

有机解磷菌对天鹅湖湖沉积物中磷释放的影响

马凯, 谢嘉慧, 魏烈群, 姜晓静, 高丽

引用本文:

马凯, 谢嘉慧, 魏烈群, 姜晓静, 高丽. 有机解磷菌对天鹅湖湖沉积物中磷释放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1576–1584.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0928>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

普者黑河流-湖泊湿地表层沉积物磷素时空分布及影响因素

刘鹏, 张紫霞, 张超, 王妍, 杨波, 张叶飞

农业环境科学学报. 2019, 38(11): 2553–2562 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0555>

嘉兴河网大型底栖动物与氮磷、重金属的相关分析

黄子晏, 杜士林, 张亚辉, 张瑾, 孟睿, 何连生

农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1787–1798 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0506>

洪泽湖湿地不同植物作用下沉积物细菌群落结构

伍贤军, 杨红, 程睿, 盛怡, 韩建刚, 李萍萍

农业环境科学学报. 2018, 37(5): 984–991 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1246>

东北典型湖泊沉积物氮磷和重金属分布特征及其污染评价研究

刘丽娜, 马春子, 张靖天, 何卓识, 霍守亮, 席北斗

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 520–529 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1131>

青狮潭库区沉积物/稻田土壤中有机氯农药残留与释放规律

梁延鹏, 符鑫, 曾鸿鹄, 覃礼堂, 莫凌云

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1330–1338 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1346>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马凯, 谢嘉慧, 魏烈群, 等. 有机解磷菌对天鹅湖潟湖沉积物中磷释放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(7): 1576–1584.

MA K, XIE J H, WEI L Q, et al. Effects of organic phosphate-solubilizing bacteria on phosphorus release from sediments in Swan Lagoon[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(7): 1576–1584.

有机解磷菌对天鹅湖潟湖沉积物中磷释放的影响

马凯, 谢嘉慧, 魏烈群, 姜晓静, 高丽*

(烟台大学海洋学院, 山东 烟台 264005)

摘要:为探讨天鹅湖中有机解磷菌(OPB)的优势种属以及解磷菌对潟湖沉积物磷释放的影响,通过平板培养和16S rDNA序列分析对沉积物中OPB进行筛选鉴定,选取3株代表性菌株(*Geobacillus stearothermophilus*、*Bacillus flexus*、*Bacillus altitudinis*)在沉积物灭菌和非灭菌条件下进行模拟试验,探究OPB接种对上覆水总磷(TP)及沉积物碱性磷酸酶活性(APA)、磷赋存形态的影响。结果表明:芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)是天鹅湖冬季沉积物中OPB的优势属。沉积物是否灭菌对上覆水TP浓度影响显著,表现为灭菌组的3个接种处理的TP浓度均显著高于非灭菌组。OPB接种促进了天鹅湖沉积物中磷的释放,试验期间灭菌组各处理水体TP浓度变幅为0.049–0.335 mg·L⁻¹,其中弯曲芽孢杆菌(*Bacillus flexus*)和短小芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)增幅较大。在试验结束时,大多数处理沉积物中APA和弱吸附态磷(NH₄Cl-P)含量明显增加,而可还原态磷(BD-P)和铁铝结合态磷(NaOH-P)含量则有所降低。研究表明,在天鹅湖潟湖沉积物中分布着大量OPB,其可通过分泌碱性磷酸酶或改变氧化还原环境等影响沉积物磷的形态转化及释放潜力,OPB对沉积物内源磷释放的贡献不容忽视。

关键词:有机解磷菌;磷释放;碱性磷酸酶;沉积物;天鹅湖潟湖

中图分类号:X524 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)07-1576-09 doi:10.11654/jaes.2022-0928

Effects of organic phosphate-solubilizing bacteria on phosphorus release from sediments in Swan Lagoon

MA Kai, XIE Jiahui, WEI Liequn, JIANG Xiaojing, GAO Li*

(Ocean School, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: To identify the dominant organic phosphate-solubilizing bacteria (OPB) species in Swan Lagoon sediments, the technology of plate culture and 16S rDNA sequence analysis was used. Thereafter, three representative strains (*Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus flexus*, and *Bacillus altitudinis*) were selected for the simulation experiment investigating the influence of OPB inoculation on water total phosphorus (TP) concentration, alkaline phosphatase activity (APA), and P fractions in sediments. The experiment included two groups of sterilized and non-sterilized sediments. The results showed that *Bacillus* was the dominant OPB genus in the sediments of Swan Lagoon in the winter. The sterilization of sediments had a significant effect on the concentration of TP in water and TP concentrations at three inoculation treatments of the sterilized group were significantly higher than that of the non-sterilized group. The OPB inoculation promoted P release from the sediments in Swan Lagoon. TP concentration for different treatments of the sterilized group ranged between 0.049–0.335 mg·L⁻¹ and increased markedly for the *B. flexus* and *B. altitudinis* treatments. APA and loosely adsorbed P (NH₄Cl-P) concentrations in sediments increased for most treatments while the concentrations of redox sensitive P (BD-P) and Fe/Al bound P (NaOH-P) decreased. This study indicates that there are large quantities of OPB in the sediments of Swan Lagoon that affect the transformation and release of sediment P by excreting alkaline phosphatase or changing the redox condition. Therefore, the contribution of OPB to sediment P release cannot be ignored in Swan Lagoon.

Keywords: organic phosphate-solubilizing bacteria; phosphorus release; alkaline phosphatase; sediment; Swan Lagoon

收稿日期:2022-09-20 录用日期:2022-12-23

作者简介:马凯(1998—),女,硕士研究生,主要研究方向为滨海湿地生态与环境。E-mail:2557191583@qq.com

*通信作者:高丽 E-mail:ligao117@126.com

基金项目:山东省自然科学基金项目(ZR2021MD109, ZR2018MD018)

Project supported: The Natural Science Foundation of Shandong Province, China (ZR2021MD109, ZR2018MD018)

磷是导致大多数水体富营养化的重要诱因,当外源输入减缓或得到有效控制的情况下,沉积物内源磷的释放可使湖泊等水体长时间处于富营养化状态^[1]。微生物作为生态系统中的分解者,在水圈生境氮、磷等生源要素的循环过程中发挥着关键的驱动作用,从而影响着水体的营养状态^[2]。研究表明,沉积物中解磷菌的溶磷作用可使上覆水的可溶性磷水平明显升高,从而为有害藻华的暴发提供了必要条件^[3-4]。近年来,解磷菌在水体磷循环过程中的作用机制越来越受到关注。

