

杨文焕,彭耀华,徐岩,等.植物+微生物联合生态沟渠在盐度胁迫下的营养盐去除效果[J].中国环境科学,2025,45(1):430-439.

Yang W H, Peng Y H, Xu Y, et al. Nutrient removal effect of plant+microbial combined ecological ditch under salinity stress [J]. China Environmental Science, 2025,45(1):430-439.

## 植物+微生物联合生态沟渠在盐度胁迫下的营养盐去除效果

杨文焕<sup>1,2</sup>,彭耀华<sup>1,2</sup>,徐岩<sup>1,2</sup>,姚植<sup>1,2</sup>,王乐乐<sup>3</sup>,李卫平<sup>1,2\*</sup> (1.内蒙古科技大学能源与环境学院,内蒙古包头014010; 2.黄河流域内蒙古段生态保护与综合利用自治区协同创新中心,内蒙古包头014010; 3.凉城县岱海自然保护区服务中心,内蒙古乌兰察布013750)

**摘要:**为实现高效去除高盐湖体营养盐,以岱海湖为研究对象,本文基于混合植物生态沟渠技术,探究了植物+微生物联合生态沟渠在不同盐度梯度下对营养盐的去除效率、植物生长情况和微生物群落变化.研究发现,盐度胁迫下利用聚氨酯海绵将解淀粉芽孢杆菌固定在沟渠,能有效的强化系统中植物的耐盐性能,主要体现在促进植物生长、提高植物的抗氧化应激功能酶活性,加强植物对营养盐的同化吸收等.虽然向沟渠中投加解淀粉芽孢杆菌并未使其成为系统中的绝对优势菌属,但其能够改善系统中微生物群落结构,提高系统中脱氮除磷相关功能微生物的丰度进而提高沟渠的水质净化能力.结果表明,植物+微生物组沟渠在不同盐度下对水质的净化效果均显著高于单一植物/微生物生态沟渠,且在15g/L盐度下对营养盐去除效率最高,总氮(TN)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、总磷(TP)和化学需氧量(COD<sub>C</sub>)平均去除率均达到70%以上.相较于植物沟渠,植物+微生物沟渠的3种抗氧化应激酶:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)在15g/L盐度条件下分别提高了33.70%、43.64%、38.68%.

**关键词:**解淀粉芽孢杆菌;生态沟渠;盐度胁迫;抗氧化应激酶

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)01-0430-10

**Nutrient removal effect of plant+microbial combined ecological ditch under salinity stress.** YANG Wen-huan<sup>1,2</sup>, PENG Yao-hua<sup>1,2</sup>, XU Yan<sup>1,2</sup>, YAO Zhi<sup>1,2</sup>, WANG Le-le<sup>3</sup>, LI Wei-ping<sup>1,2\*</sup> (1.School of Energy and Environment, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, Inner Mongolia, China; 2.Collaborative Innovation Center of Inner Mongolia Autonomous Region for Ecological Protection and Comprehensive Utilization of the Yellow River Basin, Baotou 014010, Inner Mongolia, China; 3.Service Center of Daihai Nature Reserve, Liangcheng County, Ulanqab 013750, Inner Mongolia, China). *China Environmental Science*, 2025,45(1): 430-439

**Abstract:** To efficiently remove nutrient salts in high salinity lakes, this study implemented a plant+microbial ditch at Daihai Lake. The nutrient removal efficiency, plant growth, and microbial community dynamics of this ecological ditch was investigated across different salinity gradients. Immobilizing *Bacillus amyloliquefaciens* on polyurethane sponge within the ditch could significantly promote the growth of plant, enhance the activity of antioxidant stress-related enzymes, and strengthen the ability of plants to absorb and assimilate nutrients. Adding *Bacillus amyloliquefaciens* in the ditch could not make it become the absolute dominant genus, but it could improve the microbial community structure, increase the abundance of functional microorganisms involved in nitrogen and phosphorus removal, and enhance the water purification capacity of the ditch. Compared to ecological ditches with plant-only or microorganism-only, the integrated ecological ditch could achieve higher nutrient removal rates across different salinity concentrations. Specifically, over 70% TN, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, TP, and COD<sub>Cr</sub> could be removed in the integrated ditch at 15g/L salinity. Compared plant-only ditch, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POD) in plants were increased 33.7%, 43.6%, and 38.7%, respectively, in planted+microbial ditch at 15.0g/L salinity.

**Key words:** *Bacillus amyloides*; biological ditch; salinity stress; antioxidant stress enzymes

湖泊盐化和富营养化并发易导致水生态结构失衡,湖泊生态保育功能降低.因此,降低湖泊盐度,改善高盐湖体富营养化现状,保障内陆湖泊水生态安全已成为迫在眉睫的任务<sup>[1]</sup>.

生态沟渠是通过植物吸收、微生物降解和基质吸附的协同作用来实现有效去除污染物的综合生态系统<sup>[2]</sup>,已经广泛地运用于高盐湖体营养盐去除<sup>[3]</sup>.

然而,湖体中过高的盐度引发的离子胁迫、渗透胁迫和氧化胁迫会影响系统中植物的正常生长和代谢,降低植物对营养盐的去除<sup>[4]</sup>,同时高盐度胁迫也会

收稿日期: 2024-06-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(42167018);AMBBR工艺对含氮有机物降解特性和强化脱氮效能研究(2023QNJS137)

\* 责任作者, 教授, sjlwp@163.com

影响系统中的微生物的正常生存,抑制微生物活性,减少功能微生物丰度,从而影响系统对营养盐的去除<sup>[5]</sup>.在高盐水体治理上,选取耐盐性能优良的植物可以减轻盐度胁迫所带来的负面影响,增强系统对污染物去除效果<sup>[6]</sup>.一些学者对人工湿地处理高盐废水中常见的耐盐植物进行了筛选,结果表明芦苇、水葱、香蒲、千屈菜、鸢尾、美人蕉这 6 种植物耐盐性较好,且部分植物能对高盐水体中的氯离子有一定的去除<sup>[7]</sup>.此外,向系统中投加益生微生物来实现植物-微生物共生,在一定程度上能促进植物生长,增强植物对外界环境胁迫的抗逆能力,提高系统对营养盐的去除<sup>[8]</sup>.Castaldi 等<sup>[9]</sup>证明了向荷花投加耐盐解淀粉芽孢杆菌 RHF6 能显著增强植物对盐度胁迫的耐受性,表现为 RHF6 的投加促进了植物脯氨酸和脱氢酶(ACC)的生成,减轻植物受盐度胁迫的损伤.

