内分析测定, 初步阐明了调水后水体碱性磷酸酶以及营养盐、藻类的变化趋势, 着重讨论引入长江水后, 部分水化学因子、水动力条件的改变, 对湖泊碱性磷酸酶的活性的影响, 为深入研究引调水以后太湖水体富营养化演变过程、藻类生长变化趋势等提供参考。

## 1 样品采集与分析方法

收稿日期: 2004-03-17

基金项目: 中国科学院知识创新工程重大项目(KZCX1-SW-12--01); 引江济太项目(THYJB-BS-02-002); 国家自然科学基金(40271100)联合资助

作者简介: 李香华(1974-), 女, 江苏南通人, 硕士生, 主要从事生态环境研究。E-mail: xiangzi0011@sinac.com

**1.1 采样点设置** 引江济太调水期间长江水通过望虞河从望亭立交闸处由贡湖进入贡湖湾,然后再进入整个太湖。为维持太湖水量的平衡及改变太湖的水动力学条件,从望虞河引水的同时,还开启太浦闸(位于东太湖)向下游河段排水。为揭示引江济太调水对太湖水质的影响,调水前(2003年8月5日)引江济太实验在贡湖设置了一个监测断面,同时在梅梁湖附近、湖心及太湖南部设置测点若干(图1)。其中1号点位于贡湖湾入口处,2、3、4号点依次往下排,5号点位于贡湖湾与梅梁湾接壤处,6号点位于湖心,7、8号点位于东太湖。2003年各采样点的部分理化因子监测值范围见表1。1~5号点由于受河道污水和人为因素的影响,水质相对较差,在夏季常见有条状蓝藻水华。6号点位于湖心,水质一般。7、8号点位于东太湖,水质较好。

表1 各采样点部分理化因子的监测数据(单位:mg/L)

测点	pH	溶解氧	总氮	溶解性总氮	总磷	溶解性总磷	叶绿素/(mg/m <sup>3</sup> )
1	7.81~8.76	4.92~13.08	1.88~4.35	0.91~4.04	0.125~0.198	0.015~0.094	5.09~114.1
2	8.12~8.76	6.97~10.52	0.96~1.78	0.78~1.26	0.035~0.058	0.005~0.027	12.50~32.99
3	8.16~8.80	6.79~10.84	0.94~1.45	0.28~0.72	0.057~0.104	0.006~0.020	19.64~23.95
4	8.15~8.83	6.51~10.09	0.94~1.75	0.38~0.74	0.063~0.115	0.006~0.031	9.19~40.18
5	8.09~8.78	6.45~9.88	1.18~2.00	0.67~1.01	0.053~0.113	0.005~0.026	4.44~43.75
6	8.28~8.29	7.56~8.35	0.82~1.41	0.36~1.19	0.033~0.041	0.007~0.011	12.81~16.96
7	7.94~7.95	5.81~7.42	0.52~0.74	0.26~0.67	0.027~0.028	0.006~0.014	0.93~1.79
8	7.60~8.03	5.58~7.88	0.57~0.74	0.36~0.56	0.026~0.033	0.023~0.027	0.89~0.94

**1.2 采样时间确定** 考虑到引江调水初期长江水只能影响到贡湖湾口附近水域,对湖心和东太湖的影响很小,所以引水前(8月5日)只对1~5号点进行采样,调水开始后分别于8月13日,8月17日,9月13日进行了采样。其中8月13日,9月13日同时对6、7、8号点进行了采样。样品采集完毕,立即送至实验室分析。

### 1.3 样品的分析方法

**1.3.1 水体碱性磷酸酶活性的测定**<sup>[7~10]</sup> 以对硝基苯磷酸二钠(pNPP)作底物,对硝基苯酚(PNP)的产生速率作为碱性磷酸酶活性(APA)的指标。

测定步骤:取水样体积2mL,用tris缓冲溶液调pH值为8.5,总反应体积为5mL,在30℃温度下保持6h,然后用分光光度仪在波长410nm下测定。

**1.3.2 理化因子的测定** 吸取摇匀后的水样20mL用过硫酸钾氧化法<sup>[13]</sup>测定其总磷、总氮含量;将水样预先用0.45 μm的醋酸纤维滤膜过滤后,取出20mL采用过硫酸钾氧化法<sup>[13]</sup>测定其溶解性总磷、总氮含量;水样过滤后,将滤膜剪碎,用90%的乙醇浸泡,并低温保存12h,取出后离心提取上清液,然后采用分光光度法<sup>[13]</sup>测定水样的叶绿素含量。

