

浅水湖泊水生植物残体降解过程中活性氧物种的产生及其作用分析

刘新¹ 陆俊楠^{1,2} 江和龙² 吴定桂^{1,2} 徐华成² 宋娜²¹

(1. 南京林业大学 生物与环境学院, 江苏高校环境工程优势学科,

江苏 南京 210037; 2. 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)

【摘要】: 水生植物是湖泊生态系统中的重要组分, 每到秋冬季水生植物大量衰亡, 植物残体分解过程对水体生源要素循环有重要影响。大型水生植物残体的分解一直被认为是微生物降解的过程, 而光降解在很大程度上被忽视了。主要探究单可见光、单微生物和可见光+微生物联合作用下芦苇残体降解过程中各组分去除效率的差异性及不同条件下的降解机制。结果表明, 与单可见光降解或单微生物降解相比, 可见光+微生物联合降解在 110d 内去除植物残体生物量最多 (54.9±2.1%), 同时产生更多的活性氧物种 (Reactive Oxygen Species, ROS), 且残体的各个组分 (纤维素、半纤维素和木质素) 的去除率与累积生成的 ROS 均呈正相关性, 尤其是其中的难降解组分——木质素。因此, 为了更准确地预测水生生态系统的碳循环, 需要考虑可见光在植物残体降解中的作用, 而对浅水湖泊中水生植物残体降解机理的深入认识将有助于湖泊科学管理和治理修复。

【关键词】: 浅水湖泊 植物残体 活性氧物种 (ROS) 光降解 微生物降解

【中图分类号】: X524 **【文献标识码】:** A **【文章编号】:** 1004-8227 (2022)03-0624-10

水生植物是水生生态系统中的重要组分, 可以吸收富营养化水体中的氮、磷等营养盐^[1], 吸附水体中的重金属^[2]等污染物质, 对水质的改善和湖泊生态系统的修复都有着积极的作用^[3]。然而湖泊富营养化和沼泽化过程都可在一定程度上刺激水生植物的生长^[4,5]。同时, 由于大部分水生植物不能越冬, 每到秋冬季水生植物开始大量衰亡, 衰亡期的植物残体在分解过程中向水体释放过量的营养物质, 易造成水体的二次污染现象^[6]。其中可溶性有机物 (Dissolved Organic Matter, DOM) 是植物残体释放的主要营养物质, 有机物含量过多降低水体溶解氧, 破坏水体生态结构。DOM 是指可以通过 0.45 μm 滤膜的天然有机质混合物, 其中的重要组分为有色可溶有机物 (Chromophoric Dissolved Organic Matter, CDOM), 是水体中一类含有腐殖酸、富里酸和芳烃聚合物等物质的可溶性有机物, 是其中能够对紫外可见光产生吸收的基本组成部分。

在湖泊生态系统中, 植物残体的分解传统上被认为是微生物作用过程, 并受到环境因素的影响^[7]。微生物通过合成胞外酶,

作者简介: 刘新 (1968~), 男, 教授, 主要研究方向为水污染控制与修复、农林固废资源化利用. E-mail: xin163mail@163.Com; 宋娜 E-mail: nsong@niglas.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51879256, 5187091383); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

将纤维素、半纤维素和木质素等高分子化合物转化为可被吸收的小分子^[8]。但近期研究发现,光照也可以加速水体中植物残体的分解^[9]。长期以来,光辐射对植物残体分解的研究主要集中于干旱和半干旱生态系统^[10,11]。并且以往研究发现,直接和间接光解是影响植物残体损失的主要途径。光降解可直接将有机物分解成 CH₄、CO₂ 和其他气体,从而导致植物残体质量的损失^[12]。光辐射还可以间接作用于光敏物质,如木质素组分,腐殖质组分,CDOM 等,并在此过程中发生能量跃迁,产生活性氧物种(Reactive Oxygen Species, ROS)^[13],进而参与有机污染物的降解和碳循环过程^[14]。

ROS 是一类含氧的高活性分子,水体中最具代表性的 3 种 ROS 为羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、单线态氧($^1\text{O}_2$)和激发三重态有色可溶有机物($^3\text{CDOM}^*$)^[15]。天然水体中 ROS 的主要来源为生物和非生物过程,ROS 的非生物来源为阳光诱导下表层有机化合物的光氧化过程^[16]。有机质中的 CDOM 是 $^3\text{CDOM}^*$ 、 $^1\text{O}_2$ 的唯一来源,也是 $\cdot\text{OH}$ 重要来源^[17]。ROS 的生物来源为硅藻和蓝藻^[14]、细菌和真菌^[18]等浮游植物的胞外产生。湖泊水体中的 ROS 参与有机质光化学和氧化还原反应,在有机质和污染物降解及转化的过程中起重要作用^[19]。然而,目前关于在光和微生物共存条件下,水生植物衰亡期 ROS 的产生及 ROS 对植物残体降解的影响尚不清楚。

本研究选取太湖优势挺水植物—芦苇残体为研究对象,分别分析单可见光降解、单微生物降解及可见光+微生物联合降解作用对植物残体分解的影响,及分析分解过程中植物残体各组分的变化。重点探究植物残体降解过程中 ROS 的产生过程及 ROS 对残体各组分的去除效果。本研究为治理湖泊富营养化提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品收集和制备