目前关于富营养化高盐湖泊下植物+微生物联合体系去除水体中营养盐的研究仍然较少.为了实现高盐水体环境中营养盐的高效去除,本文以内蒙古高盐湖泊岱海为研究对象,基于复合植物生态沟渠技术,选取耐盐植物为系统主体,再筛选抗逆性较强和提高植物耐盐性的益生耐盐微生物解淀粉芽孢杆菌,构建植物+微生物联合强化生态沟渠,于 2023 年 5~6 月进行室内模拟实验.通过设置 3 组沟渠在不同盐度梯度下的营养盐去除试验来验证益生微生物的投加能有效强化生态沟渠系统去除营养盐的效能,探究盐度胁迫下投加解淀粉芽孢杆菌强化植物耐盐性能的机制,并揭示解淀粉芽孢杆菌的投加对沟渠系统中的微生物群落结构变化影响,验证益生微生物强化生态沟渠系统去除营养盐的效能,以期治理高盐湖泊富营养化提供科学有效的方法.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

试验选取钢渣、沸石和生物炭为供试基质,其中沸石和钢渣购自巩义市元亨净水材料厂,生物炭购自平顶山市炭诺环保材料有限公司.采用白色聚乙烯水槽来模拟硬质化沟渠,设置沟渠长为 4.0m,宽 0.4m,高为 0.4m.在底部设置 2cm 厚的砾石层来承托基质,然后依次放置钢渣(粒径 4~8mm,厚度 10cm)、

沸石(粒径 2~4mm,厚度 5cm)、生物炭(粒径 1~2mm,厚度 5cm),另设置一层厚度 5mm 的生态席垫(孔径 2mm 亚麻纤维布)来固定植物和防止基质流失.

通过泵提升向沟渠供水,为提高试验沟渠对水质净化效果和系统整体耐盐性,选取耐盐植物水葱(*Scirpus validus*)、芦苇(*Phragmites australis*)、香蒲(*Typha orientalis*)组合种植于沟渠,再投加微生物菌剂来强化系统.将解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)在 LB 培养基(酵母浸粉 0.5%、氯化钠 1%、蛋白胨 1%)中活化富集到生物量约为  $5 \times 10^8$  cfu/mL 时,开展实验.

利用聚氨酯海绵对菌剂进行固定,将海绵裁剪为 1.5cm 的正方体,用去离子水洗净,将聚氨酯海绵悬挂于沟渠中,在正式试验前两天将含有解淀粉芽孢杆菌的菌液投入沟渠,以便微生物在海绵表面增殖.

### 1.2 实验用水

试验用水参照乌兰察布市咸水湖泊岱海,根据 2020 年 6 月《岱海水生态监测专报》(第 18 期)资料,其 2020 年时湖体盐度为 14g/L(以 NaCl 记),设置沟渠进水水质指标为:COD<sub>Cr</sub> 120mg/L、TN 30mg/L、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 5mg/L、TP 1mg/L.为保障试验系统中的植物、微生物的正常生长微量元素需求,向试验用水中投加以下微量元素:FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.5mg/L、MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.026mg/L、CuSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.025mg/L、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.15mg/L.

### 1.3 实验设计

通过设置基质组(M1)、基质+植物组(M2)、基质+微生物组(M3)、基质+植物+微生物(M4)四组沟渠在 5、10、15 和 20g/L 不同盐度梯度下开展营养盐去除效能研究.试验沟渠于 2023 年 5 月 1 日启动,于 2023 年 6 月 31 日结束,试验期共 60d,各沟渠均采用周期进水,水力停留时间为 3d.在运行期内每 3d 采集一次水样,稳定后每 5d 采集一次水样,在 24h 内测定其中营养盐含量.在试验运行结束后,测定植物生长生理特性指标、丙二醛、超氧化物歧化酶活性.

### 1.4 沟渠水体和植物样品测定指标及分析方法

水样经 0.45 $\mu$ m 水相滤膜过滤后,总氮采用碱性过硫酸钾-紫外分光光度法;氨氮采用纳氏试剂分光光度法;总磷采用过硫酸钾-钼锑抗分光光度法;DO、pH 值采用便捷式水质参数仪测量.

在测定植物生长生理指标和酶活性之前,先对植物样品进行除杂、烘干和粉碎.植物株高及最大根长采用直接测量法测定,植物生物量采用烘干法测定.将样品送至南京建成生物工程研究所进行剩余植物生理特性指标及相关抗氧化清除酶活性测定,检测方法见表 1.

表 1 植物生理特性指标及酶活性测定  
Table 1 Physiological characteristics of plants and determination of enzyme activity

检测指标	检测方法
根系活力	氯化 3 苯基四氮唑法,TTC 法
总叶绿素	分光光度法
可溶性糖	硫酸蒽酮法
丙二醛(MDA)	硫代巴比妥酸法,TBA 法
超氧化物歧化酶(SOD)	NBT 法
过氧化氢酶(CAT)	分光光度法
过氧化物酶(POD)	愈创木酚法

### 1.5 高通量检测方法

将沟渠水体 DNA 样品送至上海美吉生物科技有限公司进行 DNA 宏基因组检测,具体方法如下:通过 Covaris M220(基因公司,中国)将 DNA 片段化,并将其筛选打断为约 400bp 的片段.使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq(Bioo Scientific, 美国)建库试剂盒构建 PE 文库.在桥式 PCR 扩增后使用 Illumina NovaSeq/Hiseq Xten(Illumina, 美国)测序平台进行宏基因组测序.利用软件 Fastp 对原始数据进行质控,利用软件 BWA 将目标序列比对到宿主的 DNA 序列,并去除比对相似性高的污染序列.使用基于 succinct de Bruijn graphs 原理的拼接软件 MEGAHIT 对优化序列进行拼接组装.在拼接结果中筛选  $\geq 300$  bp 的 contigs 作为最终的组装结果,使用 MetaGene 对组装出的 contig 进行 ORF 预测,然后使用 CD-HIT 软件对所有样品预测出来的基因序列进行聚类,构建非冗余基因集.使用 SOAPaligner 软件,分别将每个样品的高质量序列与非冗余基因集进行比对(默认参数为:95% identity),统计基因在对应样品中的丰度信息.将非冗余基因集序列与 Silva 数据库(SSU132)进行比对(比对阈值为 70%),从而得到物种分类注释结果.利用 TRIMMOMATIC、MOTHER、FLASH、QIIME 等软件对高通量测序所得数据进行分析,从而评价样品中微生物多样性、物种组成和丰度、群落结构的

差异.

### 1.6 数据处理

采用 Microsoft Excel 2019 对数据进行整理计算,使用 Majorbio 云平台进行生物信息学微生物区系分析,使用 IBM SPSS 26.0 经方差齐性检验后作 Duncan 差异显著性分析( $P < 0.05$ ),图形绘制最终通过 Origin 2022 实现.

## 2 结果与分析

### 2.1 联合沟渠在盐度变化下对营养盐的去除

各试验沟渠在盐度变化下对营养盐的去除效果如图 1 所示,四组试验沟渠 M1(基质)、M2(基质+植物)、M3(基质+微生物)和 M4(基质+微生物+植物)在不同的盐度条件下的营养盐去除率在实验初期均呈现快速增长趋势,这是因为沟渠基质中的沸石和活性炭对营养盐有较好的去除效果,且在实验初期尚未达到吸附上限.当实验进行到 16~18d 时,基质吸附达到饱和,沟渠系统开始依赖于植物和微生物对营养盐的去除,此时营养盐去除率增速开始逐渐减缓至稳定.总体而言,四组沟渠对营养盐的去除效率均随着盐度的升高,表现出先增加再降低的趋势.同时,四组沟渠在 15g/L 的盐度条件下对营养盐有最大去除率,10g/L 和 5g/L 盐度条件下去除效率次之,而 20g/L 盐度条件下去除效率均为最差.

