

石油工业废水灌溉水稻土的 微生物学特性的研究

李凤珍 常士俊

(中国科学院林业土壤研究所)

土壤是各种废弃物的载体,由于土壤中存在着大量的各种各样的微生物,它们的生命活动能对各种废弃物具有一定的降解能力,在适量范围内,靠着土壤本身的这种自然净化能力,而不致造成环境的污染。

工业废水中含有各种复杂的物质,其中不仅含有对植物有效的营养成份,而且也含有各种不利于植物生长的有机和无机成份(如酚、硫化物等),因而如何利用这些有效成份,去除那些有害成份,造福人类,是一项既有理论而又有实际意义的工作。

本工作是从土壤微生物学特性来阐明,利用石油工业废水灌溉稻田时,不同灌溉定额和不同灌溉年限对水稻土壤微生物学特性的影响,以及土壤生物学活性在废水净化中的作用,为合理利用石油工业废水灌溉稻田,提供土壤微生物学方面的科学依据。

一、材料与方 法

(一) 供试土壤

1. 定额灌溉试验土壤 该土壤为草甸棕壤(采自辽宁沈抚灌区),灌溉废水已有三年。分别灌溉不同量的废水。废水的成份:全氮 10—22.5 毫克/升,全钾 14.8 毫克/升,全磷微量,挥发性酚 23.6—33.1 毫克/升,不挥发性酚 6.3—19.7 毫克/升,硫化氢 37.6—51.4 毫克/升。废水灌溉定额是以全年灌溉水中所含总氮量折合成每亩灌入多少硫酸铵为标准,分别为 32 斤、54 斤、85 斤、124 斤、161

斤。

2. 不同灌溉年限试验土壤 该土壤为草甸棕壤。灌溉年限分别为 1 年,9 年,12 年。

(二) 分析项目及方法^[1]

1. 微生物数量测定 细菌数用肉汁蛋白胨平板法,芽孢细菌数采用经巴斯德灭菌后用肉汁蛋白胨加麦芽汁平板法,真菌数用酸性麦芽汁平板法,放线菌数用淀粉铵平板法。

酚细菌数用平板法,固氮菌数用瓦克斯曼 77 号平板法,纤维素分解菌数用赫奇逊平板法,硫化细菌数用低亚硫酸盐稀释法,硝化细菌数用改良的斯蒂芬逊氏稀释法。

2. 生化作用强度的测定 呼吸作用强度用碱吸收法,纤维素分解作用用埋布片法,氨化作用强度用土壤培养法,固氮作用强度用溶液培养法,分解酚的作用用溶液培养法和土壤培养法同时进行。

3. 土壤酶活性的测定 蛋白酶用精胶分解法,转化酶用蔗糖还原法,接触酶用滴定法,脱氢酶用 TTC 还原法,多酚氧化酶和过氧化物酶用比色法。

二、结果与讨论

(一) 废水灌区水稻土壤的微生物学特征

从我们对废水灌区水稻土壤的微生物学分析资料来看(表 1)。可以把微生物类群分为两类,一类是明显受抑制的类型,如真菌,硝化菌,固氮菌,它们随着废水灌溉定额的增

表 1 不同废水灌溉定额对土壤微生物的影响(万个/1 克干土)(一年平均资料)

灌溉定额 (折合硫酸铵/亩)	微生物 总数	氨化细菌	芽孢杆菌	真菌	放线菌	酚细菌	纤维素 分解菌	硝化 细菌	硫化 细菌
32	898	883	61	0.37	15.7	181	7.4	0.9	2.8
54	189,540	189,512	62	0.27	27.9	1,248	8.7	0.53	7.3
85	>189,540	>189,512	74	0.23	34.8	>1,248	11.3	0.05	37.9
124	1,297	1,270	105	0.19	24.8	170	10.1	0.03	22.1
161	562	544	88	0.26	16.8	83	9.4	0.15	13.2

高而数量减少;另一类是不受抑制的类型,如氨化细菌,纤维素分解菌,芽孢杆菌和放线菌等,在适宜的灌溉定额下,废水能刺激它们的生长,只是在废水灌溉定额过高时才呈现出抑制作用. 由于灌溉废水,灌区土壤也出现了适应于废水这一特定环境,即无机氮、酚和硫含量较高的土壤微生物群——分解酚的细菌和氧化硫的细菌. 由于它们的存在与发育,对废水灌区水稻的正常生长和有效利用废水中的营养元素,创造了有利条件.

