

巢湖富磷地质区沉积物磷的生物可利用性

孙爱华^{1,2}, 陈 奎^{1,2}, 曹秀云¹, 宋春雷¹, 周易勇¹

(1. 中国科学院水生生物研究所 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072;
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:2010年4-9月,以巢湖富磷地质区池塘为试验对象,测定了叶绿素a与不同形态磷的浓度以及藻类的数量和组成,分析了沉积物藻类可利用性磷(AAP)含量与磷平衡浓度,提取并用分子生物学方法鉴定了沉积物无机磷细菌的主要种类。结果表明,沉积物溶解总磷与AAP含量显著正相关($P < 0.05$),与叶绿素a浓度极显著正相关($P < 0.01$)。沉积物磷在吸附和释放趋势上基本对应于藻类随季节消长的模式。藻的种类较丰富,沉积物无机磷细菌的主要种类包括微单胞菌(*Micromonospora* sp., *Micromonospora chokoriensis*)和链霉菌(*Streptomyces neyagawaensis*, *Streptomyces torulosus*)。微生物驱动富磷地质区沉积物磷的溶解可为藻类生长提供生物可利用的磷营养。

关键词:巢湖;生物可利用性磷;无机磷细菌

中图分类号:Q178.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2012)04-0026-07

湖泊富营养化已成为严重的世界性水环境问题之一,人类活动导致湖泊中氮和磷等营养元素的富集,引起藻类过量生长,并由此产生一系列严重的不利环境效应。巢湖是我国五大淡水湖泊之一,浅水型的沉积湖泊和流域富含磷的地层构成其富营养化的内在条件(殷福才和张之源,2003),但关于流域内含磷地层对巢湖富营养化的影响研究较少;此外,沉积物磷在水体富营养化过程中具有重要作用,太湖表层沉积物生物可利用性磷含量与叶绿素a浓度显著正相关,故能指示浅水湖泊内源磷释放的风险(Zhu et al,2006);湖泊沉积物主要的生物可利用性磷组分可用非磷灰石无机磷和有机磷加以表征(Liu et al,2012);然而,巢湖富磷地质区的土壤和沉积物中磷的基本组成、吸附、释放特征及其与藻类生长的关系尚未得到充分研究;再者,无机磷细菌(inorganic phosphate-solubilizing bacteria, IPB)是驱动固体材料中磷酸盐溶解的主要生物因素。IPB的常见种类包括肠杆菌(*Enterobacter*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)、成团泛生菌(*Pantoea*)与假单胞菌(*Pseudomonas*)属

等,其分布与生境密切相关。根际土壤中,存在伯克氏菌属(*Burkholderia*)(Kim et al,2005),池塘沉积物具有成团泛生菌属(*Pantoea*)(Hu et al,2010),而从磷矿中则可分离得到灵杆菌属(*Serratia*)(Ben et al,2009),受铅污染的沉积物中,肠杆菌属(*Enterobacter*)和成团泛生菌属(*Pantoea*)均有发生(Park et al,2011);然而,关于巢湖富磷地质区IPB的研究尚未见诸报道。本文以巢湖富磷地质区的池塘为试验对象,系统分析了沉积物生物可利用性磷与水中不同形态磷的季节变化趋势,初步揭示了生物可利用性磷的吸附、释放行为和藻类消长的关系,并记录和描述了沉积物中IPB的主要种类,旨在从化学特征与生物响应两个方面深入阐明巢湖富磷地质区沉积物磷的生物可利用性,为富营养化控制和管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样地点

研究区域位于安徽省巢湖市夏阁镇大庙村,在锥子山和黄家山偏南方向,系巢湖流域富磷地区小柘皋河上游;该区域主要包括面积、深度和高度不等的池塘及相连沟渠、季节性漫流湿地,其中池塘和湿地面积28 500 m²,沟渠长度3 060 m。以沟渠形成的水力系统主要分布在西部缓坡区域,面积约为2 000 m²。由沟渠相连的阶梯性池塘主要有1、2、5、6、7号池塘,其分布如图1所示。1号塘位于山坡上,周围为草地,高程为105 m,水深0.5 m,池塘水