在本研究的四组试验沟渠中,发现在不同的盐度条件下 M4 组沟渠对营养盐去除效果均为最好,M3、M2 组沟渠次之,M1 组沟渠营养盐去除效果最差.当环境中的盐度在 15g/L 时,M1 组对  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ 、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP 的去除效率为 44.17%、47.14%、45.43%、47.53%,M2 组对营养盐的去除效果较好,分别为 59.68%、58.69%、65.84%、61.11%.这是因为本研究中的 3 种植物均具有相对较高的耐盐阈值,有研究表明,芦苇和香蒲在 10g/L 盐度下,水葱在 15g/L 盐度下具有较强的耐盐能力且对氮磷和有机污染物去除效果较好<sup>[10]</sup>.同时将植物组合种植对水体的净化效果也优于单一植物的净化效果,植物自身的抗盐应激机制得到较大幅度发挥<sup>[11]</sup>.M3 组对营养盐的去除率分别为 65.98%、70.94%、75.03%、67.50%,M4 组对营养盐的去除效果优异,去除率分别为 70.96%、80.86%、79.88%、79.81%,证明解淀粉芽孢杆菌作为耐盐性益生微生物不仅自身对营

养盐有较好的去除效果,将其投加到复合植物生态沟渠能有效的强化系统对盐度胁迫的拮抗能力,实现对高盐水体中的营养盐的高效去除.当盐度上升到 20g/L 时,各组沟渠的营养盐去除效率相比 15g/L 盐度条件下发生了显著下降,其中 M2 组对  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ 、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP 的去除率分别为 38.52%、40.45%、

44.23%、49.75%,M3 组对营养盐的去除率分别为 42.16%、42.74%、49.26%、47.68%,M4 组对营养盐的去除率分别为 45.56%、47.86%、47.67%、52.59%,M4 仍然有最好的去除效果侧面反映了芽孢杆菌的投加增强了植物对盐度胁迫的耐受性,增强了沟渠系统在高盐环境下对营养盐的去除能力.

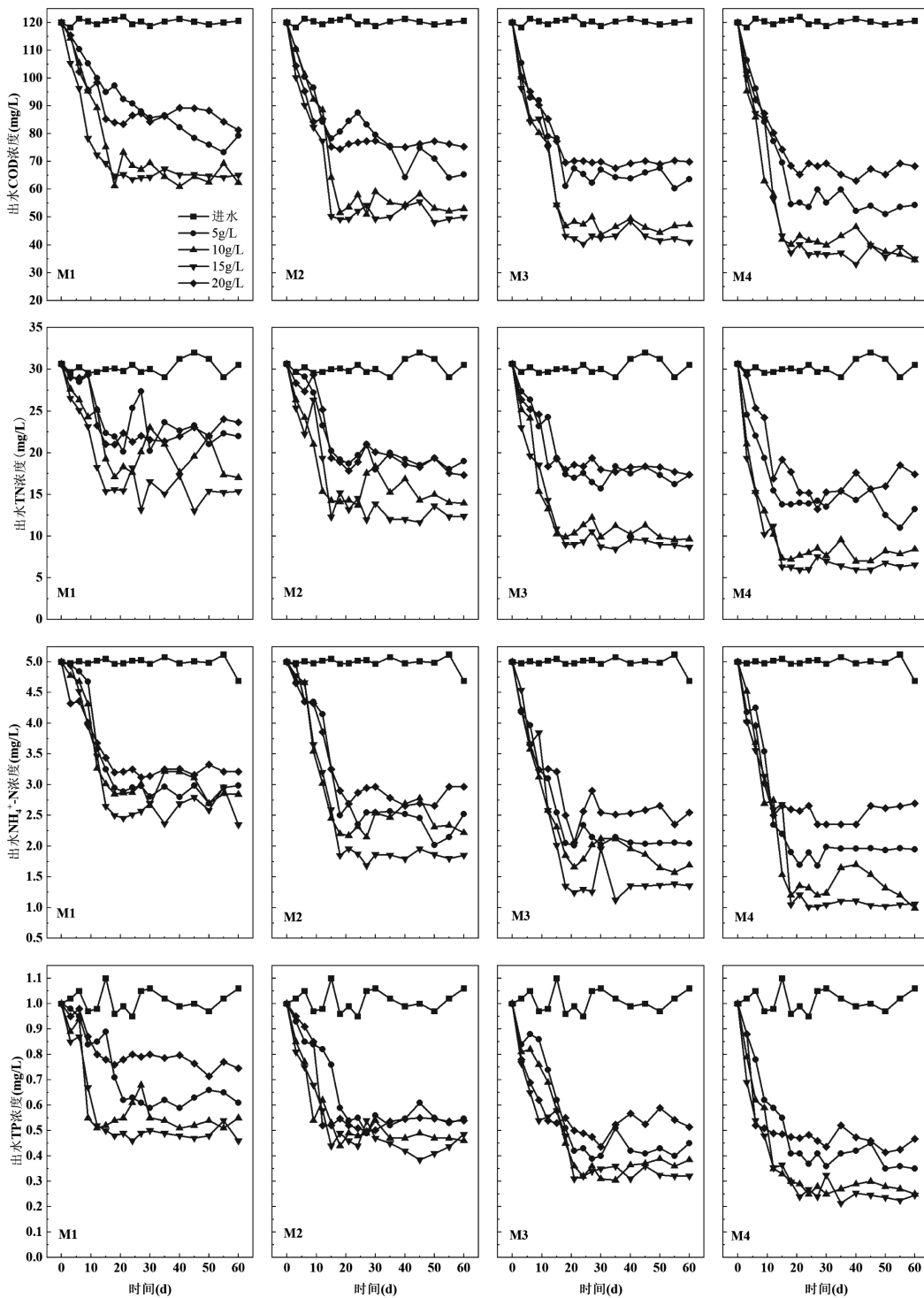


图 1 四组沟渠在盐度变化下对营养盐去除效果

Fig.1 Performance of four group ditches removing nutrient under different salinity concentration

## 2.2 投加微生物对植物耐盐性强化

2.2.1 植物根部表面形貌变化 对 M2(植物)组和 M4(植物+微生物)组的植物根际扫描电镜结果如图 2 所示,M4 组在投加解淀粉芽孢杆菌后,植物根际分泌了大量的胞外聚合物,并促进植物根部表面的微生物增殖形成了复杂且厚密的生物膜和生物絮团,陈睿等<sup>[12]</sup>发现这些膜和絮团能为微生物提供了大

量的吸附位点和良好的繁殖场所,还能有效提高系统中微生物群落对进水水质的抗冲击负荷性能,改善系统中微生物群落多样性.植物根际营造的好氧、厌氧环境,也有利于微生物正常生命活动的进行<sup>[13]</sup>.在 M4 组中解淀粉芽孢杆菌的投加改变了植物根际的形貌,提高了系统微生物群落多样性和抗冲击负荷能力,增强了系统的水质净化能力.

