

# 微生物在水葫芦资源化利用中的应用研究综述

宁华, 涂卫国, 王琼瑶 (四川省自然资源科学研究院, 四川成都 610015)

**摘要** 对水葫芦资源化利用中微生物的应用研究进行归纳和评述, 并对如何进一步提高微生物作用效率进行探讨, 以期为进一步开展水葫芦的资源化利用工作提供参考。

**关键词** 水葫芦; 微生物; 资源化利用

**中图分类号** S182 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)18-007-04

## Research Review on Application of Microorganism in Resources Utilization of Water Hyacinth

NING Hua, TU Wei-guo, WANG Qiong-yao (Sichuan Provincial Institute of Nature Resource Science, Chengdu, Sichuan 610015)

**Abstract** Studies on application of microorganism in resources utilization of water hyacinth were reviewed, the way to enhance the efficiency of microorganisms was discussed, so as to provide reference for resources utilization of water hyacinth.

**Key words** Water hyacinth; Microorganism; Resources utilization

水葫芦(Water hyacinth), 学名凤眼莲[*Eichhornia crassipes* (Martius)], 为雨久花科凤眼莲属, 是一种源自南美洲的水生漂浮草本植物<sup>[1]</sup>。水葫芦因具有极强的耐污能力、繁殖力和生命力, 在世界范围内众多的江河湖泊泛滥, 现已成为危害最严重的水生植物之一。由于我国城市化和工业化的快速发展导致内河内湖水体富营养化加剧, 水葫芦在富营养化水体中适应并生长, 已在我国多个省(市、自治区)泛滥成灾。泛滥成灾的水葫芦也蕴藏着巨大的生物资源, 如何有效地利用和开发水葫芦已引起各方重视。有研究表明水葫芦可用于能源制造、肥料生产、饲料生产、水体净化、重金属或染料吸附剂等<sup>[2-3]</sup>。在水葫芦的资源化利用途径中微生物发挥着重要作用, 微生物与水葫芦联合应用的相关研究拓展了水葫芦的利用途径, 提高了现有水葫芦资源利用的效率。笔者对现有水葫芦资源化利用中微生物的应用研究进行归纳和评述, 以期为进一步开展水葫芦的资源化利用工作提供参考。

## 1 水葫芦的生长特性和危害

水葫芦是热带亚热带植物, 喜温, 在平均温度 10℃ 以上才能生长繁殖, 20~30℃ 最为适宜, 全年中夏季生长繁殖最快, 秋季生长放缓, 冬季休眠、叶片发枯, 春季返青<sup>[2]</sup>。水葫芦可进行无性和有性繁殖, 无性繁殖靠匍匐茎增殖, 具有极强的繁殖力, 在适宜条件下每 5 d 就能繁殖 1 株新植株, 8 个月就能繁衍成 60 万株的群体<sup>[3]</sup>。水葫芦的耐污性和抗逆性均很强, 能在氮、磷含量很高的富营养化水体中生长, 能忍耐污染水体中多种重金属元素的胁迫, 对稀土元素的积累能力也非常强<sup>[4]</sup>, 但在不同水域生长的水葫芦积累金属的能力可以相差很多倍<sup>[5-6]</sup>。在水葫芦泛滥地区, 水葫芦的疯狂生长会影响水利运输; 或是遮掩阳光, 减少溶氧, 给水体自净带来压力, 破坏生态平衡; 水葫芦也易腐烂, 释放出其所吸收的有害物质, 造成水体的二次污染。因此在水葫芦泛滥水域, 应

加强管理, 及时打捞。

## 2 水葫芦的营养成分及资源化利用方式

水葫芦含有多种营养成分和氮、磷等物质, 其生物组成成分表明其是多种途径利用的优良生物资源, 充分利用水葫芦所具有的功能和营养成分开展资源化应用可以在解决其带来的危害同时变废为宝, 在一定程度上有效解决水葫芦泛滥问题。

**2.1 能源化利用** 将水葫芦作为原料来获得生物质能是较为常见的水葫芦资源化利用方式, 根据物料性质不同, 可分为气体燃料、固体燃料和液体燃料<sup>[2]</sup>。

**2.1.1 气体燃料。**根据产气种类不同可分为厌氧产沼气和厌氧产氢两大类。水葫芦干物质含氮量平均达 2.5% 以上, 且碳氮比为 15:1~25:1, 其碳氮比对于厌氧发酵制备甲烷十分适宜<sup>[7]</sup>。同时, 水葫芦中含有大量的粗纤维、蛋白质和各种氨基酸, 也可以作为微生物发酵制氢的底料。

**2.1.2 液体燃料。**水葫芦含有丰富的木质纤维素, 其中纤维素含量为 23.99%, 半纤维素含量为 25.98%<sup>[8]</sup>, 可将其纤维素转化成葡萄糖, 半纤维素转化为木糖, 通过葡萄糖和木糖发酵酒精作为液体燃料。