收稿日期:2012-04-01

基金项目:国家自然科学基金面上项目(40903030;41073066;41173081);淡水生态与生物技术国家重点实验室项目(2011FBZ15)。

通讯作者:周易勇,1956年生,男,博士,研究员,研究方向为环境化学。E-mail:zhouyy@ihb.ac.cn

作者简介:孙爱华,1986年生,女,硕士研究生,研究方向为水体富营养化。E-mail:sunai19@163.com

体基本不外流,两边山体高 158 m;池塘的其他基本特征相似。

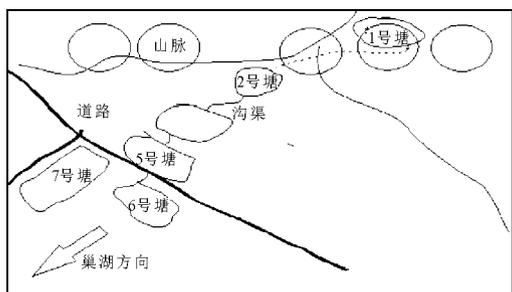


图1 巢湖富磷地质区试验池塘分布

Fig. 1 Sampling sites of study ponds in phosphorus-rich geological region of Lake Chaohu

1.2 样品采集与分析

2010年4-9月在巢湖富磷地质区1、2、5、6、7号池塘用彼得森采泥器采集表层沉积物,用采水器采集池塘0.5 m处表层水、新鲜泥样和水样密封后-4℃冷藏带回实验室。

部分新鲜沉积物样品经离心(4 000 r/min, 30 min)获得间隙水,过0.45 μm孔径的滤膜,取滤液测定溶解态总磷(DTP)、溶解态有机磷(DOP)、反应活性磷(SRP);部分沉积物样品经自然风干、磨细过100目筛子测沉积物总磷(TP)和藻类可利用磷(AAP);叶绿素a的测定采用乙醇提取法分析(Golterman et al, 1978),将表层水(0.3~0.5 L)过GF/C膜,用90%酒精过夜提取,在665 nm和750 nm处测定其吸光度;新鲜沉积物样品各形态磷采用连续提取法将沉积物磷分为Fe≈P、Ca≈P、ASOP、Palk(Golterman, 1996);通过传统的稀释平板涂布分离法,对解磷细菌进行菌落计数,结果以单位沉积物样所形成的菌落数量表示(CFU/g)(Song, 2009);挑选具有代表性的菌落进一步划线纯化,通过16S rDNA对解磷细菌进行分子鉴定(Zhou, 2011)。磷吸附试验:取5.00 mL经不同处理的悬浮液于50 mL离心管中,分别准确加入含磷量为0、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、15、20、25、30、40、50 mg/L的KH₂PO₄溶液(含0.01 mol/L的KCl溶液)10.00 mL,将混合溶液置于25℃的恒温振荡器中充分混合24 h后离心,取上清液过0.22 μm滤膜后,用钼蓝比色法测定SRP浓度(Murphy & Riley, 1962)。

1.3 数据处理

吸附参数采用修改过的Langmuir和Freundlich等温式计算:

$$Q_1 = K_f C - Q_{f0} \quad (1)$$

$$Q_2 = Q_{\max} K_L C / (1 + K_L C) - Q_{L0} \quad (2)$$

式中: Q_1 、 Q_2 表示培养结束时沉积物的磷吸附量; C 表示培养结束时上清液SRP浓度; K_f 、 K_L 分别为Freundlich、Langmuir吸附能; Q_{f0} 、 Q_{L0} 表示培养前沉积物表层吸附的磷。磷平衡浓度(EPC_0)为 $Q=0$ 时所对应的SRP浓度。

EPC_{sat} 值可用于判断沉积物磷酸盐的吸附与解吸附趋向,计算公式如下:

$$EPC_{\text{sat}} = (EPC_0 - SRP) / EPC_0 \times 100\%$$

负值表明沉积物从水中吸附磷,而正值表明沉积物向水中释放磷,零值表明平衡状态。根据实际情况,可令其在±20%的范围内伸缩借以表示近似平衡状态(Jarvie, 2005)。

