

几种植物在模拟污水处理湿地中根际微生物功能群特征的研究

江福英^{1,2}, 陈 昕¹, 罗安程¹

(1.浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029; 2.福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福安 355015)

摘 要:以美人蕉、香蒲、垂穗莎草、玉带草为材料,研究了在模拟人工湿地条件下水生植物根际与非根际土壤中的微生物数量、种群、土壤酶活性特征。结果表明,不同水生植物根际、非根际间的细菌数量无明显差异,而真菌与放线菌的根际与非根际间差异较显著。根际硝化细菌数和反硝化细菌数最多的水生植物都是香蒲,分别为 2.17×10^2 个 $\cdot g^{-1}$ 干土和 6.17×10^2 个 $\cdot g^{-1}$ 干土,有机磷细菌数最多的是美人蕉为 5.68×10^4 个 $\cdot g^{-1}$ 干土,无机磷细菌数最多的是玉带草为 3.72×10^3 个 $\cdot g^{-1}$ 干土。4 种不同水生植物的根际土壤脲酶、磷酸酶、硝酸还原酶、亚硝酸还原酶活性都较非根际土壤高,湿地植物的根际效应显著。

关键词:人工湿地;湿地植物;微生物;土壤酶;根际

中图分类号:X171.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)04-0764-05

Investigation on the Microbial Functional Groups Characteristics of Rhizosphere of Wetland Plants in Mimic Wastewater Treatment

JIANG Fu-ying^{1,2}, CHEN Xin¹, LUO An-cheng¹

(1.College of Environmental and Resource Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2.Tea Research Institute, Fujian Academy of Agriculture Science, Fuzhou 355015, China)

Abstract: A mimic experiment was carried out to study the microbial quantity, microflora, enzyme activities in the rhizosphere and non-rhizosphere of 4 species wetland plants (*Canna generalis*, *Typha orientalis*, *Cyperus nutans*, *Reineckia carnea*). Results showed that the number of fungi and actinomycetes in rhizosphere soil of 4 wetland plants was obviously higher than that in non-rhizosphere soil, while no significant difference was observed in bacteria. *Typha orientalis* possessed the largest number of nitrifying bacteria and denitrifying bacteria in the rhizosphere, which were $2.17 \times 10^2 g^{-1}$ and $6.17 \times 10^2 g^{-1}$, respectively. *Canna generalis* had the largest number of organic phosphobacteria, which was $5.68 \times 10^4 g^{-1}$. *Reineckia carnea* had the largest number of inorganic phosphobacteria, which was $3.72 \times 10^3 g^{-1}$. The activities of urease, phosphatase, nitrate reductase, and nitrite reductase in rhizosphere soil of 4 wetland plants were higher than those in non-rhizosphere soil. The rhizosphere effect of wetland plants was obvious.

Keywords: constructed wetland; wetland plant; microbe; soil enzyme; rhizosphere

人工湿地是近 30 年发展起来的一种污水处理新技术。该技术的原理是利用系统中基质+水生植物+微生物的物理学、化学、生物学三重协同作用,通过基质过滤、吸附、沉淀、离子交换、植物吸收和微生物分

解来实现对污水的高效净化^[1-3]。许多研究已表明^[4-6],生长有植物的湿地系统对污染物的去除效果优于无植物的湿地系统。湿地植物作为人工湿地的重要组成部分,是湿地发挥作用的关键。植物的根系区域为微生物的生长提供了必要的营养与能量,有植物的湿地系统由于根际效应的存在,其微生物数量显著高于无植物系统^[7-9]。湿地植物的一个重要生理特征是其根系的泌氧作用,这一作用使其根部形成好氧微区,而非根际在淹水条件下为厌氧或缺氧区。因而,生长有植物

收稿日期:2009-09-26

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471039)

作者简介:江福英(1975—),女,福建建阳人,博士研究生,主要从事植物营养与环境生态方面的研究。E-mail:jfy98@sina.com

通讯作者:罗安程 E-mail:acluo@zju.edu.cn

的湿地系统,其微生物的数量、种类及系统内的氧化还原势与无植物的湿地系统有很大差别,可能正是这种原因造成了植物在人工湿地处理污水时效率差别,对于这些问题的研究,有助于我们进一步了解植物在人工湿地去除污染物中的机理^[10]。尽管如此,目前关于湿地植物根际微生物学特征研究较少,因而研究不同湿地植物根际化学和生物学特性,对于进一步揭示人工湿地去除污染物的机理、提高污水处理效率具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试植物

