

污水灌溉对大豆幼苗生理生化特性和根际微生物功能类群的影响

葛红莲, 张福丽

(周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466001)

摘要:为更加科学合理地利利用污水灌溉农田,分别以100%、50%、33.3%和25%的污水及全清水(CK)浇灌盆栽大豆,研究不同浓度的污水浇灌对大豆幼苗生理生化特性及根际微生物生理类群的影响。结果显示:低浓度的污水可增加叶绿素含量,激活SOD、CAT活性,促进硝化细菌、固氮菌和纤维素分解菌的生长,抑制反硝化细菌和氨化细菌的生长;高浓度污水可显著降低叶绿素含量和SOD、CAT活性,抑制硝化细菌、固氮菌和纤维素分解菌的生长,刺激反硝化细菌和氨化细菌的生长繁殖,促进MDA的积累和膜透性增加。多项指标以污水浓度为33.3%~50.0%时的增效作用最为明显。

关键词:污水灌溉;大豆;生理生化特性;微生物功能类群

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2013)02-0216-04

Effect of Sewage Irrigation on Some Physiological-biochemical Characteristics of Soybean (*Glycine max*) Seedling and Microbial Functional Groups in Soybean Rhizosphere Soil

GE Hong-lian, ZHANG Fu-li

(Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466001, China)

Abstract: In order to use sewage to irrigate the farmland more scientifically and rationally, sewage from Shaying river was used to irrigate potted soybean with concentration of sewage at 100%, 50%, 33.3% and 25% respectively. The effects of different diluted sewage irrigation on some physiobiochemical characteristics of soybean seedling and microbes in soybean rhizosphere soil were studied. The results showed that the low concentration treatment of sewage could increase the contents of chlorophyll of soybean and activities of SOD and CAT, and promote the growth of nitrifying bacteria, nitrogen-fixing bacteria and cellulose decomposing bacteria, while inhibit denitrifying bacteria and ammonifying bacteria. Sewage with higher concentration could decrease chlorophyll content and SOD, CAT activities, and inhibit the growth of nitrifying bacteria, nitrogen-fixing bacteria and cellulose decomposing bacteria, while stimulate the growth and propagation of denitrifying bacteria and ammonifying bacteria, and promote the accumulation of MDA and permeability of cytoplasm membrane. The promotion effect of sewage was obvious at concentration of 33.3%~50.0%.

Key words: Sewage irrigation; *Glycine max*; Physiological-biochemical characteristics; Microbial functional groups

污水灌溉是指以经过处理并达到灌溉标准要求的污水为水源进行的灌溉。由于我国资源短缺,利用污水灌溉农田是目前节约水资源和污水利用最主要和最普遍的方式。如果使用得当,污水灌溉农田可保持着土壤生态系统的稳定性,并使农作物增产。污水灌溉在为农田提供丰富水源和营养元素的同时,污水中的有毒物质可能会导致土壤污染,从而对作物和土壤微生物产生潜在危害,致使农作物生理生化指标、微生物群落和数量发生劣变,影响农业生态环境、土壤微生物区系和农作物产量和品质^[1-4]。有关污水灌溉对小麦和玉米的品质、生长及生理生化指标、抗氧化酶活性以及土壤微生物区系的影响已有大量的报道^[5-10],但对污灌后大豆生理生化特性和根际微生物的变化的研究鲜有报道。现采用不同浓度的污水浇灌大豆幼苗,

研究污水灌溉对大豆幼苗生理生化指标和根际微生物生理功能类群生长的影响,以期科学、合理利用污水灌溉农田提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验采用沙颍河污水,采取污水后,将污水冷藏贮存备用。污水主要成分为耗氧有机物(苯、酚、烷基苯磺酸等)、氨氮、亚硝酸盐、硝酸盐、重金属汞(Hg)、铅(Pb)和镉(Cd);污水物理化学指标为化学需氧量 $187\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、总磷 $2.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、总氮 $53\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NH}_3\text{-N}$ $39.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、Pb $0.7326\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、Hg $0.9872\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、Cd $1.6602\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;除总氮含量稍高外,该污水其他指标均符合国家农田灌溉水