有机解磷菌(OPB)可通过分泌磷酸酶、植酸酶等促进有机磷矿化,其中碱性磷酸酶在水体磷循环过程中起着重要作用,其活性与解磷量关系密切^[5-6]。在太湖,沉积物中碱性磷酸酶活性(APA)与OPB数量呈正相关关系^[7],解磷菌数量是影响解磷能力的重要因素。已有模拟研究证实,接种解磷菌可改变水体的pH、Eh等理化因子,并对沉积物中磷的释放具有一定促进作用,但解磷效果与解磷菌的种类、数量以及沉积物磷的赋存形态等有关^[8-9]。Qu等^[9]将类芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.)菌株接种至沉积物中,发现其可改变水体pH和金属离子浓度,并促进沉积物磷的释放。由此可见,解磷菌是影响沉积物内源磷释放的重要生物因子。研究表明,不同生境中解磷菌的优势种属及解磷能力均存在较大差异^[8,10]。目前沉积物解磷菌的相关研究多集中于淡水湖泊和河口水域,解磷能力评估大多在培养基条件下进行,而针对大型藻华暴发的潟湖中OPB的种属及其对沉积物的解磷效果鲜见报道。

荣成天鹅湖是位于山东半岛的天然潟湖,东南端与荣成湾相连,受潮汐影响水体交换频繁,其生境与湖泊、河流等水体差异较大。近年来,由于污水排放、水产养殖等人为活动影响,丝状硬毛藻(*Chaetomorpha* spp.)在湖内常年暴发,导致鳗草(*Zostera marina*)数量明显减少,并对底栖生物的生存造成了一定威胁^[11]。此外,藻体死亡后大量堆积于沉积物表面,使得沉积物内源污染加剧^[12]。天鹅湖湿地因其独特的地理位置和生境特性而具有较高的科研价值。本研究对天鹅湖冬季沉积物中OPB进行了分离和鉴定,并探究了不同OPB菌株对藻华区沉积物磷释放的影响,以期明确OPB在沉积物磷释放过程中的作用,旨在为进一步阐明潟湖生境中OPB的解磷机制提供参考,并为近海藻华水体内源污染的治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

2020年1月,在天鹅湖的西部(37°20′53″N, 122°33′33″E)和湖中心(37°20′49″N, 122°34′11″E)用柱状采泥器采集表层沉积物(0~5 cm),沉积物室内冷冻保存(-20℃),用于OPB的分离筛选。

2021年12月,在湖中心采集表层5 cm沉积物和底层湖水,用于接种模拟试验;该区域水位较深,沉积物为黏质,有大量硬毛藻和鳗草生长。沉积物样品放入冷藏箱中尽快送至实验室,分析磷形态和APA,其余样品4℃冷藏供模拟试验使用。湖水一部分进行煮沸,供灭菌组处理使用。底层湖水pH为8.49,盐度为28.33‰,总磷(TP)和可溶性磷浓度分别为0.009 mg·L⁻¹和0.004 mg·L⁻¹。

1.2 研究方法

1.2.1 沉积物中解磷菌的分离鉴定

利用选择性培养基对沉积物中OPB进行筛选分离。具体步骤:称取1 g沉积物样品加入到99 mL蒙金娜有机磷液体培养基中,振荡富集培养24 h,稀释后涂布于蒙金娜有机磷固体培养基,在30℃条件下培养2~7 d。培养过程中,出现明显透明圈的菌落视为具有解磷能力的菌株,经多次划线纯化后进行16S rDNA测序鉴定,并构建系统发育树。

1.2.2 不同解磷菌菌株对藻华区沉积物磷释放的影响

试验材料为湖中心的新鲜沉积物、底层湖水及3株代表性OPB[OPB3:嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*); OPB10:弯曲芽孢杆菌(*Bacillus flexus*); OPB11:短小芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)]。试验分为灭菌和非灭菌两组,每组设置5个处理:沉积物+湖水(CK1)、沉积物+湖水+葡萄糖(CK2)、沉积物+湖水+葡萄糖+OPB3、沉积物+湖水+葡萄糖+OPB10、沉积物+湖水+葡萄糖+OPB11。添加葡萄糖的目的是给菌株生长提供能量和碳源。灭菌组沉积物采用高温方式灭菌(121℃, 30 min),湖水进行煮沸灭菌。设置非灭菌组是为了分析土著微生物存在条件下解磷菌接种对沉积物磷释放的影响。操作步骤:称取300 g沉积物平铺于烧杯(2.0 L)底部,根据处理不同分别加入20 mL菌液(OD₆₀₀约为0.8)和3 g葡萄糖,混匀后加入1.8 L湖水。每个处理设3次重复,试验周期为15 d。

1.3 样品采集与测定

试验过程中,每2 d用注射器在沉积物-水界面

上方3 cm处采集水样,分析上覆水TP浓度,并原位测定界面的pH和溶解氧(DO)浓度;在试验结束时,测定沉积物的APA和各形态磷含量。界面pH采用多参数分析仪(SG78)测定;DO采用溶氧仪(SG6-FK2)测定;水体TP采用过硫酸钾消解,钼锑抗分光光度法测定^[13];沉积物APA分析采用对硝基磷酸苯二钠法^[14],磷形态采用化学连续提取法^[15]。

1.4 统计分析

利用 Origin 2021 软件制图;采用 SPSS 27.0 软件进行方差分析、相关性分析以及 *T* 检验,在灭菌组和非灭菌组的各处理间分别进行差异显著性检验(Duncan法, $P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 沉积物中 OPB 的筛选和鉴定

如图1所示,经过多次传代培养,从天鹅湖冬季表层沉积物中共筛选得到11株OPB。在湖西部沉积物中共分离纯化出4株具有解磷能力的菌株(OPB1~OPB4),其中OPB1和OPB3的透明圈直径比(D/d)较大,范围分别为1.65~2.06和1.23~2.17。与湖西部相比,湖中心沉积物中解磷菌种类较为丰富(OPB5~OPB11),且大部分菌株的解磷能力较强。湖中心解磷菌中OPB5、OPB6和OPB10的D/d值较大,