**2.1.3 固体燃料。**可采用固化成型技术将水葫芦压缩制成颗粒燃料<sup>[9]</sup>。

**2.2 肥料与饲料利用** 水葫芦含有十分丰富的营养成分, 包括粗蛋白、粗纤维、粗脂肪、无氮浸出物以及氨基酸、维生素 C、胡萝卜素和微量元素等<sup>[10]</sup>, 这些营养元素是植株生长所必需的, 因此可作为有机肥生产原料, 同时也可通过加工用作饲料利用。

**2.3 环保利用** 水葫芦能从水体中吸收大量氮、磷、钾等营养物质, 还能降低污水中镉、铅、汞、铊、银、钴、铟等重金属元素的浓度<sup>[2]</sup>, 具有极强的水体污染修复能力, 在生物净化水体领域受到国内外关注。

**2.4 其他利用方式** 水葫芦在造纸、药用、食用、编织品、吸附剂等方面也有相关的应用。

## 3 微生物在水葫芦资源化利用中的应用

微生物在水葫芦的资源化利用中发挥了重要作用, 在水

**基金项目** 四川省科技厅科技计划项目(2013SZ0186, 2013SZZ020)。  
**作者简介** 宁华(1983-), 女, 四川成都人, 助理研究员, 硕士, 从事资源与环境微生物研究。

**收稿日期** 2016-05-11

葫芦各种资源化利用途径中均有微生物的应用研究。

**3.1 制备燃料乙醇** 通过微生物发酵水葫芦制备燃料酒精是水葫芦资源化利用的途径之一。微生物通过利用水葫芦中的纤维素作为碳水化合物原料,水解和发酵制取燃料乙醇,但只能利用纤维素转化后的还原糖,故原料预处理是纤维素制生物酒精的关键因素。众多研究探索了不同的水葫芦预处理方式对微生物发酵乙醇的影响,如: Sowndarya 等<sup>[11]</sup>在发酵前将水葫芦经过稀酸和  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  等诱导剂预处理; Mishima 等<sup>[12]</sup> 用  $\text{NaOH}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  对水葫芦粉末进行了预处理; Ma 等<sup>[13]</sup> 联合酸处理和白腐菌对水葫芦进行预处理;程军等<sup>[8]</sup>、俞聪<sup>[14]</sup> 首次提出了微波对水葫芦酶解糖化的促进机理,将水葫芦经过高压微波稀酸预处理。以上研究均取得了比预处理前更好的产乙醇效果,证实了水葫芦经过预处理后更便于微生物发酵产乙醇。以上研究所采用的菌株有重组运动发酵单胞菌 CP4 (*Zymomonas mobilis* CP4)、重组大肠杆菌 KO11 (*Escherichia coli* KO11)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、嗜鞣管囊酵母 (*Pachysolen tannophilus*)、树干毕赤酵母 (*Pichia stipitis*) 等。对于发酵菌株, Manivannan 等<sup>[15]</sup> 比较了嗜鞣管囊酵母、中间假丝酵母 (*Candida intermedia*)、树干毕赤酵母及酿酒酵母的产乙醇率,结果发现嗜鞣管囊酵母的产乙醇率最高,其次是树干毕赤酵母和中间假丝酵母。但理想的发酵菌株应能有效利用水葫芦纤维素物质水解后的还原糖(包括五碳糖和六碳糖),并对发酵副产物具有很好的抗性。刘茂玲<sup>[16]</sup> 通过试验筛选出善于利用五碳糖的树干毕赤酵母 CICC1960 和善于利用六碳糖的嗜鞣管囊酵母 CICC1770 用作发酵菌株,再利用水葫芦微波稀酸水解液驯化混合酵母菌群,结果表明驯化细菌显著提高了水葫芦的发酵产乙醇能力,乙醇最高产量可达 0.221 5 g/g,达到理论值的 76.3%,分析认为经过驯化后的菌株一方面对水葫芦有更好的适应性,另一方面对水解液中很多发酵抑制物具有了更高的耐受力。

**3.2 发酵制备沼气** 水葫芦发酵产沼气是水葫芦资源化利用的主要用途,国内外针对以水葫芦为底物厌氧发酵产沼气开展了大量研究。微生物在厌氧发酵产沼气系统中发挥了重要作用,在一定的水分、温度、pH、有机物浓度、厌氧条件下,微生物分解代谢有机物,产甲烷菌获得能量和物质,产生甲烷。在水葫芦产沼气的实际运用中,通常将水葫芦与一些挥发性固体含量较高的有机废物混合发酵,如新鲜牛粪、猪粪、老沼气池的沼渣、腐败河泥或城市污水处理厂的消化污泥等。有机废物可为水葫芦发酵提供更多微生物数量、更丰富的生物多样性以及更多的养分,可增加水葫芦的产气量与产气效率<sup>[17]</sup>。同时因水葫芦的木质素含量较高,影响了水葫芦发酵的生物产气量。有研究表明在水葫芦发酵产沼气系统中添加纤维素降解菌可极大提高水葫芦发酵产沼气的量<sup>[18-19]</sup>。目前针对水葫芦发酵产沼气的研究主要集中在发酵技术和发酵工艺等方面,针对产气微生物的研究还较少,因此可以在微生物学方面进行更深入地研究,如尝试改造现有产甲烷菌,制备适宜水葫芦发酵产沼气的菌株或菌