## 2. 数据分析



图1 采样点位置

2.1 碱性磷酸酶活性的最大反应速率( $V_{\max}$ )和米氏常数( $K_m$ )的测算<sup>[10-12]</sup> 在0.01~3.6mmol/L的浓度范围内,取8种不同的底物浓度,按1.3.1所述方法测定碱性磷酸酶的活性(APA)。根据Michaelis-Menten方程

$$V = V_{\max} \cdot [S] / (K_m + [S])$$

式中: $V$ 为碱性磷酸酶活性的反应速率,单位为 $\text{nmol} \cdot (\text{L} \cdot \text{min})^{-1}$ ;  $[S]$ 为底物浓度,单位为 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

对上式两边取倒数可得一线性方程(Lineweaver-Burk转换式),该线性方程在纵轴上的截距为 $V_{\max}^{-1}$ ,横轴上的截距为 $K_m^{-1}$ ,依测定的不同底物浓度的碱性磷酸酶的反应速率,用最小二乘法便可求出 $V_{\max}$ 和 $K_m$ (注: $V_{\max}$ 、 $K_m$ 均为表征碱性磷酸酶活性的动力学参数, $V_{\max}$ 为碱性磷酸酶活性的最大反应速率, $K_m$ 为米氏常数)。

2.2 引水量 2003年引江济太调水实验始于8月6日。8月6日~9月25日之间日引水量变化见图2。由图可见,调水初期调水量逐渐增大,到8月14日后逐渐减小,并于8月21日停止引水一天,之后又逐渐增大,至8月29日达到2430万 $\text{m}^3$ /日,然后又逐渐减小,引调水量一直处于跳跃变化状态。8月6日至9月25日累计引水量见图3,至9月10日累计引水量为45969万 $\text{m}^3$ 。由于调水时贡湖湾水深比以往高出20cm左右,按平均水深2.2m计算,太湖贡湖湾的容积为44660万 $\text{m}^3$ 。扣除沿湖水量损失的影响,到9月13日(调水后第三次采样)为止,累计引水量与贡湖容积相当。

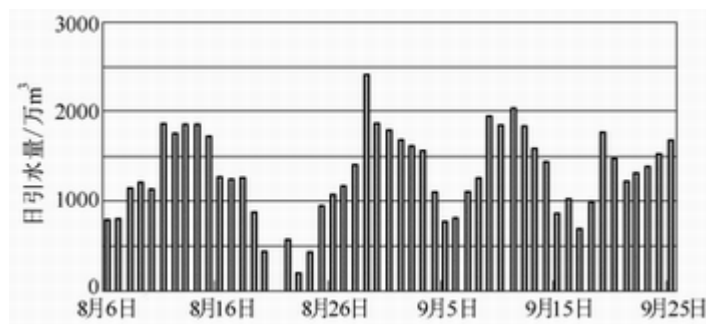


图2 调水期间日引水量变化

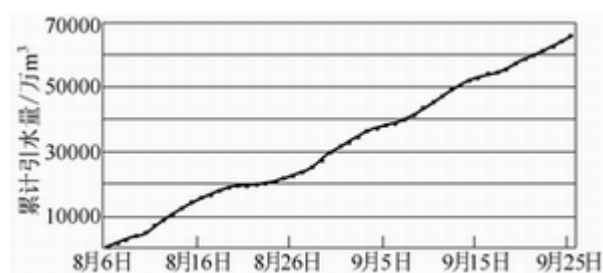


图3 调水期间累计引水量

### 3 结果

3.1 碱性磷酸酶活性在调水前后的变化 在不同底物浓度下,同一水样其碱性磷酸酶的活性各不相同,当底物达到饱和状态时,酶的活性趋向一最大值 $V_{\max}$ ,此时再增加底物浓度,酶的活性不再上升,因此, $V_{\max}$ 值是酶内在催化速率的表征。表2为贡湖5个采样点调水前后 $V_{\max}$ 值,从中可以看出,调水前贡湖碱性磷酸酶活性的 $V_{\max}$ 值自贡湖湾顶望虞河口至湾口逐渐降低,除1号点以外与总磷的变化趋势相反。湾顶碱性磷酸酶活性的 $V_{\max}$ 值是湾口的2倍,随着江水的引入,贡湖水体碱性磷酸酶的活性发生变化。1号点碱性磷酸酶的活性的 $V_{\max}$ 值在调水前较高,8月13日调水8d后明显下降,过后变化幅度较小。2号点碱性磷酸酶活性的 $V_{\max}$ 值为振荡下降,9月13日调水38d后碱性磷酸酶的 $V_{\max}$ 值明显低于调水前。3号点的 $V_{\max}$ 值在调水前8d上升,开始调水后的第12d其值为调水前的2倍多,但随调水历时增加 $V_{\max}$ 值降低,38d后 $V_{\max}$ 值小于调水前。4、5号点因湾顶碱性磷酸酶活性高的水体被引入的江水挤到湾口区域,因此碱性磷酸酶活性的 $V_{\max}$ 值随调水历时增加而逐步上升。