收稿日期:2012-12-26

基金项目:河南省教育厅自然科学基金项目(2008A180037)。

第一作者简介:葛红莲(1976-),女,硕士,副教授,主要从事微生物学与生态学研究。E-mail:gehonglian@yahoo.com.cn。

质标准。供试土壤为砂壤, pH7. 5、有机质含量 14. 8 g·kg⁻¹。供试大豆品种为周豆 22, 由周口市农业科学院提供。

1.2 试验设计

采用室外盆栽培养大豆, 将供试土壤风干、粉碎, 装入花盆中(盆高 20 cm, 直径 25 cm), 每盆装风干土 11 kg, 每盆播种 10 粒, 植株出苗后分别采用浓度为 100%、50%、33. 3% 和 25% 的污水, 根据天气状况和大豆的需水规律进行灌溉, 每次污灌量为 450 mL·盆⁻¹, 共灌溉 8 次。每个处理 3 次重复, 以清水灌溉为对照。在大豆幼苗期(播种后第 26 天)取大豆植株顶端第 3 和第 4 片完全展开的叶片测定生理生化指标。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 大豆叶片生理生化指标的测定 SOD 活力采用连苯三酚自氧化法测定^[11]; CAT 活性采用高锰酸钾滴定法测定^[11]; 叶绿素含量采用分光光度法测定^[11]; 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定^[11]; 相对电导率采用电解质外渗量法测定^[12]。

1.3.2 大豆根际微生物的测定 取大豆根际土壤进行微生物的测定。纤维分解菌采用稀释平板计数

法, 用赫奇逊氏培养基, 采用自动彩色菌落计数仪(美国 DigiCounter V₃)计数^[13]。氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、固氮菌的测定采用最大概率数(most probable number, MPN)法。培养基分别为蛋白胨培养基、改良斯蒂芬逊培养基、反硝化细菌培养基和改良阿须贝培养基^[13]。

1.4 数据处理

采用 SPSS 11.0 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 大豆叶片叶绿素含量

由表 1 可知, 大豆叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均随污水浓度的降低呈先增高后降低的趋势, 且处理间差异显著。叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素的峰值出现在浓度为 33. 3% 的污水处理, 与对照相比, 分别增加了 63. 97%、119. 27% 和 78. 03%, 说明污水浓度较低时, 有利于叶绿素的合成和农作物的生长。全污处理大豆叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量最低, 与对照相比, 分别降低了 16. 10%、10. 61% 和 15. 91%, 说明污水浓度高时, 污水中有毒有害物质对大豆叶片中叶绿体的损害程度增加, 抑制叶绿素的生成。

表 1 污水灌溉对大豆叶片叶绿素含量的影响
Table 1 Effect of sewage irrigation on chlorophyll content in soybean (mg·g⁻¹)

色素种类 Pigment species	污水浓度 Concentration of sewage				
	100%	50%	33. 3%	25%	CK
叶绿素 a Chla	0. 787 ± 0. 005 e	0. 835 ± 0. 004 d	1. 538 ± 0. 010 a	1. 315 ± 0. 027 b	0. 938 ± 0. 013 c
叶绿素 b Chl b	0. 320 ± 0. 016 e	0. 406 ± 0. 012 c	0. 785 ± 0. 012 a	0. 660 ± 0. 013 b	0. 358 ± 0. 011 d
总叶绿素 Total chl	1. 110 ± 0. 045 e	1. 250 ± 0. 075 d	2. 350 ± 0. 086 a	1. 990 ± 0. 065 b	1. 320 ± 0. 022 c

同行数据标以小写字母者表示在 0.05 水平上差异显著, 下同。
Values in the same row followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level. The same below.

