

凤眼莲根区异养细菌的群落特征 与异养活性的研究

詹发萃 邓家齐 夏宜琚 吴振斌

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

本文研究了凤眼莲根区(根际与根面)异养细菌的群落特征与异养活性。从根区分离出24株优势菌,经鉴定有10个属。其中以气单胞菌属、微球菌属、假单胞菌属、土壤杆菌属和芽孢杆菌属为主要菌属。细菌总数:根际>根面>水体。异养活性以氧化葡萄糖的速率计算。在30℃和pH7.0的条件下,根区菌群都显示较高的活性,且按下列顺序增强:老根区菌群>幼根区菌群>枯根区菌群;而根面菌群活性均大于根际菌群。但在10℃和pH5.0、8.6时,其活性明显地受到抑制。

关键词 异养细菌, 凤眼莲, 根区, 异养活性

对综合生物塘中生长正常的凤眼莲(*Eichhornia crassipes* Solms.)植株与叶片枯萎植株(冬季)根区的异养细菌群落特征及异养活性进行了研究。以探求凤眼莲能有效净化废水的某些微生物学方面的原因。

材料与方法

根样来源 1989年1、4、6和10月,先后分另采自黄州综合生物塘中枯株(叶片枯萎的植株)与鲜株(生长正常的植株)凤眼莲的全根(枯株与鲜株老根长约25—30cm,鲜株幼根长约3—5cm),置无菌容器中。同时以无菌操作采该塘中无凤眼莲区域的水样,与根样一起立即送回实验室处理分析。将采回的凤眼莲根样,参照文献^[1]处理,分别获得根际菌与根面菌悬液。

细菌计数 水样、根际菌与根面菌悬液分别采用标准平皿法计数。按下列公式计算:

$$\text{根际异养菌数(个/g)} = \frac{\text{平均菌落数(个)} \times \text{稀释倍数}}{\text{根际吸附物湿重(g)}}$$

$$\text{根面异养菌数(个/g)} = \frac{\text{平均菌落数(个)} \times \text{稀释倍数}}{\text{根系鲜重(g)}}$$

* 本文是“七五”攻关“综合生物塘技术及黄州城区污水综合生物塘处理研究”的部分成果;涂炎香同志参加了本研究的部分工作,谨此致谢。

1991年5月15日收到。

$$\text{水体异养菌数(个/ml)} = \frac{\text{平均菌落数(个)} \times \text{稀释倍数}}{\text{水样体积(ml)}}$$

分离与鉴定 选择在最高稀释度平皿上出现 3—5 个菌落作为根际与根面的优势菌,并继续分离至纯培养物。按文献[2,3]鉴定到属。

异养活性测定 将每次计数后的根际、根面平皿中的菌落,以无菌操作用无菌生理盐水(0.85%)洗涤,分别制成细菌悬液($O \cdot D_{650} = 0.02$),作为试验菌液,置无菌三角瓶中,于 4℃ 冷藏备用。实验时,菌液置室温活化 1h。然后按实验要求以无菌操作取所需菌液(即根际、或根面菌液,或两者按 1:1 比例混合的细菌悬液)1ml,接种于先已准备好的三角瓶中(瓶内装有 0.1% 的无菌葡萄糖溶液 100ml, pH 值为 5.0、7.0 和 8.6 三种),并设平行实验,根据需要设对照。各试验瓶均测起始浓度后。置 145r/min 旋转式摇床上,在实验要求的温度(30 或 10℃)条件下培养,定时以无菌操作取样,按文献[4]测葡萄糖浓度的变化,到 12h 实验终止。用下式计算葡萄糖的相对百分氧化速率。

$$R\% = \frac{S - N}{S} \times 100\%$$

R 葡萄糖的相对氧化速率;S 起始测试的葡萄糖浓度;N 定时取样测试的葡萄糖浓度

结果与讨论

(一) 根区与水体中的异养细菌数量

1989 年先后 4 次采样,用标准平皿法计数,分别获得凤眼莲植株不同根区和水体的异养细菌数量(表 1)。

表 1. 凤眼莲根区和水体中异养细菌的密度

Tab. 1 Densities of heterotrophic bacteria in the root-zone of water hyacinth and in the water

项目 Item 样品 Sample 采样日期 Date	根际菌 Bacteria in rhizosphere (Ind · /g wet. wt.)	根面菌 Bacteria in roots surface (Ind · /g wet. wt.)	水体菌 Bacteria in water (Ind · /ml)
1989. 4 鲜株幼根 Younger roots	5.0×10^8	4.4×10^5	1.1×10^6
1989. 6 鲜株老根 Older roots	7.8×10^9	5.1×10^6	1.7×10^3
1989. 10 鲜株老根 Older roots	3.0×10^{10}	2.3×10^6	1.3×10^6
平均 Mean	5.3×10^9	3.9×10^6	1.4×10^5
1989. 1 枯株根 Roots of withered plant	1.1×10^{11}	2.2×10^7	1.1×10^3