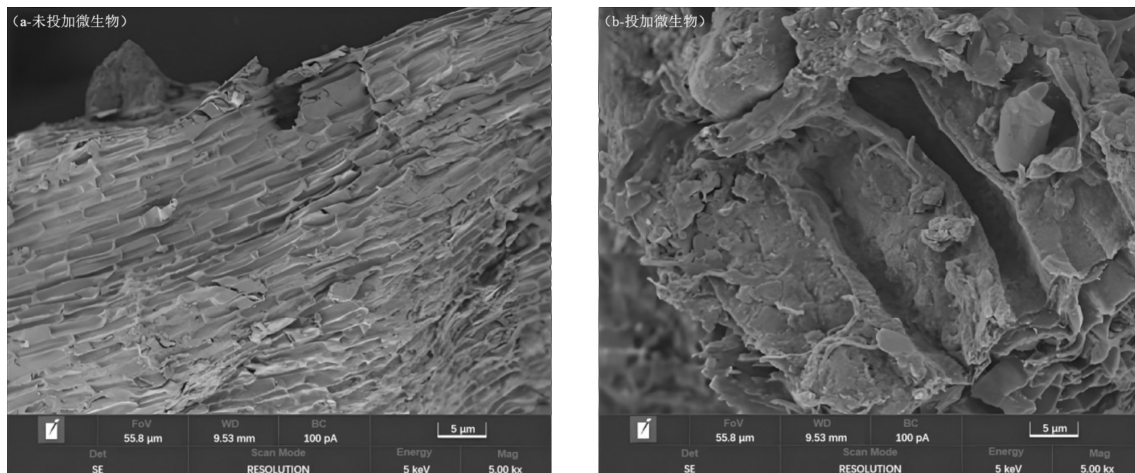


图 2 植株根际表面形貌 SEM 电镜图

Fig.2 SEM image of plant rhizosphere surface morphology

表 2 植物生长生理特性指标

Table 2 Physiological characteristics of plant growth

植物	指标	基质+植物(M2)	基质+植物+微生物(M4)
芦苇	根系活力(mg/g)	2.01±0.23	5.03±0.28
	最大根长(cm)	13.51±0.75	19.86±1.54
	植物生物量(g)	30.59±1.25	36.57±4.03
	株高(cm)	38.23±4.30	62.71±2.55
	总叶绿素(mg/g)	1.51±0.34	2.38±0.54
	可溶性糖(mg/g)	4.01±0.03	7.23±1.15
水葱	根系活力(mg/g)	1.58±0.11	3.25±0.11
	最大根长(cm)	7.38±0.21	13.25±0.58
	植物生物量(g)	16.37±0.87	23.73±1.42
	株高(cm)	26.23±5.15	33.58±2.55
	总叶绿素(mg/g)	0.74±0.15	1.32±0.52
	可溶性糖(mg/g)	2.05±0.41	4.32±0.63
香蒲	根系活力(mg/g)	1.62±0.25	3.68±0.18
	最大根长(cm)	8.36±0.45	15.32±0.29
	植物生物量(g)	17.22±1.86	25.86±1.48
	株高(cm)	26.40±1.66	52.94±11.15
	总叶绿素(mg/g)	0.67±0.10	1.56±0.24
	可溶性糖(mg/g)	2.35±0.34	4.69±0.67

2.2.2 植物生长生理特性指标变化 基于沟渠系统在盐度 15g/L 下对营养盐的去除效果最好,监测盐度 15g/L 下 M2 组与 M4 组植物的各项生长生理特性指标,结果如表 2 所示.在投加解淀粉芽孢杆菌的

作用下,M4 组中 3 种植物的各项生理指标较 M2 组均有明显的升高,其中平均根系活力、平均最大根长、平均植物生物量、平均株高、平均总叶绿素和平均可溶性糖分别提高了 127.70%、69.82%、35.42%、64.13%、89.61%、96.87%.M4 组植物相对于 M2 组植物取得了良好的生长证明了向复合植物生态沟渠中投加解淀粉芽孢杆菌能有效提高耐盐植物对盐度胁迫的拮抗能力,促进植物对水体中的各项营养盐吸收,改善其在高盐环境下的生长状况.Dweipayan 等<sup>[14]</sup>发现在盐度胁迫下向植物投加芽孢杆菌取得了与本文类似的结果,芽孢杆菌的投加通过促进土壤磷的溶解、增强固氮和产生铁载体的方式实现高效促进植物生长,植物总长度和新鲜生物量都得到了大幅提升.

2.2.3 植物功能酶活性变化 两组装置 M2 和 M4 的植物在不同盐度下的丙二酮(MDA)积累情况如图 3(a)所示,当盐度在 5~20g/L 时,两组沟渠中各植物 MDA 积累量均随盐度增加而上升.盐度在 5~15g/L 时,MDA 积累量增长较为平缓,而当盐度上升到 20g/L 时,两组沟渠内各种植物 MDA 积累量均大幅

增加.对比 M2 和 M4 组在不同盐度下的 MDA 积累,发现当投加解淀粉菌剂后,M4 组内的芦苇、水葱和香蒲的 MDA 积累量均显著低于 M2 组.

3 种抗氧化清除酶:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)在不同盐度下的积累量如图 3(b)、(c)、(d)所示,两组沟渠中各植物的功能酶积累量均随盐度增大呈先增加后减少的趋势,均在 15g/L 盐度下有最大的积累量,而在 20g/L 盐度下积累量最小.M2 组和 M4 组在 15g/L 盐度下混合植物的平均 SOD 积累量( $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{mg})$ )分别为 20.64、27.60,

平均 CAT 积累量分别为 14.28、20.52,平均 POD 积累量分别为 14.59、20.23.与 M2 组相比,M4 组在解淀粉芽孢杆菌的强化下平均 SOD 积累量提升了 33.72%,平均 CAT 积累量提升了 43.70%,平均 POD 积累量提升了 38.66%.尽管在 20g/L 盐度下,M2 组和 M4 组混合植物的平均抗氧化清除酶积累量发生了大幅下降,但 M4 组的功能酶含量仍然高于 M2 组.M4 组与 M2 组的 MDA、SOD、CAT 和 POD 积累量差异证明了益生菌的投加能促进植物抗氧化清除酶的生成,强化系统中植物对盐度胁迫的耐受性.

