

富营养水体水生植物-根际微生物净化能力研究

周昱宏^{1,2}, 成小英¹, 张雅晶¹, 蒋芸¹

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122;

2. 浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 以酶活性分析作为基本研究手段, 选择水生维管束植物空心菜作为试验对象, 在不同程度的富营养水体中, 利用细菌碱性磷酸酶、脱氢酶、脲酶指示植物根际微生物分解营养物质的能力, 确定其在水体碳、氮、磷循环中的作用, 确定不同程度富营养水体中, 水生维管束植物根际微生物分解营养物质的能力和净化水体的作用大小, 同时也为确定富营养水体生态修复用水生植物选取提供参考标准。

关键词: 富营养水体; 空心菜; 根际微生物; 脲酶; 碱性磷酸酶

中图分类号: X522

文献标志码: A

Study of Purification Capacity of Aquatic Plants-Rhizospheric Microorganisms in Eutrophic Water

Zhou Yuhong^{1,2}, Cheng Xiaoying¹, Zhang Yajing¹, Jiang Yun¹

(1. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. College of Environmental and Resource Sciences of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: With enzymatic activity analysis as a basic research tool, water spinach subjected to aquatic vascular plants is selected as the test subject. In different eutrophic water bodies, the capacities of rhizospheric microorganisms of indicator plants such as bacterial alkaline phosphatase, dehydrogenase and urease for nutrient decomposition are used to identify their functions in carbon, nitrogen and phosphorus cycles in water. Moreover, the capacities of rhizospheric microorganisms of aquatic vascular plants for nutrient decomposition and their roles in water purification are also identified in the water bodies with different eutrophication levels. Simultaneously, a reference standard for determination of aquatic plants selection for ecological restoration of eutrophication waters is also provided.

Keywords: Eutrophic Water; Water Spinach; Rhizospheric Microorganisms; Urease; Alkaline Phosphatase

CLC number: X522

我国是一个资源性缺水 and 水质型缺水并存的^[1]国家。流域和周边地区的人口增长和经济快速发展, 导致进入水体的氮、磷和有机物等污染物增多, 水环境污染程度不断加重^[2]。其中, 水体富营养化(eutrophication)就是一个突出问题^[3-4]。

经过多年探索, 人们逐渐认识到利用高等水生维管束植物来净化富营养水体是一种低成本、高效益的生物工程技术^[5]。对于河道和浅水湖泊而言, 重建水生植被是富营养化治理和水体生态

修复的重要措施之一^[6]。水生植物直接摄取水体中的氮磷营养元素, 同化为自身的结构组成物质, 能够有效去除水体中氮磷营养物质。同时, 水生植物为根际微生物提供了附着基质和栖息场所, 并为根际微生物降解污染物质提供了所需的氧, 从而促进了根际微生物的生长和水体中氮、磷的释放和转化。

异养细菌胞外酶的活性可以指示细菌获得的营养物质质量。研究胞外酶在分解过程中的作用可

收稿日期: 2013-11-16

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(JUSRP111A11)资金资助

作者简介: 周昱宏(1991-), 女, 博士研究生。研究方向: 水污染控制。E-mail: 1027329925@qq.com

为生态系统中营养物质的生物地球化学循环提供非常有价值的信息^[7]。目前,对富营养水体水生植物根际微生物的研究主要集中在微生物区系的变化和数量的变化上,对不同程度富营养水体中水生植物根际微生物酶活性及其对水质的净化能力缺乏深入研究。

本实验以酶活性分析作为基本研究手段,选择水生维管束植物空心菜作为试验对象,在不同程度的富营养水体中,利用细菌碱性磷酸酶(APA)、脱氢酶(DHA)、脲酶(Urease)指示植物根际微生物分解营养物质的能力,确定不同程度富营养水体中,水生维管束植物根际微生物分解营养物质的能力和净化水体的作用大小,同时也为确定富营养水体生态修复用水生植物选取提供参考标准,以此实现水生植物大面积自然存活,水体清水形态长期维持,从而达到修复水体生态系统,提供理想水质的最终目标。

