

Research on the Influence of Rhizosphere Microorganisms to Water Purification Effect of Hydroponic Plants

Xiaoqing Zhong¹ Zhouna Ni²

1. Guangzhou Nansha Modern Agriculture Industry Corporation, Guangzhou, Guangdong, 511466, China

2. Guangzhou Institute of Advanced Technology, Guangzhou, Guangdong, 511466, China

Abstract

Three hydroponic plants, *Mentha haplocalyx*, *Alocasia esculenta* and *Scirpus aureus*, were selected in this study. The total nitrogen removal rates were 100.0%, 88.11% and 52.63%, respectively, and the total phosphorus removal rates were 79.93%, 52.14% and 61.34%, respectively; Soaking plant roots with potassium permanganate once promoted the reproduction of *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *trichomonas* and other microorganisms, and improved the water purification effect of hydroponic plants; But potassium permanganate soaking treatment changed the community structure of rhizosphere bacteria, and the absorption rate of nitrogen and phosphorus decreased significantly. In recent years, with the rapid development of industry, about 25% of the rivers in the country have problems such as eutrophication and excessive nitrogen and phosphorus. Eutrophication refers to the phenomenon of water pollution caused by the high concentration of nutrients such as nitrogen and phosphorus in water. The harm of eutrophication is great: algae on the water surface proliferate rapidly, the dissolved oxygen in the water decreases, and organisms such as fish suffocate from hypoxia, producing toxic and harmful substances such as volatile ammonia.

Keywords

rhizosphere microorganisms; nitrogen and phosphorus removal; hydroponic plant purification; bioremediation; phytoremediation

根际微生物对水培植物净水效果的影响研究

仲晓晴¹ 倪周娜²

1. 广州南沙现代农业产业集团有限公司, 中国·广东 广州 511466

2. 广州先进技术研究所, 中国·广东 广州 511466

摘 要

本课题筛选出高效除氮磷的3种水培植物薄荷、海芋和绿萝, 总氮去除率依次是100.0%、88.11%和52.63%, 总磷去除率分别为79.93%、52.14%和61.34%; 用高锰酸钾浸泡植物根系一次促进假单胞菌属、固氮螺菌属、丛毛单胞菌属等微生物繁殖, 提高水培植物的净水效果; 但高锰酸钾多次浸泡处理改变了根际细菌的群落结构, 氮磷吸收速率显著降低。近年来工业飞速发展, 全国约25%的江河存在富营养化及氮磷超标等问题。富营养化是指水体中氮磷等营养物质浓度过高引起的水质污染现象。富营养化的危害很大: 水表面藻类迅猛繁殖, 水体溶解氧降低, 鱼类等生物缺氧窒息而死, 产生如挥发性氨等有毒有害物质。

关键词

根际微生物; 脱氮除磷; 水培植物净化; 生物修复; 植物修复

1 引言

水体富营养化的防治方法包括: 控制外源性营养物质输

入及内源性营养物质; 具体方法包括物理工程法、化学方法和生物修复法(人工湿地、生态浮床、生物利用等)。物理和化学方法具有耗电量大、工程量大和产生副作用等问题^[1-3]。

生物修复法是利用水生生物吸收氮磷进行代谢活动去除污染物, 使水生态系统恢复的技术。该技术工程造价低, 不会形成二次污染^[4]。植物修复^[5]是指利用植物和共生的微生物之间的共同作用来净化污水中污染物, 如菹草、芦苇、狐尾藻和微齿眼子菜^[6,7]等去除水中营养盐、大肠杆菌和重金属等。植物根系分泌的物质如糖类、蛋白质、醇类等, 为微生物提供了一个具有丰富营养物质和能量的生长环境, 大量微生物聚集在根际区域, 形成根际效应^[8]。

研究表明, 陆生植物经过驯化, 是可以适应水培环境的^[9,10]。陆生植物经驯化水生培养后, 极大扩充了可利用植

【课题项目】中国博士后科学基金面上资助“多孔介质中微生物的生长规律及其在人工湿地中的应用”(项目编号: 206890); 深圳市科技创新研发资金基础研究项目“多孔介质微生物淤堵的机理与稳定性研究”(项目编号: JCYJ201504)。

