

# 水生植物分泌物对微生物影响的研究<sup>\*</sup>

常会庆<sup>1,2</sup>, 丁学峰<sup>2</sup>, 蔡景波<sup>2</sup>

(1. 河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003; 2 浙江大学 环境与资源学院, 杭州 310029)

**摘 要:** 植物分泌物和功能微生物的相互作用对于植物 - 微生物系统净化水质效果扮演着重要的作用。加入 3 种植物(黄花水龙、凤眼莲、伊乐藻)的分泌物对接种的氮循环微生物和光合细菌进行培养, 结果表明: 3 种水生植物粗分泌物对光合细菌都起到了促进生长的作用, 但是对于氮循环微生物却有不同的作用效果: 分泌物对氨化菌和反硝化菌生长有促进作用, 但是对于亚硝化菌和反硝化菌表现出抑制的作用, 而且不同水生植物的分泌物对微生物作用大小也有所差异。这些结果能为今后进行植物 - 微生物修复体系中选择何种水生植物和接种微生物才能起到最佳的修复效果提供依据。

**关键词:** 水生植物; 分泌物; 微生物

**中图分类号:** X52

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-3409(2007)04-0057-04

## Effects of Crude Exudates of Aaquatic Macrophytes on Bacteria

CHANG Hui-qing<sup>1,2</sup>, DING Xue-feng<sup>2</sup>, CAI Jing-bo<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, He'nan University Science and technology, Luoyang, He'nan 471003, China;

2. College of Environment and Resource Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract :** The interaction between crude exudates of aquatic macrophyte and functional bacteria play an important role to purify water in the plant-bacteria integrated systems. The effects of inoculated the crude exudates of three macrophytes(*Jussiaea stipulacea* Ohwi, *Eichhornia crassipes* and *Elodea nuttallii*) on growth of photosynthetic bacteria, INCB community were studied. Results showed that the crude exudates promoted the growth of photosynthetic bacteria, ammonifying bacteria and denitrifying bacteria, but inhibited the growth of nitrosation, nitrifying bacteria communities. And the different macrophyte produced different effects. The results can provide the basis theory for selecting suitable aquatic macrophyte and functional bacteria to form effective plant-bacteria system to remediate eutrophic water body.

**Key words :** aquatic macrophyte; crude exudates; bacteria

许多陆生植物的根系可以分泌多种有机化合物(糖类、有机酸、氨基酸、酚类化合物等), 尤其是在磷缺乏的条件下<sup>[1]</sup>。水生植物在生长期间也会不断地向生长介质中分泌大量的低分子有机化合物, 为根际微生物提供大量的营养和能量物质, 从而可以改变微生物的活性、生物量以及生态分布等<sup>[2]</sup>。因此, 在根际微生态系统中, 根系分泌物既是连结水体 - 植物 - 微生物及其环境条件的枢纽, 或许也是它们

相互作用的信息物质<sup>[3]</sup>。根系分泌物对微生物的影响已有很多报道, 凤眼莲根分泌物对根际细菌的降酚酶活性有积极影响, 促进了根际细菌的降酚效率<sup>[4]</sup>。由于根对氧的分泌作用和呼吸作用使得根区有氧区域与缺氧区域的共同存在, 为根区的好氧、兼氧和厌氧微生物提供了各自的小生境, 使不同微生物都能发挥各自的作用<sup>[5]</sup>。同时微生物的根际群落也根据植物种类, 生长阶段, 根分泌物和可利用的碳

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2007-04-07

基金项目: 国家教育部资助项目“富营养化水体生态修复机理研究”; 国家科技部中澳合作项目“退化土—水生态系统的生物修复新技术体系研究”

作者简介: 常会庆(1974 - ), 男, 博士, 主要从事富营养化水体的生态修复机理研究。

源而发生变化<sup>[6,7]</sup>。Karjalainen<sup>[8]</sup>对 3 种水生植物 *Elodea*, *Myriophyllum* 和 *Lobelia* 的根系分泌物进行的研究也表明,它们可以通过根系分泌有机碳源,并且可以增加微生物生物量(ATP)和微生物的活性(leucine uptake)。因此,在应用植物-微生物系统来修复富营养化水体时,有必要研究不同种水生植物分泌物对接种植物生长的影响。为今后在选择植物和微生物联合修复水体时提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 3 种水生植物的培养