用软件SPSS13.0方差分析检验不同处理间差异的显著性。

2 结果

2.1 叶绿素a与磷的浓度

如图2所示,试验池塘表层水中叶绿素a浓度与DTP、DOP和TP浓度均极显著正相关($P < 0.01$);此外,叶绿素a浓度亦显著正比于沉积物TP含量($P < 0.05$)。

2.2 沉积物AAP与 EPC_0 和水中磷浓度的关系

如图3所示,池塘沉积物AAP含量与 EPC_0 值极显著正相关($P < 0.01$);AAP含量亦极显著正比于间隙水DOP和表层水DTP($P < 0.01$)。

如表1所示,池塘沉积物作为磷源(释放磷)或磷汇(吸附磷)的功能因时因地而异,值得注意的是,在季节尺度上,各试验池塘叶绿素a浓度的峰值均与沉积物的磷源功能相对应(图4)。

2.3 池塘藻类数量与组成

池塘叶绿素a浓度与藻类细胞数量极显著正相关($P < 0.01$),可见岩源磷与池塘藻类的生长密切相关(图5)。池塘藻类的组成和数量具有明显的空间异质性,1号塘的藻类种类及数量均明显高于其它池塘,其主要优势种为金藻门的锥囊藻,其次为绿藻门的纤维藻、四尾栅藻和弓形藻以及少量的微囊藻及其它种类的硅藻。2、5、6、7号塘的藻类种类及数量均显著少于1号塘,其中2号塘以丝状蓝藻为主;5号塘主要以绿藻门的空球藻为主,其次为硅藻门的小环藻和桥弯藻;6号塘藻类优势种为丝状蓝藻和裸藻门的扁裸藻;7号塘以丝状蓝藻和小环藻为优势种(图6)。