试验选用美人蕉(*Canna generalis*)、香蒲(*Typha orientalis*)、垂穗莎草(*Cyperus nutans*)、玉带草(*Reineckia carnea*)实生苗作为供试植物。

1.1.2 培养基质

用于湿地植物栽培试验的基质为采自浙江大学华家池校区的小粉土与河砂的混合土。小粉土经风干、磨细后过 0.5 mm 筛待用。河砂用清水冲洗干净,晒干后待用,土砂混合比为 1:2。小粉土的理化性质为:全氮 $1.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,有机质 $25.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全磷 $0.678 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,碱解氮 $156 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效磷 $25.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效钾 $56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验处理

在苗高 15~20 cm 时用淹水土壤根袋培养法进行培养,装置如图 1 所示^[11]。称取砂土混合物 2 650 g 装入直径 20 cm、高 17 cm 的塑料容器中。图中所示网袋由 300 目(40 μm) 孔径的尼龙绢网制成,根袋长 20 cm、宽 10 cm,根袋中装入 850 g 基质。淹水漫过土表 2~3 cm。根袋内的土壤视为根际土(R),根袋外的土壤视为非根际土(NR),每盆一株,重复 3 次,经过 30 d 培养后采样。

1.3 测定方法

1.3.1 微生物数量的测定

细菌、真菌、放线菌、有机磷细菌、无机磷细菌采用稀释平板法,硝化细菌、反硝化细菌的测定采用最大或然计数法(MPN)^[12]。

1.3.2 土壤酶活性测定

硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、磷酸酶的测定参照相关文献[13],脲酶的测定参照文献[14]。

1.4 数据处理

所有试验结果都以烘干后土重为基础计算(105

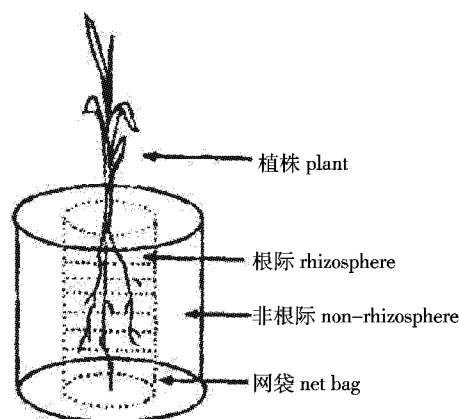


图1 模拟人工湿地根袋培养

Figure 1 Cultivation of wetland plants in net bag filled with the mixture of soil and sands

$^{\circ}\text{C}$, 24 h),用 DPS 数据处理系统进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同湿地植物根际与非根际微生物数量变化

2.1.1 根际与非根际微生物区系变化

试验结果表明,所有湿地植物其根际与非根际的微生物数量特征呈现出明显的差异。表 1 为不同湿地植物根际微生物总数的变化。从表中可见,不同湿地植物根际与非根际微生物数量之间差异很大。从微生物数量上来看,细菌>真菌>放线菌;在总体上,植物根际的微生物数量均显著大于非根际,这与前人的研究^[10,15]结果相同。本研究还表明,基质中细菌数量较大的湿地植物为美人蕉和垂穗莎草,而真菌和放线菌数量较多的分别为美人蕉和玉带草。通过方差分析发现,不同湿地植物根际与非根际间的细菌数量未达到统计显著差异水平;真菌与放线菌在根际与非根际间的差异大多达显著水平。不同湿地植物 R/NR 的比值细菌为 0.82~1.07,真菌为 1.40~2.58,放线菌为 1.66~6.92。试验结果表明,本试验采用的湿地植物,其根系对细菌生长的促进作用不明显,但对真菌和放线菌具有明显的促进效应,美人蕉对真菌的促进作用最显著,而玉带草对放线菌的正效应最大。

2.1.2 根际与非根际微生物生理类群变化

微生物生理类群的差异与污水处理中的污染去除有直接的关系。由表 1 可知,4 种植物的根际反硝化细菌数和有机磷细菌数都远大于非根际,统计差异达显著水平。垂穗莎草与香蒲根际的硝化细菌数显著高于非根际,但玉带草与美人蕉则差异不显著。无机磷细菌数在 4 种植物的根际与非根际间的差异不大。4 种湿地植物中硝化细菌和反硝化细菌数量最多的