2.2 大豆抗氧化酶活性

由图 1 可知, 随着污水浓度的降低, 大豆叶片 SOD、CAT 活性均呈先升后降的变化趋势, 表明在低浓度污水处理下, 大豆通过 SOD、CAT 活性增加以适应污水胁迫, 但随着浓度的增加, 其自身调节能力减弱, 对 SOD、CAT 激活作用不明显, 进而产生抑制作用。各处理间的 SOD 活性差异显著, 大豆叶片 SOD 活性在浓度为 33. 3% 的污水处理下达最大值, 在污水浓度为 100%、50%、33. 3% 和 25% 处理下, 大豆叶片 SOD 活性分别比对照升高了 7. 14%、12. 11%、18. 64% 和 9. 56%。大豆叶片 CAT 活性在 50%、33. 3% 污水处理下与对照有显著性差异, 在 50% 的污水处理下 CAT 活性最高, 比对照提高了 30. 42%, 而大豆叶片 CAT 活性在 100% 和 25% 的

污水处理下与对照无显著差异。

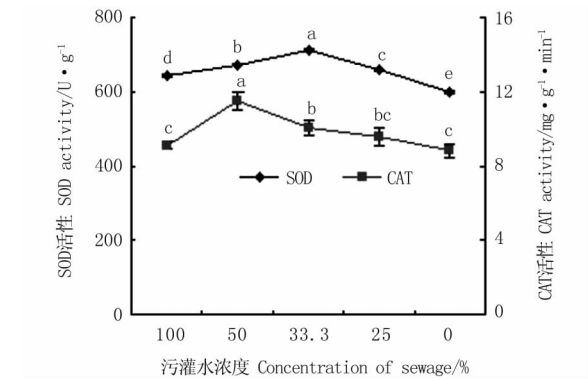


图 1 污水灌溉对大豆抗氧化酶活性的影响
Fig. 1 Effect of sewage irrigation on antioxidant enzyme activities of soybean seedling

2.3 大豆叶细胞膜透性和膜脂过氧化水平

由图 2 可知,与对照相比,污灌后大豆叶片细胞膜外渗液的相对电导率增加。浓度为 100%、50% 和 33.3% 污水处理的电导率显著高于对照,分别比对照增加了 29.29%、28.97% 和 18.37%,25% 污水处理的电导率与对照相比有所升高,但差异不显著,说明污水浓度较高时,污水中的有毒有害物质对大豆叶片细胞膜的破坏较为严重。

MDA 是膜脂过氧化的重要产物,其含量的高低是评定植物细胞膜受损害程度的指标之一^[14]。图 2 显示,随污水浓度的升高,MDA 含量呈增加趋势。100%、50%、33.3% 和 25% 的污水灌溉后,大豆叶片的 MDA 含量显著高于对照,分别为对照的 1.30、1.28、1.26 和 1.21 倍。

高浓度污水灌溉下,大豆幼苗叶片相对电导率和 MDA 含量增加,说明污水中有毒有害物质对细胞膜破坏严重,细胞膜透性增大,细胞内一些可溶性物质外渗,使细胞内酶及代谢作用原有区域遭到破坏。

2.4 大豆根际微生物生理类群数量

随污水浓度的降低,大豆根际土壤中固氮菌、

纤维素分解菌和硝化细菌的数量先升高后降低,而反硝化细菌和氨化细菌的数量则呈下降趋势(表 2)。大豆根际土壤中硝化细菌、纤维素分解菌在浓度为 50% 的污水处理时达到最大值,分别是对照的 10.71、4.03 倍,而固氮菌数量在浓度为 33.3% 的污水处理下达到最大,是对照的 3.75 倍。全污水灌溉时,根际土壤中反硝化细菌、氨化细菌的数量达到最大,分别是对照的 2.61、4.22 倍。可见,高浓度的污水抑制纤维素分解菌、固氮菌和硝化细菌的生长,刺激反硝化细菌和氨化细菌的生长。

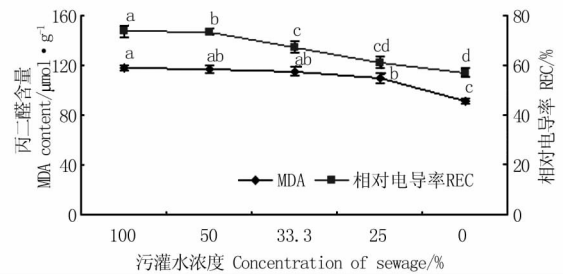


图 2 污水灌溉对大豆幼苗 MDA 含量及相对电导率的影响

Fig.2 Effect of sewage irrigation on MDA content and relative electrical conductivity of soybean seedling