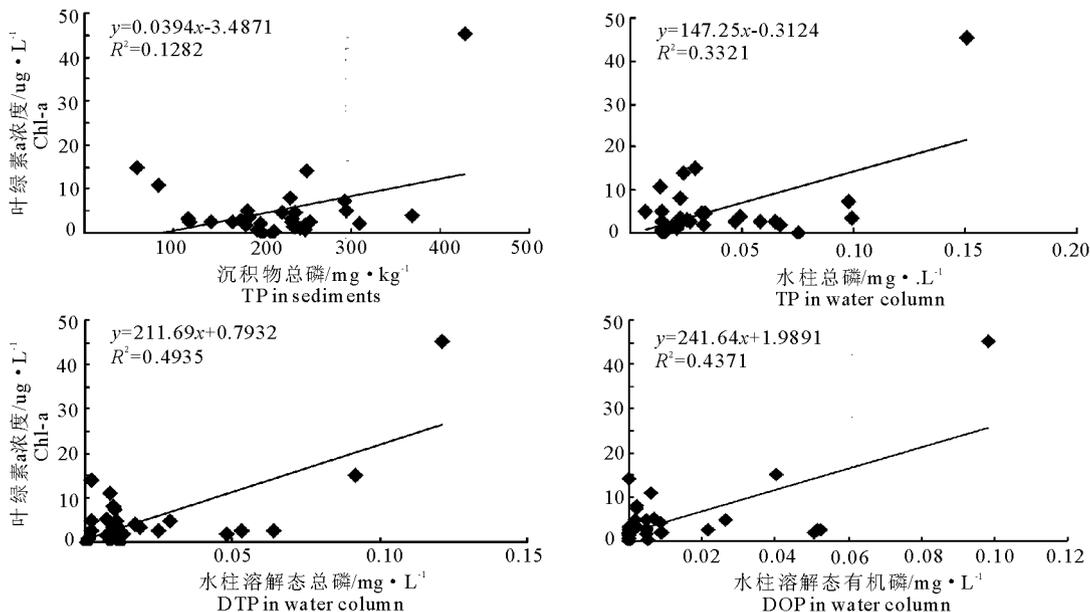


图2 叶绿素 a 浓度与不同形态磷浓度的关系

Fig. 2 Relationships between chl-a concentration and different phosphorus forms

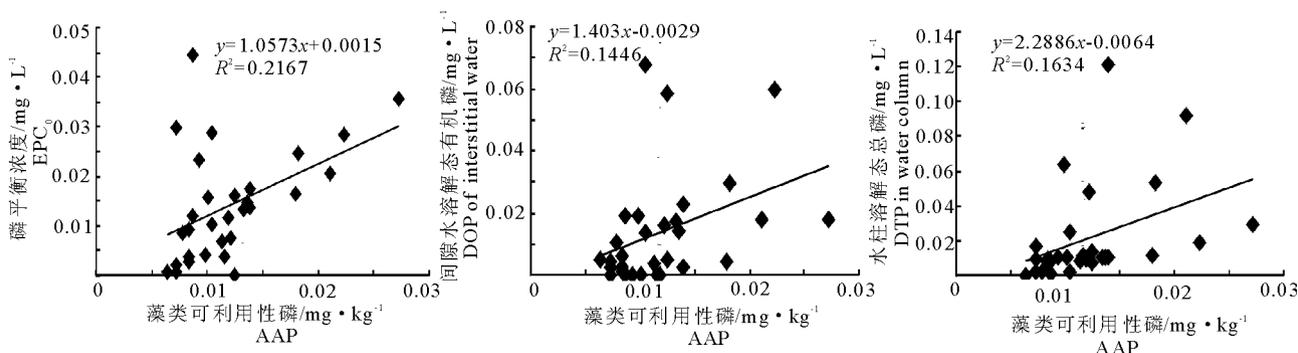


图3 藻类可利用性磷与磷平衡浓度、间隙水 DOP、水柱 DTP 的关系

Fig. 3 Relationships between AAP and DOP of interstitial water and DTP of water column

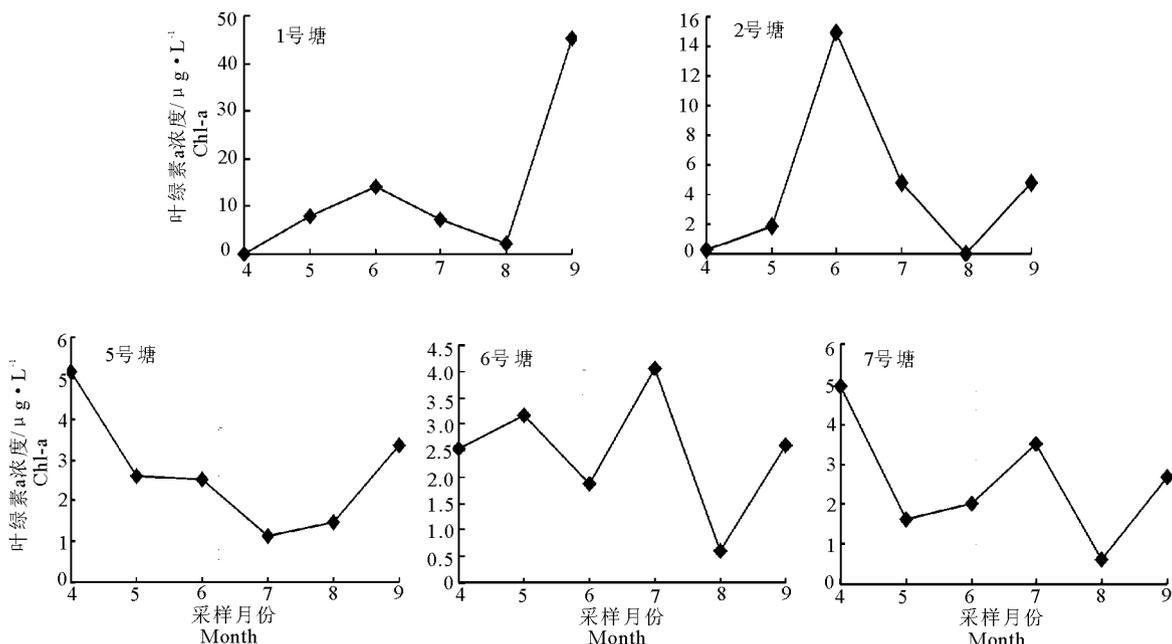


图4 试验池塘叶绿素 a 的变化

Fig. 4 Fluctuation of chl-a in the study ponds

表1 试验池塘不同月份 EPCsat 的变化
Tab.1 Variations of EPC₀ percentage saturation (EPCsat) in the study ponds