为了便于根区与水体中细菌数量的粗略比较,将水样的体积也以克计(因为 1ml 水 = 1g)。从表 1 可见,凤眼莲鲜株根际、根面以及无凤眼莲水体的异养细菌数量分别为 8—

11、5—7 和 3—6 个数量级。平均异养细菌数量,根际大于根面 3 个数量级,根面大于水体 1 个数量级,即根区异养细菌数量大于水体 4 个数量级。上述结果表明,凤眼莲根区异养细菌数量的分布,类似于土壤微生物距根系愈近数量愈大的规律;也与在有芦苇湖区水域微生物的数量比没有芦苇水域高的报道一致^[5]。从表 1 还可看出,凤眼莲枯株根区异养细菌的数量高于鲜株根区约 2 个数量级,这只能解释其根系为腐烂的征兆。

据 Hsu 和 Bartha(1979)报道^[6],矮豆(bush beans)根际的微生物,较无根的土壤大 1—2 个数量级,因而对农药二嗪农(Diazinon)和对硫磷(Parathion)的矿化速率比无根的土壤快。本实验测定生物塘中 1m² 的凤眼莲鲜根净重约 7000g,能吸附重约 3500g 的水中污染物。如果按鲜株根际平均异养细菌数(表 1)计算,则 1m² 凤眼莲根际的异养细菌数量为 1.9×10^{13} 个。数量如此多的微生物,栖息在吸附了大量污染物的根系中,两者结合成为类似活性污泥的微生态系统。但据报道^[7],一般每克活性污泥的细菌数,均在 7—8 个数量级之间。而本研究所测凤眼莲平均每克根际细菌数达 9 个数量级,个别植株根际细菌数高达 10 个数量级(表 1),比活性污泥还高 1—3 个数量级。因此这是它能有效净化污染水体的原因之一。

(二)根区异养细菌的优势类群

从凤眼莲不同的根区,先后分离出 24 个优势菌株,通过形态观察与生理生化实验,鉴定到属(表 2)。

表 2. 凤眼莲根区异养细菌的优势类群

Tab. 2 Dominant groups of heterotrophic bacteria in the root zone of water hyacinth

数 量 属 Genera	样品 Sample	鲜株 Normed plants		枯株 Withered plants	
	Number				
		根际 Rhizosphere	根面 Root surface	根际 Rhizosphere	根面 Root surface
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>		1	1	2	1
微球菌属 <i>Micrococcus</i>		2	1		2
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>		1	2		
色杆菌属 <i>Chromobacterium</i>			1		
土壤杆菌属 <i>Agrobacterium</i>		1	1		
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>		2	2		
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>			1		
埃希氏菌属 <i>Escherichia</i>		1			
弧菌属 <i>Vibrio</i>		1			
沙雷氏菌属 <i>Serratia</i>		1			
总计 Total		10	9	2	3

表 2 表明,凤眼莲根区异养细菌的优势类群以 G⁻菌属居多,占 80%;G⁺菌属较少,占 20%。鲜株与枯株类群比较,鲜株类群较多,主要为芽孢杆菌属,占 21%,假单胞菌属和微球菌属各占 16%,气单胞菌属与土壤杆菌属均占 11%;枯株类群较单一,仅气单胞菌属与微球菌

属。根际与根面比较,鲜株根际类群多于根面,以微球菌属与芽孢杆菌属为主,根面主要是假单胞菌属和芽孢杆菌属;而枯株则相反,根际类群少于根面,仅气单胞菌属,根面微球菌属占优势。

结构是一定功能的反映。有人曾推测^[8],在污水处理系统中,首先是芽孢杆菌类对大分子结构的有机物进行破坏,继而由假单胞菌类、大肠菌类和 G^+ 球菌利用这些被破坏的物质,并作进一步地降解。本研究从凤眼莲根区分离出优势菌属的群落特征,应是以上净化功能的反映。因此多类群的优势菌属,密集于凤眼莲的根区,在功能上的协同作用,是其能有效净化污染水体的又一原因。

(三) 根区异养细菌群落的异养活性

由于葡萄糖是自然界分布最广泛的一种单糖,易为绝大多数异养细菌利用。因而在研究细菌的异养活性时,是被普遍采用的良好碳源与能源。为此本实验也采用葡萄糖作为研究凤眼莲根区异养细菌群落活性的基质,在单位时间内,以氧化葡萄糖速率的快慢,示其异养活性的强弱。