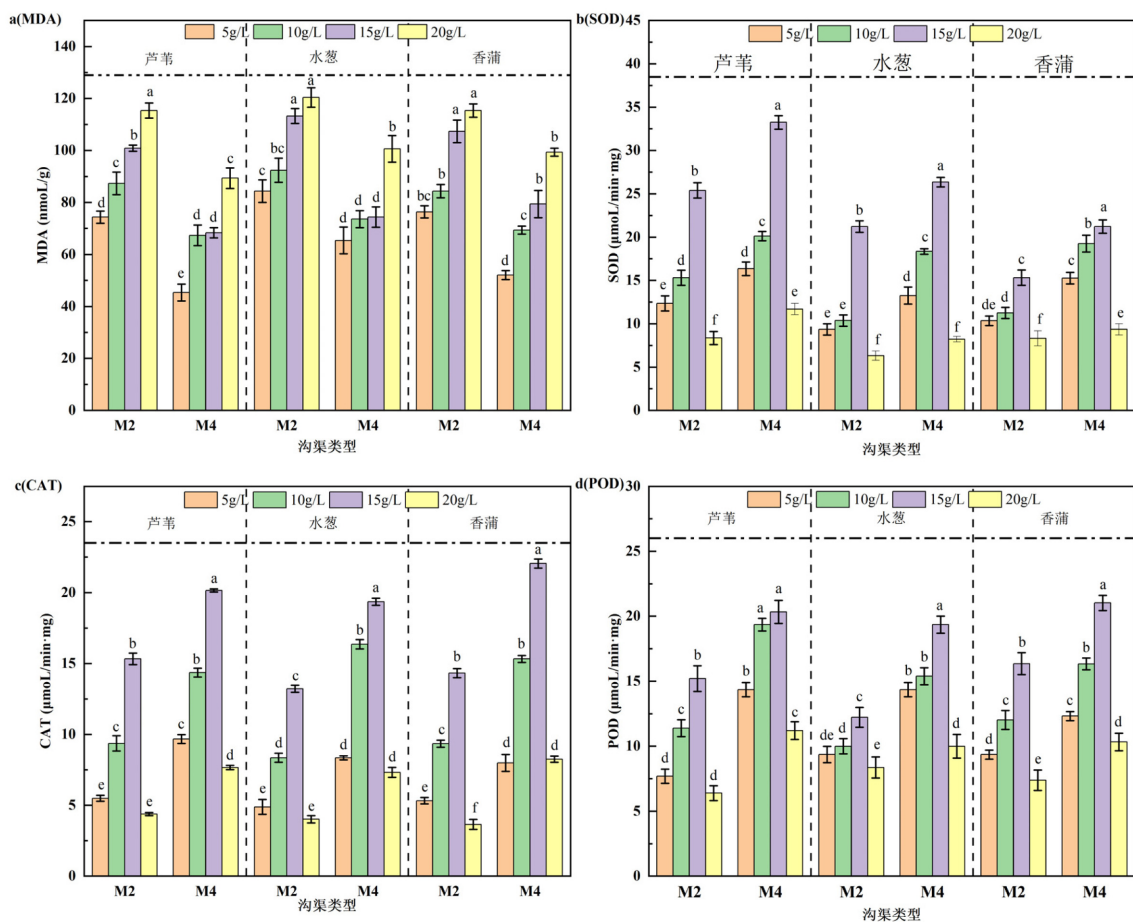


图 3 不同盐度下植物的丙二醛和功能酶积累情况

Fig.3 Accumulation of MDA and functional enzymes in plants under different salinity concentration

柱状图中不同小写字母代表差异显著( $p < 0.05$ )

## 2.3 沟渠系统微生物群落结构

2.3.1 微生物  $\alpha$  多样性分析 对 15g/L 盐度下 3 组沟渠装置中的微生物群落进行微生物  $\alpha$  多样性分析,结果如表 3 所示,M3、M4 组的(Simpson)指数较 M2 组下降,说明投加解淀粉芽孢杆菌后系统中的微生物群落多样性下降.而 M3、M4 组物种丰富度(Chao、

Ace)指数显著高于 M2 组,表明芽孢杆菌的投加使系统的微生物物种数增加.当优势菌种的丰度较高,而其微生物群落多样性较低时,这可能与抗菌活性有关.抗菌活性通过影响不同细菌之间的竞争,会加速理想细菌的生长,增加功能微生物的浓度<sup>[15]</sup>,能增强系统去除污染物的稳定性,提高系统对有机负荷冲

击的抵御能力。

表3 微生物多样性指数

Table 3 Index of microbial diversity

试验组名	Simpson	Shannon	Ace	Chao	Coverage
M2	0.025495	4.990823	1174.457	1012.479532	0.991423
M3	0.023342	5.070888	1178.512	1101.905109	0.991125
M4	0.021659	5.124717	1258.678	1279.923077	0.992351

2.3.2 微生物门水平群落结构变化 投加外源微生物如芽孢杆菌属等可以强化水体中污染物的降解和去除能力,但外源微生物的投加会对系统中的原生微生物群落结构产生影响.如图4所示,3组沟渠(M2、M3、M4)中微生物群落结构的主要优势菌门种类相同,分别为:拟杆菌门(Bacteroidota, 22.35%~32.68%)、变形菌门(Proteobacteria, 22.45%~29.36%)、放线菌门(Actinobacteriota, 20.43%~24.33%)、绿湾菌门(Chloroflexi, 9.35%~11.12%)以及厚壁菌门(Firmicutes, 7.39%~9.68%).3组沟渠的主要优势菌门种类在没有发生改变的情况下,其丰度产生了变化,其中变化最为明显的是M4组,其主要优势菌门拟杆菌门、变形菌门、放线菌门在植物+微生物联合作用下,它们的相对丰度相比M2、M3组均得到提升.

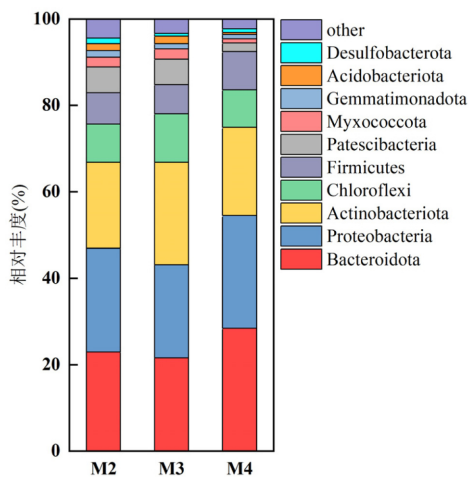


图4 门水平微生物群落组成

Fig.4 Bacterial diversity of biomass at the phylum level

2.3.3 微生物属水平群落结构变化 3组沟渠中相对丰度较高的前15种优势菌属如图5所示,M2组的优势菌属主要为:动胶菌属(*Zoogloea*, 23.12%)、卓贝氏菌属(*Zobellella*, 15.36%)、假单胞菌属

(*Pseudomonas*, 13.22%)、念珠菌属(*Candidatus*, 8.43%)等.M3组的优势菌属主要为:动胶菌属(*Zoogloea*, 28.41%)、黄杆菌属(*Flavobacterium*, 15.22%)、热单胞菌属(*Thermomons*, 13.43%)等.M4组的优势菌属主要为:动胶菌属(*Zoogloea*, 19.28%)、亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*, 13.25%)、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*, 12.79%)、脱氮单胞菌属(*Dechloromonas*, 12.89%)、芽孢杆菌属(*Bacillus*, 11.53%)、卓贝氏菌属(*Zobellella*, 12.10%)等.3组沟渠的优势菌属种类差异较大,较M2、M3组而言,研究发现芽孢杆菌的投加较大改变了M4组的微生物群落结构,M4组中主要优势菌属的相对丰度分布更为均匀,有效提高了系统对盐度胁迫的耐受性和抗冲击负荷,增强系统对营养盐的去除能力.