其中OPB10的D/d值为3.89~4.11,为已筛选菌株的最大值,初步判断其具有较强的解磷能力。

对分离纯化的菌株进行16S rDNA基因测序,用MEGA X软件构建系统进化树(bootstrap值为1 000,图2)。初步结果表明,解磷菌株中有10株属于 *Bacillus* sp.,1株属于 *Geobacillus* sp.。依据《伯杰细菌鉴定手册》^[16],结合其形态特征和16S rDNA序列,判断OPB1为 *Bacillus cereus*, OPB2为 *Bacillus paramycoides*, OPB3为 *Geobacillus stearothermophilus*, OPB4、OPB7、OPB11均为 *Bacillus altitudinis*, OPB5为 *Bacillus thuringiensis*, OPB6为 *Bacillus stratosphericus*, OPB8、OPB10为 *Bacillus flexus*, OPB9为 *Bacillus pumilus*。

2.2 培养过程中沉积物-水界面理化因子的变化

2.2.1 DO浓度的变化

由图3a可见,试验期间灭菌组各处理水体的DO浓度整体呈下降趋势(除CK1外)。3个接种处理的DO浓度均在试验前期迅速降低,很快达厌氧状态,其中OPB11处理降幅最大,中后期浓度基本稳定($1.55 \sim 2.49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。不同处理相比,3个接种处理水体DO浓度均低于两对照(CK1、CK2),其中与CK1差异达显著水平($P < 0.05$),但不同菌株处理间差异不显著($P > 0.05$)。

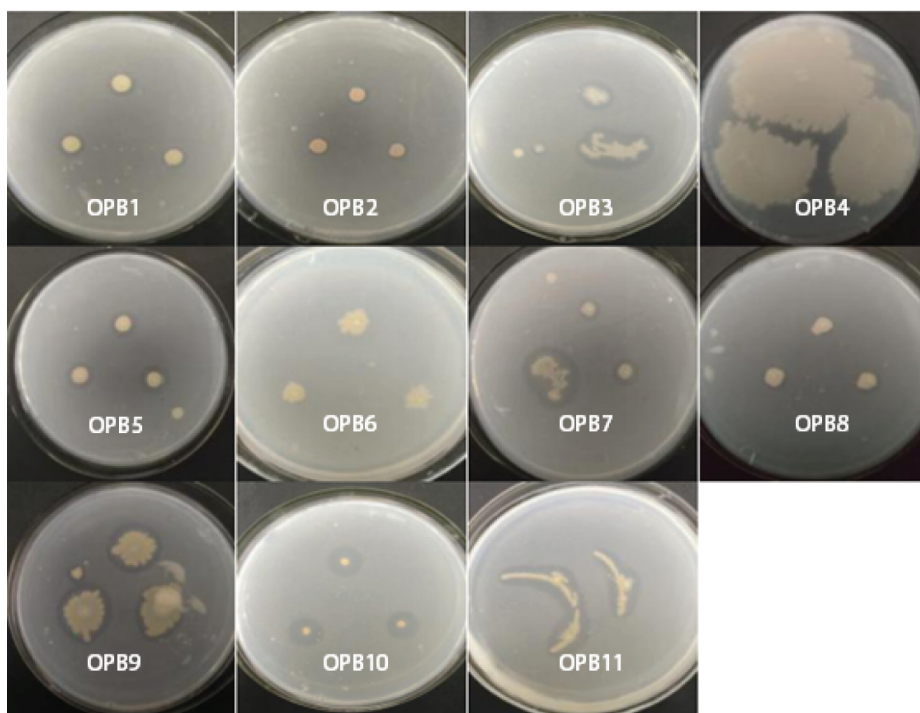


图1 11株OPB在蒙金娜有机磷培养基上的菌落形态

Figure 1 Colony morphology of eleven organic phosphate-solubilizing bacterial strains on Mengjinna organic phosphorus medium

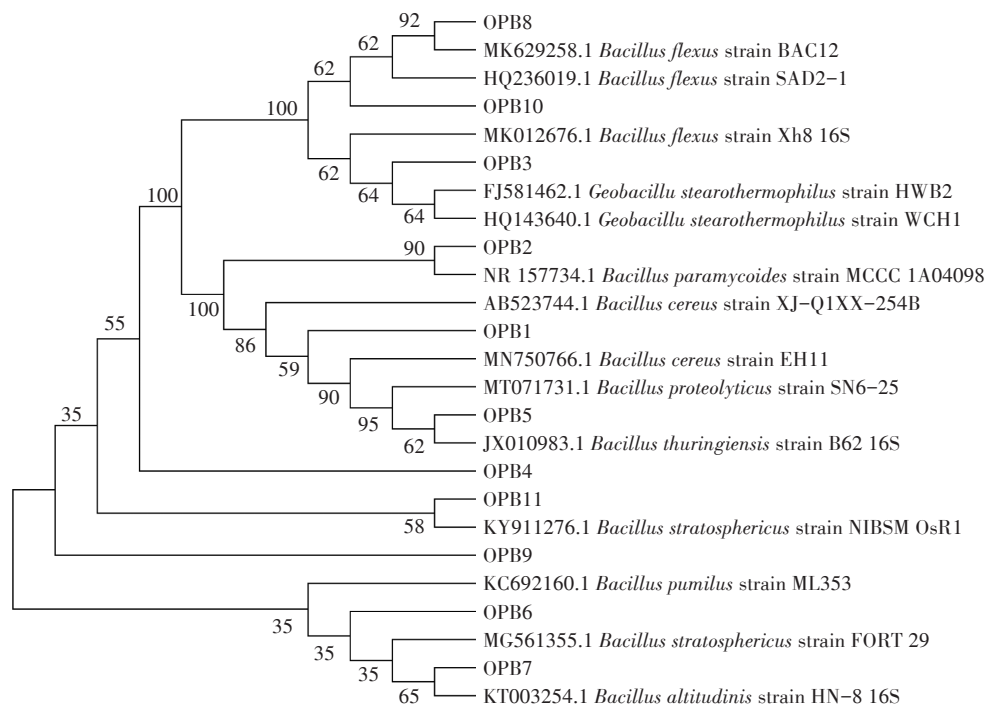


图2 基于16S rDNA序列构建的11株OPB的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of eleven organic phosphate-solubilizing bacterial strains based on 16S rDNA gene sequences