剂等<sup>[7]</sup>。

**3.3 发酵制备氢气** 水葫芦可作为微生物发酵制氢的底料,微生物厌氧发酵有机物制氢的过程是通过产氢发酵细菌的生理代谢对有机物脱氢,同时平衡氧化还原过程中的剩余电子,保证代谢过程顺利进行<sup>[20]</sup>。水葫芦发酵制氢的难点主要是其纤维素含量高、糖类含量低,故针对微生物发酵水葫芦制氢的关键点是如何有效提高产气效率并降低阻碍因子。程军等<sup>[21]</sup> 以沼气池污泥和水葫芦混合作为发酵底物制氢,在未加入扩大培养的优势产氢菌株作接种物时,产氢量很少,而将取自沼气池的厌氧活性污泥煮沸 30 min,取其上清液扩大培养后得到的优势产氢菌种作为接种物后,发酵产生了大量氢气,得到的最大单位产氢量为 116.3 mL/g(TS),说明仅利用沼气池自身含有的天然混合菌株产氢效果有限,加入专门扩大培养的优势产氢菌株后能有效提高产氢量。在最新研究中, Cheng 等<sup>[22]</sup> 在利用微波、稀酸和纤维素酶对水葫芦预处理后,进一步通过活性炭脱毒去除水解产物中的阻碍因子,并通过水葫芦水解产物驯化发酵产氢细菌,提高其产氢能力,取得了较好效果,产氢量从 104.0 mL/g 上升到 134.9 mL/g(TVS),可见活性炭与驯化细菌的联合作用具有较好的产氢效果。宋文路<sup>[23]</sup> 尝试对产氢细菌进行基因改造,以产氢能力相对较强的阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae* CICC10017) 和产气肠杆菌 (*Enterobacter aerogenes* ATCC13408) 为对象,对产气促进蛋白 HPP 基因等产氢相关基因进行了过表达,提高氢酶等生物催化剂的表达水平,再对稀酸、微波、纤维素酶水解处理后的水葫芦为底物进行发酵产氢,与基因改造前对比,基因改造后的最大产氢速率和单位底物累积产氢量均明显提高,表明基因工程改造可作为提高微生物产氢能力的有效手段。

**3.4 制备有机肥料** 利用水葫芦制备肥料的途径有好氧堆肥、绿肥、沤肥等方式,其中好氧堆肥是水葫芦制备肥料的主要方式,在实际应用中通常通过加入污泥<sup>[24]</sup>、动物粪便<sup>[25]</sup> 等进行发酵。在水葫芦堆肥处理过程中微生物发挥着重要作用,微生物通过分解和利用堆料中的有机物来进行生殖和繁殖,并促进腐殖质的形成,使堆肥腐熟和稳定化,同时微生物活动产生的热量使堆肥温度升高,可以杀死堆料中的有害病菌。有研究尝试在堆肥过程中加入功能菌剂加速发酵过程,如黄东风等<sup>[26]</sup> 在堆肥过程中加入了含有纤维素分解菌剂的“快速发酵菌剂”,其加速了水葫芦的有机物料完全发酵腐熟的进程,堆肥第 4 天堆肥锥体的温度就迅速上升并达到最高温度 59℃,对照组 7 d 后才上升到最高温度 58℃。董志德等<sup>[25]</sup> 采用微生物菌制剂堆制发酵技术制备水葫芦有机肥料,并比较了 3 种微生物发酵剂的腐熟效果,结果表明腐熟效果表现为 RW 酵素剂 > 瑞莱特微生物腐熟剂 > BM 堆肥速效菌剂,所制备的肥料均达到了优质肥的标准;该研究还建议生产上大力推广应用微生物菌制剂堆制发酵技术生产水葫芦有机肥。