东太湖(31° 10' N, 120° 25' E)是太湖东南部的一个浅狭形草型湖湾,该区域内降水充沛,光照充足^[20]。目前,东太湖是太湖诸湖湾中水生生态结构较完整的湖区之一,对太湖水生态系统的开发和治理起重要的作用。本实验在东太湖水生植物衰亡期采集湖水水样和芦苇植株,分别装入酸冲洗过的棕色玻璃瓶和聚乙烯密封袋中带回。为保留太湖水中的土著菌进行微生物降解,将采回的部分水样保存在酸冲洗过的硼硅酸盐玻璃瓶中,在 25℃ 的黑暗环境下静置保存 3d 后,取上层水样进行单微生物降解处理组和可见光+微生物降解处理组的实验。采回剩余的水样用 0.45 μm 玻璃纤维膜过滤后,在 121℃、1.1atm 条件下灭菌,用于可见光降解处理组和对照组的实验。用自来水冲洗附着在芦苇表面的泥土,再用去离子水冲洗 3 遍,将芦苇茎和叶剪成 2mm,茎和叶按照质量 1:2 混匀后放入烘箱中于 60℃ 烘干至恒重并灭菌,最后称取干重为 5g 的芦苇残体装于灭菌后的尼龙网袋(规格为 20cm×20cm,孔径为 5mm)内。

1.2 实验方法

本实验为室内模拟实验,共设置 4 组不同处理组:单可见光降解处理组、单微生物降解处理组、可见光+微生物降解处理组和对照组(无可见光、无微生物处理)。反应器为 1.5L 石英玻璃器皿,每个反应器内分别装入 1.0L 湖水和 3 个网袋,并用无菌透气封口膜包裹瓶口。单可见光降解处理组和对照组的湖水灭菌处理,并加入 0.25mM 杀菌剂 ZnCl₂ 抑制水体微生物活性。实验结束后采用了细菌和真菌划线培养实验,结果证明反应体系没有被微生物污染。单微生物降解处理组和可见光+微生物降解处理组中的水样过大孔径滤膜去除水体中杂质。为了更好的提供光照条件,单可见光降解处理组和可见光+微生物降解处理组的反应器放置于全封闭的塑料盒内。在塑料盒顶部 2cm 处安装 1 个冷白光源荧光灯(波长 400~750nm,40W,飞利浦 TL5,中国北京)。长江中下游地区浅层湖泊水体的平均水深仅 2m 左右^[21]。本实验的光强参考太湖夏季的实际光照强度来设定^[22]。每个反应器在可见光处理下随机交换位置以确保接受到相同的光照。微生物降解处理组和对照组放置黑暗环境下,用铝箔包裹瓶身,避免光照干扰。整个实验过程中,所有反应器处于室温 25℃ 环境中,并且为了保证一定溶解氧含量,每个玻璃器皿每天定时手摇两次。

为保证实验期间水体不受采样操作的污染,故设计为破坏性实验。每种处理组设置 18 个反应器。在实验的第 10、30、50、75、100 和 110d 分别取 3 个反应器进行各项指标测定。每个反应器均取 100mL 水样和 3 袋植物残体。水样用 0.22 μm 玻璃纤维

膜过滤后存于棕色取样瓶中并保存在 4℃ 的冷藏箱中。植物残体放入烘箱中于 60℃ 干燥至恒重。所有理化指标均在 2d 内完成测定。

1.3 检测和计算方法

1.3.1 植物残体去除率分析

根据一阶动力学模型^[23],建立了湖泊水体中植物残体分解速率的指数模型:

$$W_t = W_0 e^{-kt} \quad (1)$$

式中: W_0 为大型植物的初始残体含量(g); W_t 为第 t d 的残体质量(g); k 为反应的一阶速率常数(d^{-1}), t 为时间(d)。半衰期($t_{1/2}$)计算公式:

$$t_{1/2} = (\ln 2) / k \quad (2)$$

1.3.2 ROS 测定方法

为测定植物残体分解过程中 3 种 ROS ($\cdot OH$ 、 1O_2 和 $^3CDOM^*$) 的产生速率和累积浓度,用太阳光模拟器(94123A-CPV, 美国)进行光降解实验。将保存好的待测水样取 30ml 等分成 3 份,分别加入苯($1\text{mmol} \cdot L^{-1}$)、呋喃甲醇(FFA, $1\text{mmol} \cdot L^{-1}$)和三甲基苯酚(TMP, $2\text{mmol} \cdot L^{-1}$)进行捕获^[24,25]。然后将样品放入圆柱形的石英试管(直径 4.0cm, 高度 2.5cm)中,用侧螺帽紧紧地封闭。选用 1500W 氙灯作为稳定的 UV-Vis 光源,配置 310nm 滤光片。汞灯照射垂直于溶液,光程长度 1.6cm。到达溶液中心的光强为 $32\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。在照射的 2、4、6、8、24、32h,从石英管中取 1mL 溶液进行测定。用超纯水辐照法进行空白对照实验,检测 TMP、FFA 和苯酚的产生过程。

利用高效液相色谱仪(Agilent1200)和紫外检测器检测光照后的样品,所有样品均用甲醇和磷酸盐缓冲液(pH2.8)按 60:40 比例混合洗脱,流速为 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,TMP 保留时间为 11min,FFA 保留时间为 3.4min, $\cdot OH$ 自由基检测产物苯酚保留时间为 4.3min,检测波长为 220nm^[26]。获得 TMP、FFA、苯酚的标准曲线,以及植物残体降解过程中水体中 $\cdot OH$ 、 1O_2 和 $^3CDOM^*$ 的产生速率和累积浓度。

TMP 和 FFA 在辐照下的反应符合拟一阶动力学。TMP 或 FFA 初始降解速率 R 计算公式:

$$R = k \cdot C_0 \quad (3)$$

式中: C_0 为 TMP 或 FFA 初始浓度($\text{mmol} \cdot L^{-1}$); k 为准一阶降解速率常数(s^{-1})。

$^3CDOM^*$ 产生速率和累积浓度按公式(4)、(5)进行计算:

$$R_{3\text{CDOM}^*} = (R_{\text{TMP}} - R_0) \cdot (K_{\text{TMP}, 3\text{CDOM}^*} [\text{TMP}]_0 + K') / K_{\text{TMP}, 3\text{CDOM}^*} [\text{TMP}]_0 \quad (4)$$

$$[3\text{CDOM}^*] = R_{3\text{CDOM}^*} \cdot (K')^{-1} \quad (5)$$

式中： R_{TMP} 为实验测得水样中 TMP 转化的初始速率 ($\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$)； R_0 为 TMP 在空白水样中时的速率(挥发和光解) ($\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$)； $K_{\text{TMP}, 3\text{CDOM}^*}$ 为二阶速率常数 $3 \times 10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ； K' 为其它失活过程准一阶速率常数 $5 \times 10^5 \text{s}^{-1}$ ； $[\text{TMP}]_0$ 为 TMP 的初始浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