是香蒲,分别为 2.17×10^2 、 6.17×10^2 个 $\cdot g^{-1}$ 干土;有机磷细菌数最多的是美人蕉为 5.68×10^4 个 $\cdot g^{-1}$ 干土,而无机磷细菌数最多的是玉带草为 3.72×10^3 个 $\cdot g^{-1}$ 干土。植物根系将氧气输送到根区,在植物根区周围的微环境中依次出现好氧区、兼氧区和厌氧区,氨在好氧区则被硝化细菌硝化,有机磷细菌将有机磷化合物转变为简单的磷化物(主要是磷酸盐),使磷酸钙等可溶性差的磷化合物溶解。正是由于根际泌氧作用形成富氧-缺氧的氧化还原微环境,造成湿地植物根际微生物分布的不同,本研究结果与凌云等^[15]的研究结果相似。湿地植物根际与非根际微生物生理类群 R/NR 比值由高到低依次为:有机磷细菌 3.77、反硝化细菌 3.08、无机磷细菌 1.26、硝化细菌 1.21。4 种湿地植物中垂穗莎草的反硝化细菌和有机磷细菌的 R/NR 比值最高,根际效应最显著。

2.2 不同湿地植物根际酶活性变化

土壤直接参与了土壤中有机物质的转化。由图 2 可知,4 种不同湿地植物的根际土壤脲酶、磷酸酶、硝酸还原酶、亚硝酸还原酶活性都较非根际高。4 种植物中玉带草的根际与非根际的脲酶活性最高,分别为 0.211 、 $0.206 \text{ mg NH}_3\text{-N} \cdot g^{-1} \cdot 24h^{-1}$,但 4 种植物的根际与非根际脲酶活性无明显差异。磷酸酶活性也以玉带草的为最高,根际与非根际的磷酸酶活性分别为 2.780 、 $2.017 \text{ mg 酚} \cdot g^{-1} \cdot 24h^{-1}$,且 4 种植物的根际与非根际磷酸酶活性差异均达显著水平($P < 0.05$)。硝酸还原酶的根际与非根际酶活性也以玉带草为最高,分别为 0.691 、 $0.445 \text{ mg NO}_3\text{-N} \cdot g^{-1} \cdot 24h^{-1}$,同时 4 种植物的根际与非根际硝酸还原酶活性差异均达显著水平($P < 0.05$)。垂穗莎草的亚硝酸还原酶活性最高,根际与非根际酶活性分别为 1.626 、 $0.624 \text{ mg NO}_2\text{-N} \cdot g^{-1} \cdot 24h^{-1}$,但 4 种植物的根际与非根际亚硝酸还原酶活性

无明显差异。

3 讨论

污水处理中,有机物的降解主要依赖于微生物的作用。人工湿地处理污水时,植物在其中起到了重要的作用。李寒娥等^[5]研究发现,有植物的处理比无植物的处理其 COD_Cr 、TP、TN 及 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的去除率高。研究表明,植物在人工湿地中的直接吸收作用所占的比例并不是很高,在正常情况下,植物体中 N 元素含量为 $0.3\% \sim 1\%$,P 元素为 $0 \sim 0.3\%$ ^[16]。湿地植物对氮的吸收量为 $0.03 \sim 0.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,且在衰老和死亡期植物没有除氮效果,通过收割植物对生活污水中氮的去除率 $< 20\%$ ^[17],沼生植物的干物质生物量中磷的含量为 $0.15\% \sim 1.05\%$,通常湿地植物吸收的磷小于城市污水负荷的 5% ^[18]。因此,人工湿地中污染物的去除仍是以微生物及微生物与介质互作为主。植物根系的引入,可以明显提高人工湿地的微生物数量,改变微生物生理类群。凌云^[15]的研究表明,芦苇根际的硝化细菌、亚硝化细菌等好氧细菌数量明显高于非根际。根际对微生物的促生作用使得根际中的各种微生物数量均明显高于非根际。因此,人工湿地植物根际效应在污染物去除中应具有重要作用。

本研究表明,从总体上看,对于常用于人工湿地污水处理的 4 种湿地植物根际微生物数量根际比非根际多。尽管细菌总数上,在非根际与根际间差异不明显,但从生理类群上看,根际明显比非根际高。由于微生物的数量与营养物质和有机物的含量呈正相关,而湿地植物的根系分泌物为微生物的生长提供了大量的碳源,而根际的根系分泌物远较非根际多,这可能是造成根际与非根际微生物数量和类群差异的原因。本研究中植物根际的反硝化细菌、有机磷细菌数