月份	采样池塘编号				
	1	2	5	6	7
4	-170.05 ^s	45.03 ^r	55.74 ^r	74.60 ^r	51.12 ^r
5	-1362.01 ^s	-2769.75 ^s	-89.09 ^s	-225.19 ^s	-282.81 ^s
6	69.90 ^r	87.33 ^r	14.92 ^e	58.97 ^r	54.30 ^r
7	-33.35 ^s	34.72 ^r	19.34 ^e	24.53 ^r	50.60 ^r
8	14.65 ^e	29.18 ^r	82.56 ^r	26.26 ^r	57.13 ^r
9	64.11 ^r	85.09 ^r	98.19 ^r	91.47 ^r	82.37 ^r

注: EPCsat > 20% 表示磷释放(r); EPCsat < -20% 表示磷吸附(s); -20% ≤ EPCsat ≤ 20% 表示平衡状态(e)。

Note: "r" represents phosphorus release; "s" represents phosphorus adsorption; "e" represents phosphorus equilibrium.

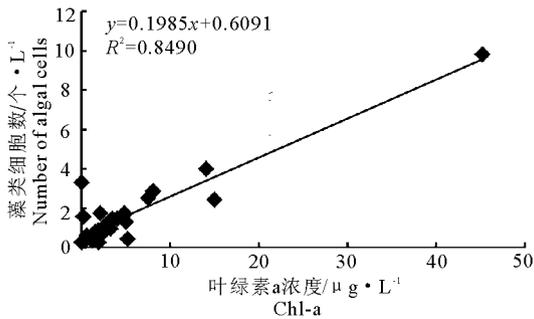


图5 叶绿素 a 浓度与藻类细胞数的关系

Fig.5 Relationship between chl-a concentration and the number of algal cells

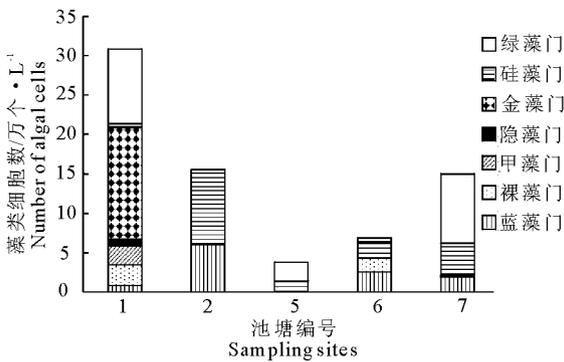


图6 藻类组成及数量分布

Fig.6 Spatial distribution of the abundance and composition of algal

2.4 解磷细菌的分布与鉴定

由 16S rDNA 基因序列分析结果可知,从富磷地质区池塘沉积物中分离的 4 株 IPB 菌株分别属于微单胞菌和链霉菌,前者包括 *Micromonospora* sp. 与 *Micromonospora chokoriensis*; 后者包括 *Streptomyces neyagawaensis* 与 *Streptomyces torulosus* (表2),其系统进化关系参见图7。

表2 解无机磷细菌分子鉴定结果

Tab.2 The results of inorganic phosphate-solubilizing bacteria identification

菌株编号	核苷酸长度/bp	NCBI 中最适菌种及登录号	相似性/%
21	1079	<i>Micromonospora</i> sp. (EU714258)	98
31	1383	<i>Micromonospora chokoriensis</i> strain HBUM175178 (FJ547137)	99
A2	1688	<i>Streptomyces neyagawaensis</i> (AB184799)	99
B2	1428	<i>Streptomyces torulosus</i> (GU79440)	99