$^1\text{O}_2$ 产生速率和累积浓度按公式(6)、(7)进行计算：

$$R_{^1\text{O}_2} = (R_{\text{FFA}} - R_0) \cdot (K_{\text{FFA}, ^1\text{O}_2} [\text{FFA}]_0 + K_{^1\text{O}_2}) / K_{\text{FFA}, ^1\text{O}_2} [\text{FFA}]_0 \quad (6)$$

$$[^1\text{O}_2] = R_{^1\text{O}_2} \cdot (K_{^1\text{O}_2})^{-1} \quad (7)$$

式中： R_{FFA} 为实验测得湖水中 FFA 转化的初始速率 ($\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$)； R_0 为 FFA 在空白水样中时的速率(挥发和光解) ($\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$)； $K_{\text{FFA}, ^1\text{O}_2}$ 为二阶速率常数 $1.2 \times 10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ； $K_{^1\text{O}_2}$ 为其它失活过程准一阶速率常数 $2.5 \times 10^5 \text{s}^{-1}$ ； $[\text{FFA}]_0$ 为 FFA 的初始浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

$\cdot\text{OH}$ 测定采用的二级速率常数值为 $7.8 \cdot 10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ，以 95%的苯转化为苯酚来量化 $\cdot\text{OH}$ 。以 10mM 和 0.05mM 两种浓度的苯分别测定 $\cdot\text{OH}$ 的形成速率 ($R_{\cdot\text{OH}}$) 和累积浓度 ($[\cdot\text{OH}]_{\text{ss}}$)。在苯浓度较高(10mM)的情况下， $\cdot\text{OH}$ 的产生速率和累积浓度按公式(8)、(9)进行计算：

$$R_{\cdot\text{OH}} = (0.95)^{-1} (R_{\text{Phenol}} - R_0) \left(\sum k_{\text{Si}} [\text{Si}] + K_{\text{Benzene}, \cdot\text{OH}} [\text{Benzene}]_0 \right) / K_{\text{Benzene}, \cdot\text{OH}} [\text{Benzene}]_0 \quad (8)$$

$$[\cdot\text{OH}]_{\text{ss}} = R_{\cdot\text{OH}} / \sum k_{\text{Si}} [\text{Si}] \quad (9)$$

式中： $[\text{Benzene}]_0$ 为苯的初始浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)； R_{Phenol} 为实验中测定的苯酚生成速率 ($\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$)； R_0 为苯在空白水样中形成苯酚的速率； $K_{\cdot\text{OH}, \text{Benzene}} = 7.8 \times 10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ 为 $\cdot\text{OH}$ 与苯之间的二阶反应速率常数； $\sum k_{\text{Si}} [\text{Si}]$ 为一级清除(失活)反应速率常数(低浓度苯 = 10 μM 测定)，高浓度苯时此项忽略不计； $[\text{Phenol}]$ 为苯酚的浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

$\cdot\text{OH}$ 一级清除(失活)反应速率常数计算公式为：

$$\sum k_{\text{Si}} [\text{Si}] = 0.95 K_{\text{Benzene}, \cdot\text{OH}} [\text{Benzene}]_0 / d[\text{Phenol}] / dt \quad (10)$$

1.3.3 木质纤维素含量测定

木质纤维素的主要成分是木质素、纤维素、半纤维素，本实验采用差重法测定木质纤维素含量，主要参考刘新^[27]的方法。

1.3.4 可溶性有机碳(Dissolved Organic Carbon, DOC)和 CDOM 测定方法

用连续流动分析仪(Futura, Alliance, 法国)测定 DOC 浓度，用邻苯二甲酸氢钾标准储备液稀释梯度作标准曲线。

CDOM 吸收光谱采用 SHIMADZUUV-2550 紫外可见分光光度计进行全波段扫描测定。超纯水作为空白，按照公式(11)、(12)计算 CDOM 吸收系数：

$$\alpha(\lambda') = 2.303 \times OD(\lambda) / r \quad (11)$$

式中： $\alpha(\lambda')$ 为未校正的光谱吸收系数， m^{-1} ； r 为光程， m ； $OD(\lambda)$ 为样品在波长 λ 处的吸光度值。

按照公式(12)对 $\alpha(\lambda')$ 进行校正，算出校正后的光谱吸收系数 $\alpha(\lambda)$ ：

$$\alpha(\lambda) = \alpha(\lambda') - \alpha(700) \quad (12)$$

式中： $\alpha(\lambda)$ 为校正的波长 λ 的吸收系数， m^{-1} ； $\alpha(\lambda')$ 为未校正的光谱吸收系数， m^{-1} ； λ 为波长， nm 。254、280 和 355nm 等波长处的吸收系数均可表征 CDOM^[28,29]。考虑到本实验中产生的 CDOM 主要来源于植物残体，同时结合水体理化性质及其光化学性质，因此本实验采用 $\alpha(355)$ 来表征 CDOM 的丰度。

1.4 统计分析

采用 SPSS17.0 软件进行数据统计与分析， $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$ 分别表示显著性和极显著性差异。运用 Origin8.0 软件进行数据处理和绘制图表。