表 1 不同湿地植物根际与非根际微生物数量变化(个 $\cdot g^{-1}$ 干土)

Table 1 Quantitative difference of microbes in rhizosphere and non-rhizosphere of 4 wetland plants

	细菌 $\times 10^5$	真菌 $\times 10^4$	放线菌 $\times 10^4$	硝化细菌 $\times 10^2$	反硝化细菌 $\times 10^3$	有机磷细菌 $\times 10^4$	无机磷细菌 $\times 10^3$
垂穗莎草 R	1.05 a	1.49 bc	2.35 b	2.04 c	5.37 a	3.12 d	2.74 bc
垂穗莎草 NR	1.28 a	0.86 d	1.07 cd	1.12 d	1.13 c	0.50 f	2.35 c
玉带草 R	0.74 b	1.77 b	4.67 a	1.14 d	2.42 b	4.87 b	3.72 ab
玉带草 NR	0.69 b	1.27 c	0.68 d	1.14 d	1.15 c	1.12 e	2.70 bc
美人蕉 R	1.18 a	2.95 a	2.50 b	0.61 e	6.12 a	5.68 a	3.05 bc
美人蕉 NR	1.19 a	1.14 cd	1.30 cd	0.61 e	2.35 b	3.05 d	2.80 bc
香蒲 R	0.62 b	1.34 c	1.51 c	2.34 a	6.17 a	3.93 c	4.44 a
香蒲 NR	0.63 b	0.81 d	0.91 cd	2.17 b	2.17 b	1.53 e	3.11 bc

注:不同字母分别表示 0.05 水平差异显著。

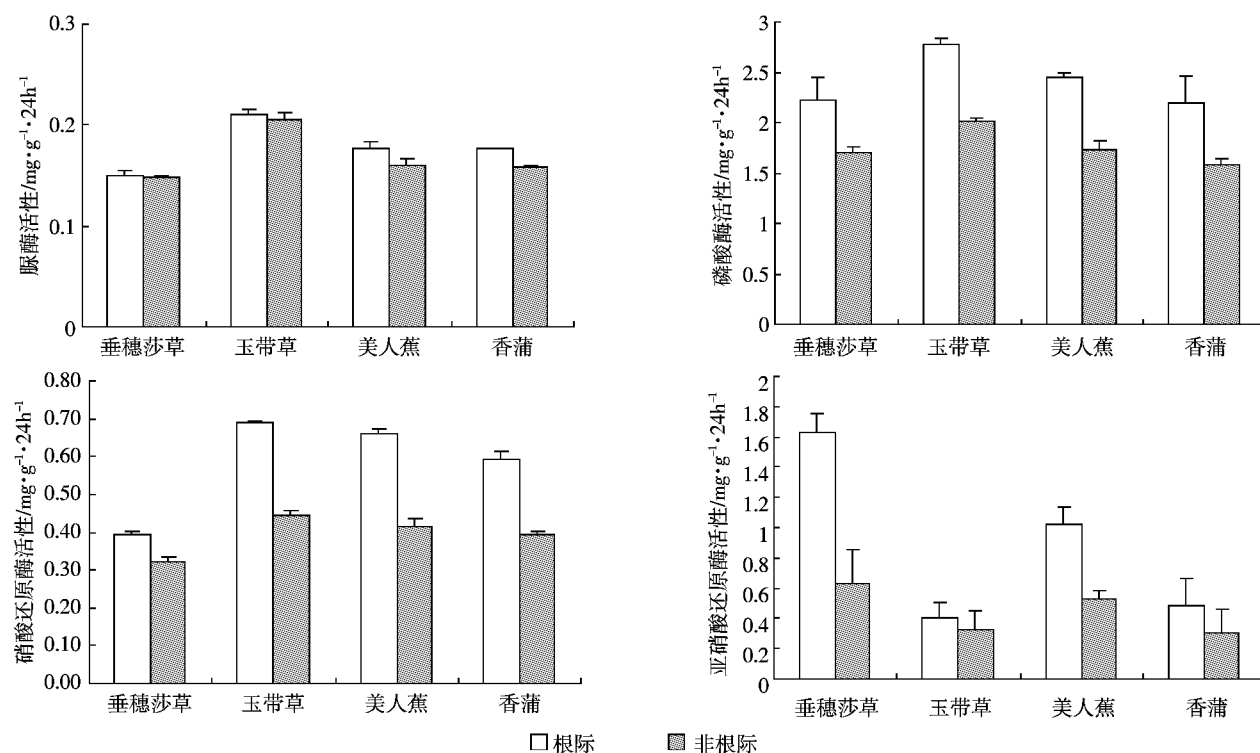


图2 不同湿地植物根际与非根际土壤酶活性变化

Figure 2 Enzyme activities in rhizosphere and non-rhizosphere soil of 4 wetland plants