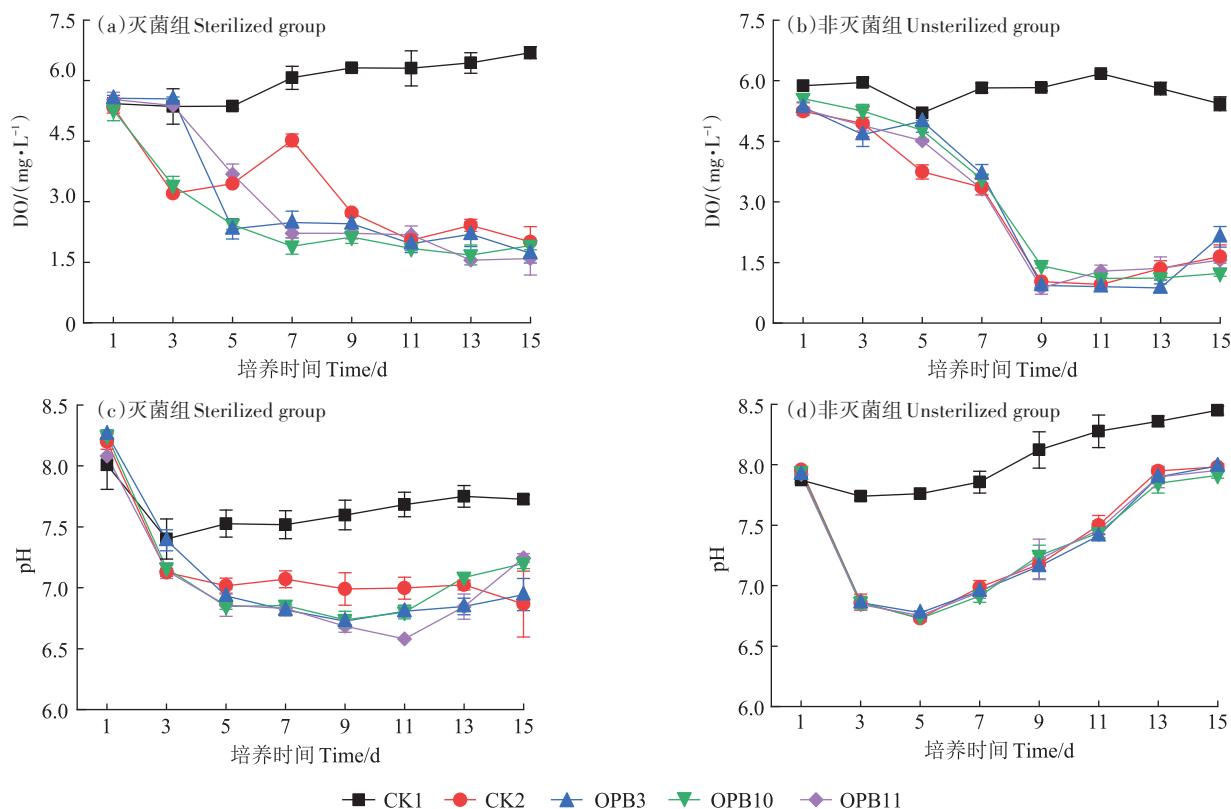


图3 不同处理下沉积物-水界面pH和DO浓度的变化

Figure 3 Changes in pH and dissolved oxygen concentration at the sediment-water interface under different treatments

非灭菌组各处理 DO 浓度为 $0.87\sim 6.18\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 3b), 与灭菌组相比, 其试验后期厌氧状态更为明显。除 CK1 在试验期间变化较小外, 其余处理 DO 浓度均表现为在前 9 d 急剧下降, 处于严重厌氧状态, 后期变化较小。试验结束时, OPB3 处理 DO 浓度显著高于 OPB10 和 OPB11 处理。在试验后期, 大多数处理在非灭菌条件下的 DO 浓度低于灭菌组, 其中 OPB10 处理在两者间的差异达显著水平 ($P<0.05$)。

2.2.2 pH 的变化

图 3c 显示, 试验期间灭菌组各处理水体 pH 变幅为 $6.58\sim 8.01$, 随时间延长呈降低趋势。在试验前 5 d, 各处理间的差异不明显 (除 CK1 外), 之后随着试验进行差异逐渐变大。在第 11 天, 接种处理 pH 表现为 OPB11 处理显著低于 OPB3 和 OPB10 处理 ($P<0.05$), 且 3 个接种处理与对照间的差异均达显著水平。在非灭菌组 (图 3d), 水体 pH 变幅为 $6.73\sim 8.45$, 各处理 pH 随时间延长均呈先下降后上升的变化趋势。不同处理相比, 各接种处理 pH 均显著低于 CK1。在试验后期, 非灭菌组各接种处理的水体 pH 均高于灭菌组。

2.3 OPB 接种对上覆水 TP 浓度影响

试验过程中, 灭菌组水体 TP 浓度随时间延长呈迅速上升趋势, 变幅为 $0.049\sim 0.335\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 4a)。在试验前 3 d, 大多数处理 TP 浓度有所下降, 但处理间差异较小; 随着试验进行, 各处理 TP 浓度均大幅增加。在第 13 天, 不同处理间的差异较大, 其中 OPB10 处理显著高于 CK1 和 OPB3 处理, OPB11 处理显著高于 CK1 ($P<0.05$)。在试验结束时, OPB10 处理 TP 浓度达最高, 为 $0.335\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。总体来说, OPB 的接种使得水体 TP 浓度明显增加, 不同菌株表现为 $\text{OPB10}>\text{OPB11}>\text{OPB3}$ 。

在非灭菌组, 试验期间水体 TP 浓度变幅为 $0.011\sim 0.100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 4b)。与灭菌组相比, 各处理 TP 浓度随时间的延长增幅较小。其中 OPB11 处理变化最大, 结束时的 TP 浓度较初始值增加了 $0.085\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 其余 2 个接种处理增幅也均高于对照。在第 9 天, 各处理间的差异较为明显, 表现为 $\text{OPB10}>\text{OPB3}>\text{CK2}>\text{CK1}>\text{OPB11}$, 其中 OPB10 处理显著高于 CK1 和 OPB11 处理 ($P<0.05$)。对 3 个接种处理而言, 非灭菌条件下水体菌株的 TP 浓度均显著低于灭菌组 ($P<0.05$), 其中 OPB10 处理的差异最大 ($0.235\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.4 沉积物磷形态及 APA 的变化