选取生长一致的凤眼莲、伊乐藻和黄花水龙幼苗,用 Hogland 营养液预培养 20 d,同时在其生长过程中向培养液中加入微生物抑制剂(100 mg/L  $C_{16}H_{18}NaN_3O_4S$  (MERCK) 可以排除微生物的影响<sup>[9]</sup>,待凤眼莲、黄花水龙长出比较旺盛的根系,同时伊乐藻也长出比较新鲜的新根后准备收集根系分泌物。

### 1.2 浓缩提取根系分泌物

3 种水生植物分别称取 100 g,用蒸馏水洗净后放入 2 L 去离子水中,然后在温度为  $(25 \pm 1)$ 、光照强度为 4 000 lx,相对湿度为 70%~80%的人工气候室中收集约 5 h 时,去除植物后,立即用旋转蒸发仪分别浓缩 3 种水生植物的收集液到 50 ml。

### 1.3 微生物的培养测定

#### 1.3.1 光合菌培养

紫色非硫光合细菌,由中科院微生物研究所提供,标号为 120(1.2352)。

光合菌配制方法如下:硫酸二氢 1.0 g,氯化镁 0.5 g,氯化铵 1.0 g,氯化钙 0.1 g,氯化钠 1.0 g,醋酸钠 1.0 g,琥珀酸钠 1 g,酵母膏 0.5 g,碳酸氢钠 3.0 g,蛋白胨 0.5 g,蒸馏水 1 L。微量元素液(1 ml/L):微量元素液成分:  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  1.8 g,  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  0.25 g,  $NiCl_2 \cdot H_2O$  0.01 g,  $CuCl_2 \cdot H_2O$  0.01 g,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  0.7 g,  $ZnCl_2$  0.1 g, 硼酸 0.5 g,  $Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$  0.01 g,  $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$  0.03 g,水 1 L。维生素溶液成分(1 ml/L):维生素(Biotin) 0.1 g,烟酸(Niacin) 0.35 g,烟酸硫胺素(Thiamine dichloride) 0.3 g,对氨基苯甲酸(P-Aminobenzo acid) 0.2 g,泛酸钙(Ca-Panthothenate) 0.1 g,维生素( $B_{12}$  Vitamin  $B_{12}$ ) 0.05 g,盐酸吡哆胺(Pyridoxolium hydrochloride) 0.1 g,水 1 L。然后调节 pH 为 6.80,灭菌后在 30℃ 条件下培养 3 d。

#### 1.3.2 富集氮循环菌群

富集氮循环菌群,培养基的配方同氨化细菌、亚硝化细菌、硝化细菌、反硝化细菌的培养。根据 Matulewich<sup>[10]</sup>描述的方法进行培养。4 种菌群的微生物从污水中分离,并接种于相应的培养基中,调节 pH,硝化菌和亚硝化菌各培养 30 d,反硝化菌和氨化菌各培养 15 d。

#### 1.3.3 试验处理

在各微生物生长约为对数期时,离心弃去上清液,然后重新稀释悬浮(每种微生物的培养基分别灭菌 450 ml 和 450 ml,并在前者加入 50 ml 的蒸馏水,后者则分别加入 3 种植物的浓缩物进行培养。3 d 后测定培养皿中光合菌的数量(采用平板计数法),氮循环微生物采用 MPN 法测定。