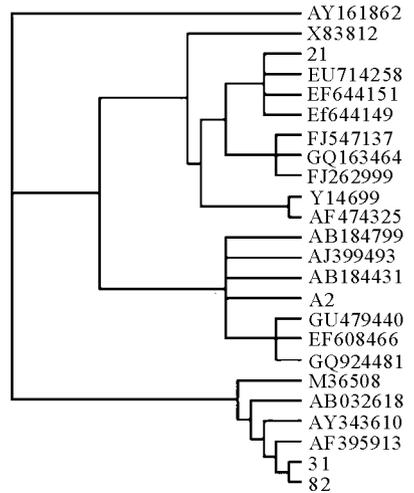


图7 池塘解无机磷细菌的 16SrDNA 基因系统发育树

Fig.7 Phylogenetic tree for 16S rDNA sequences from 4 inorganic phosphate-solubilizing bacterial strains from the study ponds

3 讨论

3.1 沉积磷与叶绿素 a 浓度的关系

巢湖富磷地质区池塘叶绿素 a 浓度与沉积物和水不同形态磷的含量显著正相关(图2),这种关系在巢湖亦有体现;例如巢湖微囊藻生物量与水中正磷酸盐、总无机磷和颗粒态磷(PP)浓度均显著正相关(Xie et al,2006)。在重度污染池塘中,初级生产力为氮限制;而在营养水平较低的池塘中,藻类生长则受磷限制(Schagerl, 2010)。富磷地质区池塘营养水平相对较低,试验期间其叶绿素 a 浓度的平均值约为 5.1 μg/L;因此,磷应为试验池塘初级生产力的关键限制性营养元素;此外,沉积物 TP 含量与叶绿素 a 浓度显著正相关(图2),故可作为池塘水中生物可利用性磷的重要来源。

3.2 可利用性磷与吸附行为的关系

AAP 含量是沉积物磷生物可利用的、较为直接的表征和量度。富磷地质区池塘沉积物 AAP 含量

与间隙水 DOP 和表层水 DTP 显著正相关;此外, AAP 含量与磷平衡浓度极显著正相关(图 3)。EPC₀ 值是指沉积物颗粒与周边水溶液磷的吸附和解吸附达到平衡时水中磷酸盐的浓度,当水中的 SRP 浓度高于此值时,沉积物才能表现出吸附磷的趋势,反之则向水中释放磷酸盐;因此,较高的 EPC₀ 值预示较小的沉积物吸附磷的几率和能力。美国 Okeechobee 湖沉积物水溶性磷含量与 EPC₀ 值在表层取最大值且均随深度递减(Bhadha et al, 2010);溪水中 SRP 浓度与沉积物 EPC₀ 值显著正相关(Haggard et al, 2007);农耕强度较大的区域所对应的河床土壤具有明显较高的生物可利用性磷含量与 EPC₀ 值(Palmer-Felgate et al, 2009)。简言之,巢湖富磷地质区池塘沉积物的高 AAP 含量不仅说明其磷源功能,而且直接体现出所释放之磷组分的藻类可利用性;表 1 可见,池塘沉积物作为磷源或磷汇的功能因时因地而异,值得注意的是,在季节尺度上,各试验池塘的叶绿素 a 浓度的峰值均与沉积物的磷源功能相对应(图 4),故作为初级生产者的藻类将有效响应源于富磷地质区池塘沉积物的生物有效性磷的补给;此外,山区湖泊通常处于洁净和贫营养状态,后者会导致藻类的总生物量下降,但湖水中增加的溶解态有机碳能促进藻类物种多样性和丰度的增长,如小于 10 μm 的金藻门(锥囊藻、单鞭金藻、定鞭金藻等)和硅藻(如小环藻等),从而部分抵消贫营养所造成的藻类总生物量的下降(Parker et al, 2008)。由溪流和降雨汇聚而成的山区池塘受外界干扰较大,其藻类组成与未受干扰的湖泊相比具有显著性差异,即通常以蓝藻门和硅藻门的藻类为主,而丝状蓝藻的大量生长可能是由于与之竞争的硅藻或蓝藻被捕食所致(Yang et al, 2009);此外,由表 1 可知,1 号塘的沉积物以吸附磷为主,2、5、6、7 号塘的沉积物则以放磷为主,故各池塘藻类的磷来源不同。值得注意的是,与 2 号塘相比,5 号塘具有明显较低的藻类密度(图 6)。简言之,池塘相对较低的营养水平与复杂多变的生境为其藻类的相对丰富性提供了基本条件。