2.4.1 试验前后沉积物中磷形态的变化

试验前后沉积物中各形态磷的含量如图 5 所示。在试验结束时, 灭菌组弱吸附态磷 ($\text{NH}_4\text{Cl-P}$) 含量变幅为 $1.28\sim 2.07\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 5a), 各接种处理均比初始值显著增加, 表现为 OPB3 和 OPB10 处理显著高于初始值、CK1 和 OPB11 处理 ($P<0.05$), 而 OPB11 含量较低; 非灭菌组 $\text{NH}_4\text{Cl-P}$ 含量明显低于灭菌组, 其中 OPB3 处理低于初始值, 而 OPB10 处理显著高于 CK1。试验结束时, 灭菌组各处理的可还原态磷 (BD-P) 含量相较于初始值均有所下降 (图 5b), 其中 OPB10 处理显著低于初始值和 CK1; 在非灭菌组, CK1 的 BD-P 含量最高, 与 OPB11 处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同接种处理的含量顺序为 $\text{OPB3}>\text{OPB10}>\text{OPB11}$ 。

就铁铝结合态磷 (NaOH-P) 而言 (图 5c), 灭菌组的含量变幅为 $20.12\sim 38.62\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 不同处理表现为 $\text{CK1}>\text{OPB11}>\text{CK2}>\text{OPB3}>\text{OPB10}$, 其中 CK1 与其余处理间的差异均达显著水平, 3 个接种处理间差异不显著; 非灭菌组各处理中 OPB10 处理较高, 与 CK2 和 OPB3 间差异达显著水平 ($P<0.05$)。钙结合态磷

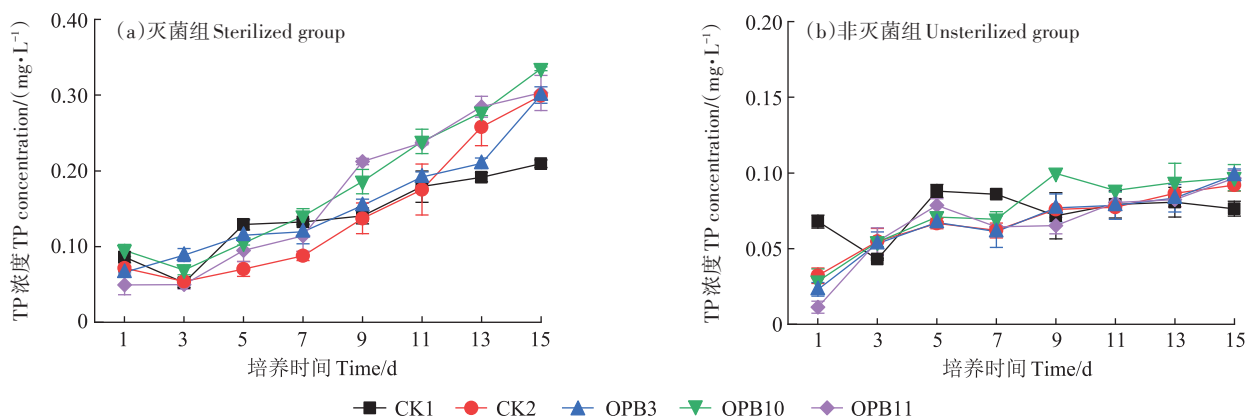
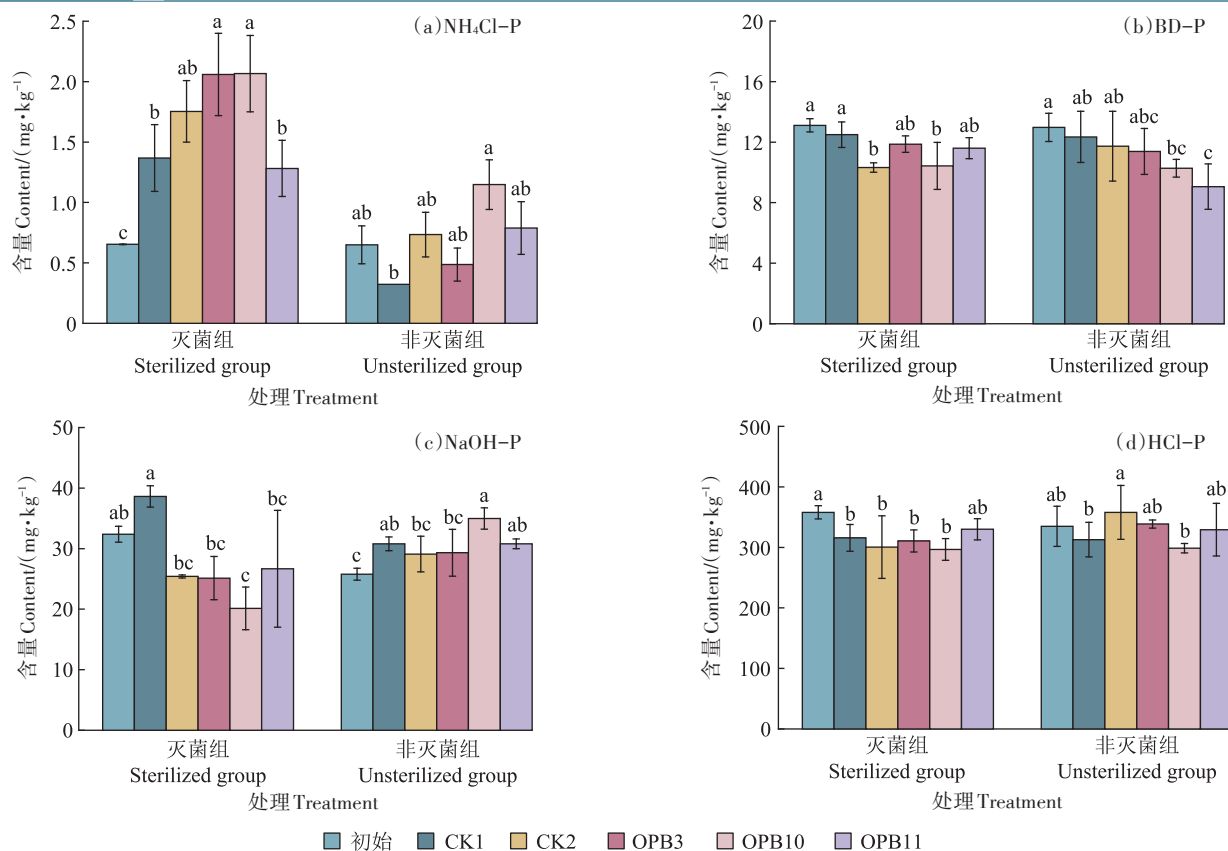


图4 不同处理下水体TP浓度的变化

Figure 4 Changes in total phosphorus concentration in water under different treatments



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$). The same below.