3.2 碱性磷酸酶的 $K_m$ 在调水前后的变化 调水前及调水过程中贡湖1~5号点碱性磷酸酶的 $K_m$ 值见表3,由表中数据可知,除4号点以外,由湾顶到湾口碱性磷酸酶活性的 $K_m$ 值逐渐减小,其水平变化梯度和 $V_{\max}$ 值相反,调水后 $K_m$ 值均呈上升趋势,其中4号点上升最快,调水38d后达 $213.59 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,是调水前的5倍,5号点是调水前的3倍。

**表 2 调水前后碱性磷酸酶的  $V_{max}$  值 ( $\text{nmol} \cdot (\text{L} \cdot \text{min})^{-1}$ )**

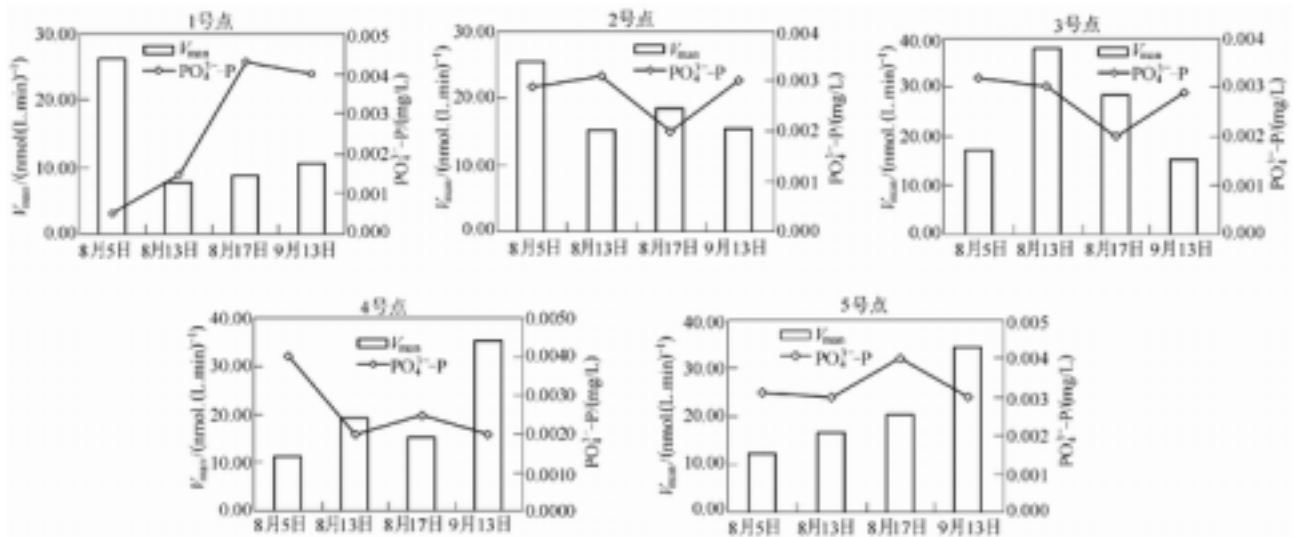
采样时间	1	2	3	4	5	6	7	8
8月5日	26.23	25.35	17.05	11.24	12.05			
8月13日	7.81	15.11	37.95	19.42	16.46	62.22	7.04	7.15
8月17日	8.70	22.14	24.46	15.26	20.12			
9月13日	10.59	9.55	15.34	35.33	34.32	50.22	8.48	6.42

**表 3 调水前后碱性磷酸酶的  $K_m$  值变化 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )**

采样时间	1	2	3	4	5	6	7	8
8月5日	20.90	11.56	26.82	45.60	16.37			
8月13日	72.69	44.97	48.85	130.54	47.23	139.54	79.49	102.8
8月17日	45.85	78.13	27.32	68.28	27.92			
9月13日	48.81	37.84	48.99	213.59	53.34	87.91	130.45	142.7