都显著高于非根际,说明植物根际进行反硝化作用和磷素利用率都较非根际高。因此,人工湿地中,有机物的降解、脱氮、磷化合物的转化等仍主要依赖于微生物活动,而湿地植物的根际效应大大增加了湿地系统中的微生物的作用效率。

酶是一种生物催化剂,它能直接加速基质中有机物质的生化转化。脲酶是一种酰胺酶,能酶促有机质分子中肽键的水解,是催化尿素水解的唯一酶,因而也是土壤中氮素转化的关键酶,主要来源于微生物和植物(包括活体分泌和死亡残体分解释放)。磷酸酶能催化土壤中磷酸单酯和磷酸二酯水解,将有机磷化合物水解形成相应的无机磷与有机物。硝酸还原酶是反硝化作用过程中的重要酶类,作为专性酶参与土壤硝态氮的进一步还原,在嫌气条件下催化硝酸盐为亚硝酸盐^[13]。亚硝酸还原酶为嫌气条件下催化反硝化过程的 NO_2^- 转化为 N_2O 的酶。磷酸酶、脲酶、硝酸还原酶、亚硝酸还原酶在物质转化过程中都起着非常重要的作用。在吴振斌等^[19-20]的研究中,人工湿地植物根区脲酶的活性与总氮的去除率有较明显的相关关系。本试验中所有植物的根际磷酸酶、脲酶、硝酸还原酶、亚硝酸还原酶和活性都高于非根际,且根际与非根际的磷酸酶、硝酸还原酶活性差异达显著水平。基质酶在基质中的积

累是由于微生物、动物和根系生命活动的结果,且基质酶活性与基质中的微生物数量、有机物质含量等呈正相关^[2],这也就可能导致本研究中植物根际与非根际酶活性的变化规律。另将有机磷细菌、无机磷细菌与磷酸酶作相关性分析发现,无机磷细菌与磷酸酶之间达极显著相关($r=0.88, n=8$)。说明在湿地植物的根际效应下,加速了介质中磷的转化效率。

综上所述,生长在湿地介质中的湿地植物,其根际微生物、酶活性及一些元素的有效性与非根际存在较大差异,不同种类的湿地植物其根际效应不同。根际效应的存在是人工湿地中植物系统提高污水处理效率的一个重要原因。

参考文献:

- [1] Cristina S C C, Anouk F D, Alexandra M, et al. Substrate effect on bacterial communities from constructed wetlands planted with *Typha latifolia* treating industrial wastewater[J]. *Ecological Engineering*, 2009, 35: 744-753.
- [2] Dennis K, Thammarat K, Hans B. Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*[J]. *Ecological Engineering*, 2009, 35: 248-257.
- [3] Sindilariu P D, Wolter C, Reiter R. Constructed wetlands as a treatment method for effluents from intensive trout farms[J]. *Aquaculture*, 2008,