图5 不同处理下沉积物中各形态磷的含量

Figure 5 Contents of different phosphorus forms in sediments under different treatments

(HCl-P)为天鹅湖沉积物中含量最高的磷形态,试验结束时除 OPB11 处理外,灭菌组其余各处理含量均显著低于初始值(图 5d),但处理间差异不显著($P > 0.05$);非灭菌组 HCl-P 含量变幅为 $298.90 \sim 357.86 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,不同接种处理表现为 $\text{OPB3} > \text{OPB11} > \text{OPB10}$ 。

2.4.2 试验前后沉积物中 APA 的变化

试验结束时,各接种处理沉积物的 APA 总体表现为非灭菌组高于灭菌组(图 6)。灭菌组 APA 变幅为 $0.66 \sim 1.58 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,不同接种处理大小为 $\text{OPB3} > \text{OPB10} > \text{OPB11}$,其中 OPB3 显著高于其余 2 个菌株($P < 0.05$);OPB3 和 OPB10 处理的 APA 分别是 CK1 的 2.40 倍和 1.87 倍。在非灭菌组,试验结束时沉积物 APA 变幅为 $1.18 \sim 1.66 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。除 CK1 外,各处理 APA 较初始值($0.81 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)均有所增加,其中 3 个接种处理显著高于对照($P < 0.05$),但不同菌株间差异不显著($P > 0.05$)。对同一菌株而言,非灭菌条件下沉积物的 APA 高于灭菌组,其中 OPB11 处理在两者间的差异最大。

3 讨论

3.1 解磷菌接种对水体理化因子的影响

近年来,解磷微生物在水体磷生物地球化学循环

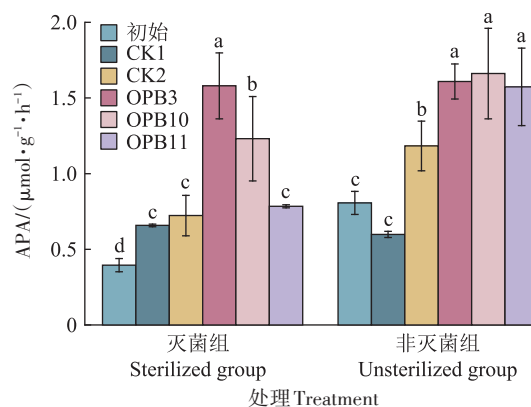


图6 不同处理下沉积物中 APA

Figure 6 Alkaline phosphatase activity in sediments under different treatments

中的作用日益受到关注。研究表明,解磷菌接种可使水体理化性质发生一定变化,进而影响到沉积物中磷的释放^[17-20]。例如,Maitra等^[3]发现,解磷菌可通过降低pH直接促进沉积物钙结合态磷的释放。本试验表明,灭菌组不同处理间DO浓度存在明显差异,除空白对照CK1外,其余处理均随培养时间延长而大幅降低。3个接种处理DO浓度显著降低,沉积物-水界面很快呈厌氧状态,这主要是解磷菌呼吸作用消耗大量氧气所致^[21],其中生长速度较快的OPB10降幅最大;CK2处理的DO也出现明显下降,这可能与试验期间有少量空气中细菌进入,存在葡萄糖的降解耗氧有关。非灭菌条件下,CK1处理由于未添加葡萄糖,微生物生长受到抑制,因而DO下降不明显,而其余处理浓度明显低于灭菌组。但由于沉积物中土著微生物的大量存在,非灭菌组的接种与未接种处理间的DO浓度差异较小。

水体pH在灭菌组和非灭菌组间的差异同样十分明显。灭菌条件下,接种处理pH明显低于CK1,试验后期各接种处理均降至7.0以下,且处理间差异较大,微生物呼吸或者有机酸产生可能是本研究水体pH降低的主要原因^[22]。然而,非灭菌组由于大量土著微生物的存在,除CK1外其余处理间pH差异较小;此外,由于微生物数量较多,种群竞争加剧,这可能导致试验过程中部分菌体死亡或发生自溶释放出碱性物质,从而使得后期pH明显上升^[23-24]。

本研究发现,灭菌组各接种处理水体TP浓度明显增加,表明解磷菌促进了天鹅湖沉积物中磷的释放,其中OPB10菌株具有较强的解磷能力。两因素方差分析结果表明,沉积物是否灭菌对水体TP影响显著($F=244.4, P<0.05$)。在未灭菌组,藻华区沉积物中分布着包括解磷菌在内的大量微生物,因而自身具有一定的解磷能力;但由于微生物数量较多,释放的磷大部分被其吸收利用以维持生长^[25],且接种的解磷菌和土著微生物间存在着一定的种群竞争,以上原因导致了解磷菌接种对水体TP影响效果不明显,且非灭菌组浓度显著低于灭菌组。pH、DO等是影响沉积物磷释放的重要环境因子。对水体TP、pH、DO等进行相关性分析,发现TP浓度与pH呈显著负相关($r=-0.87^{**}, P<0.01$),表明解磷菌能通过降低pH影响沉积物中磷的释放,导致上覆水磷浓度升高^[20]。综上所述,天鹅湖沉积物中解磷菌的接种可对水体理化性质产生明显影响,并对沉积物磷具有一定促溶作用,但可能由于接种量不足等因素影响^[26],增磷效果不显