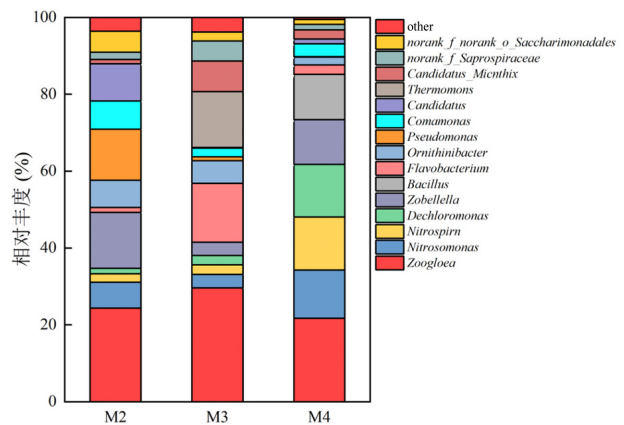


图5 属水平微生物群落组成

Fig.5 Bacterial diversity of biomass at the genus level

### 3 讨论

#### 3.1 微生物对植物耐盐性强化分析

本研究发现四组沟渠中植物+微生物复合生态沟渠(M4)在不同盐度下对营养盐的去除效果均为最好,这是因为M4组中混合植物是脱氮除磷的重要参与者,能通过同化作用来吸收水体中的氮磷营养盐,还能依靠自身的光合作用和根际泌氧作用为系统中的微生物提供充足的溶解氧<sup>[16]</sup>,系统中的植物还能对微生物起固定作用,促进系统对营养盐的去除.同时投加的解淀粉芽孢杆菌是一种好氧反硝化菌株,具有较强的耐盐性,能进行异养硝化/好氧反硝化(HN-AD)和异化硝酸铵还原(DNRA),促进水体中的硝化作用,降低水体中的氨氮和亚硝酸盐含量.此

外,其分泌的大量蛋白酶,能将水体中蛋白质分解为小分子多肽和氨基酸,便于其他微生物和藻类等利用,从源头上解决氨氮偏高的问题<sup>[17]</sup>.芽孢杆菌属还能通过矿化水体中的有机磷和溶解性磷酸盐来降低水体中的磷素,促进植物根际磷素吸收<sup>[18]</sup>.在 M4 组中植物-解淀粉芽孢杆菌联合系统可以有效的降低水体中的 COD<sub>Cr</sub> 浓度,因为解淀粉芽孢杆菌具有高效的酶分泌系统和较强的新陈代谢能力来产生溶解有机质的酶,加快水体中有机质的降解.

对比混合植物生态沟渠(M2),植物+微生物复合生态沟渠(M4)在盐度的胁迫下表现出更强的耐受性,如表 2 所示,M4 组的植物与 M2 组的植物相比,在投加解淀粉芽孢杆菌的作用下,芦苇、香蒲和水葱的各项生长生理指标均有明显的升高,这是因为在盐度胁迫下,解淀粉菌株能通过固氮、溶磷、产生铁载体、分泌植物激素吲哚乙酸和产生 ACC 脱氨酶等形式来增加芦苇等水生植物的生物量和根系活力<sup>[19]</sup>,促进植物对水中的营养物质吸收和转运<sup>[20]</sup>.同时芽孢杆菌可以调节植物自身的内源碳水化合物和氨基酸含量来改善植物生长状况,强化植物在不利环境下的生命力<sup>[21]</sup>.

MDA 是植物受胁迫后细胞膜脂质发生过氧化反应的产物,MDA 会增大植物在不利环境的受到的伤害程度,对植物蛋白质和酶具有很强的破坏性,因此 MDA 含量高低能反映植物受伤害程度的大小<sup>[22]</sup>.如图 3(a)所示,两组沟渠的 MDA 积累量随盐度上升而增加,表明出植物受到的盐度胁迫愈发严重,在 20g/L 盐度下均有最大的积累量,表明此时沟渠系统中植物细胞膜受到了严重损害.但对比 M2 组和 M4 组在相同盐度下的 MDA 含量,发现投加微生物后,M4 组的 MDA 含量均显著低于 M2 组,反映出在盐度胁迫时投加解淀粉芽孢杆菌的投加能有效的降低植物组织的 MDA 含量,减轻植物细胞受到的氧化损伤,提高植物耐盐性能.SOD、CAT、POD 作为 3 种抗氧化物清除酶,其作用是抑制或防止细胞中自由基或活性物质的形成,能快速中和有可能形成的自由基分子或有能力诱导其他自由基产生的自由基.这些酶分别能使超氧化物自由基分散,将过氧化氢和过氧化物分解为无害的分子(H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>),是反映植物抗逆性的重要指标<sup>[23]</sup>.当植物受到外界胁迫时,通常会提高 SOD、CAT、POD 活性以抵御外界

不利环境的影响<sup>[24]</sup>.如图 3(b)、(c)、(d)所示,本研究中两组沟渠的抗氧化应激酶含量在 5~15g/L 盐度下随盐度增加而上升,最高值均出现 15g/L 盐度,表明盐度 15g/L 时植物受盐度胁迫严重.对比 M2 和 M4 组在不同盐度下的功能酶积累量,可以看到 M4 组中接种解淀粉芽孢杆菌后,沟渠系统中混合植物的 3 种酶平均活性均得到了有效提升,在 15g/L 盐度条件下分别提高了 33.70%、43.64%、38.68%.尽管在 20g/L 盐度条件下,两组沟渠的功能酶积累量与较低盐度相比都大幅减少,但 M4 组的功能酶积累量仍显著高于 M2 组,这是因为解淀粉芽孢杆菌对氧化应激具有较高的耐受性,能够促进植物自身抗氧化酶的分泌,减少植物根部 MDA、ROS 的生成<sup>[25]</sup>.María<sup>[26]</sup>和 Wang<sup>[27]</sup>等人从基因组学上探讨了芽孢杆菌在盐度胁迫下增强植物的耐盐机理,发现许多芽孢杆菌的基因组中富含促进植物生长的遗传信息,能够刺激和改变植物基因的表达,表现提高基因编号 BADH1(Glyur000058s00006154)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和基因编号 SS(Glyur001957s00039090)的表达来缓解渗透胁迫,增加盐度胁迫下植物甜菜碱和可溶性糖的积累.同时芽孢杆菌还通过产生抗氧化酶或参与植物抗氧化酶合成的基因表达来减小植物的氧化应激,提高植物对盐度胁迫的耐受性,验证了本文研究.

### 3.2 盐度胁迫下微生物群落结构变化

在微生物角度上,本研究发现盐度胁迫下向植物根际投加益生微生物对沟渠系统去除营养盐的影响主要表现在解淀粉芽孢杆菌投加并未使芽孢杆菌属在系统中占据绝对的优势,而是通过改善系统中微生物群落结构和通过提高系统中土著脱氮除磷功能微生物丰度,来提高系统对营养盐的去除效率.Zhang<sup>[28]</sup>和徐伟超<sup>[29]</sup>等为降解喹啉、吡啶和吲哚等有机污染物时,采取用两种芳烃类降解细菌(*Comamou sp.Zi*)和(*Acinetobacter sp.JW*)进行生物强化来增强对活性污泥中目标污染物的去除效率,取得了与本研究类似的结果,生物强化确实能够显著降低系统中的营养盐,但接种菌剂在实验组中也未能保持绝对优势,而是依靠诱导功能微生物群落的生成来发挥作用.