- 277:179-184.
- [4] 卢少勇, 张彭义, 余刚. 人工湿地沸石填充方式研究[J]. 环境科学研究, 2006, 19(3):91-95.
- LU Shao-yong, ZHANG Peng-yi, YU Gang. Research of zeolite filled modes in constructed wetland[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2006, 19(3):91-95.
- [5] 李寒娥, 李秉滔, 黄耀丽, 等. 漂浮植物净化污水试验研究[J]. 水处理技术, 2006, 32(8):46-49.
- LI Han-e, LI Bing-tao, HUANG Yao-li, et al. Experimental study of floating plants for purifying sewage[J]. *Technology of Water Treatment*, 2006, 32(8):46-49.
- [6] 邓仕槐, 李远伟, 李宏娟, 等. 姜花在人工湿地中脱氮除磷研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(S1):249-251.
- DENG Shi-huai, LI Yuan-wei, LI Hong-juan, et al. Removal of nitrogen and phosphorus by *hedychium gardnerianum* in a constructed wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(S1):249-251.
- [7] 魏成, 刘平. 人工湿地污水净化效率与根际微生物群落多样性的相关性研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6):2401-2406.
- WEI Cheng, LIU Ping. Relationship between wastewater purification and diversity of rhizosphere microorganism in the constructed wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(6):2401-2406.
- [8] 戴媛媛, 杨新萍, 周立祥. 芦苇根际微环境对潜流人工湿地氮与COD去除性能的影响[J]. 环境科学, 2008, 29(12):3387-3392.
- DAI Yuan-yuan, YANG Xin-ping, ZHOU Li-xiang. Effect of reed rhizosphere on nitrogen and COD removal efficiency in subsurface flow constructed wetlands[J]. *Environment Science*, 2008, 29(12):3387-3392.
- [9] 张鸿, 陈光荣, 吴振斌, 等. 两种人工湿地中氮、磷净化率与细菌分布关系的初步研究[J]. 华中师范大学学报, 1999, 33(4):575-578.
- ZHANG Hong, CHEN Guang-rong, WU Zhen-bin, et al. The study on the relationship between N, P removing rates and the distribution of bacteria in two artificial wetlands[J]. *Journal of Central China Normal University (Natural Science)*, 1999, 33(4):575-578.
- [10] 殷峻, 闻岳, 周琪. 人工湿地中微生物生态的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2007(1):108-111.
- YIN Jun, WEN Yue, ZHOU Qi. Microbial characteristics of constructed wetlands[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007(1):108-111.
- [11] 曾祥忠, 吕世华, 刘文菊, 等. 根表铁、锰氧化物胶膜对水稻铁、锰和磷、锌营养的影响[J]. 西南农业学报, 2001, 14(4):34-38.
- ZENG Xiang-zong, LU Shi-hua, LIU Wen-ju, et al. Effects of root surface iron and manganese oxide plaque on iron, manganese and phosphorus, zinc nutrition of rice[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 14(4):34-38.
- [12] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- Microbial Room of Institute of Soil CAS. Research methods on soil microbial[M]. Beijing: Science Press, 1985.
- [13] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- GUAN Song-yin, ZHANG De-sheng, ZHANG Zhi-ming. Soil enzyme and research method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986.
- [14] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 农业出版社, 1996.
- LI Fu-di, YU Zi-niu, HE Shao-jiang. Experimental technology of agricultural microbiology[M]. Beijing: Agricultural Press, 1996.
- [15] 凌云, 丁浩, 徐亚同. 芦苇人工湿地根际微生物效应研究[J]. 农业系统科学与综合研究, 2008, 24(2):214-216.
- LING Yun, DING Hao, XU Ya-tong. Effects of reed roots on rhizosphere microbes in constructed wetland[J]. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 2008, 24(2):214-216.
- [16] 武维华. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- WU Wei-hua. Plant physiology[M]. Beijing: Science Press, 2003.
- [17] McJannet C L, Keddy P A, Pick F R. Nitrogen and phosphorus tissue concentration in 41 wetland plants: A comparison across habitats and functional groups[J]. *Funct Ecol*, 1995, 9:231-238.
- [18] Kim S Y, Geary P M. The impact of biomass harvesting oil phosphorus uptake by wetland plants[J]. *Water Sci Technol*, 2001, 44:61-67.
- [19] 吴振斌, 梁威, 成水平, 等. 人工湿地植物根区土壤酶活性与污水净化效果及其相关分析[J]. 环境科学学报, 2001, 21(5):622-624.
- WU Zhen-bin, LIANG Wei, CHENG Shui-ping, et al. Studies on correlation between the enzymatic activities in the rhizosphere and purification of wastewater in the constructed wetland[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2001, 21(5):622-624.
- [20] 梁威, 吴振斌, 周巧红, 等. 复合垂直流构建湿地植物根区磷酸酶及脲酶活性与污水净化的关系[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6):545-548.
- LIANG Wei, WU Zhen-bin, ZHOU Qiao-hong, et al. Relationship between the phosphatase and urease activities in plant root-zone and purification of wastewater in the integrated vertical constructed wetland[J]. *Plant Physiology Communications*, 2002, 38(6):545-548.
- [21] 吴振斌, 梁威, 成水平, 等. 复合垂直流构建湿地净化污水机制研究 I. 微生物类群和基质酶[J]. 长江流域资源与环境, 2002, 11(2):179-183.
- WU Zhen-bin, LIANG Wei, CHENG Shui-pin, et al. Mechanisms of integrated vertical constructed wetlands treating wastewater-microbiological and substrate enzymatic studies[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2002, 11(2):179-183.