1 实验设计及研究方法

1.1 实验材料

实验材料采用空心菜(Water Spinach)。

1.2 实验设计

1.2.1 实验材料培养 从网上购买空心菜种子,挑选籽粒饱满、均匀一致的,放入50℃的温水中恒温浸泡30 min,然后放入常温清水中浸泡24 h,取出,做催芽处理。

在白色瓷盘中铺3层纱布,将处理后的种子均匀撒在纱布上,再盖1~2层纱布,放在实验台上,每天喷洒2~3次清水,保持纱布湿润。待发芽,长出2片小叶片时移出。挑选长势相近的两株作为一个样本,固定后放进一个小塑料杯中,用剔除N、P营养盐的等量体积的1/4Hoagland营养液^[8]培养1周,再用剔除N、P营养盐,加入硝酸钾,使TN的浓度为1.64 mg/L,加入磷酸二氢钾,使TP的浓度为0.20 mg/L的等量体积的1/2Hoagland营养液驯化3 d,用于实验处理。

1.2.2 实验处理设置 先进行预实验,然后进行

正式实验。正式实验时,在1/2Hoagland营养液基础上用硝酸钾和磷酸二氢钾调配不同的N、P梯度,5个N梯度,TP=0.20 mg/L, TN=0.06 mg/L, TN=0.30 mg/L, TN=1.64 mg/L, TN=4.00 mg/L, TN=5.00 mg/L; 5个P梯度, TN=1.64 mg/L, TP=0.004 mg/L, TP=0.05 mg/L, TP=0.20 mg/L, TP=0.50 mg/L, TP=1.00 mg/L,将驯化后的植株放入等量体积的不同N、P梯度的水样中培养,每次实验用3个平行样,正式实验进行5次,故每一个梯度需要15个样,真正设置时每个梯度培养20个样左右,以供实验时挑选。

正式实验时,在第2、6、8、11、14 d时取样实验。

1.3 指标测定方法

1.3.1 样品的收集与处理 将剪刀、镊子、蒸馏水、EP管、25 mL比色管、移液管、50 mL塑料离心管等放进高压灭菌锅灭菌,取出置于无菌操作台内冷却。用灭菌的剪刀剪取不同梯度下各平行样中植物根部,置于50 mL塑料离心管中,称量根部质量,然后加入约40 mL无菌水,于XW-80A型漩涡混合仪(2 800 r/min)上振荡30 min。用灭菌镊子夹起植物根部,用少量灭菌水冲洗,定容至50 mL,然后静置,取上清液于同一规格的离心管中,之后用于三种酶活性的测定。

1.3.2 酶活性的测定方法 此次实验测定脲酶(Urease)、碱性磷酸酶(APA)、脱氢酶(DHA)3种酶的活性,均采用比色法^[9-11]。

2 结果与分析

水中的有机物质在脲酶的作用下生成氨态氮,本实验条件下无外加有机物质,所以含氮有机物质的来源只有空心菜根部代谢产物。植物吸收水中的含氮无机盐合成细胞物质,降低水中无机氮的含量,而代谢产物则能够促进根际微生物生长,刺激脲酶合成及活性增强,分解水中有机氮释放无机氮供植物利用^[12]。相同氮浓度不同磷梯度下脲酶活性变化情况见图1。