3.3 沉积物无机磷细菌的分离与鉴定

岩源磷的溶解主要依赖于 IPB 的作用。例如,洪峰湖沉积物中钙结合态磷为无机磷的主要成分,大量解磷细菌的存在可将非溶解态磷转化成生物可利用性磷(Hu et al, 2011)。富营养化水生态系统沉积物 IPB 种类具有明显的多样性,其主要种类包括金杆菌属(*Staphylococcus* spp.)、成团泛生菌(*Pan-*

toea)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)与产气单胞杆菌(*Aeromonas species*)等 11 种菌(Wu et al, 2009)。由 16S rDNA 基因序列分析结果可知,从富磷地质区池塘沉积物中分离的 4 株 IPB 菌株分别属于微单胞菌和链霉菌,前者包括 *Micromonospora* sp. 与 *Micromonospora chokoriensis*;后者包括 *Streptomyces neyagawaensis* 与 *Streptomyces torulosus*(表 2)。

综上所述,磷是巢湖富磷地质区池塘初级生产力的主要限制性营养元素。池塘沉积物藻类可利用性磷含量与水中溶解总磷浓度显著正相关,且后者亦与叶绿素 a 浓度显著正相关。沉积物磷在吸附和释放趋势上基本对应于藻类随季节消长的模式,从而显示明显的生物可利用性。富磷地质区池塘沉积物 IPB 在种类上具有相对的特异性,故能在该区域磷的生物地球化学循环过程中发挥独特的作用。

志谢:在采样过程中得到周驰、侯杰、白云钦等同学的帮助,谨致谢忱!

参考文献

- 殷福才,张之源. 2003. 巢湖富营养化研究进展[J]. 湖泊科学, 15(4): 377-383.
- Ben F M, Farhat A, Bejar W, et al. 2009. Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of *Serratia marcescens* CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa [J]. Archives of Microbiology, 191(11): 815-824.
- Bhadha J H, Harris W G, Jawite J W. 2010. Soil Phosphorus Release and Storage Capacity from an Impacted Subtropical Wetland [J]. Soil Science Society of America Journal, 74(5): 1816-1825.
- Golterman H L, Clymo R S, Ohnstad M A M. 1978. Method for physical and chemical analysis of fresh water [M]. IBP Handbook No 8. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Golterman H L. 1996. Fractionation of sediment phosphate with cheating compounds: a simplification, and comparison with other methods [J]. Hydrobiologia, 170: 157-175.
- Haggard B E, Smith D R, Brye K R. 2007. Variations in stream water and sediment phosphorus among select ozark catchments [J]. Journal of Environmental Quality, 36(6): 1725-1734.
- Hu J W, C H Jiang, X F Huang, et al. 2011. Phosphorus speciation in sediments of Lake Hongfeng, China [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 29(1): 53-62.
- Hu X J, Li Z J, Cao Y C, et al. 2010. Isolation and identification of a phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea stewartii* sub-