## 4 讨论

**4.1 调水前后碱性磷酸酶活性的  $V_{max}$  与正磷酸盐 ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ) 的变化** 高光等<sup>[11]</sup>在研究中发现太湖水体的碱性磷酸酶活性伴随着水体中  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  浓度变化, 而出现不断的波动。在缺磷状态下, 浮游生物能诱导产生碱性磷酸酶, 借此在较大的范围内接触并分解底物; 而当正磷酸盐浓度较高时, 酶的活性就会受到抑制。由于引江济太实验受到多方面因素的影响, 不可能做长期大水量的调水试验, 所以试验阶段引入的江水影响范围主要在贡湖湾。


 图 4 调水前后碱性磷酸酶活性的  $V_{max}$  与正磷酸盐 ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ) 的变化

单从图 4 的分析结果来看, 贡湖湾碱性磷酸酶活性的变化正印证了高光的观点, 调水期间碱性磷酸酶的活性随着正磷酸盐的波动出现明显的变化, 随着长江水的不断引入, 湖水也被往前推进, 由于长江水的磷酸盐含量高于太湖水体, 入湖口水体的正磷酸盐磷 ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ) 明显上升, 碱性磷酸酶的活性也明显降低; 而远离湖口的 4、5 号附近水域磷酸酶活性升高, 是由于 2、3 号点附近水域磷营养相对较低的湖水在引水过程中向 4、5 号点推进的缘故。这一现象与碱性磷酸酶特殊的“诱导-抑制”机制相吻合。威尼斯湖水总碱性磷酸酶活性与 SRP 之间<sup>[15]</sup>、美国明尼苏达湖中浮游植物磷酸酶活性与细胞磷浓度之间<sup>[16]</sup>以及武汉东湖溶

解态磷酸酶活性<sup>[17]</sup>与磷酸盐浓度之间均有类似的关系。由此可见,引江济太虽然增加了太湖水体的磷营养,但碱性磷酸酶的活性有降低的趋势,使得太湖水体的 $PO_4^{3-}-P$ 浓度保持稳定,从而不至于引起藻类水华暴发。

**4.2 碱性磷酸酶活性的 $K_m$ 值与水动力条件的关系** 已有的文献比较着重讨论碱性磷酸酶的活性机制<sup>[11,14]</sup>,但对 $K_m$ 值产生变化的原因阐述不多。从本次实验的结果来看,碱性磷酸酶活性的 $K_m$ 值与水动力条件密切相关。调水时,由于太湖贡湖湾口处于强制性进水状态,引起贡湖湾内水动力条件变化,从现场观测看来,调水引起贡湖湖区水位增加,流场改变,流速加大。从结果2表3可看出,调水后各点的 $K_m$ 值均高于调水前,说明水动力条件的改变对酶对底物的亲和力产生明显的作用。流速增大, $K_m$ 值也随之增大,即酶对底物的亲和力减小,碱性磷酸酶的催化效率降低,这样可使藻类可利用磷的浓度降低,从而减少藻类水华暴发的可能性。事实上从长江历年的营养盐监测结果可知,长江水的磷浓度高于太湖水体<sup>[18]</sup>,而长江并没有暴发藻类水华,这可能与长江的水动力条件有很大关系,从这种意义上讲,引江济太调水降低了碱性磷酸酶对底物的亲和力,这对控制太湖藻类水华有一定的好处。

**4.3 碱性磷酸酶的活性与叶绿素含量的关系** 从酶动力学上讲, $V_{max}$ 是酶内在催化速率的表征。 $K_m$ 值是对底物亲和能力的量度,其值越小,则对底物的亲和能力越强。因此, $V_{max}$ 和 $K_m$ 的比值能在总体上反映碱性磷酸酶的催化效率<sup>[12]</sup>。