2 结果与分析

2.1 不同处理组下植物残体的去除率分析

对不同降解条件下植物残体的去除率进行分析，如图 1 所示，在残体降解的前 50d 内，单微生物降解处理组的残体降解最快，第 50d 残体去除率达到 $35.5 \pm 2.3\%$ ，其次为可见光+微生物降解处理组 ($31.2 \pm 1.5\%$)，降解最慢的处理为单光降解处理组 ($19.3 \pm 2.9\%$)。然而降解 50d 后，可见光+微生物降解处理组的降解率逐渐高于单微生物降解处理组和单可见光降解处理组，证明了可见光和微生物联合降解对植物残体的去除过程发挥着重要的作用。实验结束时 (110d)，可见光+微生物降解处理组、单微生物降解处理组和单可见光降解处理组的残体去除率分别为 $54.9 \pm 2.1\%$ 、 $48.3 \pm 2.3\%$ 和 $39.3 \pm 2.2\%$ 。在整个降解过程中，单可见光降解处理组的降解率显著低于可见光+微生物降解处理组和单微生物降解处理组 (One-Way ANOVA, $p < 0.05$)。另外，对照组的残体质量在实验过程中没有发生显著变化 (One-Way ANOVA, $p > 0.05$)。

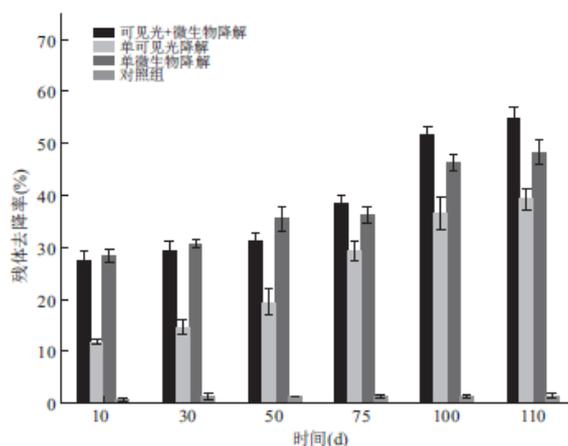


图 1 不同处理组植物残体的去除率 (%)

随后根据 110d 内各处理组的剩余残体量计算残体 k 和 $t_{1/2}$ 值(表 1)。前 50d 内, 单微生物降解处理组的 k 和 $t_{1/2}$ 值 ($0.0406 \pm 0.0026d^{-1}$ 和 33.2d) 高于单可见光降解处理组和可见光+微生物降解处理组 (分别为 $0.0302 \pm 0.0008d^{-1}$ 、20.3d 和 $0.0183 \pm 0.0063d^{-1}$ 、15.8d)。第 110d, 可见光+微生物降解处理组的 k 和 $t_{1/2}$ 值 ($0.0028 \pm 0.0010d^{-1}$ 和 257.1d) 明显升高, 且 k 值高于单可见光降解处理组和单微生物降解处理组 (分别为 0.0020 ± 0.0007 和 $0.0017 \pm 0.0009d^{-1}$)。

表 1 植物残体降解速率常数(k)、相关系数(R^2)、 p 值和半衰期($t_{1/2}$)

实验组	$k (d^{-1})$	R^2	p	$t_{1/2} (d)$
0~50d				
可见光+微生物降解处理组	0.0302 ± 0.0008	0.777	0.230	20.3
单可见光降解处理组	0.0183 ± 0.0063	0.969	0.031	33.2
单微生物降解处理组	0.0406 ± 0.0026	0.822	0.178	15.8
50~110d				
可见光+微生物降解处理组	0.0028 ± 0.0010	0.991	0.009	257.1
单可见光降解处理组	0.0020 ± 0.0007	0.997	0.003	355.9
单微生物降解处理组	0.0017 ± 0.0009	0.911	0.059	431.2

2.2 不同处理组下植物残体组成变化分析

木质纤维素结构是水生植物的主要组成部分, 该结构确保水生植物结构稳定、强健, 从而保护其抵御周围环境风险, 对维持植物正常运输水分、养料以及抵抗外界不良侵袭具有重要作用^[30]。木质纤维素结构中的主要组成部分为木质素、纤维素及半纤维素。分析单光降解、单微生物降解及可见光+微生物联合降解作用对去除残体各组分随时间的变化趋势(图 2)。结果表明, 不同降解条件下, 纤维素、半纤维素和木质素的去除率均随着时间增加而增加, 但残体各组分的变化趋势呈现差异性。纤维素降解效

率最高, 实验结束时 (110d), 各处理组的纤维素几乎完全被去除 (>99%), 并且各个处理组间并无显著性差异 (One-Way ANOVA, $p>0.05$) (图 2A)。前 50d 内, 单可见光组降解处理组的半纤维素的去除效率显著低于单微生物处理组和可见光+微生物降解处理组 (One-Way ANOVA, $p<0.05$) (图 2B)。第 50d 开始可见光+微生物降解组的半纤维素去除率逐渐大于单可见光处理组和单微生物处理组。110d 时, 可见光+微生物降解处理组、单可见光处理组和单微生物处理组的去除率分别达到 $25.3\pm 1.9\%$ 、 $12.33\pm 4.4\%$ 和 $22.3\pm 1.5\%$ 。木质素去除率的变化趋势与纤维素和半纤维素有较大的差异 (图 2C)。在实验的前 75d 内, 单可见光处理组的木质素去除效率显著高于单微生物处理组和可见光+微生物降解处理组 (One-Way ANOVA, $p<0.05$), 但 75d 后, 可见光+微生物降解处理组的木质素去除率显著高于单可见光处理组和单微生物处理组 (One-Way ANOVA, $p<0.05$)。第 110d, 可见光+微生物降解处理组、单可见光处理组和单微生物处理组的去除率分别达到 $54.89\pm 1.4\%$ 、 $33.85\pm 1.2\%$ 和 $32.14\pm 1.3\%$ 。结果证明, 可见光和微生物降解相结合对水体中植物残体各组分的去除率有积极影响, 尤其是提高木质素的去除效率。