**3.5 制备饲料** 水葫芦营养成分含量较高,可用于制备饲料,将其作为青贮饲料时存在水葫芦木质素和纤维素含量较高、不

易降解,含水量高、保存时间短等的缺点<sup>[27]</sup>,而将破碎后水葫芦物料或水葫芦压滤液作为发酵底物,通过微生物发酵生产单细胞蛋白饲料能有效解决水葫芦高水分、高纤维、低蛋白等缺点<sup>[27]</sup>,具有更广泛的应用前景。凌嘉茵等<sup>[28]</sup>采用霉菌和酵母菌双菌协同作用的方式,在提高压滤液 COD 去除率的同时提高单细胞蛋白的产量,在发酵过程中,黑曲霉(*Aspergillus niger*)用于降解纤维素和半纤维素为酵母菌提供还原糖,产朊假丝酵母(*Candida utilis*)消耗还原糖生产单细胞蛋白,试验结果表明,当水葫芦压滤液原始 COD 值为 7 280 mg/L 时,通过双菌发酵,COD 的去除率可达 81.24%,菌体回收率达 1.97 g/L,粗蛋白含量达 39.76%。潘开宇<sup>[27]</sup>、雷宇杰等<sup>[29]</sup>的相关研究也证明与单一菌株发酵相比,将不同用途的菌株共同组合混合发酵具有更好的协同作用,可发挥不同菌株降解纤维或提高蛋白含量的特色,采用的菌株主要有生孢噬纤维菌(*Sporocytophaga*)、产朊假丝酵母、黑曲霉等。利用微生物发酵水葫芦制备蛋白饲料,可将其与其他营养配料配制成合理的饲料,这对于解决我国蛋白饲料相对缺乏的现状 & 解决水葫芦的生态防治问题均具有重要意义。

**3.6 水体净化修复** 水葫芦作为一种具有较强去污能力的水生植物,其根系微生物在污染水体修复过程中发挥了重要作用<sup>[30]</sup>,水葫芦与其根系微生物间形成了根系生态系统<sup>[31]</sup>,根系微生物不仅对污染物的降解转化起着重要作用,而且也在一定程度上增强了植物对污染环境的适应能力,从而促进植物对有机物污染物的吸收<sup>[32]</sup>。除根系微生物外,也有研究将固定化氮循环细菌(Immobilized nitrogen cycling bacteria, INCB)或 EM 菌剂(Effective microorganisms,由光合细菌、乳酸菌、芽孢杆菌、硝化细菌等多种有益菌群组成的复合微生物活性菌剂)等其他微生物与水葫芦联合作用应用于水体的净化和修复中并取得了较好效果。胡棉好等<sup>[33]</sup>将水葫芦与固定化氮循环细菌联合对富营养化水体进行原位修复研究,固定化氮循环细菌包括氨化细菌、亚硝化细菌、硝化细菌、反硝化细菌 4 个菌群,研究结果表明水葫芦-固定化氮循环细菌的联合作用对水体总氮和铵态氮的处理率分别达 77.2% 和 49.2%,相比于单独使用水葫芦存在明显差异,且更加有利于水体中叶绿素 a 和 COD<sub>Mn</sub> 的降低。许国晶等<sup>[34]</sup>将有效微生物含量为  $1.0 \times 10^{10}$  cfu/mL 的 EM 菌剂与水葫芦联合应用于养殖池塘水体净化中,水葫芦联合 EM 菌剂系统对水体中总氮、氨氮、亚硝氮、总磷、COD 的净化效果均明显优于单独使用 EM 菌剂的效果( $P < 0.05$ )。以上研究均认为水葫芦-微生物系统中,水葫芦发达的根系扩大了微生物的附着面积,为微生物提供一个良好的栖息和繁殖场所,更有利于微生物发挥水体净化作用,同时也有利于根系对污染物的吸附和过滤,从而提高了水体净化效果,表明水葫芦与适宜微生物构建的协同净化系统可作为水体净化和修复工作中的重要途径。

**3.7 发酵产漆酶** 漆酶(Laccase, EC 1.10.3.2)是一种含铜离子的氧化还原酶,因最初发现于漆树脂中而得名,漆酶属于环境友好型酶类,可催化氧化酚类及其衍生物、芳胺及

其衍生物等多种底物,近年来在环境保护、食品工业、造纸工业等方面得到了广泛应用<sup>[35-36]</sup>。水葫芦来源广泛、价格低廉,可作为发酵产漆酶的良好基质。白腐菌是漆酶的主要产生菌类<sup>[35]</sup>,已有研究将其应用于水葫芦发酵产漆酶中。王志新等<sup>[37]</sup>采用水葫芦固体发酵基本培养基对一种密孔菌属的菌株(*Pycnoporus* sp. SYBC-L1)发酵产漆酶进行了研究,该菌在发酵过程中从第 5 天起开始分泌并积累漆酶,第 9 天达到产酶高峰,且该菌只分泌漆酶,酶系较单一,研究发现漆酶活力随着水葫芦浓度的上升而明显增加,到 12.5% (W/V) 时漆酶活力达到最高,通过对培养基优化,最大酶活可达 19.17 U/g。刘文华等<sup>[36]</sup>利用毛栓菌 *Trametes hirsute* SYBC-L19 液态发酵水葫芦产漆酶,采用单因素法和响应面法对培养基和培养条件进行了优化,优化后最高酶活可达 7 784 U/L,是优化前的 17.3 倍,同时液态发酵克服了固态发酵周期长、自动化程度低、工艺参数难检测等问题。相关研究表明可利用适宜的白腐菌株发酵水葫芦产漆酶,研究结果为水葫芦发酵产漆酶提供了一定的理论和试验依据,但对于进一步开展工业化应用还需要进行更深入地研究。