从图5的分析来看,太湖水体碱性磷酸酶的 $V_{max}/K_m$ 比值与叶绿素含量具有极其相似的变化趋势, $V_{max}/K_m$ 比值越高,酶的催化效率高,大量有机磷被水解为无机磷,这样就可以提供充足的藻类可利用磷,以供藻类生长。由于浮游植物是磷酸酶的主要合成者,大量藻类又会大量诱导产生磷酸酶<sup>[8]</sup>。又由于酶的催化效率高时,可分解大量有机磷成正磷酸盐为藻类生长所利用,直到藻类长成需要一定时间,所以两者之间有一滞后现象。在瑞典Erken湖中,水体磷酸酶活性与叶绿素含量也具有极相似的变化趋势<sup>[19]</sup>。韩国Soyang湖中碱性磷酸酶的活性与叶绿素含量具有极其显著的正相关关系<sup>[20]</sup>。Heath和Cooke观测到富营养化湖泊中磷酸酶的活性与藻类的繁盛同时出现<sup>[21]</sup>。这些现象都在一定程度上解释了酶的动力学参数与藻类含量之间有密不可分的关系。

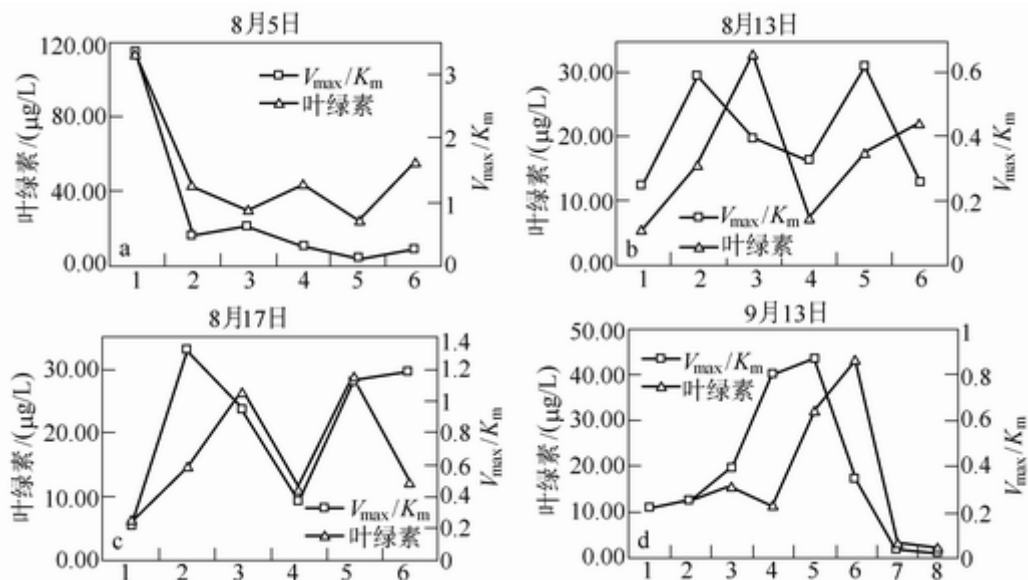


图5 各监测点叶绿素含量与 $V_{max}/K_m$ 值之间的关系

## 5 结 论

由上述分析,可知引江济太调水后,由于碱性磷酸酶特殊的“诱导-抑制”机制,太湖贡湖湾水体的碱性磷酸酶活性的 $V_{\max}$ 值降低。同时碱性磷酸酶活性的 $K_m$ 值升高,这可能与水体的水动力条件变化密切相关。这样造成水体碱性磷酸酶的总催化效率降低,因水体碱性磷酸酶的催化效率与叶绿素含量呈正相关性,碱性磷酸酶的催化效率降低,叶绿素含量也会相应的降低。所以引江济太虽然引入高磷浓度的水体,但并没有加重太湖水体的藻华。从实验结果也可以看出,贡湖湾引入长江水后,藻华并没有大量暴发。因此,从这一角度来讲,引江济太对太湖藻华并没有负面影响。从监测结果还可发现湖心区的碱性磷酸酶的 $V_{\max}$ 值和 $K_m$ 值均比贡湖高,东太湖的碱性磷酸酶的 $V_{\max}$ 值较低,而 $K_m$ 值较高。这可能与各湖区不同的水质及水动力条件有关,还有待进一步研究。