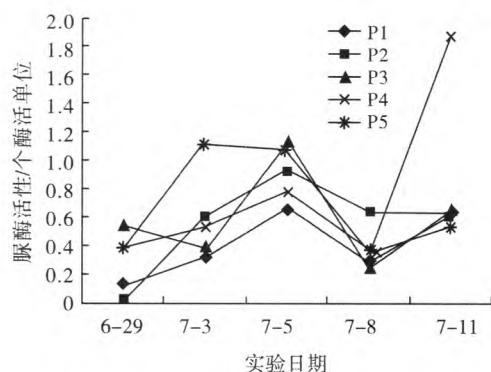


图1 相同氮浓度不同磷梯度下脲酶活性变化情况

在TN=1.64 mg/L的条件下分别设置从小至大5个磷浓度: P1-0.004 mg/L, P2-0.05 mg/L, P3-0.20 mg/L, P4-0.50 mg/L, P5-1.00 mg/L的营养液, 分析空心菜根际微生物脲酶的活性强弱。在5个不同的磷浓度下, 脲酶活性大致趋势都是从低到高, 然后降低, 再回升, 这表明脲酶活性跟磷的浓度关系不大。实验第8 d (2012年7月5日), 脲酶活性达到第一个高峰, 前6 d, 水中的无机氮含量足够植物生长所需, 所以脲酶活性不高, 到第8 d, 水体中无机氮浓度已经不能满足植物的营养吸收, 而植物根部的代谢产物刺激了根际微生物脲酶的产生及活性的增强, 进而将水中的含氮有机物大量转化为无机氮, 供给植物吸收, 因而空心菜根际微生物酶活性出现峰值, 此后, 水体中现存无机氮含量较高, 足够植物吸收利用, 所以脲酶活性出现低谷, 然后, 植物吸收水体中的无机氮导致水中无机盐浓度降低, 刺激植株根际微生物脲酶活性增强, 呈现回升。这样空心菜根际微生物的酶活性就在一定浓度范围内出现了周期性的变化趋势。相同磷浓度不同氮梯度下脲酶活性变化情况见图2。

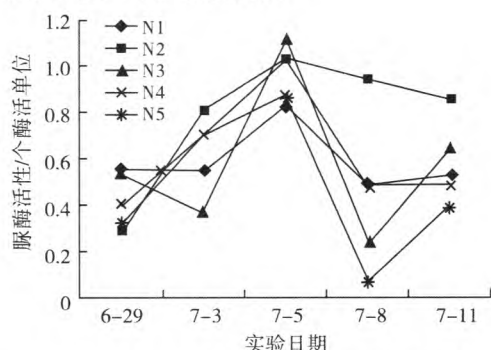


图2 相同磷浓度不同氮梯度下脲酶活性变化情况

图2可见, 在TP=0.200 mg/L的条件下分别设置从小至大5个氮浓度: N1-0.06 mg/L, N2-0.30 mg/L, N3-1.64 mg/L, N4-4.00 mg/L, N5-5.00 mg/L的营养液, 分析空心菜根际微生物脲酶活性的强弱。图2显示在5个氮浓度下, 脲酶活性的变化趋势均为从低到高, 然后降低, 再回升, 在第8 d (7月5日) 时脲酶活性达到峰值。显示了在实验初期, 水中无机盐浓度高, 能够满足植株生长需要, 随着空心菜植株的继续生长, 水中无机盐浓度持续降低, 刺激了根际微生物脲酶的合成和活性的增强, 因而水中脲酶含量出现了峰值。因而植物根际微生物脲酶活性较强时可以表征水生植物生长良好, 同时净化水体的效果较好。