**3.8 降解木质纤维素** 在水葫芦的资源化利用的相关研究中,木质纤维素结构是水葫芦资源化利用的主要瓶颈,纤维素降解菌株的应用对水葫芦资源化利用具有促进作用。能分解纤维素的菌种很多,但研究最多且酶活较高的多为真菌,相关研究也证明了部分真菌对水葫芦纤维素的降解效果较好。范晓娟等<sup>[19]</sup>研究发现黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)和糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*) 2 种白腐菌对水葫芦的木质素、纤维素、半纤维素的降解效果均较好,其中对木质素的降解效果最好,经处理后的水葫芦单位 TS 产气量得到了明显提高。同时,也有研究将关注点放在从水葫芦中筛选获得产纤维素酶的高产菌株。Kurup 等<sup>[38]</sup>从水葫芦中分离到的 3 株土著菌株 WHB3、WHB4 和 SMB3 在以水葫芦为基质的条件下均可产生纤维素酶,证实了水葫芦可作为廉价的纤维素基质用于纤维素酶的生产。Deshpande 等<sup>[39]</sup>以水葫芦作为基质研究了里氏木霉(*Trichoderma reesei*)产纤维素酶的最佳条件,结果表明在最佳条件下,15 d 后可测到最高酶活为  $(0.22 \pm 0.04)$  IU/ml。邱晔平等<sup>[40]</sup>从富含纤维素分解菌的腐烂水葫芦中筛选到透明圈直径与菌落直径的比值较高(产纤维素酶量大或纤维素酶活性强)的 4 株菌株,其中 1 株绿色木霉 D1 菌株(*Trichoderma aviride*)产纤维素酶能力较强,该菌 CMC 酶活最高为  $2.262 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mL})$ ,滤纸酶活最高为  $1.592 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mL})$ ,该酶对水葫芦的降解效果较好,14 d 降解水葫芦达 39.12%,且该菌产纤维素酶系较全,适合天然纤维素的降解。

#### 4 结论与讨论

资源化应用是水葫芦变废为宝的重要途径,微生物作为关键的“转化者”可极大提高水葫芦的资源利用率。在归纳、梳理相关研究的过程中,笔者发现结合具体的利用途径,可通过水葫芦的预处理、功能菌株的优化、工程菌株的应用等方式进一步提高微生物对水葫芦的作用效率,进而提高水葫

芦的资源化利用效率。

**4.1 水葫芦的预处理** 水葫芦的预处理方式对其资源化利用有很大影响,结合相应的预处理技术,可有效提高微生物对水葫芦的作用效率。

**4.1.1 水葫芦的选择。**水葫芦因生长环境不同,所含的营养成分相差很多,在富营养化的水体中生长的水葫芦氮、磷含量较高,而在重金属污染的水体中生长的水葫芦重金属含量较高,且主要集中在根部,从根部到茎叶重金属含量是逐级递减的<sup>[6]</sup>。所以,应根据具体情况对其进行选择和处理。如用作饲料利用时,需注意生长环境,并对水葫芦进行去根等处理后使用。研究发现利用水葫芦发酵甲烷时,其产气量和其生长水体氮、磷浓度呈显著相关性,富营养化程度高的水体中生长的水葫芦产气量更高<sup>[41]</sup>。

**4.1.2 物理、化学及生物处理。**相关研究表明,对水葫芦进行物理处理(切分、压榨等)、化学处理(酸处理、碱处理和金属离子处理等)和生物处理(酶法处理等)后可有效提高水葫芦的利用效率。但预处理应结合微生物与水葫芦的具体作用方式进行处理,如兰吉武等<sup>[42]</sup>研究发现简单切分比粉碎处理能获得更高的产气量,分析认为粉碎颗粒过小,酸化速度过快,不利于酸化反应与产甲烷反应之间的平衡,且简单切分后孔隙率更高,产气更易溢出。

**4.1.3 纤维素降解菌株的应用。**木质纤维素是水葫芦资源化利用的主要瓶颈,许多研究在水葫芦厌氧发酵产甲烷、产氢、制备肥料、制备饲料等过程中加入了纤维素降解菌株,有效提高了水葫芦利用效率。如范晓娟等<sup>[19]</sup>在利用水葫芦发酵产甲烷中,利用2种白腐菌对水葫芦进行处理,显著提高了单位TS产气量;Ma等<sup>[13]</sup>通过联合酸处理和白腐真菌降解纤维素对水葫芦进行预处理,有效提高了纤维素酶水解效率,经发酵后乙醇产量提高了1.13~2.11倍。