废水灌溉不仅对微生物数量有明显的影 响,同时也表现出对某些微生物组成有相应的影 响,例如,在定额低于 124 斤时水稻土中的芽孢杆菌有随着废水灌溉定额增高而增高的趋势,这种现象的出现可以由某些芽孢菌

的生理特性加以解释^[2]. 可能由于某些芽孢杆菌,如 *Bac. megatherium*, *Bac. idosus*, *Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis* 能很好的利用无机氮作为氮源,废水中含有较丰富的可给态氮,因此,对它们有刺激作用.

其次,废水灌溉对典型固氮菌有明显的抑制作用. 分析表明,清水灌溉的对照土壤中固氮菌数约为 500—10,000 个/1 克干土,而灌溉废水后的土壤中则很难发现它们. 看来,废水对固氮菌的影响也可能是由于废水中无机氮含量高所致.

(二) 不同废水灌溉定额对土壤生化作用强度的影响

废水灌溉对土壤微生物生化强度也有一定的影响. 从表 2 数据明显看出,可以作为

表 2 不同废水灌溉定额对土壤生化作用强度的影响(一年平均资料)

灌溉定额 (折合硫酸铵 斤/亩)	呼吸强度 CO ₂ (毫克/100 克土/ 24 小时)	纤维素分解作用 (%)	氨化作用 NH ₃ -N (毫克/100 克土)	硝化作用 (%)	固氮作用 (毫克 N/ 1 克糖)	分解酚的强度 (毫克/1 克土/ 24 小时)
32	2.18	9.3	9.2	9.0	9.4	1.5
54	3.81	12.1	9.0	11.1	9.7	4.5
85	—	—	9.7	12.4	9.8	9.0
124	4.32	18.0	9.2	8.1	10.0	11.0
161	3.07	8.3	9.7	—	10.9	3.0

土壤总生物活性指标的土壤呼吸强度和纤维素分解作用,它们均随着废水灌溉定额增高而增高,超过一定的定额时则开始下降. 其次,由于废水中含有较高量的无机氮,因而废水灌区土壤中的氨化作用强度,在不同废水灌溉定额中差异并不明显. 这说明了在含无机氮较高的废水灌溉土壤中,有机氮的转化

并不是主要的,而占主要的可能是无机氮的转化. 由于土壤长期蓄水,硝化菌群受到一定程度的抑制,硝化作用强度虽有差异,但一般都较弱.

必须指出,在废水灌区土壤中,虽然很难发现典型的自生固氮菌,但其固氮作用强度则并没有受到抑制(表 2). 根据前人的研

究^[3,4]，稻田土中固氮作用是由许多种微生物来实现的，如红极毛杆菌属 (*Rhodopseudomonas*) 等，当与其他微生物群共存时能较有效的固定氮。因此，废水灌溉对土壤固氮作用的有利影响是否与这些微生物的活动相关，值得进一步探讨。

(三) 不同废水灌溉定额对土壤酶活性的影响

微生物在土壤中所引起的各种生物化学过程，主要是借助于它们所产生的酶来实现。因此，通过土壤酶活性的分析配合其他指标，可以更正确地说明一种措施对土壤的影响。从表 3 明显看出，与氮转化相关的酶系，蛋白酶活性有随着灌溉定额的增加而有减弱的趋势(在低定额时有刺激作用)。这说明了土壤中含氮的有机物转化受着一定程度的抑制。蛋白酶活性的降低，不仅与土壤中含氮有机物的含量较少相关，同时也与废水灌溉土壤，可能是由于利用有机氮的芽孢杆菌 (*Bac. mycoides*) 受废水抑制相关。土壤中蛋白酶的活性降低也进一步影响土壤的氨化作用。

在灌区土壤中形成了与废水灌溉相适应的多酚氧化酶系。在适量的灌溉定额下(124

表 3 不同废水灌溉定额对土壤酶活性的影响 (%) (一年平均资料)

灌溉定额 (折合硫酸 斤/亩)	蛋白酶	转化酶	接触酶	多酚氧 化酶	过氧化 物酶	脱氢酶
32	100	100	100	100	100	100
54	113	86.4	89	101	93.4	71
85	87	96.0	87	104	85.9	62
124	82	102.0	120	130	87.9	55
161	75	78	87	127	78.5	76

斤以下)，它的活性随着灌溉定额的增加而加强，但在超过这一定额时，多酚氧化酶有逐渐下降的趋势。另一方面，从土壤对酚的分解能力来看(表 2)，也是随着灌溉定额增高而加强，在较高定额时(161 斤)也有抑制作用。因此，可以认为土壤中酚类化合物的氧化降解酶系的作用，可能是废水生物去酚的主要关键。