在实验第8 d (7月5日), 5个不同氮浓度下的脲酶活性也呈现出一定的规律, 见图3。

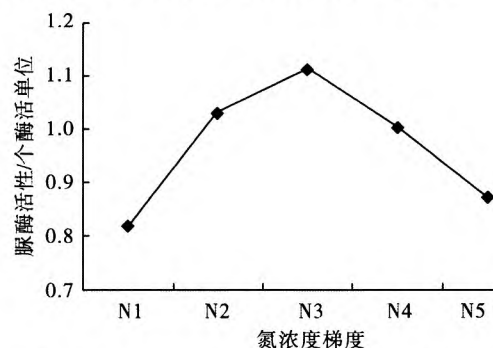


图3 7月5日相同磷浓度不同氮梯度下脲酶活性变化情况

图3可见, 在实验第8 d, 不同氮浓度下的脲酶活性, 氮浓度较低或较高时, 脲酶活性均不强, 这与之之前认为的低促高抑现象产生了矛盾。结合实验过程中植株生长的照片, N1、N2植株长势较N3、N4、N5这3个较高氮浓度的差, 可以认为, 较低的氮浓度有利于脲酶合成和活性增强却影响了植株生长, 因而对水中无机氮吸收不多, 对脲酶产生及活性增强的促进作用小。N4、N5梯度下植株生长旺盛, 但两者氮浓度较高, 所以脲酶活性也呈较低状态, 且N5浓度更高, 酶活性较N4更低。N3浓度时, 植株长势以及无机氮的浓度都比较适中, 因而脲酶活性高。因而植株长势好, 水体中无机氮浓度低时, 脲酶活性强。相同磷浓度不同测定时间下脲酶活性变化情况见图4。

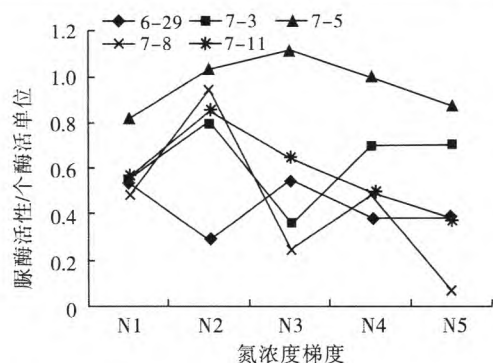


图4 相同磷浓度不同测定时间下脲酶活性变化情况

图4可见,实验第2 d(6月29日)与第6 d(7月3日)空心菜根际微生物脲酶含量变化曲线呈互补状态。表明在实验开始阶段水中无机氮含量较低时,由于植物吸收作用导致水中无机氮含量减少时,脲酶活性增强,将水中的有机氮转化为无机氮,满足空心菜植株对无机氮一段时间的需求,所以随即脲酶活性减弱,两者呈现互补状态;而当水中无机氮含量较高时,脲酶活性较弱,但随着空心菜植株对无机氮的吸收,导致水体中无机氮含量降低,刺激了脲酶的合成和活性的增强,因而两者也呈现互补状态;同时,由于此时空心菜处于适应新环境的阶段,水生植物根际微生物脲酶的活性变化可能有些异常。实验第8 d(7月5日),第11 d(7月8日),第14 d(7月11日)显示,在实验中后期,酶活性呈现先升高,后降低的变化趋势,这是由于氮浓度较低时,植株长势较差,影响了酶活性,随着氮浓度的增高,植株生长较好,无机氮被大量消耗,促进了脲酶的产生和活性的增强,当氮浓度更高时,足够植株吸收,脲酶活性反而就减弱,并且上一阶段产生的无机氮较多,因而一定程度上影响了脲酶的活性。相同氮浓度不同磷梯度下APA活性变化情况见图5。

碱性磷酸酶能催化所有的磷酸酯水解反应和磷酸基团转移反应,外界环境无机磷含量低,APA才显示作用,将有机磷降解为无机磷供植物利用。碱性磷酸酶指示了微生物将含磷有机物转化为无机物的过程^[13]。