著;相较于非灭菌组,沉积物在灭菌条件下接种解磷菌的作用效果较为明显。

3.2 解磷菌接种对沉积物磷形态的影响

解磷菌可通过酶解或酸解等机制影响沉积物磷的形态转化,因而在水体磷循环过程中起着重要作用^[8]。NH₄Cl-P是沉积物中活性较强的一种磷形态^[27],对比试验前后可见灭菌组NH₄Cl-P含量明显升高,表明可能存在其他形态磷向NH₄Cl-P的转化;灭菌组NH₄Cl-P含量明显高于非灭菌组,且大多数接种处理显著高于对照(图5a),说明适量接种解磷菌有助于沉积物磷形态间的相互转化^[28]。对各形态磷含量进行方差分析(表1),发现是否灭菌对NH₄Cl-P和NaOH-P均具有极显著影响($P<0.01$),是否灭菌×菌株对NH₄Cl-P和BD-P有显著影响($P<0.05$)。在灭菌条件下,接种解磷菌有利于沉积物中NH₄Cl-P和BD-P向上覆水的释放(图5a、图5b)。巢湖水华大规模暴发时,沉积物中NH₄Cl-P和BD-P含量也大幅降低,其中BD-P的释放尤为明显^[29]。沉积物中BD-P的释放主要受氧化还原条件的影响^[27]。本试验期间各接种处理水体DO浓度明显下降,后期沉积物-水界面呈厌氧状态,这为BD-P的释放提供了有利条件;且非灭菌组DO浓度较低,试验结束时其沉积物中BD-P的含量降幅也相应较大。

碱性磷酸酶在沉积物有机磷的矿化分解中起着重要作用,高APA有助于界面磷的再生^[8]。本试验表明,大多数接种处理沉积物的APA显著高于对照($P<$

表1 两因素方差分析检验是否灭菌和菌株对沉积物磷形态的影响

Table 1 Two-way ANOVA for effects of sterilization and OPB strain on phosphorus fractions in sediments

误差来源 Source	因变量 Dependent variable	自由度 df	均方 Mean square	F	P
是否灭菌	NH ₄ Cl-P	1	6.94	77.00	<0.001
	BD-P	1	<0.01	<0.01	0.982
	NaOH-P	1	415.78	12.69	0.003
	HCl-P	1	390.45	0.05	0.835
菌株	NH ₄ Cl-P	3	0.18	2.00	0.154
	BD-P	3	4.04	1.66	0.216
	NaOH-P	3	12.59	0.38	0.766
	HCl-P	3	5 620.19	0.65	0.596
是否灭菌×菌株	NH ₄ Cl-P	3	0.31	3.38	0.044
	BD-P	3	8.18	3.36	0.045
	NaOH-P	3	43.53	1.33	0.300
	HCl-P	3	3 921.19	0.45	0.720

0.05),说明增加解磷菌数量有利于提高沉积物的APA^[10]。对水体TP和沉积物APA进行相关性分析,发现未灭菌条件下二者呈显著正相关($r=0.98^{**}$, $P<0.01$),这与Barik等^[30]的研究结果相一致。不同接种菌株间相比,OPB10处理沉积物的APA较高,且水体TP浓度增幅较大。可以推断,天鹅湖湖沉积物中分离的OPB10菌株具有较高的酶分泌能力和较大的解磷潜力。综上所述,OPB的接种促进了天鹅湖沉积物中磷的释放,使得上覆水磷的水平明显增加,从而为大型藻华发生提供了有利条件。在藻华频繁暴发水体,有机解磷菌、沉积物磷形态(有机磷)、藻生长三者间的相互关系有待于深入研究。

4 结论

(1)从荣成天鹅湖的西部和湖中心沉积物中共分离得到11株有机解磷菌(OPB),其中在藻华暴发的湖中心解磷菌种类较多,芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)为OPB的优势菌属。

(2)嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)、弯曲芽孢杆菌(*Bacillus flexus*)和短小芽孢杆菌(*Bacillus altitudinis*)接种后,底层水体pH和溶解氧浓度明显降低。3株解磷菌的接种均促进了天鹅湖沉积物中磷的释放,使得上覆水总磷浓度明显增加。非灭菌组由于土著微生物的生长吸收,试验期间总磷浓度显著低于灭菌组。

(3)OPB接种明显提高了沉积物中碱性磷酸酶活性,其中弯曲芽孢杆菌具有较高的酶分泌和解磷能力。灭菌条件下,解磷菌的接种促进了沉积物磷的形态转化,接种处理的弱吸附态磷($\text{NH}_4\text{Cl-P}$)含量显著增加,而试验后期的厌氧环境有利于可还原态磷(BD-P)的释放。

参考文献:

- [1] CAVALCANTE H, ARAYJO F, NOYMA N P, et al. Phosphorus fractionation in sediments of tropical semiarid reservoirs[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 619:1022–1029.
- [2] BOYLE S A, BOOTOMLER P J, MYROLD D D. Community composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils under stands of red alder and douglas fir in Oregon[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):2956–2965.
- [3] MAITRA N, MANNA S K, SAMANTA S, et al. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems[J]. *Hydrobiologia*, 2015, 745(1):69–83.
- [4] LI H F, LI Z J, QU J H, et al. Combined effects of phosphate-solubilizing bacterium XMT-5(*Rhizobium* sp.) and submerged macrophyte *Ceratophyllum demersum* on phosphorus release in eutrophic lake sediments[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(19):18990–19000.
- [5] SONG C L, CAO X Y, ZHOU Y Y, et al. Different pathways of nitrogen and phosphorus regeneration mediated by extracellular enzymes in temperate lakes under various trophic state[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(31):31603–31615.
- [6] CHAI B B, WANG S X, LI S M, et al. Roles of bacterial biomass, physiology and community in sediment phosphorus solubilizing at varying hydrostatic pressures[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 282:124531.
- [7] ZHOU C, SONG C L, HUANG D Z, et al. Isolation and characterization of organic phosphorus-mineralizing bacteria in sediment of a Chinese large shallow eutrophic lake (Lake Taihu)[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2011, 28(8):660–666.
- [8] 马凯,王效昌,谢嘉慧,等. 沉积物解磷菌的研究进展:分布、解磷能力及功能基因[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(2):280–290.
- [9] MA K, WANG X C, XIE J H, et al. Research progress of phosphate-solubilizing bacteria in sediments: distribution, phosphate-solubilizing ability, and functional genes[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(2):280–290.
- [10] QU J H, LI H F, CHEN N, et al. Biogeochemical function of phosphorus-solubilizing bacteria on cycling of phosphorus at the water-sediment interface under laboratorial simulated conditions[J]. *International Journal of Environment and Pollution*, 2013, 52(1/2):104–116.
- [11] 龙宏燕. 太湖沉积物中磷素分布特征与解磷菌影响机制[D]. 南京:南京大学, 2020.
- [12] LONG H Y. Distribution characteristics of phosphorus in the sediments of Lake Taihu and the influence mechanism of phosphate solubilizing bacteria[D]. Nanjing: Nanjing University, 2020.
- [13] 王朋梅,周毅,张晓梅,等. 天鹅湖大叶藻种苗补充情况调查[J]. 海洋科学, 2016, 40(6):49–55.
- [14] WANG P M, ZHOU Y, ZHANG X M, et al. Supplementary investigation of eelgrass seedlings (*Zostera marina* L.) in Swan Lake[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(6):49–55.
- [15] 邵雪琳,孟祥森,高丽,等. 硬毛藻生长对水体和沉积物中碱性磷酸酶活性及磷含量的影响[J]. 环境科学研究, 2015, 28(6):890–898.
- [16] SHAO X L, MENG X S, GAO L, et al. Effects of *Chaetomorpha* growth on alkaline phosphatase activity and phosphorus concentrations in water and sediments[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2015, 28(6):890–898.
- [17] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 四版. 北京:中国环境科学出版社, 2002:243–246.
- [18] State Environmental Protection Administration. Methods for monitoring and analysis of water and wastewater[M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:243–246.
- [19] 李莹飞,耿玉清,万杰. 基于不同基质测定土壤碱性磷酸酶活性的比较[J]. 土壤通报, 2015, 46(5):1133–1137.
- [20] LI Y F, GENG Y Q, WAN J. Comparison of soil alkaline phosphatase activity determined with different substrates[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2015, 46(5):1133–1137.
- [21] WANG S G, JIN X G, ZHAO H C, et al. Phosphorus fractions and its