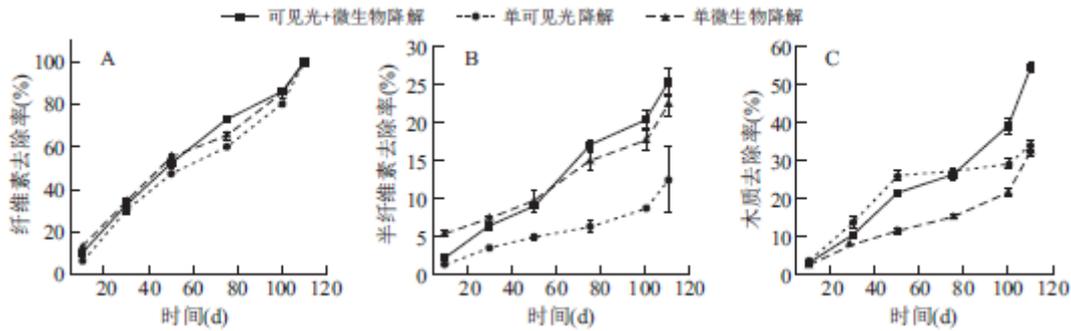


图 2 (A) 纤维素、(B) 半纤维素和 (C) 木质素去除率随时间的变化曲线

2.3 不同处理组下植物残体降解向水体中释放 DOC 和 CDOM 的过程分析

植物残体降解过程中 DOC 浓度随时间的变化如图 3A 所示。实验第 10d, 单微生物降解处理组的 DOC 含量 ($65.46\pm 1.65\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 显著高于单可见光降解处理组 ($32.26\pm 2.18\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和可见光+微生物降解处理组 ($43.50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (One-Way ANOVA, $p<0.05$)。同时还发现, 在实验 10d 内, 对照组也生成 DOC ($16.2\pm 2.10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (图 1A), 这是由于植物残体在水体中浸泡过程中会通过物理作用将 DOC 组分释放到水体中。随着残体逐渐分解, 单微生物降解处理组和可见光+微生物降解处理组的 DOC 浓度呈下降趋势, 最终浓度均低于 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。但单可见光降解处理组 DOC 浓度呈上升趋势, 在 75d 时 DOC 浓度 ($48.02\pm 1.51\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 最高, 之后浓度逐渐下降, 最终 110d 时浓度仍达 $28.51\pm 2.95\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

植物残体降解过程中水体的 CDOM 吸收系数 $\alpha(355)$ 的变化如图 3B。各实验组的变化趋势相似, 10d 时单可见光降解处理组、单微生物降解处理组和可见光+微生物降解处理组的 CDOM 丰度均达到最大值 (分别为 47.13 ± 3.46 、 36.12 ± 3.95 和 $45.91\pm 3.59\text{m}^{-1}$), 10~75d 内, 各处理组 CDOM 丰度均呈下降趋势减小, 在 75d 丰度均达最小值 (15.43 ± 2.88 、 13.58 ± 1.97 和 $15.51\pm 2.21\text{m}^{-1}$), 之后各处理组 CDOM 丰度呈上升趋势, 直至实验结束 (110d) 时, 各处理组 CDOM 丰度分别为 29.01 ± 1.28 、 23.63 ± 6.44 和 $30.48\pm 1.74\text{m}^{-1}$ 。在整个实验过程中, 单微生物降解处理组的 CDOM 丰度总是低于单可见光降解处理组和可见光+微生物降解处理组。

2.4 植物残体降解过程中水体中 ROS 的产生过程分析

不同处理组下植物残体降解过程中水体的 3 种 ROS ($\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 和 $^3\text{CDOM}^*$) 产生速率随时间变化趋势见图 4。实验前 10d, 可见光+微生物降解处理组的 ROS 形成速率快于单可见光降解处理组。之后, 各处理组 ROS 的形成速率均呈下降趋势。75~110d, 不同处理条件下 3 种 ROS 的形成速率逐渐相近。在降解的前 75d 内, $\cdot\text{OH}$ 的形成速率相对较快。75d 后, $\cdot\text{OH}$ 和 $^1\text{O}_2$ 的形成速率逐渐

相近，均快于 $^3\text{CDOM}^*$ ，但 3 者差别较小。

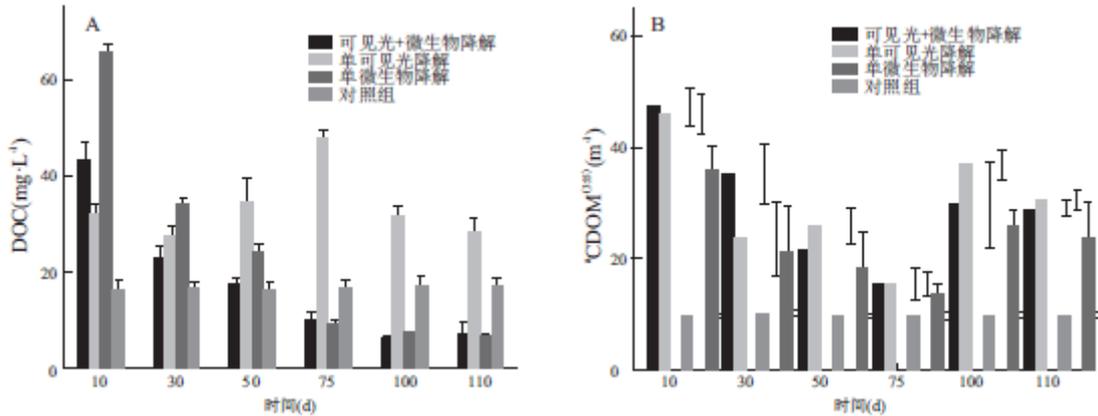


图 3 水样中 DOC (A) 和 CDOM (B) 的浓度

图 4 可看出，3 种 ROS 在不同降解条件下累积浓度的变化趋势大致相似。在降解的前 30d，单可见光降解处理组累积浓度均高于可见光+微生物降解处理组。30d 后，可见光+微生物降解处理组累积浓度逐渐高于单可见光降解处理组。在整个实验过程中，单微生物处理组也产生了 3 种活性氧，但累积浓度是各处理中最低的。在整个实验过程中，对照组中几乎没有发现 ROS 的产生。