【作者简介】仲晓晴(1983-), 女, 中国吉林四平人, 博士, 从事环境治理与污染修复研究。

物的范围，增加了处理不同污染物的可能性。黑麦草和吊兰经水培驯化后可以去除氮磷、苯酚等污染物^[11-13]。

本课题筛选高效脱氮除磷的陆生植物、经水培驯化后研究根际微生物对脱氮除磷净水效果的影响，以及分析根际微生物的群落结构及优势菌种与氮磷吸收率之间的关系。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

实验所选的植物材料分别为：天南星科麒麟叶属绿萝 *Epipremnum aureum* Bunting，天南星科合果芋属合果芋 *Syngonium podophyllum* Schott，天南星科海芋属海芋 *Alocasia macrorrhiza* (L.) Schott，天南星科龟背竹属龟背竹 *Monstera deliciosa* Liebm，天门冬科龙血树属富贵竹 *Dracaena sanderiana* Sander，肾蕨科肾蕨属肾蕨 *Nephrolepis auriculata* (L.) Trimen 和唇形科薄荷属薄荷 *Mentha canadensis* Linnaeus。

2.2 模拟污水的配置

根据模拟污水配方和所要配制的模拟污水的体积，计算五种试剂的质量，模拟污水配方：无水葡萄糖 562.5mg/L，氯化铵 57.3mg/L，磷酸二氢钾 21.9mg/L，硫酸镁 10.0mg/L 和氯化钙 1.0mg/L。

2.3 污水生物净化模拟实验

实验通过将上述植物进行水培驯化后，将根系置于模拟污水中，测试其对氮磷的去除率。为研究根际微生物对水培植物净水效果的影响，实验使用 0.1% 浓度的高锰酸钾溶液浸泡半小时以达到灭菌效果，将植物分为三组，第一组不处理，第二组以高锰酸钾处理一次、第三组每天以高锰酸钾处理根系。

2.4 检测方法

水样中总氮的测定采用了碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法，水样中总磷的测定采用钼酸铵分光光度法。16S rDNA 和 ITS 测序。剪取薄荷、海芋和绿萝 3 种水培植物经灭菌作用处理污水的根系，进行细菌和真菌测序分析。微生物总 DNA 采用 Meta 组织进行提取，并在 HiSeq 测序平台进行 16S rDNA 和 ITS 测序。

3 结果与分析

3.1 植物筛选

3.1.1 7 种水培植物的总氮去除效果

经过 15 天的培养，7 种水培植物对模拟污水的总氮去

除率为绿萝 52.63%，合果芋 21.14%，海芋 88.11%，龟背竹 44.44%，富贵竹 19.73%，肾蕨 24.90%，薄荷 100.0%，空白 6.24%，薄荷和海芋的总氮去除率最高，其次是绿萝。

3.1.2 7 种水培植物的总磷去除效果

经过 15 天的培养，7 种水培植物对总磷去除率为：绿萝 61.34%，合果芋 18.70%，海芋 52.14%，龟背竹 8.59%，富贵竹 13.36%，肾蕨 4.01%，薄荷 79.93%，空白 6.29%，7 种水培植物净水过程中总磷变化情况薄荷和绿萝的除磷效果最佳，其次是海芋。因此，选用薄荷、海芋和绿萝 3 种水培植物作为植物根系高锰酸钾处理的对象。

3.2 高锰酸钾作用对水培植物净水效果的影响

实验前，将处理组中海芋、绿萝和薄荷 3 种植物的根系用 0.1% 高锰酸钾溶液浸泡半小时，之后置于污水中培养 15 天。结果显示，经高锰酸钾处理一次，海芋、绿萝和薄荷的总氮去除率分别为 90.91%、92.31% 和 95.80%，总磷去除率为 97.52%、82.61% 和 95.65%，而未处理组海芋、绿萝和薄荷的总氮去除率分别为 88.11%、74.13% 和 69.93%，总磷去除率为 52.17%、52.17% 和 59.63%；由此得出 0.1% 高锰酸钾处理能提高氮磷去除率。