- release in the sediments from the shallow lakes in the middle and lower reaches of Yangtze River area in China[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2006, 273(1/2/3):109–116.
- [16] 布坎南, 吉本斯. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 八版. 北京: 科学出版社, 1984:729–795. BUCHANAN R E, GIBBONS N E. *Bergey's manual of determinative bacteriology*[M]. 8th Edition. Beijing: Science Press, 1984:729–795.
- [17] SCHULTZ P, URBAN N R. Effects of bacterial dynamics on organic matter decomposition and nutrient release from sediments: a modeling study[J]. *Ecological Modelling*, 2008, 210(1/2):1–14.
- [18] 孙健, 张鑫鹏, 李松龄, 等. 高寒冷凉环境中解磷微生物的效果初探[J]. *中国土壤与肥料*, 2023(1):217–223. SUN J, ZHANG X P, LI S L, et al. Screening of phosphorus solubilizing microorganisms under high cold and cool environment[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(1):217–223.
- [19] 王琛, 张学雷, 崔龙波, 等. 印度洋可培养解有机磷细菌的多样性及解磷特性[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(10):1847–1857. WANG C, ZHANG X L, CUI L B, et al. Diversity and characteristics of culturable phosphate-solubilizing bacteria of Indian Ocean[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(10):1847–1857.
- [20] RAWAT P, DAS S, SHANKHDHAR D, et al. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 21:49–68.
- [21] 王效昌, 马凯, 谢嘉慧, 等. 无机解磷菌对天鹅湖湖沉积物内源磷释放的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2023, 40(1):76–85. WANG X C, MA K, XIE J H, et al. Inorganic phosphate-solubilizing bacteria affect phosphorus release from sediments in Swan Lagoon[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(1):76–85.
- [22] 李豆豆, 尚双华, 韩巍, 等. 一株高效解磷真菌新菌株的筛选鉴定及解磷特性[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(7):2384–2392. LI D D, SHANG S H, HAN W, et al. Screening, identification, and phosphate solubilizing characteristics of a new efficient phosphate solubilizing fungus[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(7):2384–2392.
- [23] 王琛, 田欣欣, 曲凌云. 九龙江口解有机磷细菌的解磷特性[J]. *海洋环境科学*, 2013, 32(5):736–740. WANG C, TIAN X X, QU L Y. The phosphate-dissolving characteristics of organic phosphorus bacterium isolated from Jiulong River[J]. *Marine Environmental Science*, 2013, 32(5):736–740.
- [24] 陈倩颖. 解有机磷细菌的分离鉴定及其解磷特性研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009. CHEN Q Y. Isolation and identification of organophosphate degradation bacterium and research on its characteristics of phosphorus degradation[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2009.
- [25] LI Y, ZHANG J J, ZHANG J Q, et al. Characteristics of inorganic phosphate-solubilizing bacteria from the sediments of a eutrophic lake[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(12):2141.
- [26] 上官亦卿, 常帆, 吕睿, 等. 解磷菌的分离、筛选、鉴定及解磷能力研究[J]. *湖北农业科学*, 2019, 58(1):30–34, 38. SHANGGUAN Y Q, CHANG F, LÜ R, et al. Isolation, screening, identification and phosphate solubilizing ability of phosphate solubilizing bacteria[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2019, 58(1):30–34, 38.
- [27] 甘磊. 镧改性膨润土对富营养化浅水湖泊上覆水磷浓度及沉积物磷形态特征的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2018. GAN L. Effects of lanthanum modified bentonite on the overlying water phosphorus and the sediment phosphorus forms concentrations in eutrophic shallow lakes[D]. Guangzhou: Jinan University, 2018.
- [28] 林宇岚. AM真菌及其与解磷细菌互作对油茶磷吸收的影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2021. LIN Y L. Effects of AM fungi and their interactions with phosphate-solubilizing bacteria on phosphorus absorption of *Camellia oleifera*[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2021.
- [29] 汤宝靖. 巢湖沉积物中磷的赋存形态及迁移转化与水华发生的关系[D]. 长春: 吉林建筑工程学院, 2010. TANG B J. The connection of fractionation, migration and transformation of phosphorus in sediments of Chaohu Lake and occurrence of water bloom[D]. Changchun: Jilin Jianzhu University, 2010.
- [30] BARIK S K, PURUSHOTHAMAN C S, MOHANTY A N. Phosphatase activity with reference to bacteria and phosphorus in tropical freshwater aquaculture pond systems[J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32(10):819–832.

(责任编辑:李丹)