由图 1 比较鲜株老根区与鲜株幼根区及枯株根区菌群的异养活性,以 12h 计,平均氧化葡萄糖的相对百分速率,依次根际为 7.1、2.4 和 1.5%/h,前者分别比后两者快 3 倍和 7 倍;根面为 8.3、3.5 和 2.2%,前者较后两者分别快 2.4 倍和 3 倍。对照组氧化葡萄糖的速率,平均为 0.02%/h(在计算相对氧化率时,此数忽略未计)。故凤眼莲根区异养细菌群落氧化葡萄糖的速率为:鲜株老根区菌群>鲜株幼根区菌群>枯株根区菌群。异养活性随着根龄的增长而增强。这表明植株不同龄的根系对微生物群集效应的差异^[9]。当植株枯萎后,其活性明显降低。

根面与根际菌群异养活性的比较,以 12h 计,平均氧化葡萄糖的相对速率,鲜株老根区菌群,根面比根际快 1.2 倍;鲜株幼根区根面与枯株根面菌群分别比各自的根际菌群快 1.5 倍。故无论凤眼莲植株的鲜活与枯萎,以及根龄的老幼,其根面菌群的活性都大于根际菌群(图 1)。这除了两者的优势菌属在类群上的差别外,有报道^[10],细菌摄取葡萄糖的速率与基质活性菌的数量有关。

(四) 根区菌群异养活性的温度与 pH 效应

1. 温度效应 实验设低温 10℃(冬季黄州生物塘的一般温度)和中温 30℃两个梯度。以鲜株凤眼莲老根区的混合菌群作试验菌液,12h 氧化葡萄糖的相对百分速率分别为 3.30 和 92.72%(图 2)。平均的相对百分氧化率为 0.27 和 7.72%/h,后者较前者快 28.5 倍。即在中温 30℃时,菌群呈现较强的异养活性,而在低温 10℃时,菌群的异养活性基本处于被抑制的状态。

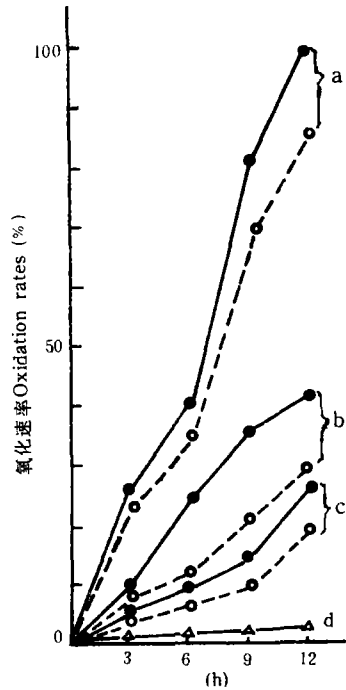


图 1 凤眼莲根区菌群氧化葡萄糖的速率
Fig. 1. Oxidation rates of glucose in bacteria in the root-zone of water hyacinth

a 老根 Older roots; b 幼根 Younger roots; c 枯株根 Roots of withered plants; d 对照 Control

— • — 根面菌 Root surface bacteria
- - - • - - 根际菌 Rhizosphere bacteria

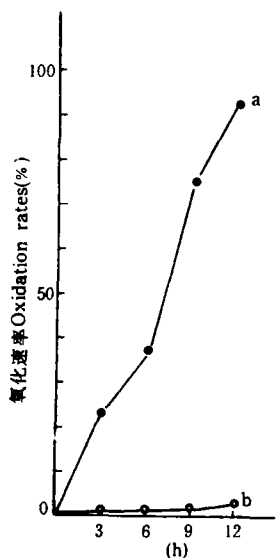


图2 凤眼莲根区菌群
异养活性的温度效应

Fig. 2 Effect of temperature on heterotrophic activity of bacteria in the root-zone of water hyacinth

a: 30°C; b: 10°C

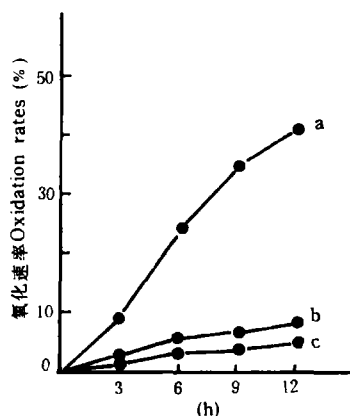


图3 凤眼莲根区菌群
异养活性的pH值效应

Fig. 3 Effect of pH values on heterotrophic activity of bacteria in the root-zone of water hyacinth