净化实验中，每天将处理组中海芋、绿萝和薄荷 3 种植物的根系用 0.1% 高锰酸钾溶液浸泡半小时。结果显示：海芋、绿萝和薄荷的总氮去除率分别为 62.71%、83.90% 和 60.17%；总磷去除率为 6.90%、59.31% 和 50.28%；高锰酸钾每天处理则会降低水培植物去除氮的效果。

3.3 根际微生物群落结构特征

3.3.1 OTU 统计及丰富度分析

OTU (Operational Taxonomic Units) 是在群体遗传学研究中，将某一个分类单元如属、种等设置统一标志。本次采用相似度在 97% 以上的序列作为标准界定一个 OTU，可认为每个 OTU 对应一个不同的微生物分类。

结果显示：高锰酸钾处理一次且脱氮除磷效率提高的海芋和绿萝的 OTU 都比其对照组高，该处理方法对根际微生物丰度有提高作用；而高锰酸钾每天处理且除氮效率降低的 3 种植物的 OTU 都比对照组少，该处理方式在一定程度上能够抑制微生物的生长，使根际微生物丰富度降低。

两种高锰酸钾处理方式各样品所获得的 OTU 数量分别如表 1 和表 2 所示。

表 1 高锰酸钾处理一次 – 植物根际微生物种类统计

样品 OTU	BH1.0d	HY0d	HY6d	HY1.0d	HY1.6d	LL.0d	LL.6d	LL1.0d	LL1.6d
细菌	830	794	442	783	677	356	310	511	421
真菌	264	105	82	115	91	152	52	158	96

表 2 高锰酸钾每天处理 – 植物根际微生物种类统计

样品 OTU	BH.11d	BHm.11d	HY.0d	HY.11d	HYm.0d	HYm.11d	LL.11d	LLm.0d	LLm.11d
细菌	538	550	583	643	554	421	360	523	123
真菌	60	59	91	78	92	51	63	85	38

3.3.2 属水平的群落组成分析

在属水平上, 高锰酸钾处理一次样品中检测出含有以下 5 种菌属: 假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*)、特布拉斯氏菌属 (*Trabulsiiella*)、噬细胞菌属 (*Cytophaga*)、固氮螺菌属 (*Azospira*)、*Spirodela* 等。其中, 假单胞菌属有多种反硝菌种及促进植物吸收磷元素的菌株^[14], 有利于污水净化。此外, 固氮螺菌属含固氮细菌, 能与植物联合固氮^[15], 丛毛单胞菌属含有脱氮除磷菌种^[16]。而高锰酸钾每天处理样品中检测出的菌属组成则大不相同, 分别有: 黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、*Spirodela*、*Dickeya*、*Pelomonas*、*Uliginosibacterium*、伦黑墨氏菌属 (*Rheinheimera*)。

从属水平上看,不同处理方式对3种水培植物根际真菌菌属影响不大,主要为镰刀菌属(*Fusarium*)、*Monographella*、*Ilyonectria*。

3.3.3 单个样品多样性分析

稀释曲线用于判断所测序列库容中微生物的种类和数量是否充足, Shannon 指数越大, 反映出样本均一性越好。由 16S 测序得到的细菌 Shannon 指数的稀释曲线如图 1、图 2 所示: 与对照组相比, 经 0.1% 高锰酸钾一次处理且脱氮除磷效率提高的海芋和绿萝 Shannon 指数更大, 样本均一性更好, 群落具有较大多样性, 物种更丰富。与对照组相比, 经 0.1% 高锰酸钾每天处理且去除氮效率降低的三种水培植物 Shannon 指数较小, 反映出样本均一性较差, 细菌群落多样性较小。