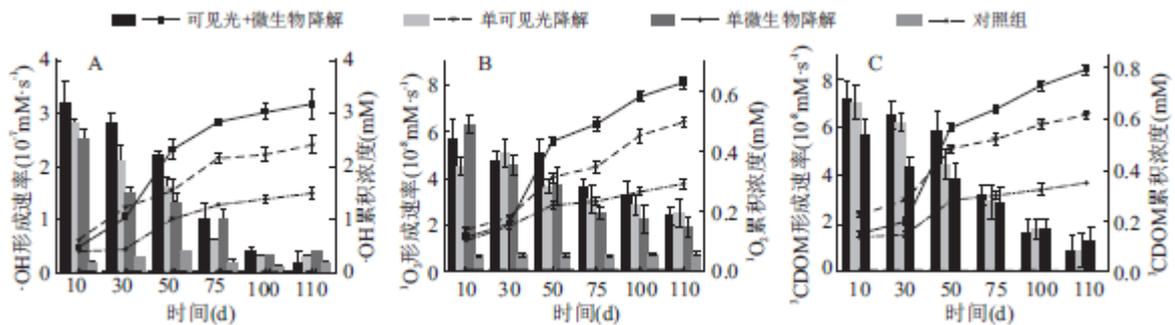


图 4 植物残体降解过程中水体中 (A) $\cdot\text{OH}$ 、(B) $^1\text{O}_2$ 和 (C) $^3\text{CDOM}^*$ 的产生速率和累积浓度

2.5 植物残体去除与 ROS 的相关性分析

对不同降解条件下的残体组分去除效率与 3 种 ROS 累积产生的浓度进行分析。图 5 表明，纤维素、半纤维素和木质素组分的去除效率与 $\cdot\text{OH}$ 、 $^1\text{O}_2$ 和 $^3\text{CDOM}^*$ 累积生产潜力均呈正相关 ($R^2=0.538\sim 0.763$)。对比降解过程中生成的 3 种 ROS 浓度， $\cdot\text{OH}$ 自由基浓度最高，且与残体各组分去除率的相关性更强 ($R^2=0.733\sim 0.763$)。对比 3 种残体组分，木纤维素与 $\cdot\text{OH}$ 的相关性最强，其次是半纤维素，易降解的纤维素组分与 $\cdot\text{OH}$ 的相关性最弱。

3 讨论

本研究结果表明，光和微生物的联合分解促进了水生植物残体的去除，光辐射对浅水湖泊水体中水生植物残体的降解起着重要作用，尤其促进了植物残体中木质素组分的去除 (图 2)。并且不同处理组下，植物残体降解过程中均持续产生 ROS，而 ROS 对

植物残体的化学成分的变化,尤其是其中难降解组分的去除发挥着关键作用。水体中两种有机质矿化途径——光分解和微生物分解呈现互补的相互作用关系^[20]。在水生植物的细胞内组织中,大部分碳是结构材料(即木质纤维素)。木质纤维素由复杂的多糖类物质组成,主要成分包括纤维素,木质素和半纤维素。其中,纤维素和半纤维素可以进行生物降解和发酵产糖,但是木质素却不易被破坏^[31],由于木质素为光敏物质,在水体中主要通过光分解去除^[32]。

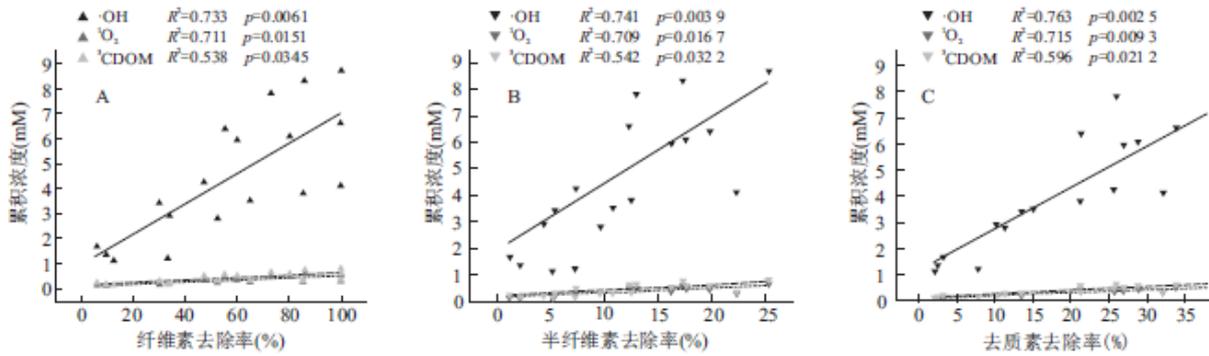


图 5(A)纤维素、(B)半纤维素和(C)木质素去除效率与·OH、¹O₂和³CDOM^{*}累积浓度的关系

然而,光分解和微生物分解对植物残体分解过程中向水体中释放 DOC 的影响是不同的(图 1 和图 3A)。微生物处理下,前期降解过程中(前 50d),植物残体向水体中快速释放大量的易分解有机质^[33],促进了水体中微生物群落的大量生长进而促进残体分解产生更多的 DOC^[34]。但是可见光会破坏微生物原来的水生环境,且光辐射可能会破坏 DNA 结构,进而抑制微生物降解效果^[35,36],因此可见光+微生物降解处理组的残体质量去除缓慢,向水体中释放 DOC 的含量较低。然而,长期降解过程中,由于微生物群落逐渐适应光辐射环境,因此,可见光+微生物降解处理组逐渐呈现最强的去除残体的效果。实验结束(110d)时,单可见光降解处理组中累积的 DOC 含量显著高于单微生物降解处理组和可见光+微生物联合降解处理组,可能是因为光降解对水体中的小分子组分分解能力较弱,从而造成有机碳的累积。