**4.2 功能菌株的优化** 对于试验获得的可应用于水葫芦资源化利用中的微生物功能菌株,可通过物理或化学等方法对菌株进行优化处理,从而选育或驯化出具有更高效率的菌株,如刘茂玲<sup>[16]</sup>、Cheng等<sup>[22]</sup>利用水葫芦微波稀酸水解液对功能菌株进行了驯化,显著提高了水葫芦发酵产乙醇和产氢能力。

**4.3 基因工程菌株的应用** 目前在水葫芦的资源化利用方面对工程菌株的使用还较少,可尝试通过基因工程操作构建工程菌株或改造功能菌株,并将其应用于水葫芦资源化利用中。Mishima等<sup>[12]</sup>采用的重组大肠杆菌KO11菌株是通过植入运动单胞菌中的丙酮酸脱氢酶和醇脱氢酶来增强发酵产乙醇量;宋文路<sup>[23]</sup>通过对功能菌株产氢相关基因的过表达来增强发酵水葫芦产氢效果,均取得了较好效果。在木质纤维素的乙醇发酵领域,利用基因工程的方法来改造发酵菌株是近年来的研究热点,有研究构建出能同时利用葡萄糖和木糖生产乙醇的工程菌株,也可尝试将该类菌株运用到利用水葫芦发酵乙醇中。

**4.4 菌剂的开发应用** 已有研究将适用菌剂应用在水葫芦的资源化利用中,如在利用水葫芦制备有机肥时应用微生物

发酵菌剂取得了较好效果<sup>[25-26]</sup>,应用EM菌剂在利用水葫芦开展水体净化时也取得了较好效果<sup>[34]</sup>。可尝试在有机肥制备、木质纤维素降解、水体净化修复、饲料制备等领域根据实际需求筛选并组合微生物菌株,开发适应性强且高效的适用菌剂,从而进一步提高水葫芦的资源化利用效率。

**4.5 微生物应用环境的优化** 微生物生态环境对于微生物的应用具有重要的影响,可采用分子生物学手段等进一步研究微生物与水葫芦相互作用的微生物生态,全面认识微生物应用环境,如群落结构、适应机制、演替规律等,全面解析微生物的代谢能力,从而构建高效的植物、微生物耦合系统。如在水体净化应用中,可进一步研究水葫芦根系与微生物的相互作用关系,从而更利于功能菌的筛选和微生物在植物根际定殖条件的优化。

## 参考文献

- [1] BOLENZ S, OMRAN H, GIERSCHNER K. Treatment of water hyacinth tissue to obtain useful products [J]. *Biological wastes*, 1990, 33(4): 263-274.
- [2] 张映兰, 邓玉诚, 张无致, 等. 湿地水生植物水葫芦的资源化利用研究[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(7): 3092-3095.
- [3] 朱磊, 胡国梁, 卢剑波, 等. 水葫芦的资源化利用[J]. *浙江农业科学*, 2006(4): 460-463.
- [4] KAY S H, HALLER W T, GARRARD L A. Effects of heavy metal on water hyacinths [J]. *Aquatic toxicology*, 1984, 5(2): 117-128.
- [5] 余国营, 张晓华, 梁小民, 等. 滇池水-植物系统金属元素的分布特征和相关性研究[J]. *水生生物学报*, 2000, 24(2): 172-176.
- [6] 达良俊, 陈鸣, 凤眼莲不同部位对重金属的吸收、吸附作用研究[J]. *上海环境科学*, 2003, 22(11): 765-767.
- [7] 何加敏, 严少华, 叶小梅, 等. 水葫芦厌氧发酵产沼气技术研究进展[J]. *江苏农业学报*, 2008, 24(3): 359-362.
- [8] 程军, 俞聪, 宋文路, 等. 微光波对水葫芦水解糖化的促进机理研究[J]. *浙江大学学报(工学版)*, 2009(7): 1337-1343.
- [9] 吴创之, 马隆龙. 生物质能现代化利用技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 82.
- [10] 余有成. 水葫芦的营养成分及青贮方法[J]. *畜产研究*, 1988(2): 38-41.
- [11] SOWNDARYA R, BAKYALAKSHSHMI K S, SOWNDHARYALAKSHMI C, et al. Effect of inducer in ethanol production using recombination bacterial strain *zymomonas mobilis* CP4 [J]. *International journal of chemtech research*, 2012, 4: 1754-1757.
- [12] MISHIMA D, KUNIKI M, SEI K, et al. Ethanol production from candidate energy crop: Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) [J]. *Bioresource technology*, 2008, 99(7): 2495-2500.
- [13] MA F Y, YANG NA, XU C, et al. Combination of biological pretreatment with mild acid pretreatment for enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth [J]. *Bioresource technology*, 2010, 101(24): 9600-9604.
- [14] 俞聪. 水葫芦微波水解和发酵制取燃料酒精的机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [15] MANIVANNAN A, NARENDHIRAKANNAN R T. Bioethanol production from aquatic weed water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) by yeast fermentation [J]. *Waste and biomass valorization*, 2015, 6(2): 209-216.
- [16] 刘茂玲. 驯化酵母菌发酵水葫芦和微藻生物质剂制取燃料乙醇研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [17] KUMAR S. Studies on efficiencies of biogas production in anaerobic digesters using water hyacinth and night-soil alone as well as in combination [J]. *Asian journal of chemistry*, 2005, 17(2): 934-938.
- [18] 杨晓瑞, 梁金花, 徐文龙, 等. D1菌株预处理水葫芦单相厌氧发酵连续产沼气试验[J]. *环境工程*, 2014, 32(2): 143-147.
- [19] 范晓娟, 朱红梅, 韩士群, 等. 白腐菌对水葫芦木质纤维素的降解及对厌氧发酵的影响[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(5): 1043-1050.
- [20] 任南琪, 王宝贞. 有机废水处理制氢技术[J]. *中国环境科学*, 1994, 14(6): 411-415.