对比 M2、M3、M4 组的微生物群落结构和丰度,从门水平来看,M4 组在植物-微生物联合作用下,3 种

主要优势菌门拟杆菌门、变形菌门、放线菌门的相对丰度较 M2、M3 组均得到提升,这 3 种菌门能加快水体有机物去除以及脱氮除磷等过程,提高水质净化的效果.厚壁菌门的大多数微生物可以通过产生孢子来抵抗遇到的极端环境,如盐度胁迫和营养匮乏等<sup>[30]</sup>.M4 组在投加解淀粉芽孢杆菌后,厚壁菌门的相对丰度得到提升,这说明了植物-微生物联合体系能更加适应高盐环境.尽管在 M4 组的硝化螺旋菌门(Nitrospirota)含量较低,这是因为该类微生物在盐度胁迫受到限制,但该菌门作为硝化过程的重要微生物硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)含量高于其他两组.

从属水平来看,脱氮单胞菌属(*Dechloromonas*)作为反硝化聚磷菌属(DPAOs)之一不仅能将硝酸盐氮还原为亚硝酸盐氮<sup>[31]</sup>,还具有积累聚磷作用<sup>[32]</sup>,该菌属的丰度在 M4 组的增加,提高了系统对 TP 的去除效率.作为参与氮素转化的微生物,亚硝化单胞菌与氨氮化有关,而硝化螺旋菌与亚硝酸盐氧化有关.在植物和解淀粉菌的作用下,亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)的在 M4 组的相对丰度得到提升,加速了系统中氮素的转化,提高了脱氮效率.假单胞菌属(*Pseudomonas*)和黄杆菌属(*Flavobacterium*)作为反硝化菌属之一,有着良好的脱氮能力.但 M4 组外源投加微生物后二者的丰度降低,取而代之的是芽孢杆菌属(*Bacillus*)和卓贝氏菌属(*Zobellella*)属等丰度增加.卓贝氏菌属(*Zobellella*)属作为好氧反硝化物种之一,具有高度嗜盐好氧反硝化能力,这类细菌对咸水具有耐受性,其参与好氧反硝化过程时,可以克服根际自养硝化与厌氧反硝化过程之间的空间变异<sup>[33]</sup>,使得反硝化和硝化同时发生,能缩短实验进程,让系统具有较高的总氮脱除能力.这些证据都进一步说明了向植物根际投加解淀粉芽孢杆菌能有效的增强系统在盐度胁迫下对营养盐的去除能力.尽管本研究通过室内模拟试验探讨了在高盐水体中盐度胁迫下芽孢杆菌的投加对净水植物生长生理指标、酶活性和根际微生物群落的影响,但在下一步的研究中应当具体深入的研究芽孢杆菌的投加对生态沟渠系统中氮、碳、磷功能基因和代谢通路的影响,并进行中试试验探索植物-微生物联合型生态沟渠在实地水体的运行效果,以期高盐湖体营养盐去除寻找出科学、高效的方法.

## 4 结论

4.1 植物+微生物联合生态沟渠相比复合植物生态沟渠在盐度胁迫下能更高效地去除水体中的营养盐.当盐度为 15g/L 时,各组装置对水体污染物去除效果最好.此时植物组(M2)对 TN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、TP、COD<sub>Cr</sub> 的去除效率分别为 58.69%、65.84%、61.11%、59.68%,而植物+微生物组(M4)经过微生物强化后对 TN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、TP、COD<sub>Cr</sub> 的去除效率上升到 80.86%、79.88%、79.81%、70.96%.

4.2 投加解淀粉芽孢杆菌能够通过促进植物生长、加强植物对无机盐离子和营养盐的同化吸收、提高系统中植物抗氧化清除酶活性来强化植物的耐盐性能,并通过分泌胞外聚合物的方式促进植物根际微生物膜和生物絮团结构的形成来强化植物在盐度胁迫下的拮抗能力.投加解淀粉菌使植物的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等相关抗氧化酶活性提高了 47.34%、55.66%、53.25%.

4.3 盐度胁迫下,在 M4 组中向沟渠系统投加解淀粉芽孢杆菌,并未使芽孢杆菌属成为系统的绝对优势菌属,而是通过改善微生物群落结构和提高系统中亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)、脱氮单胞菌属(*Dechloromonas*)以及好氧反硝化微生物(*Zobellella*)等土著脱氮除磷功能微生物的丰度的方式来提高系统对营养盐的去除效率.

## 参考文献:

- [1] 王世欢,张 生,武 蓉,等.寒旱区湖泊浮游植物特征及其对营养状态的指示作用 [J]. 中国环境科学, 2023,43(1):311-320.  
Wang S H, Zhang S, Wu R, et al. Characteristics of phytoplankton in lakes in cold and arid regions and their role in indicating trophic status [J]. China Environmental Science, 2023,43(1):311-320.
- [2] Wang T, Zhu B, Zhou M H. Ecological ditch system for nutrient removal of rural domestic sewage in the hilly area of the central Sichuan Basin, China [J]. Journal of Hydrology, 2019,570:839-849.
- [3] Liang Y, Zhu H, Bañuelos G, et al. Constructed wetlands for saline wastewater treatment: A review [J]. Ecological Engineering, 2017, 98:275-285.
- [4] Liang Y X, Zhu H, Bañuelos G, et al. Removal of nutrients in saline wastewater using constructed wetlands: Plant species, influent loads and salinity levels as influencing factors [J]. Chemosphere, 2017,187:52-61.
- [5] Wang J X, Liu Y, Ma Y C, et al. Research progress regarding the role of halophilic and halotolerant microorganisms in the eco-environmental sustainability and conservation [J]. Journal of Cleaner Production, 2023,418:138054-138054.
- [6] 曾碧健,窦碧霞,黎祖福,等.海洋盐生植物海马齿(*Sesuvium*