其次，与土壤中碳转化相关的转化酶活性，废水灌溉对它们有不同程度的抑制作用。属于氧化还原的酶系，如接触酶，过氧化物酶，脱氢酶，随着灌溉定额的增加，呈现出活性较低的原因，可能与土壤蓄水所造成的特殊的氧化还原条件相关。

表 4 废水灌溉不同年限对土壤生物学活性的影响

处 理	腐殖质(%)	胡敏酸/富啡酸	微生物总数 (万个/1 克土)	酚细菌 (万个/1 克土)	硫化菌 (万个/ 1 克土)	呼吸强度 CO ₂ (毫克/ 100 克土)	纤维素分解 作用(%)
新废水灌区土壤	1.41	0.40	1,370	5.7	0	1.23	5.1
废水灌溉 9 年土壤	2.39	0.56	33,910	6.3	0.12	1.83	5.4
废水灌溉 12 年土壤	2.56	0.87	13,890	10.0	1.58	2.28	7.1

处 理	氨化作用 NH ₃ -N (毫克/ 100 克土)	固氮作用 (毫克 N/ 1 克土)	多酚氧化酶 (没食子素 毫克/10 克土)	过氧化物酶 (没食子素 毫克/10 克土)	接触酶 (0.1 NKMoO ₄ 消耗量 毫升/10 克土)	转化酶 (还原糖 毫克/10 克土)	蛋白酶 (NH ₂ -N 毫克/ 100 克土)
新废水灌区土壤	0.89	9.2	11.3	7.7	17.4	147.0	23.5
废水灌溉 9 年土壤	0.85	7.7	17.6	18.1	20.1	115.9	31.1
废水灌溉 12 年土壤	0.45	10.2	14.8	12.8	17.1	114.3	28.9

(四) 长期灌溉废水对水稻土壤生物活性的影响

从新老废水灌区土壤生物学活性的分析资料来看(表 4), 适量的废水灌溉对土壤生物活性的影响, 是朝着对作物生长有利的方向发展。灌溉废水促使与其相适应的酚细菌, 硫化菌和多酚氧化酶系的生长。这些微生物在土壤中积极活动才使得酚、硫不可能在土壤中大量的积累。如以酚为例, 每年进入土壤溶液中的酚为 11 毫克/升, 但经过 12 年的连续灌溉, 每年累积量仅为 0.33 毫克/升, 对土壤性质和作物生长不产生毒害, 因而水稻获得增产。盆栽试验结果也证明, 水稻的生长情况是: 用废水灌溉比清水灌溉显著要好, 即使是废水灌溉年限长(12 年)的土壤也一样。废水灌溉的处理, 地上部分的干物质重一般比清水灌溉的增加 60—110%, 籽实重增加 72—135%。

长期适量灌溉废水对水稻获得稳产, 以及对土壤没有呈现有害的影响, 单从生物去酚和废水供应氮素营养来解释是不够的。据报道^[5,6], 酚的分解过程可以按下列假设图式进行: 酚→儿茶酚→邻位苯醌→1, 2, 5-三羟基苯→5 羟基-邻位苯醌→β-己酮二酸→琥珀酸+乙酸→CO₂+H₂O。

从这图式来看, 酚的生物氧化分解过程是相当复杂的, 它的作用也是多方面的。从它们所形成的一系列中间产物来看, 所形成的醌类可以作为合成土壤腐殖质的来源, 同时, 所形成的其他有机酸盐类又是微生物代谢的能源。微生物进一步积极活动必然影响土壤及植物生长。长期灌溉废水, 土壤腐殖质含量以及活性胡敏酸与活性富啡酸之比增加, 土壤中蛋白酶的活性增加, 转化酶的活性减少以及丰富的氮源, 这一切都说明朝着腐殖质累积的方向发展的可能(见表 4)。

(五) 酚细菌与多酚氧化酶在废水灌溉土壤中的去酚作用

为了更进一步阐明酚细菌在土壤中的去

酚作用, 除了田间试验外, 我们还进行了试验室的补充试验, 对废水灌溉土壤的酚细菌及其多酚氧化酶的活性进行了研究。

在废水灌溉的土壤中, 存在着大量的分解酚的微生物群。在这些分解酚的微生物中, 真菌和放线菌含量较少, 主要为细菌(表 5)。这些对酚起作用的细菌, 有利用有机氮作为氮源的酚细菌, 也有利用无机氮作为氮源的酚细菌。在有机氮培养基上出现两种类型: 一种是表面光滑, 半透明浅黄色小菌落(直径 1 毫米左右), 具有弱荧光; 一种是表面光滑, 平薄, 无色具有天蓝色荧光, 菌落大小