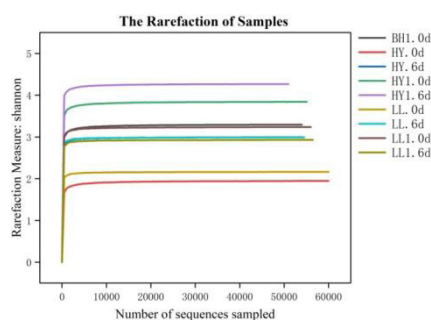


图 1 高锰酸钾一次处理细菌 Shannon 指数的稀释曲线结果

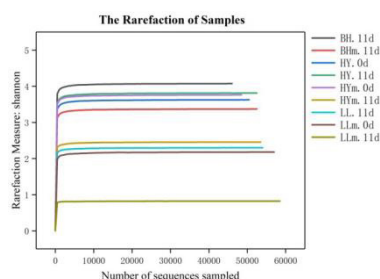


图 2 高锰酸钾每天处理细菌 Shannon 指数的稀释曲线结果

4 结论

本课题从7种水培植物中筛选出高效脱氮除磷的3种。

薄荷和海芋的脱氮效果最佳, 分别为 100.0% 和 88.11%, 其次是绿萝, 为 52.63%; 薄荷和绿萝的除磷效果最佳, 分别为 79.93% 和 61.34%, 其次是海芋, 为 52.14%。净化实验前使用 0.1% 高锰酸钾溶液处理一次, OTU 增加, 根际微生物种类更丰富, 假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*)、固氮螺菌属 (*Azospira*) 等有助于脱氮除磷的细菌丰度增加, 水培植物的氮去除率提高; 而采用 KMnO_4 每天处理植物根系, OTU 减少, 该处理抑制微生物的生长, 使根际微生物丰富度降低。

参考文献

- [1] Li C, Dong Y, Lei Y, et al. Removal of low concentration nutrients in hydroponic wetlands integrated with zeolite and calcium silicate hydrate functional substrates[J]. Ecol Eng, 2015(82):442-450.
- [2] 王庆海, 却晓娥. 治理环境污染的绿色植物修复技术[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(2):261-266.
- [3] Geng Y, Han W, Yu C, et al. Effect of plant diversity on phosphorus removal in hydroponic microcosms simulating floating constructed wetlands[J]. Ecol Eng, 2017(107):110-119.
- [4] Bello AO, Tawabini BS, Khalil AB, et al. Phytoremediation of cadmium-, lead- and nickel-contaminated water by *Phragmites australis* in hydroponic systems[J]. Ecol Eng, 2018(120):126-133.
- [5] 胡智勇, 陆开宏, 梁晶晶. 根际微生物在污染水体植物修复中的作用[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(5):75-80.
- [6] 范军辉, 郝瑞霞, 朱晓霞, 等. 温度对SCSC-S/Fe复合系统脱氮除磷及微生物群落特性的影响[J]. 环境科学, 2017, 38(5):2012-2020.
- [7] 刘兵兵. 库塘湿地水质净化与微生物相互作用关系研究[D]. 北京: 华北电力大学, 2014.
- [8] Magwaza ST, Magwaza LS, Odindo AO, et al. Hydroponic technology as decentralised system for domestic wastewater treatment and vegetable production in urban agriculture: A review[J]. Sci Total Environ, 2020, 698.
- [9] Ndulini SF, Sithole GM, Mthembu MS. Investigation of nutrients and faecal coliforms removal in wastewater using a hydroponic system[J]. Phys Chem Earth, 2018.
- [10] Li G, Tao L, Li X, et al. Design and performance of a novel rice hydroponic biofilter in a pond-scale aquaponic recirculating system[J]. Ecol Eng, 2018(125):1-10.
- [11] 朱静平, 程凯, 宋宝增. 水培吊兰污水净化系统中微生物数量与净化效果相关分析[J]. 水处理技术, 2009, 35(6):14-18+23.
- [12] Ruan X, Yang E, Zuo J, et al. Hydroponic removal of organic contaminants from water by using ryegrass and organobentonites simultaneously[J]. Appl Clay Sci, 2016(119):333-337.
- [13] 朱静平, 程凯, 孙丽. 水培植物净化系统不同氮磷去除作用的贡献[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(5):175-178.
- [14] 李正魁, 张晓皎, 赖鼎东, 等. 水生丛毛单胞菌属菌株及其在废水生物脱氮中的应用[P]. 中国专利:2008100206494, 2009-01-21.
- [15] 倪晋仁, 陈倩, 付东康, 等. 兼具脱氮除磷功能的羧基团从毛单胞菌及其应用[P]. 中国专利:2012100571206, 2012-07-04.
- [16] 杨洁彬. 固氮螺菌(*Azospirillum*)的研究进展[J]. 北京农业大学学报, 1983(4):87-94.