不能淹没苗心。插秧后 3~5 d 追施尿素 120~150 kg/hm<sup>2</sup>、硫酸锌 7.5 kg/hm<sup>2</sup> 作为返青肥,促进心叶快速生长。白天不能脱水,保持每天早晨定时添灌新水,以降低田间盐度,促进秧苗早日返青。

**5.2.2 分蘖期。**插秧后 7~9 d 秧苗返青进入分蘖期。为了促进米草稻分蘖,秧田需保持 1~3 cm 浅水层,保持每天早晨定时添灌新水,并且每 5~7 d 换 1 次水。足苗后可适当晾田,但不能超过 2 d。插秧后 10~12 d 施第 1 次分蘖肥,施尿素 120~150 kg/hm<sup>2</sup>。之后每隔 1 周追施 1 次,共施 3 次分蘖肥,促进水稻早生快发,提高分蘖成穗率。

**5.2.3 拔节孕穗期。**米草稻进入拔节期以后,由于前期灌溉田间盐度已降低,此时田间盐分对米草稻已没有太大的影响。因此,秧田水浆管理应为干干湿湿,以湿为主。即灌 1 次水,落 1 次干,反复进行。这样,既可保证米草稻对水分的需要,同时又可保持土壤的通气性,从而提高米草稻的根系活力和抗病抗倒能力。拔节孕穗肥一般是在基部第 1、第 2 节间已伸长,第 3 节间刚开始伸长时追施氮肥。此时需根据水稻叶色深浅、脱肥轻重确定追肥数量。若叶色浅,脱肥重,可施尿素 135~150 kg/hm<sup>2</sup>;若叶色深,没有褪淡,可施尿素 75~90 kg/hm<sup>2</sup>;一般情况下施尿素 110 kg/hm<sup>2</sup> 左右即可。

**5.2.4 抽穗灌浆期。**沿海滩涂种植米草稻后期水浆管理需特别注意的是不能断水,否则容易造成地表返盐和水稻植株早衰枯死,会对产量造成较大影响。因此,米草稻灌浆期田间灌溉方式应为间歇性灌水,但不能断水,直至收割前 1 周方可停止灌水,以便于收割。灌浆期可根据叶色适当追施粒肥,对叶色偏黄、明显脱肥的田块可追施尿素 30~40 kg/hm<sup>2</sup>,或用浓度为 0.2%~0.3% 的磷酸二氢钾进行叶面喷肥,以提高粒重。

## 6 病虫害防治技术

以“预防为主,综合防治”为防治方针。2009 年以来,沿海滩涂盐碱地种植米草稻因其周围无主要农作物生长,所以没有发现较多的病虫害发生。但秧苗田和大田期均需注意灰飞虱、稻蓟马等病虫害防治;中、后期需注意加强对螟虫、稻飞虱、穗颈瘟、稻曲病和纹枯病的综合防治。

## 7 收获技术

米草稻成熟度达 90% 时为收割适期。先成熟先收割,加强选种和分品系收割。米草稻收获后应做到秸秆全部粉碎还田并及时种植小麦、大麦等作物,这样既可防止春季返盐,巩固脱盐,又可增加粮食产量和土壤有机质含量,还可改善土壤理化性质。

## 8 小结

米草稻是利用海滩上生长的米草及农业上推广的高产水稻品种通过有性远缘杂交育种、常规育种、分子育种技术培育出的特种稻——耐盐米草稻,其是开发沿海盐碱地的优选作物,可在沿海地区推广应用。