表 2 污水灌溉对大豆根际微生物功能类群数量的影

Table 2 Effect of sewage irrigation with different concentration on microbial functional groups in soybean rhizosphere soil(× 10⁵ CFU·g⁻¹ dry soil)

微生物种类 Microbial species	污灌水浓度 Concentration of sewage				
	100%	50%	33.3%	25%	CK
纤维素分解菌 Cellulose decomposing bacteria	8.3 ± 0.16 b	13.3 ± 0.73 a	8.3 ± 0.91 b	5.0 ± 0.80 c	3.3 ± 0.61 d
固氮菌 Nitrogen-fixing bacteria	11.7 ± 0.91 e	30.0 ± 1.08 b	75.0 ± 1.10 a	23.0 ± 1.63 c	20.0 ± 0.45 d
氨化细菌 Ammonifying bacteria	35.0 ± 2.94 a	20.0 ± 2.16 b	13.3 ± 1.44 c	10.0 ± 1.85 cd	8.3 ± 1.28 d
硝化细菌 Nitrifying bacteria	35.0 ± 1.96 c	75.0 ± 1.55 a	40.0 ± 2.94 b	15.0 ± 1.63 d	7.0 ± 0.91 e
反硝化细菌 Denitrifying bacteria	21.7 ± 1.16 a	13.3 ± 1.31 b	11.7 ± 1.81 bc	10.0 ± 1.07 cd	8.3 ± 0.85 d

3 讨 论

关于污水灌溉对农作物和土壤微生物影响的研究较多,但结果不一。Emongor 等^[15]研究表明,污水灌溉能提高土壤有机质含量和土壤肥力,使农作物产量增加。葛红莲等^[7]研究表明适当浓度的污水灌溉刺激小麦根际细菌、放线菌、纤维分解菌、硝化细菌、亚硝化细菌和固氮菌的生长繁殖,抑制真菌和反硝化细菌的繁殖。陈璨等^[16]研究表明,适当的污水浓度促进小麦的生长,提高抗氧化酶活

性,并促进 MDA 积累和膜透性增加。郑世英等^[17]研究表明,污水灌溉对小麦种子萌发及光合能力有抑制作用。本研究结果表明,低浓度污水处理可以增加大豆的叶绿素含量,激活大豆幼苗叶片抗氧化酶活性,增强大豆的抗逆性。随污水浓度的增加,大豆幼苗叶片叶绿素含量、SOD 和 CAT 活性均呈先增高后降低的趋势。污水浓度升高到一定程度时,抗氧化酶活性降低,污水中的有毒有害成分对细胞膜的损害加强。污水灌溉对大豆根际微生物功能类群的生长影响明显。高浓度的污水刺激根际土

壤中反硝化细菌和氨化细菌的生长,抑制固氮菌、纤维分解菌和硝化细菌的繁殖。随污水浓度的降低,固氮菌、纤维分解菌和硝化细菌的数量呈先升后降的变化趋势,硝化细菌、纤维素分解菌的数量在 50% 的污水处理下达到最大值,而固氮菌数量在 33.3% 的污水处理下达到最大。综合考虑污水灌溉对大豆叶片的生理生化指标和根际微生物生理功能类群的影响,应采用适宜的污水浓度并选择合适的灌溉方法灌溉大豆。本试验结果表明 33.3% ~ 50.0% 的污水对大豆幼苗和根际微生物功能类群的多项指标增效作用最为明显。