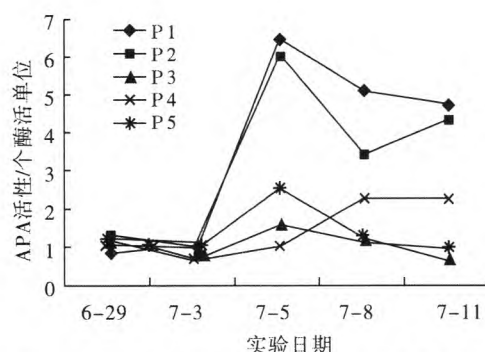


图5 相同氮浓度不同磷梯度下APA活性变化情况

图5可见,5个不同的磷浓度下,空心菜根际微生物APA活性的大致趋势都是从低到高,然后降低,再回升,5个磷浓度下基本都是在第8 d(7月5日)时,APA的活性达到高峰。实验初期,水中无机磷含量足够植物生长所需,APA活性不高,随着植株生长,消耗了无机磷,刺激了空心菜根际微生物APA的产生及活性增强,在第8 d时出现峰值。之后,由于峰值阶段产生的APA将有机磷转化为无机磷,可供植物使用一段时间,从而APA活性出现低谷。当植物继续吸收利用,水中无机盐浓度持续降低时,又导致了APA活性增强,分解有机物,出现了曲线回升趋势。相同磷浓度不同氮梯度下APA活性变化情况见图6。

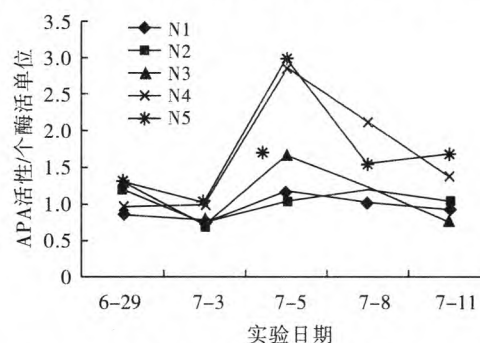


图6 相同磷浓度不同氮梯度下APA活性变化情况

图6可见,5个不同氮浓度下,空心菜根际微生物APA活性大致趋势都是从低到高,然后降低,在实验第8 d时达到峰值,说明实验初期,水中无机磷浓度能够满足植株生长的需要,随着植株继续生长,水中无机盐浓度逐渐降低,刺激了APA的合成及其活性的增强,因而APA活性出现了峰值,此时转化成的无机磷可以满足植物一段时间的生长所需,因而APA活性降低。而唯有

N5的APA活性回升,可能是高浓度氮下植株生长良好,对磷的吸收效率高,刺激了APA的合成和活性增强。这说明水体中氮的浓度能够通过影响植株长势来间接影响APA活性,这与水体中脲酶活性与磷浓度关系不大有一定的区别。相同氮浓度不同测定时间下APA活性变化情况见图7。

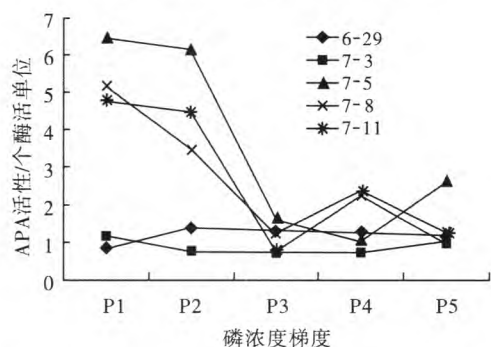


图7 相同氮浓度不同测定时间下APA活性变化情况

图7可见,实验第2 d与第6 d空心菜根际微生物APA活性变化的曲线呈互补状态。表明实验初期,空心菜植株正在适应新环境,当水中无机氮含量较少时,由于植物吸收利用导致水中无机磷含量逐步减少,APA活性增强,可以满足植株一段时间对无机磷的需求,继而APA活性减弱,两者呈现互补状态;而当水中无机氮含量较高时,APA活性较弱,但紧接着由于植株对无机磷的吸收,导致水体中无机磷含量降低,刺激了APA的合成和活性的增强,两者也呈现了互补状态。到实验实验中后期的第8、11和14 d,APA活性呈逐渐降低的变化趋势,是由于植株已经基本适应实验水环境,对磷的需求小于对氮的需求,磷浓度较低时,并没有对植株生长产生明显的不利影响,进而影响APA的合成。