a: pH 7.0; b: pH 8.6; c: pH 5.0

2. pH 值效应 实验设 pH 值 5.0、7.0 和 8.6 (近似于黄州生物塘的最高 pH 值) 三个梯度。以鲜株凤眼莲幼根区的混合菌群作试验菌液, 12h 氧化葡萄糖的相对百分速率, 三个梯度依次为 4.25、42.22 和 7.19% (图 3)。平均的相对氧化速率分别为 0.35、3.50 和 0.60%/h。并在 pH 值 7.0 时, 菌群呈现较强的异养活性, 对葡萄糖的氧化速率, 分别比 pH 值 5.0 和 8.6 快 10 倍与 5.8 倍。而 pH 值 5.0 较 pH 8.6 对菌群的异养活性影响更大 (图 3)。

图 2 和图 3 表明, 虽然自然界中绝大多数微生物生长温度限度为 10—40°C, pH 值限度为 4.0—9.0 之间, 但它们多数的最适温度与 pH 值是很狭窄的。由于在非正常温度与 pH 值的条件下, 影响了细菌的细胞生理, 使其生长速率、营养要求、酶与细胞的合成受到抑制。因此, 凤眼莲根区异养菌群异养活性的强弱, 除对该基质活性菌的数量多少外, 还与环境条件对细菌细胞生理的影响密切相关^[10]。

综上所述, 凤眼莲有发达的根系, 吸附着大量的水体污染物, 因而寄居着众多的异养细菌类群, 两者结合成具有高度活性的微生态净化系统。前者为后者创造了良好的栖息场所和供给了丰富的营养来源, 各类菌群在功能上的协同效应, 加速了水体中有机污染物的矿化作用, 从而后者为前者提供了生长繁殖所需的物质基础。宾主互惠, 增强了凤眼莲对污染水体的净化能力。根区菌群的异养活性随根龄的增长而增强, 并受控于温度与 pH 值等环境因素。特别是在低温 10°C 时, 其活性基本受到抑制。因而在综合生物塘污水净化系统中, 对于提高冬季的净化效率, 除了研究增强净水植物的抗寒性外, 选育低温高净化效率的菌株, 也是值得关注的。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院南京土壤研究所微生物室。土壤微生物研究法。北京:科学出版社,1985:67。
- [2] 中国科学院微生物研究所细菌分类组。一般细菌常用分类方法。北京:科学出版社,1987。
- [3] Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th, Baltimore: Williams and Wilkins Co., 1974.
- [4] Norton N. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 1944, **153**:375.
- [5] JA OS O S. Number, biomass and production of planktonic bacteria. *Arch. Hydrobiol.*, 1974, **73**:193.
- [6] Hus Ts. Barrtha R, Accelerated minerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Micorobiol.*, 1979, **37**:36.
- [7] 都留信也编著。吴锦等译。环境与微生物。北京:中国环境科学出版社。1989。
- [8] Torien D F, Enrichment culture studies on aerobic and facultative anaerobic bacteria in an aerobic digesters. *Water Res.*, 1967, **1**(2):147.
- [9] Wei-Liang Chao, Ren-Ki Li, and Wen-The Chang. Effect of root agglutinin on microbial activities in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, **54**:1838.
- [10] Kato K. Heterotrophic activity, substrate active bacteria and specific V_{max} for DOC. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limonl.*, 1984, **19**:7.

STUDIES ON COMMUNITY CHARACTERISTICS AND HETEROTROPHIC ACTIVITY OF HETEROTROPHIC BACTERIA FROM ROOT-ZONE OF WATER HYACINTH

Zhan Facui Deng Jiaqi Xia Yicheng and Wu Zhenbin

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

The community characteristics and the heterotrophic activity of heterotrophic bacteria from the root-zone (rhizosphere and root surface) of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Solms) were studied. Experimental results are as follows:

(1) Twenty-four strains of bacteria were isolated from the root-zone of water hyacinth. They belong to ten genera: *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus*. They are the dominant genera, *Chromobacterium*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Vibrio* and *Serratia*.

(2) Total bacterial number was in the order: rhizosphere > root surface > the water body.

(3) Heterotrophic activity was calculated from oxidation rate of glucose in bacteria. The intensity of activity was in the order: bacteria in older roots > bacteria in younger roots > bacteria in roots of withered plants, the activity was higher in bacteria in root surface than in the rhizosphere bacteria.

(4) Under the conditions of 30°C and pH 7.0, all bacteria showed high activities, but their activities were inhibited markedly at a temperature of 0°C, and a pH of 5.0 or 8.6.

Key words Heterotrophic bacteria, Water hyacinth, Root-zone, Heterotrophic activity