- portulacastrum)对环境盐度胁迫的耐受性及营养价值综合评价 [J]. 海洋与湖沼, 2017,48(3):568-575.
- Zeng B J, Dou B X, Li Z F, et al. Comprehensive evaluation of the tolerance of the marine halophyte *Sesuvium portulacastrum* to environmental salinity stress and its nutritional value. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2017,48(3):568-575.
- [7] 廖明晶,范敬龙,匡代洪,等.高盐废水处理中耐盐湿地植物的筛选 [J]. 广东化工, 2021,48(14):154-155,188.
- Liao M J, Fan J L, Kuang D H, et al. Screening of salt-tolerant wetland plants in high-salt wastewater treatment [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2021,48(14):154-155,188.
- [8] 王伟英,徐成龙,陈盈盈,等.*Bacillus* sp. Z2 对稀土钇的固定及阻控水稻吸收效应 [J]. 中国环境科学, 2023,43(2):927-934.
- Wang W Y, Xu C L, Chen Y Y, et al. Effect of Z2 on the fixation of rare earth yttrium and its resistance to rice absorption [J]. *China Environmental Science*, 2023,43(2):927-934.
- [9] Stefany C, Vladimir T V, Ezio R, et al. Use of halotolerant *Bacillus amyloliquefaciens* RHF6as a bio-based strategy for alleviating salinity stress in *Lotus japonicus* cv Gifu [J]. *Microbiological Research*, 2023,268:127274.
- [10] 范真.耐盐湿地植物的净水能力及腐烂分解研究 [D]. 南京:南京林业大学, 2020.
- Fan Z. Study on water purification capacity and decay decomposition of salt-tolerant wetland plants [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2020.
- [11] 郭清,佟馨,王凌生,等.复合垂直流人工湿地污染物去除效率影响研究 [J]. 环境科学与管理, 2023,48(9):124-128.
- Guo Q, Tong X, Wang L S, et al. *Environmental Science and Management*, 2023,48(9):124-128.
- [12] 陈睿,陈晓颖,刘智明,等.生物絮团技术在水产养殖业中的研究进展 [J]. 工业微生物, 2023,53(1):51-54.
- Chen R, Chen X Y, Liu Z M, et al. Research progress of biofloc technology in aquaculture [J]. *Industrial Microbiology*, 2023,53(1):51-54.
- [13] 黄晓晨,于金山,王晓奕,等.挺水植物在富营养化水体净化中的应用进展 [J]. 中南农业科技, 2024,45(2):144-151.
- Huang X C, Yu J S, Wang X Y, et al. Application progress of water plants in eutrophication water purification [J]. *Zhongnan Agricultural Science and Technology*, 2024,45(2):144-151.
- [14] Dweipayan G, Pinakin D, Pranav P, et al. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2 [J]. *Microbiological Research*, 2014,169(1):66-75.
- [15] 赵淑凤,刘慧,赵磊,等.不同铁、氮转化功能微生物对 Fe(II)化学氧化的响应 [J]. 地球科学, 2021,46(4):1481-1489.
- Zhao S F, Liu H, Zhao L, et al. Responses of Microorganisms with Different Iron and Nitrogen Conversion Functions to Chemical Oxidation of Fe(II) [J]. *Earth Science*, 2021,46(4):1481-1489.
- [16] Wang Q, Li S, Fei L Get al. A study of typical plant growth changes in response to drainage water and salt in ditch wetland in arid area [J]. *Science of The Total Environment*, 2024,912:169315-169315.
- [17] Yang T, Yang Q, Shi Y, et al. Insight into the denitrification mechanism of *Bacillus subtilis* JD-014 and its application potential in bioremediation of nitrogen wastewater [J]. *Process Biochemistry*, 2021,103:78-86.
- [18] Cerozi B, Fitzsimmons K. Use of *Bacillus* spp. to enhance phosphorus availability and serve as a plant growth promoter in aquaponics systems [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016,Volume 211,211:277-282.
- [19] 吴秀蓉,肖朝江,沈怡,等.植物来源抗疟倍半萜类天然产物研究 (1972-2022) [J]. 有机化学, 2023,43(8):2764-2789.
- [20] Romero M A, Aroca R, et al. A non-K<sup>+</sup>-solubilizing PGPB (*Bacillus megaterium*) increased K<sup>+</sup> deprivation tolerance in *Oryza sativa* seedlings by up-regulating root K<sup>+</sup> transporters [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023,196:774-782.
- [21] 陆叶. 枯草芽孢杆菌对盐胁迫下紫花苜蓿的缓解研究 [D]. 扬州:扬州大学, 2023.
- Lu Ye. Study on the alleviation of alfalfa by *Bacillus subtilis* under salt stress [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2023.
- [22] 栾红艳,赵卫红,苗辉. Cd<sup>2+</sup>胁迫下中肋骨条藻细胞内多胺的生理响应 [J]. 中国环境科学, 2015,35(5):1487-1494.
- Luan H Y, Zhao W H, Miao H. Polyamines response to Cd<sup>2+</sup> stress and their physiological roles in *Skeletonema Costatum* [J]. *China Environmental Science*, 2015,35(5):1487-1494.
- [23] 方发之,桂慧颖,黎肇家,等.6 种红树幼苗对不同盐度的生理适应性 [J]. 植物研究, 2023,43(6):881-889.
- Fang F Z, Gui H Y, Li Z J, et al. Physiological adaptability of six species of mangrove seedlings to different salinity [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2023,43(6):881-889.
- [24] Wang G, Zhang L S, Zhang S H et al. The combined use of a plant growth promoting *Bacillus* sp. strain and GABA promotes the growth of rice under salt stress by regulating antioxidant enzyme system, enhancing photosynthesis and improving soil enzyme activities [J]. *Microbiological Research*, 2023,266:127225.
- [25] Wang P, Xu Z, Zhang Y, et al. Over-expression of spermidine synthase 2 (SISPDS2) in tomato plants improves saline-alkali stress tolerance by increasing endogenous polyamines content to regulate antioxidant enzyme system and ionic homeostasis [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2022,192:172-185.
- [26] Maria F V M, Salvador C A, Paulina G G, et al. Survival strategies of *Bacillus* spp. in saline soils: Key factors to promote plant growth and health [J]. *Biotechnology Advances*, 2024,70:108303-108303.
- [27] Wang Q L, Peng X Y, Lang D Y, et al. Physio-biochemical and transcriptomic analysis reveals that the mechanism of *Bacillus cereus* G2alleviated oxidative stress of salt-stressed *Glycyrrhiza uralensis* Fisch seedlings [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022,247:114264.
- [28] Zhang X, Song Z, Tang Q, et al. Performance and microbial community analysis of bioaugmented activated sludge for nitrogen-containing organic pollutants removal [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2021,101:373-381.
- [29] 徐伟超,吴翠平,张玉秀,等.嗜碱降解菌 *Ochrobactrum* sp. 的好氧降解特性及其在焦化废水中的生物强化作用 [J]. 环境科学, 2017,38(5):2030-2035.
- Xu W C, Wu C P, Zhang Y X, et al. Aerobic Degradation Characteristics of *Ochrobactrum* sp. and Its Bioaugmentation Effect in Coking Wastewater [J]. *Environmental Science*, 2017,38(5):2030-2035.
- [30] 杨亚红,薛莉霞,孙一波,等.解淀粉芽孢杆菌生物有机肥防控土壤氨挥发 [J]. 环境科学, 2020,41(10):4711-4718.
- Yang Y H, Xue L X, Sun B, et al. Prevention and Control of Ammonia Volatilization in Soil by *Bacillus Amyloliquus* Bioorganic Fertilizer [J]. *Environmental Science*, 2020,41(10):4711-4718.
- [31] 崔逸儒,杨毅,严俊,等.脱卤单胞菌属在厌氧降解有机氯化物及污染场地修复应用中的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2021,37(10):3565-3577.
- Cui Y R, Yang Y, Yan J, et al. Research Progress of *Dehalomonas* in Anaerobic Degradation of Organochlorides and Remediation of Contaminated Sites [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(10):3565-3577.
- [32] Wang H, Gilbert J A, Zhu Y, et al. Salinity is a key factor driving the nitrogen cycling in the mangrove sediment [J]. *Science of the Total Environment*, 2018,631-632:1342-1349.
- [33] 吴春晗,白洁,赵阳国,等. ZnO-NPs 对好氧反硝化细菌 *Zobellella* sp. B307 的致毒机制 [J]. 中国环境科学, 2020,40(8):3644-3653.
- Wu C H, Bai J, Zhao Y G, et al. Effect of ZnO-NPs on aerobic denitrifying bacteria *Zobellella* sp. Toxicity Mechanism of B307 [J]. *China Environmental Science*, 2020,40(8):3644-3653.

作者简介: 杨文焕(1980-),女,内蒙古包头人,教授,博士,主要从事水生生态修复及保护与水处理技术.发表论文 50 余篇. yangwenhuan80@163.com.