本试验处理为:黄花水龙浓缩液+培养基,伊乐藻浓缩液+培养基,凤眼莲浓缩液+培养基,单独培养基 4 个处理,每个处理设 3 次重复。

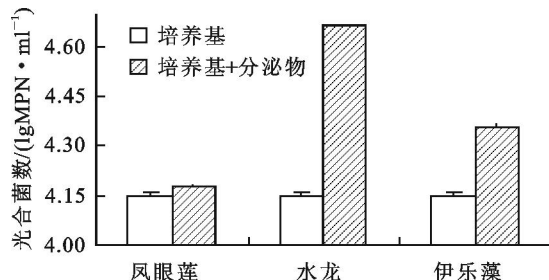


图 1 3 种水生植物的分泌物对光合细菌生长的影响

## 2 结果分析

### 2.1 3 种水生植物根系分泌物对光合细菌的影响

3 种水生植物的分泌物在本试验培养条件下对光合细菌的生长都没有显示出抑制的作用,而且光合细菌的数量都有所增加。微生物数量的顺序依次为黄花水龙>凤眼莲>伊乐藻,各处理间的差异性分析达到极显著水平( $P<0.01$ )。说明黄花水龙的根系分泌物更有利于光合细菌生物量的增加。这可能与黄花水龙能分泌更多的有机碳源有关。

### 2.2 3 种水生植物分泌物对 4 种氮循环菌的影响

加入 3 种水生植物的分泌物对氨化菌和反硝化菌的生长都有促进作用,而对亚硝化菌和硝化菌都表现出抑制作用。氨化菌在 3 种水生植物分泌物中的顺序依次为黄花水龙>凤眼莲>伊乐藻。黄花水龙和其它两种水生植物的处理相比较,其显著性分析差异达到显著水平( $P<0.05$ )。对于反硝化菌变化顺序同样是黄花水龙>凤眼莲>伊乐藻,而且显著性分析达到显著水平( $P<0.05$ )。这些结果可能与黄花水龙在培养期间能向水体中分泌更多的有机和无机营养有关。对分泌物测定结果表明黄花水、

凤眼莲、伊乐藻 3 种水生植物分泌的有机物  $\text{COD}_{\text{Mn}}$  值分别为: 0.91, 0.71, 0.30 mg/L, 此外黄花水龙分泌物中还含有较高的总氮、总磷, 含量分别为 0.072 mg/L, 0.044 mg/L。含有 3 种水生植物分泌物的培养基中, 亚硝化菌和硝化菌变化顺序都为伊乐藻 > 凤眼莲 > 黄花水龙, 黄花水龙对于亚硝化菌和硝化菌的影响和其它两种植物相比达显著水平 ( $P <$

0.05)。这可能与黄花水龙向水体中分泌更多的有机酸有关, 以前研究结果表明了黄花水龙与凤眼莲和伊乐藻相比较会向水体中分泌更多量的有机酸(未发表), 因为硝化菌在硝化过程中会使环境中的 pH 值降低。因此, 根系分泌物中酸含量高时可能产生对亚硝化菌和硝化菌的抑制效果。