3 结论与展望

脲酶与水中含氮有机物质有关,有机氮能够在脲酶的作用下生成氨态氮。碱性磷酸酶能催化所有的磷酸酯水解反应和磷酸基团转移反应,外界环境无机磷含量低时,APA才显示作用,将有机磷降解为无机磷供植物利用。脱氢酶能够去除有机物中的H,有机物含量越高,脱氢酶活性越强^[4]。

(1) 水生植物根际微生物脲酶活性较强时

表征了植物生长良好,对水体的净化效果较好。我们可以利用总氮来表征水体目前受污染的状况,用水生植物根际微生物脲酶活性的强弱来表征水生植物-微生物系统净化效果的强弱。碱性磷酸酶亦是如此。

(2) 水生植物根际微生物的脲酶活性不仅受水体中无机氮/有机氮比值的影响,还受到水生植物植株长势的影响,当植株长势较好,水体中无机氮浓度较低,脲酶活性相对较强。碱性磷酸酶亦是如此。

(3) 水生植物根际微生物的脲酶和碱性磷酸酶活性的变化趋势大致都是从低到高,然后降低,再回升,在一定时间范围内呈现周期性的变化趋势。在本实验周期内脲酶活性和碱性磷酸酶均在实验第8 d达到峰值。

(4) 水生植物植株对磷的需求小于对氮的需求,磷浓度较低时,并没有明显影响植物的生长,进而影响水生植物根际微生物APA的合成。

(5) 水生植物根际微生物的脱氢酶与脲酶之间存在一定的正相关性。

参考文献

- [1]江曙光.中国水污染现状及防治对策[J].水产科技情报, 2010, 37(4):177-181.
- [2]杨桂山,马荣华,张路,等.中国湖泊现状及面临的重大问题与保护策略[J].湖泊科学, 2010, 22(6): 799-810.
- [3]马井泉,周怀东,董哲仁.我国应用生态技术修复富营养化湖泊的研究进展[J].中国水利水电科学研究院学报, 2006, 3(3): 36-45.
- [4]邢广彦,万晓丹.水体富营养化及其生物-生态修复技术[J].黄河水利职业技术学院学报, 2007, 19(1): 50-51.
- [5]吴爱平,吴世凯,倪乐意.长江中游浅水湖泊水生植物氮磷含量与水柱营养的关系[J].水生生物学报, 2005, 29(4): 406-412.
- [6]万志刚,顾福根,孙丙耀,等.6种水生维管束植物对氮和磷的耐受性分析[J].淡水渔业, 2006, 34(4): 37-40.
- [7]Rejmankova E, Sirova D. Wetland macrophyte decomposition under different nutrient conditions: Relationships between decomposition rate, enzyme activities and microbial biomass[J].Soil Biol. Biochem, 2007, 39(2):526-538.
- [8]王文斗,那冬晨,赵浩华.常春藤无土栽培试验[J].北方园艺, 2009(12): 187-188.
- [9]周东凯,刘莹,等.大豆脲酶的提取及其影响因素研究[J].大豆科学, 2008, 27(4).
- [10]Berman T. Alkaline phosphatase and phosphorus availability in Lake Kinneret[J].Limnol Oceanogr, 1970, 15: 663-674.
- [11]Neto M, Ohannessian A, Delolme C, et al.Towards an optimized protocol for measuring global dehydrogenase activity in storm-water sediments[J].Soils Sediments, 2007, 7(2): 101-110.
- [12]张宇,乌恩.长江中下游湖泊沉积物酶活性及其与富营养化的关系[J].应用与环境生物学报, 2011, 17(2): 196-201.
- [13]赵海超,王圣瑞.狐尾藻对水体和沉积物中碱性磷酸酶动力学特征的影响[J].环境科学研究, 2011, 24(11): 1256-1262.
- [14]靖玉明,张健.人工湿地中脱氢酶活性及其与污染物去除之间的相关性研究[J].环境工程, 2008, 26(1): 95-96.