**致谢:**样品由季江高级工程师、谷孝鸿副研究员、陈宇炜助理研究员、张发兵硕士、胡志新硕士等采集,样品分析得到高光副研究员的大力协助。在此一并表示诚挚的谢意!

## 参 考 文 献 :

- [1] 林泽新.太湖流域防洪工程建设及减灾对策[J].湖泊科学,2003,14(10):12-18.
- [2] Reichardt W. Catalytic mobilization of phosphate in lake water and by Cyanophyta[J]. Hydrobiologia, 1971, 38: 377-394.
- [3] Wynne D, Kaplan B & T Berman. Phosphatase activities in lake Kinneret phytoplankton[A]. In: Chrost, R. J. (editor), Microbial enzymes in aquatic environments[C]. Springer-Verlag, New York, 1991. 220-226.
- [4] Harrison W G. Nutrient regeneration and primary production in the sea[A]. In: Falkowski, P. G. (editor), Primary production in the sea[C]. Plenum Press, New York, 1980. 443-460.
- [5] 杨清心.太湖水华成因及控制途径初探[J].湖泊科学,1996,8(1):67-73.
- [6] 黄文钰,高光,舒金华,等.含磷洗衣粉对太湖藻类生长繁殖的影响[J].湖泊科学,2003,15(4):326-330.
- [7] 洪华生,等.海水中碱性磷酸酶活性的测定及其在磷循环中的作用初探[J].海洋与湖沼,1992,23:415-419.
- [8] 周易勇,付永清.水体磷酸酶:来源、特征及其生态学意义[J].湖泊科学,1999,11:274-279.
- [9] Berman T. Alkaline phosphatases and phosphorus availability in Lake Kinneret Limnol [J]. Oecologr, 1970, 15: 663-674.
- [10] Chrost R J & J Overback. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in Lake Plubsee(Noseth German Eutrophic Lake)[J]. Microb Ecol, 1987, 13: 229-248.
- [11] 高光,高锡芸,秦伯强,等.太湖水体碱性磷酸酶的作用阈值[J].湖泊科学,2000,12(4):353-358.
- [12] 周易勇,李建秋,张敏,等.浅水湖泊中沉积物碱性磷酸酶动力学参数的分布[J].湖泊科学,2001,13(3):261-265.
- [13] 金相灿,等编著.湖泊富营养化调查规范(第二版)[M].北京:中国环境科学出版社,1990.
- [14] 周易勇,李建秋,付永清,等.浅水湖泊中碱性磷酸酶活性及其动力学参数的分层现象[J].湖泊科学,2000,12(1):53-58.

- [15] Danilo D et al. Estuarine, Coastal and Shelf Science[J]. 1986, 22: 425-441.
- [16] Maura A G & Eville G. Freshwater Biology[J]. 1985, 15: 227-248.
- [17] 周易勇, 李建秋, 等. 东湖溶解态磷酶的活性、动力学特征及其空间分布[J]. 环境科学, 1997, 18: 37-41.
- [18] 翟淑华, 郭孟朴. 望虞河引水对太湖影响前景分析[J]. 水资源保护, 1996, 14: 12-15.
- [19] Pettersson W. Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus as phosphorus-deficiency indicator in Lake Erken[J]. Arch Hydrobiol, 1980, 89: 54-87.
- [20] Tac-Seok A, Seung-IK C, Ki secong. Phosphatase activity in Lake Soyang, Korea[J]. Verh Internat Verein Limnol, 1993, 25: 183-186.
- [21] Heath R T & G D Cooke. The significance of alkaline phosphatase in an eutrophic lake[J]. Verh Internat Verein Limnol, 1975, 19: 959-965.

### Effect of water transfer from Yangtze River on alkaline phosphatase activity in Taihu Lake

LI Xiang-hua<sup>1</sup>, HU Wei-ping<sup>2</sup>, ZHAI Shu-hua<sup>3</sup>, PANG Yong<sup>1</sup>

(1. Hohai University, Nanjing 210098, China; 2. Nanjing Institute of Geography and Limnology, CAS, NanJing 210008, China;

3. Taihu Basin Authority, Shanghai 200434, China)

**Abstract:** The change tendencies of alkaline phosphatase activities, nutritious salt and chlorophyll in water in the period of transferring water from the Yangtze River in 2003 to improve the water quality of the Taihu Lake are investigated according to the monitoring data. The relationships between alkaline phosphatase activities and nutritious salt as well as chlorophyll are analyzed. The results show that the maximum reaction rate of alkaline phosphatase activity ( $V_{\max}$ ) tends to drop down, but the Michaelis-Menten constant ( $K_m$ ) tends to rise. These changes may be caused by the reduction of catalysis efficiency of alkaline phosphatase, after the water of Yangtze River was transferred into the lake. The good relationships between  $V_{\max}$  and  $K_m$  as well as the concentration of chlorophyll exist and the content of chlorophyll decreases following the reduction of alkaline phosphatase activity.

**Key words:** water transfer; alkaline phosphatase; activity