## 参考文献

- [1] 赵可夫,范海. 盐生植物及其对盐渍生境的适应生理[M]. 北京:科学出版社,2005:1-31.
- [2] 成长春. 江苏沿海开发战略与区域经济均衡发展[J]. 江苏社会科学, 2009(6):207-213.
- [3] 孙明法,严国红,唐红生,等. 江苏沿海滩涂盐碱地水稻种植技术要点[J]. 大麦与谷类科学,2012(1):6-7.
- [4] 袁隆平. 超级杂交稻亩产 800 公斤关键技术[M]. 北京:中国三峡出版社,2006:11-12.
- [5] 关道明. 中国滨海湿地米草盐沼生态系统与管理[M]. 北京:海洋出版社,2009:1-15.
- [6] 中国农业科学院. 中国稻作学[M]. 北京:农业出版社,1986:327-328.
- [7] 陈自康,田曾元,沙文锋,等. 海涂米草与水稻远缘杂交种质资源发掘与创新(II)[J]. 江苏农业科学,2010(5):311-315.

(上接第 10 页)

- [21] 程军,潘华引,戚峰,等. 污泥和水葫芦混合发酵产氢的影响因素分析[J]. 武汉理工大学学报, 2006, 28(21):209-214.
- [22] CHENG J, LIN R, SONG W, et al. Enhancement of fermentative hydrogen production from hydrolyzed water hyacinth with activated carbon detoxification and bacteria domestication[J]. International journal of hydrogen energy, 2015, 40(6):2545-2551.
- [23] 宋文路. 基因改造和驯化细菌利用水葫芦发酵联产氢气和甲烷的机理研究[D]. 杭州:浙江大学, 2011.
- [24] 王丽芬,邓辅唐,孙珮石,等. 水葫芦渣与污泥混合好氧堆肥试验研究[J]. 科协论坛, 2012(1):117-119.
- [25] 董志德,石亮成,周玲,等. 凤眼莲有机肥料堆制技术研究及肥料应用[J]. 广西农业科学, 2010, 41(11):1205-1207.
- [26] 黄东风,李清华,陈超. 水葫芦有机肥料的研制与应用效果[J]. 中国土壤与肥料, 2007(5):48-52.
- [27] 潘开宇. 发酵凤眼莲的菌种筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(30):15057-15059.
- [28] 凌嘉茵,李萍,徐锐锟,等. 双菌发酵水葫芦压滤液生产单细胞蛋白的研究[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(12):35-38.
- [29] 雷宇杰,黄光玲. 微生物发酵提纯凤眼莲发酵产物蛋白含量的研究[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2011, 21(1):119-120.
- [30] 乐毅全,郑师章,周纪伦. 凤眼莲根际细菌的趋化性研究[J]. 复旦学报(自然科学版), 1990, 29(3):314-319.
- [31] 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 F2 细菌的趋化作用[J]. 应用生态学报, 1996, 7(2):435-438.
- [32] 夏会龙,吴良欢,陶勤南. 凤眼莲植物修复几种农药的效应[J]. 浙江

大学学报(农药与生命科学版), 2002, 28(2):165-168.

- [33] 胡琳好,袁菊红,常会庆,等. 凤眼莲-固定化氮循环细菌联合作用对富营养化水体原位修复的研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(12):2163-2169.
- [34] 许国晶,段登选,杜兴华,等. 养殖池塘利用水葫芦与 EM 菌协同净化水环境研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(26):40-46.
- [35] RIVA S. Laccases; Blue enzymes for green chemistry[J]. Trends in biotechnology, 2006, 24(5):219-226.
- [36] 刘文华,蔡宇杰,孙付宝,等. 白腐菌 *Trametes hirsute* SYBC-L19 液态发酵水葫芦产漆酶[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(12):1252-1261.
- [37] 王志新,蔡宇杰,廖详儒,等. *Pycnoporus* sp. SYBC-L1 18S rDNA 序列分析及其固态发酵水葫芦产漆酶的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(8):5-10.
- [38] KURUP S C, SNISHAMOL C, PRABHU N. Cellulase production by native bacteria using water hyacinth as substrate under solid state fermentation[J]. Malaysian journal of microbiology, 2005, 1(2):25-29.
- [39] DESHPANDE P, NAIR S, KHEDKAR S. Water hyacinth as carbon source for the production of cellulase by *Trichoderma reesei* [J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2009, 158(3):552-560.
- [40] 邱晖平,杨晓瑞,朱建良,等. 降解水葫芦中纤维素的优良菌株的筛选[J]. 纤维素科学与技术, 2008, 16(2):53-58.
- [41] 叶小梅. 水葫芦厌氧发酵特性及其工艺技术研究[D]. 南京:南京农业大学, 2011.
- [42] 兰吉武,陈彬,曹伟华,等. 水葫芦厌氧发酵产气规律[J]. 黑龙江科技学院学报, 2004, 14(1):18-21.