参考文献

- [1] Chen Y, Wang C X, Wang Z J. Residues of source identification of persistent organic pollutants in farmland soil irrigated by effluents from biological treatment plants [J]. *Environment International*, 2005, 31(6): 778-783.
- [2] Blanchar M, Teil M J, Ollivon D, et al. Origin and distribution of polyaromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in urban effluents to waste water treatment plants of the Paris area (france) [J]. *Water Research*, 2001, 35(15): 3679-3687.
- [3] Li H, Zhang Y, Zhang C G, et al. Effect of petroleum-containing wastewater irrigation on bacterial diversities and enzymatic activities in a paddy soil irrigation area [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2005, 34: 1073-1080.
- [4] 张彦, 张慧文, 苏振成, 等. 长期重金属胁迫对农田土壤微生物生物量、活性和种群的影响 [J]. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1491-1497. (Zhang Y, Zhang H W, Su Z C, et al. Effect of long-term heavy metals stress on farm land soil microbial population biomass and activity [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(7): 1491-1497.)
- [5] 苗明升, 公华林, 郭群, 等. 污灌对绿豆生长发育及某些生理指标的影响 [J]. *山东师范大学学报(自然科学版)*, 2008, 23(2): 117-118. (Miao M S, Gong H L, Guo Q, et al. The effect of sewage irrigation on growth and development and some indexes of *Phaseolus vulgaris* L [J]. *Journal of Shangdong Normal University (Natural Science)*, 2008, 23(2): 117-118.)
- [6] 任瑞霞, 张颖, 李慧, 等. 石油污染土壤水改旱田后污染物组份及微生物群落结构变化 [J]. *应用生态学报*, 2007, 18(5): 1107-1112. (Ren R X, Zhang Y, Li H, et al. Pollutant components and microbial community structure of oil-polluted soils after converted from paddy field to upland [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(5): 1107-1112.)
- [7] 葛红莲, 陈龙, 辛琪. 污水灌溉对小麦微生物区系的影响 [J]. *作物杂志*, 2008(5): 17-19. (Ge H L, Chen L, Xin Q. Effect of sewage irrigation on soil microbial populations in wheat soil [J]. *Crops*, 2008(5): 17-19.)
- [8] 张永清, 苗果园, 张定一. 污灌胁迫对春小麦抗氧化酶活性及根系与幼苗生长的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(4): 662-665. (Zhang Y Q, Miao G Y, Zhang D Y. Effect of stress from sewage irrigation on antioxidant enzymes activity and root and seedling growth of spring wheat [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(4): 662-665.)
- [9] 葛红莲, 赵红六, 陈龙. 污水灌溉对玉米幼苗生长及其活性氧清除系统的影响 [J]. *作物杂志*, 2009(3): 24-26. (Ge H L, Zhao H L, Chen L. Effect of sewage irrigation on growth and scavenging system of activated oxygen in corn seedling [J]. *Crops*, 2009(3): 24-26.)
- [10] 郑世英, 余晓帅, 王景平, 等. 污水灌溉对小麦种子萌发及光合特性的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(5): 94-96. (Deng S Y, Yu X S, Wang J P, et al. Effect of sewage irrigation on the germination and photosynthesis characteristics of wheat seed [J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2011, 39(5): 94-96.)
- [11] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2007: 35-188. (Liu P, Li M J. *Plant physiology experimental techniques* [M]. Beijing: Science Press, 2007: 35-188.)
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 261. (Li H S. *Plant physiology and biochemistry experiments: principle and technology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 261.)
- [13] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学与实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 129-143. (Yao H Y, Huang C Y. *Microbiological ecology of soil and technology* [M]. Beijing: Science Press, 2006: 129-143.)
- [14] 方允中, 郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 143-147. (Fang Y Z, Zheng Y L. *Theory and application of free radical biology* [M]. Beijing: Science Press, 2002: 143-147.)
- [15] Emongor V E, Ramolemana G M. Treated sewage effluent (water) potential to be used for horticultural production in Botswana [J]. *Physics and Chemistry of the Earth*, 2004, 29: 1101-1108.
- [16] 陈臻, 周琳, 葛红莲, 等. 污水灌溉对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响 [J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(17): 3710-3712. (Chen C, Zhou L, Ge H L, et al. Effects of sewage irrigation on antioxidant enzymes activity of wheat seedlings [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(17): 3710-3712.)
- [17] 郑世英, 余晓帅, 王景平, 等. 污水灌溉对小麦种子萌发及光合特性的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(5): 94-95. (Deng S Y, Yu X S, Wang J P, et al. Effects of sewage irrigation on the seed germination and photosynthetic characteristics of wheat [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 39(5): 94-95.)