有意思的发现是,各个处理组下,植物残体分解过程中均产生 ROS,并且能够持续产生。而其中的光辐射处理组下 ROS 产生的含量较高。一方面,残体分解过程中向水体中释放的 DOM 的有发色基团受光激发可通过吸收一定波长的太阳光生成 ROS^[37];另一方面,残体可以通过还原酶在残体表面直接还原 O₂,从而产生 ROS。单微生物降解处理组也会产生 ROS,这与之前的研究相同,担子菌中的漆酶可以产生 ROS^[38]。ROS 通常以代谢中间产物的形式产生,尽管这些 ROS 的寿命很短,但它们在自然水体中的许多生物和非生物介导的氧化还原反应中起着关键作用。特别是 ROS 能够参与污染物的降解,如农药、药品微量有机污染物^[39,40]。为深入探究植物残体在光和微生物降解过程中累积产生的 ROS 与残体中难降解组分之间的关系,进一步对残体各组分的去除效率与产生的 ROS 浓度进行分析(图 5),3 种残体组分与 3 种 ROS 均呈正相关性,更证实了 ROS 对降解过程中残体各组分的去除效果起着重要作用。3 种 ROS 中·OH 自由基浓度最高,且与不同种类残体的去除效率相关性更明显,这一现象说明·OH 自由基是反应性最强的瞬态。它们具有非选择性和靶向降解难降解污染物的能力^[39]。3 种残体组分中,木质素的去除效率与 3 种 ROS 的相关性更强,表明了分子经历光解的先决条件是它吸收阳光的能力。结合前人研究^[41],光辐射会提高残体各组分去除率的原因是:(1)ROS 能够促进木质素进行光氧化作用,从而生成易被微生物利用的小分子水溶性产物;(2)纤维素在木质纤维素结构中会受到木质素的保护,光氧化作用会破坏木质素的保护层,提高纤维素的降解效率。实际上,光辐射作用下对分解残体的微生物的影响,尤其是酶的活性的影响尚不可知,并且光对湖泊水体中植物残体的降解作用受到光强度、温度、水体特征、水体微生物、沉积物等的影响,后续的实验将会继续探究光的存在下是否会对微生物胞外酶的贡献产生影响以及确定影响光对水体中植物残体降解的主要环境因素。

4 结论

(1)与单微生物和单光降解相比,可见光和微生物联合降解作用可以去除更多的植物残体,特别是可以加速去除植物残体组分中难降解组分木质素。

(2)不同降解条件下,芦苇残体在短期和长期降解阶段所产生的DOC含量不同。短期降解阶段,单微生物降解组和光和微生物降解组均释放出较多的DOC;而在长期降解阶段,单可见光降解处理组中累积的DOC含量显著高于单微生物降解处理组和可见光+微生物联合降解处理组。

(3)与单可见光降解或单微生物降解相比,光和微生物降解联合处理累积产生更多的ROS。进一步统计分析得出累积产生的ROS浓度与不同残体组分尤其是木质素组分的去除率均呈显著正相关关系,其中生成 $\cdot\text{OH}$ 自由基的含量最多,与残体各组分去除率的相关性更强。

本研究拓展了光化学反应与微生物代谢协同作用对湖泊生态系统难降解有机碳的研究前景,为光降解的生态重要性提供了更深入的见解。

参考文献:

- [1]冯优,陈庆锋,李金业,等.水生植物对不同氮磷水平养殖尾水的综合净化能力比较[J].农业环境科学学报,2020,39(10):2397-2408.
- [2]刘子琪,王芳,王爱丽.沉水植物菹草改性后对Cr(VI)的吸附研究[J].工业水处理,2019,39(3):38-41.
- [3]李冬林,王磊,丁晶晶,等.水生植物的生态功能和资源应用[J].湿地科学,2011,9(3):290-296.
- [4]刘佩佩,白军红,赵庆庆,等.湖泊沼泽化与水生植物初级生产力研究进展[J].湿地科学,2013,11(3):392-397.
- [5]LEWIS W M,WURTSBAUGH W A,PAERL H W.Rationale for control of anthropogenic nitrogen and phosphorus to reduce eutrophication of inland waters [J].Environmental Science & Technology,2011,45(24):10300-10305.
- [6]WU S,HE S,ZHOU W,GU J,et al.Decomposition characteristics of three different kinds of aquatic macrophytes and their potential application as carbon resource in constructed wetland [J].Environmental Pollution,2017,231(1):1122.
- [7]SONG N,YAN Z S,CAI H Y,et al.Effect of temperature on submerged macrophyte litter decomposition within sediments from a large shallow and subtropical freshwater lake [J].Hydrobiologia,2013,714(1):131-144.
- [8]BAYER E A,SHOHAM Y,LAMED R.Lignocellulose-Decomposing Bacteria and Their Enzyme Systems [J].Springer Berlin Heidelberg,2013,212:579-613.
- [9]SONG N,BAI L L,XU H C,et al.The composition difference of macrophyte litter-derived dissolved organic matter by photodegradation and biodegradation:Role of reactive oxygen species on refractory component [J].Chemosphere,2020,242(Mar.):125155. 1-125155. 10.
- [10]FARRER E C,SUDING K N,KNOPS J.Teasing apart plant community responses to N enrichment:the roles of

resource limitation, competition and soil microbes [J]. *Ecology Letters*, 2016, 19:1287-1296.

[11] LI Y, BEZEMER T M, YANG J, et al. Changes in litter quality induced by N deposition alter soil microbial communities [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 130:33-42.