表 5 废水灌区土壤中分解酚的微生物
(万个/毫升)

处 理	细 菌			真 菌	放 线 菌
	牛肉汁蛋白 胨平板	有机氮+酚 (0.05%) 平 板	无机氮+酚 (0.05%) 平 板		
32 斤灌溉 定额的土壤	25,200	5,390	1,780	0.04	0.24

注: 将土壤悬浮液接入含酚(0.022%)的液体培养基中培养 72 小时后测定。

为直径 1 毫米左右。在无机氮培养基上只出现一种类型, 表面光滑、平薄, 具有天蓝色荧光, 菌落大小为直径 1 毫米左右。其中以在培养基上形态较小, 并且产生蓝色荧光的菌落占优势, 可以初步认为是假单孢菌属(*Pseudomonas*)。前人的研究证明^[5], 假单孢菌属的细菌对各种酚类化合物, 如焦儿苯酚, 焦性没食子酸, 间苯二酚, 对苯二酚, 间苯三酚, 儿茶酚等起作用。废水的生物净化是一个复杂问题, 这些分解酚的微生物在废水灌溉土壤中的作用如何, 它们对各种酚的适应作用又如何, 均值得进一步研究。

但是, 分解酚的细菌并不能够经受高量的酚, 田间试验材料证明(表 1), 当废水灌溉定额超过 124 斤时, 对酚细菌则起着抑制作用, 实验室的结果也证明了这一点(图 1)。当

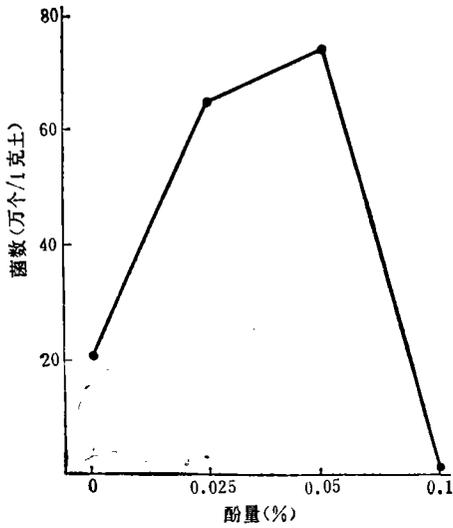


图 1 添加不同酚量对土壤中酚细菌的影响

废水灌溉定额为 32 斤的土壤中添加少量的酚(低于 0.05%)时,酚细菌数则随着添加的酚量而增高.当酚量超过 0.05% 时,酚细菌则受到明显的抑制.含酚的废水灌溉土壤,除了多酚氧化酶的活性和土壤对酚的分解能力与废水灌溉定额紧密相关外(表 2, 表 3),而且在分解酚的速度上也表现出明显的差异(表 6).其中以灌溉定额为 124 斤的土壤,分解酚的速度最快,29 小时内分解酚的量达加入量的 43.2%,至 48 小时已将全部加入的酚量分解完.其次为 85 斤定额和 54 斤定额的土壤,分解最慢的为 32 斤定额的土壤,当培养 29 小时才开始对酚起作用,到 48 小时分解酚的量还不到加入量的一半,只达 41%.此外,对废水灌溉定额高的土壤(161 斤定额)对酚的分解速度也有减缓的现象.

另一组试验(表 7)是将土壤(32 斤定额)添加适量的酚(0.05%)进行培养,待酚几乎完全消失后(72 小时),再加入抑制量的酚(0.2%).可以看出,先经过少量酚处理的土壤能适应于较高酚的浓度,同时,它们分解酚的能力也大大地增加.如没有预先经过酚处理的土壤,在 48 小时分解酚的量为 25 毫克/100 克土,72 小时为 39.5 毫克/100 克土;而

表 6 不同废水灌溉定额的土壤中酚细菌对酚分解能力的比较(液体培养,酚的消失量%)

灌溉定额 (斤/亩)	培养时间 (小时)							
	0	12	20	24	29	36	42	48
32	0	0	0	0	9.9	13.6	40.9	40.9
54	0	0	2.3	7.0	11.6	16.3	86.0	95.0
85	0	4.5	4.5	13.6	18.2	27.3	72.7	95.0
124	0	0	11.4	15.9	43.2	43.2	100	—
161	0	2.2	4.5	4.5	13.4	22.7	50	90.9

经酚处理过的土壤,在 48 小时分解酚的量则为 38 毫克/100 克土,72 小时则为 62.5 毫克/100 克土.这都说明了适量废水灌溉不致引起土壤中酚累积的原因.但是必须指出,如果酚的浓度过大,由于土壤对酚的分解能力有一定的限度,结果将延长酚的分解时间,并导致酚在土壤中的累积.