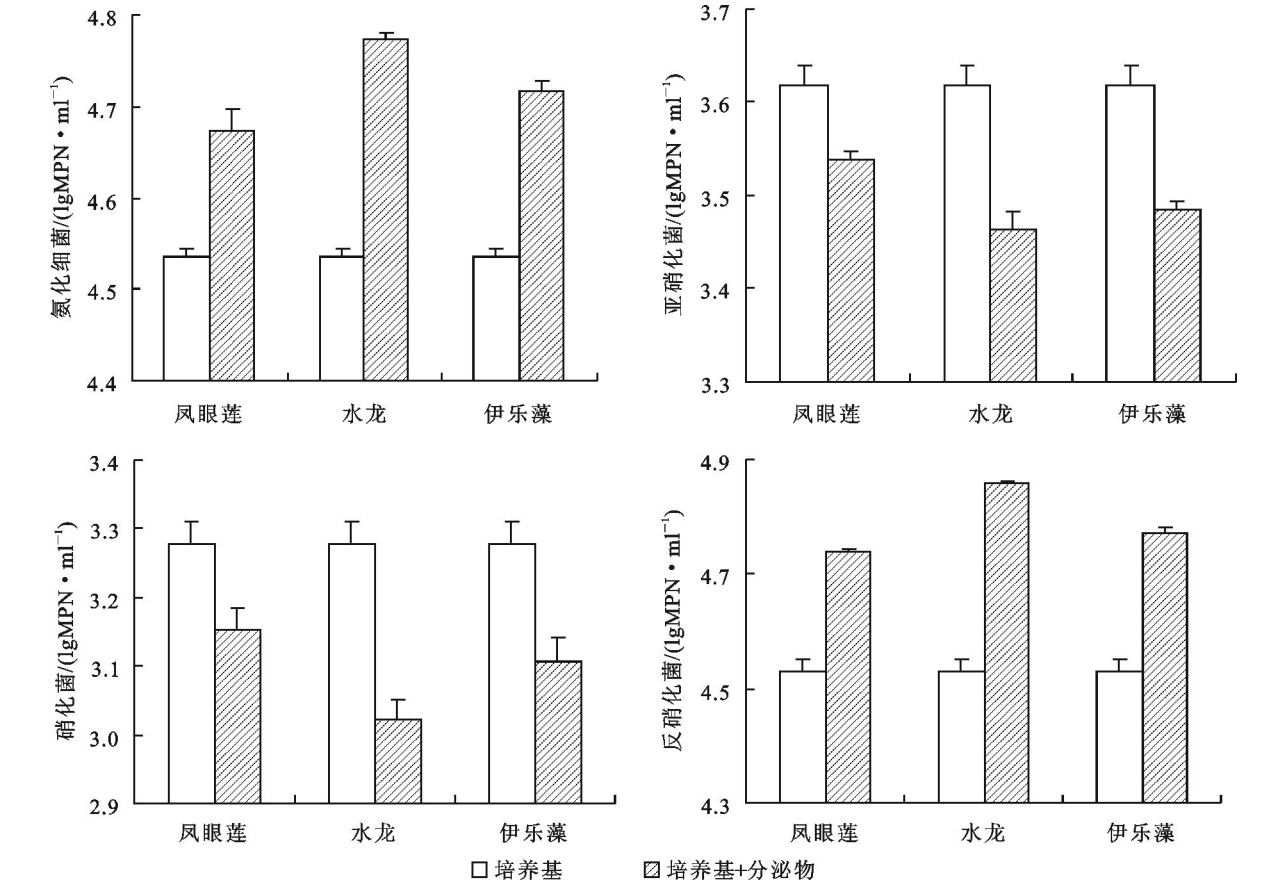


图 2 3 种水生植物的分泌物对 4 种氮循环微生物的影响

3 结论和讨论

3.1 结 论

本研究结果表明:直接浓缩 3 种水生植物伊乐藻 (*Elodea nuttallii*)、凤眼莲 (*Eichhornia crassipes*)和黄花水龙 (*Jussiaea stipulacea* Ohwi) 分泌物都可以促进氨化细菌 (*Ammonifying bacteria*), 反硝化细菌 (*Denitrifying bacteria*) 和光合细菌 (*Photosynthetic bacteria*) 的生长;又抑制了亚硝化 (*Nitrosation bacteria*)和硝化菌 (*Nitrifying bacteria*) 的生长。黄花水龙分泌物的处理比伊乐藻的处理有较多的氨化细菌,反硝化细菌和光合细菌,但是有较少数量的亚硝化和硝化菌。可见不同的水生植物分泌物对不同种群的微生物有着不同的效应。

3.2 讨 论

由于水生植物的种类不同,导致它们根系分泌物的种类和数量会有所差别,从而影响微生物的活性及其生物量的变化,Griffiths 和 Compell<sup>[11,12]</sup> 等的研究表明根际环境中碳源的输入可明显增加微生物的活性。除了根系分泌有机酸影响根际甚至水体中微生物的种类、数量及其活性外,根系分泌的氨基酸组分也会对水生植物根际微生物产生作用<sup>[13]</sup>。因此在修复水体中当引入不同的水生植物,由于存在着形态结构,提供有机碳源潜能,以及向水体和底泥中分泌氧气能力等方面的差异,从而为不同的微生物种群创造出不同的栖息环境<sup>[14]</sup>,因此会相应的产生不同的养分去除效果<sup>[15]</sup>。