[12] RUTLEDGE S, CAMPBELL D I, BALDOCCHI D, et al. Photodegradation leads to increased carbon dioxide losses from terrestrial organic matter [J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(11):3065-3074.

[13] CHIN Y P, MILLER P L, ZENG L, et al. Photosensitized degradation of bisphenol A by dissolved organic matter [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(22):5888.

[14] HANSEL C M, BUCHWALD C, DIAZA J M, et al. Dynamics of extracellular superoxide production by *Trichodesmium* colonies from the Sargasso Sea [J]. *Limnology & Oceanography*, 2016, 61(4):1188.

[15] BOREEN A L, ARNOLD W A, MCNEILL K. Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review [J]. *Aquatic Sciences*, 2003, 65(4):320-341.

[16] ROSE A L, WEBB E A, WAITE T D, et al. Measurement and Implications of Nonphotochemically Generated Superoxide in the Equatorial Pacific Ocean [J]. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42(7):2387-2393.

[17] ROMERA-CASTILLO C, ALVAREZ-SALGADO X A, GALI M, et al. Combined effect of light exposure and microbial activity on distinct dissolved organic matter pools. A seasonal field study in an oligotrophic coastal system (Blanes Bay, NW Mediterranean) [J]. *Marine Chemistry*, 2013, 148(20):44-51.

[18] DIAZ J M, HANSEL C M, VOELKER B M, et al. Widespread Production of Extracellular Superoxide by Heterotrophic Bacteria [J]. *Science*, 2013, 340(6137):1223-1226.

[19] BAKER N R, ALLISON S D. Ultraviolet photodegradation facilitates microbial litter decomposition in a Mediterranean climate [J]. *Ecology*, 2016, 96(7):1994-2003.

[20] 张勇, 沈吉, 王建军, 等. 东太湖表层沉积物放线菌群落结构多样性及其空间异质性 [J]. *生态科学*, 2011, 30(1):8-13.

[21] 秦伯强. 长江中下游浅水湖泊富营养化发生机制与控制途径初探 [J]. *湖泊科学*, 2002, 14(3):193-202.

[22] LIU X, HUANG Q H, JIANG H L, et al. Effects of visible light radiation on macrophyte litter degradation and nutrient release in water samples from a eutrophic shallow lake [J]. *Chemistry and Ecology*, 2016, 32(10):1-15.

[23] OLSON J S. Energy Storage and the Balance of Producers and Decomposers in Ecological Systems [J]. *Ecology*, 1963, 44(2):322-330.

[24] VIONE D, FALLETTI G, MAURINO V, et al. Sources and sinks of hydroxyl radicals upon irradiation of natural water samples [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(12):3775-3781.

-
- [25]BOREEN A L, EDHLUND B L, COTNER J B, et al. Indirect photodegradation of dissolved free amino acids: the contribution of singlet oxygen and the differential reactivity of DOM from various sources [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(15):5492.
- [26]刘新, 吴定桂, 江和龙, 等. 草源型可溶性有机物降解过程中活性氧物种产生过程 [J]. *湖泊科学*, 2020, 032(2):440-449.
- [27]刘新, 刘浩, 江和龙, 等. 不同水生植物腐解过程中有色可溶有机物(CDOM)的产生过程及微生物群落变化分析 [J]. *长江流域资源与环境*, 2020, 29(5):1140-1149.
- [28]GJESSING E T, KALLQVIST T. Algicidal and chemical effect of u.v.-radiation of water containing humic substances [J]. *Wat Res*, 1991, 25(4):491-494.
- [29]GUO W D, STEDMON C A, HAN Y C, et al. The conservative and non-conservative behavior of chromophoric dissolved organic matter in Chinese estuarine waters [J]. *Marine Chemistry*, 2007, 107(3):357-366.
- [30]史正军. 甜龙竹及巨龙竹半纤维素、木质素结构诠释及相互间化学键合机制解析 [D]. 北京林业大学, 2013.
- [31]AUSTIN A T, BALLARE C L. Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(10):4618-4622.
- [32]KING J Y, BRANDT L A, ADAIR E C. Shedding light on plant litter decomposition: advances, implications and new directions in understanding the role of photodegradation [J]. *Biogeochemistry*, 2012, 111(1-3):57-81.
- [33]PERET A, BIANCHINI I. Stoichiometry of aerobic mineralization (O/C) of aquatic macrophytes leachate from a tropical lagoon (Sao Paulo -Brazil) [J]. *Hydrobiologia*, 2004, 528(1-3):167-178.
- [34]KUZUYAKOV Y, FRIEDEL J. K, STAHR K. Review of mechanisms and quantification of priming effects-ScienceDirect [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(11-12):1485-1498.
- [35]AMADO A M, FARIALLA V F, ESTEVES F A, et al. Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2010, 56(1):8-17.
- [36]郭玮宏. LED光生物安全检测技术研究 [D]. 中国科学院大学(中国科学院上海技术物理研究所).
- [37]任东, 陈芳, 蒲红玉, 等. 溶解有机质的光化学行为及其环境效应 [J]. *生态与农村环境学报*, 2019, 35(5):563-572.
- [38]GANG H, ZHAO H, LI Y. Litter decomposition in hyper-arid deserts: Photodegradation is still important [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 601-602(1):784-792.
- [39]DONG M M, ROSARIO-ORTIZ F L. Photochemical formation of hydroxyl radical from effluent organic matter [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(7):3788-3794.

[40]RUGGERI G, GHIGO G, MAURINO V, et al. Photochemical transformation of ibuprofen into harmful 4-isobutylacetophenone: Pathways, kinetics, and significance for surface waters [J]. *Water Research*, 2013, 47(16):6109-6121.

[41]LAMBIE S M, KIRSCHBAUM M, DANDO J. No photodegradation of litter and humus exposed to UV-B radiation under laboratory conditions: No effect of leaf senescence or drying temperature [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 69(2):46-53.