表 7 土壤对酚分解的适应作用
(每 100 克土分解酚的毫克数)

处 理	时间(小时)		
	24	48	72
原始土壤(32 斤定额) 加入 0.05% 酚	21.5	25.0	39.5
前处理土壤,当酚分解完后 (72 小时),再加入 0.2% 酚	15.0	38.0	62.5

三、结 论

1. 利用石油废水(为主)灌溉的水稻田中,具有不同于一般水稻土壤的生物学特性.在废水灌区的稻田土壤中,存在着适应于废水灌溉条件的微生物群,土壤酶系等.由于它们的存在及其积极活动,在一定条件下能消除石油废水中酚和硫的有害影响.

2. 土壤中含酚有毒物质的生物净化作用,主要是在酚细菌及其多酚氧化酶系的参与下进行的.它们在土壤中的活性,不仅随着废水灌溉定额的不同而不同,同时,它们对酚的分解速度也随着灌溉定额的不同而不

同。其中以 124 斤定额为最高,当定额增高至 161 斤时也有抑制的影响。土壤中酚细菌的耐酚量可达 0.05%。其次,土壤中酚细菌及其多酚氧化酶系对酚类有一定的适应作用。因此,长期适量灌溉废水时,土壤中不致有大量的酚积累。

3. 利用含酚废水灌溉水稻田,它对水稻的增产作用是多方面的。可能与生物去酚以及以废水供给水稻以氮素营养有关,同时也可能与废水中含酚化合物在生物氧化过程中所形成的中间产物刺激微生物生长,提高土壤肥力相关。

参 考 文 献

[1] 中国科学院林业土壤研究所微生物室,土壤微生物

- 分析方法手册, 65—72 页, 科学出版社, 1960.
- [2] 米舒斯金 E. H., 土壤微生物和土壤肥力, 115—122 页, 科学出版社, 1959.
- [3] Okuda, A., M. Yamaguchi and M. Kobayashi, *Soil and Plant Food*, 6(1), 35—39 (1960).
- [4] Watanabe, I., K. K. Lee, "Non-symbiotic nitrogen fixation in rice and rice fields" in *Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics*, A. Ayanba, P. I. Dart Eds. pp. 289—305, John Wiley and Sons, New York, 1975.
- [5] Stanier, R. Y. and L. N. Ornston, *Adv. Microbial Physiology*, 9, 89—151 (1973).
- [6] Dagley, S., "The microbial metabolism of phenolics", in *Soil Biochemistry*, A. D. McLaren and G. H. Peterson Eds. pp. 287—317, Marcel Dekker, New York, 1967.

污泥中重金属对土壤的污染及控制途径*

杨居荣 王素芬 金玉华

(北京师范大学地理系)

本文以北京高碑店污水处理厂污泥为试验材料,通过掩埋污泥的小区试验,混合金属溶液淋溶土壤柱试验以及污泥中重金属的形态分析,研究污泥中重金属的存在形态、发酵处理后重金属的形态变化及重金属在土壤中的动态分布等,为控制污泥中重金属对土壤的污染提供依据,并探索检验污泥重金属污染程度的方法,以便提出处理利用污泥的意见。

一、试验方法

(一) 掩埋污泥试验

试验小区设于本校林圃,面积为 30×30 厘米,将干燥污泥埋于土层 15 厘米下,掩埋 60 天后,分别测定污泥及下层土壤中重金属含量。

(二) 污泥中重金属形态分析

为研究污泥中有效态重金属含量,进行了水、0.5 NHCl、0.05 MEDTA 浸提金属测定。将过 0.8 毫米筛的风干污泥,在 25℃±1 条件下,以水土比为 10:1 的比例,振荡浸提 1.5 小时,经 4000 转/分的速度离心分离,测定离心液中重金属浓度。

(三) 土壤柱淋溶试验

为进一步研究污泥中金属进入土壤后的动态分布,进行了金属溶液淋溶土壤柱试验。试验土壤为草甸褐土(取自北京高碑店公社,简称褐土 B)。为模拟土壤自然层次,选取师大校园内草甸褐土(简称褐土 A),0—2 米土层,分五层装入土柱。土柱长 50 厘米,直径

* 本项工作得到王华东副教授的指导,在此深表谢意。