同时根际微生物为水生植物的生长也可以提供养分来源<sup>[16,17]</sup>,还可以产生植物生长素(如 IAA)来

促进植物生长<sup>[18]</sup>。但是同时应该注意到当水生植物用于修复富营养化水体时,原位的植物-微生物间的相互关系可能会受到水体环境因素的影响,本试验 3 中的黄花水龙处理与伊乐藻相比有较高的硝化和反硝化率结论就证实了这种观点,虽然单纯地加入黄花水龙根系分泌物并不利于亚硝化和硝化菌的生长。因此,进一步研究原位不同水生植物分泌物的种类和数量及其与微生物之间的作用,有助于了解它们对富营养化水体的修复机理,为今后在实际工程中高效养分去除的水生植物筛选提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Lambers H, Poorter H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Adv. Ecol. Res.*, 1992, 23: 187 - 261.
- [2] Kuzyakov Y, Jones D L. Glucose uptake by maize roots and its transformation in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(5): 851 - 860.
- [3] Wood D C, Hayasaka S S. Chemotaxis of rhizoplane bacteria to amino acids comprising eelgrass (*Zostera marina* L.) root exudate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1981, 50: 153 - 161.
- [4] 郑师章, 乐毅全, 等. 凤眼莲及其根际微生物共同代谢和协同降酚机理的研究[J]. *应用生态学报*, 1994, 5(4): 403 - 408.
- [5] Fennessy M S, Gonk J K, Mitsch W J. Macrophyte productivity and community development in created freshwater wetlands under experimental hydrological conditions[J]. *Eco. Eng.*, 1994, 3(4): 469 - 484.
- [6] Cedergreen N. Nitrate reductase activity in roots and shoots of aquatic macrophytes [J]. *Aquatic Botany*, 2003, 76: 203 - 212.
- [7] Marschner P, Yang C H, Liebere R, Crowley D E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere [J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, 33: 1437 - 1445.
- [8] Karjalainen H, Stefansdottir G, Tuominen L, et al. Do submersed plants enhance microbial activity in sediment? [J]. *Aquatic Botany*, 2001, 69: 1 - 13.
- [9] Matulewich V A, Strom P F, Finstein M S. Length of incubation for enumerating nitrifying bacteria presents in various environments [J]. *Appl. Microbiol.*, 1975, 29(2): 265 - 268.
- [10] Spencer C P. On the use of antibiotics for isolating bacteria-free cultures of marine phytoplankton organisms [J]. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 1952, 31: 97 - 106.
- [11] Griffiths B S, Ritzk E, et al. Soil microbial community structure: Effects of substrate loading rates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 33: 145 - 153.
- [12] Compell C D, Grayaton S J. Use of rhizosphere carbon source in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 33 - 41.
- [13] 赵大君, 郑师章. 凤眼莲根分泌物氨基酸组分对根际肠杆菌属 *E. coli* 细菌的趋化作用 [J]. *应用生态学报*, 1996, 7(2): 207 - 212.
- [14] Ottosen L D M, Risgaard - Petersen N, Neilsen L. Direct and indirect measurements of nitrification and denitrification in the rhizosphere of aquatic macrophytes [J]. *Aquat. Microb. Ecol.*, 1999, 19: 81 - 91.
- [15] Christensen P B, Sorensen J. Temporal variation of denitrification activity in plant-covered littoral sediment from Lake Hampen [J]. *Denmark. Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 51: 1174 - 1179.
- [16] Nielsen L B, Finster K, Welsh D T, et al. Sulphate reduction and nitrogen fixation rates associated with roots, rhizomes and sediments from *Zostera noltii* and *Spartina maritima* meadows [J]. *Environ. Microbiol.*, 2001, 3: 63 - 71.
- [17] Welsh D T. Nitrogen fixation in seagrass meadows: regulation, plant - bacterial interactions and significance to primary productivity [J]. *Ecol. Lett.*, 2000, 3: 58 - 71.
- [18] Durako M J, Kuss K M. Effects of *Labyrinthula* infection on the photosynthetic capacity of *Thalassia testudinum* [J]. *Bull. Mar. Sci.*, 1994, 54: 727 - 732.