- sp. *stewartii* g6, and effects of temperature, salinity, and pH on its growth under indoor culture conditions[J]. *Aquaculture International*, 18(6): 1079 – 1091.
- Jarvie H P, Jurgens M D, Williams R J, et al. 2005. Role of river bed sediments as sources and sinks of phosphorus across two major eutrophic UK river basins: the Hampshire Avon and Herefordshire Wye[J]. *Journal of Hydrology*, 304(1–4): 51 – 74.
- Kim Y H, Bae B, Choung Y K, et al. 2005. Optimization of biological phosphorus removal from contaminated sediments with phosphate-solubilizing microorganisms[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(1): 23 – 29.
- Liu L, Zhang Y, Afting A, et al. 2012. Modeling bioavailable phosphorus via other phosphorus fractions in sediment cores from Jiulongkou Lake, China[J]. *Environmental Earth Sciences*, 65(3): 945 – 956.
- Murphy J, Riley P. 1962. A modified single solution method of the determination of phosphate in natural waters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 27: 1 – 36.
- Palmer-Felgate E J, Jarvie H P, Withers P J A, et al. 2009. Stream-bed phosphorus in paired catchments with different agricultural land use intensity[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 134(1–2): 53 – 66.
- Park J H, Bolan N, Magharaj M, et al. 2011. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and their potential for lead immobilization in soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 185(2–3): 829 – 836.
- Parker B R, Vinebrooke R D, Schindler D W. 2008. Recent climate extremes alter alpine lake ecosystems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(35): 12927 – 12931.
- Schagerl M, Bloch I, Angeler D J, et al. 2010. The use of urban clay-pit ponds for human recreation: assessment of impacts on water quality and phytoplankton assemblages[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 165(1–4): 283 – 293.
- Song C L, Cao X Y, Liu Y B, et al. 2009. Seasonal Variations in Chlorophyll a Concentrations in Relation to Potentials of Sediment Phosphate Release by Different Mechanisms in a Large Chinese Shallow Eutrophic Lake (Lake Taihu) [J]. *Geomicrobiology Journal*, 26(7): 508 – 515.
- Wu G, Liu J, Ye Z. 2009. Characterization of Phosphobacteria Isolated from Eutrophic Aquatic Ecosystem[J]. *Journal of Microbiology*, 78(6): 769 – 775.
- Xie P, Zhang M, Jun X, et al. 2006. Spatiotemporal variations of internal P-loading and the related mechanisms in the large shallow Lake Chaohu[J]. *Science in China Series D-Earth Sciences*, 49: 72 – 81.
- Yang G Y, Tang T, Dudgeon D. 2009. Spatial and seasonal variations in benthic algal assemblages in streams in monsoonal Hong Kong[J]. *Hydrobiologia*, 632(1): 189 – 200.
- Zhu G W, Qin B Q, Zhang L. 2006. Phosphorus forms and bioavailability of lake sediments in the middle and lower reaches of Yangtze River[J]. *Science in China Series D-Earth Sciences*, 49: 28 – 37.
- Zhou C, Song C L, Huang D Z, et al. 2011. Isolation and Characterization of Organic Phosphorus-Mineralizing Bacteria in Sediment of a Chinese Large Shallow Eutrophic Lake (Lake Taihu) [J]. *Geomicrobiology Journal*, 28(8): 660 – 666.

(责任编辑 万月华)

Phosphorus Bioavailability in Surface Sediments from Phosphorus-rich Geological Region of Lake Chaohu

SUN Ai-hua^{1,2}, CHEN Xi^{1,2}, CAO Xiu-yun¹, SONG Chun-lei¹, ZHOU Yi-yong¹

- (1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, P. R. China;
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: Chlorophyll-a and various phosphorus forms concentration, the abundance and composition of Algal, Algae Available Phosphorus (AAP) and equilibrium phosphorus concentration (EPC_0) were studied systematically from April to September in 2010, targeting phosphate main region of Lake Chaohu. The main types of sediment inorganic phosphate-solubilizing bacteria were extracted and identified using molecular methods. The results indicated that Chlorophyll-a and Dissolved Total Phosphorus (DTP) had significant positive correlation with AAP. The tendency of sediment phosphorus adsorption and release basically was corresponded to the pattern of seasonal fluctuation of the algae. This region was abundant in types of algae. The main types of sediment inorganic phosphate-solubilizing bacteria including *Micromonospora* sp., *Micromonospora chokoriensis*, *Streptomyces neyagawaensis*, *Streptomyces torulosus*. The microbial-driven phosphorus releasing in phosphorus-rich geological region can supply bioavailable phosphorus for the growth of algae.

Key words: Lake Chaohu; algae available phosphorus (AAP); inorganic phosphate-solubilizing bacteria (IPB)