

修复富营养化水体的潜流湿地中微生物生物量特征

付融冰¹, 朱宜平², 杨海真², 顾国维²

(1. 上海市环境科学研究院, 上海 200233; 2. 同济大学环境科学与工程学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092)

摘要: 构建了水平潜流芦苇人工湿地, 在固定水力负荷条件下, 对富营养化污水进行了近 2 年的修复处理. 分别在第 2 年的 1、5、8 和 10 月份在湿地前、中、后部不同深度处取基质样品, 采用氯仿熏蒸法测定了微生物生物量. 结果表明, 湿地基质微生物碳 (MB-C)、微生物氮 (MB-N) 和微生物磷 (MB-P) 基本遵循前部大于中部大于后部和上层大于下层的规律. 微生物量 1、5 月份大于 8、10 月份. 考察了基质微生物量与同期湿地氮磷去除效率的关系, 结果显示, 湿地基质微生物量与 TN 去除率相关性不显著; MB-C 与 TP 以及 MB-N、MB-P 与 TP 去除率呈显著负相关, r 分别为 $-0.98 (p < 0.05)$ 和 $-0.99 (p < 0.01)$. 在人工湿地中, 微生物量本身参与到系统中氮素、磷素的循环转化, 成为一个动态活性营养库, 可以被植物利用, 在每个生长年内随植物生长和温度变化而波动, 在本试验条件下, 第 2 年 MB-C、MB-N 和 MB-P 平均分别为 $85.0 \sim 160.6$ 、 $16.3 \sim 34.9$ 和 $3.12 \sim 5.77 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. 湿地微生物量和氮磷净化能力的变化特征是温度、微生物、植物、基质以及酶等因素综合作用的结果.

关键词: 富营养化水体; 水平潜流人工湿地; 微生物生物量; 空间分布; 季节变化; 相关性

中图分类号: X172; X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)10-2754-06

Characteristics of Microbial Biomass in Subsurface Constructed Wetland Treating Eutrophic Water

FU Rong-bing¹, ZHU Yi-ping², YANG Hai-zhen², GU Guo-wei²

(1. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China; 2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: A subsurface horizontal-flow constructed wetland planted with *Phragmites australis* was developed and used to treat eutrophic water for nearly two years at fixed hydraulic loading rate. Substrate samples were taken at different depths respectively in the front, middle and back sites of wetland in January, May, August and October in the second year. Microbial biomass (MB) content was measured using the chloroform fumigation incubation method. The results show that the front sites have higher levels of microbial biomass carbon (MB-C), microbial biomass nitrogen (MB-N) and microbial biomass phosphorous (MB-P) than that in middle sites and back sites. The upper layers have higher levels of MB than that in the deeper layers. The MB content of wetland in January and May is higher than that in October and August. The relationship between MB and TN, TP removal efficiency of the constructed wetland was investigated. The wetland shows no apparent correlation of MB and TN removal efficiency. However, strong negative correlation is observed between MB-C and TP removal efficiency ($r = -0.98, p < 0.05$) and between MB-N, MB-P and TP removal efficiency ($r = -0.99, p < 0.01$). In constructed wetland, MB is also an active nutrient storage involved in nutrient cycling and can be used by wetland plant. MB content varies among a range level with plant growth and temperature in a growth year. Under experiment conditions, the range of MB-C, MB-N and MB-P was respectively $85.0 \sim 160.6$, $16.3 \sim 34.9$ and $3.12 \sim 5.77 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ in the second year. Seasonal variation of MB and nutrient removal is resulted from the factors integrated with temperature, microorganisms, plant, substrate and enzyme.

Key words: eutrophic water; subsurface horizontal-flow constructed wetland; microbial biomass; spacial distribution; seasonal variation; correlation

微生物是人工湿地系统的重要组成部分, 是污染物质降解和转化的主要生物群体和承担者, 是人工湿地净化污染物质的主要途径^[1-3]. 湿地微生物控制着有机物质和主要养分的循环过程, 并对维持植物的营养供应起着重要作用^[4-7]. 关于人工湿地中的微生物数量及其与污染物去除的相关性已有一定的研究^[1,8-10], 但这些研究一般采用传统培养的方法, 更关注微生物的个体数量, 微生物生物量 (microbial biomass, MB) 与微生物个体数量指标相比, 更能反映微生物在湿地基质中的实际含量和作

用潜力. 测定湿地基质微生物生物量对于了解人工湿地中微生物总量及其动态变化、湿地氮磷转化动力学及湿地污染物去除能力等方面具有重要意义. 目前国内外以微生物生物量为对象的研究主要集中在草地^[11,12]、林地^[13,14]、耕地^[15,16]、天然湿地^[17,18]等方面, 在人工湿地领域中的研究极少^[19], 特别是生物量随季节的变化以及与湿地对营养盐的去除关系

收稿日期: 2007-10-22; 修订日期: 2007-12-20

作者简介: 付融冰 (1973~), 男, 博士, 主要研究方向为水污染控制技术、生态环境工程及土壤修复技术, E-mail: rongmifu@163.com

方面的研究鲜见报道。

本研究中修复富营养化污水的水平潜流人工湿地连续运行 20 个月,并在第 2 年的不同月份采用氯仿熏蒸法测定了湿地基质微生物碳、氮和磷,揭示了人工湿地中微生物生物量的空间和季节变化,考察了基质微生物生物量和湿地净化效果的关系,以期从微生物生物量角度理解人工湿地的微生物相变化机制及与湿地净化效力的关系提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 湿地构建与运行

水平潜流式人工湿地建立在上海地区的户外环境中。装置由 PVC 板材制成,长 x 宽 y 高为 $1.5\text{ m} \times 0.4\text{ m} \times 0.6\text{ m}$ 。床体前面为进水池,后面为出水池,并设有出水管。床体内部填充粒径约 10 mm 的砾石和土壤的混合基质(比例为 4:1),基质层深 55 cm,运行时污水在介质表面以下流动,水深为 0.50 m。湿地植物选用芦苇(*Phragmites australis*),在第 1 年的 5 月份在系统中培植具有少量地上生物量的植株,初始种植密度为 24 株 m^{-2} 。

湿地用来处理实际富营养化河水,进水水质见表 1。试验进水用恒流泵控制,出水采用自然溢流方式。固定水力负荷为 71 mm d^{-1} 。湿地运行时间为当年的 5 月份到第 3 年的 1 月份。

表 1 富营养化污水水质/ mg L^{-1}

Table 1 Water quality of eutrophic wastewater used/ mg L^{-1}

指标	COD	NH_4^+-N	TN	$\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$	TP
范围	44.5 ~ 103.3	1.50 ~ 10.30	4.60 ~ 15	0.11 ~ 0.73	0.57 ~ 1.72

1.2 样品采集及保存

分别在第 2 年的 1 月(水温 $t < 10$)、5 月(t 为 $10 \sim 22$)、8 月($t > 22$)和 10 月(t 为 $10 \sim 22$)用取样器在湿地前、中和后部的中央处取基质样品,按距地表 0 ~ 20、20 ~ 35 和 35 ~ 50 cm 的深度分离样品,装入自封袋,将取回的新鲜样品立即保存在 4 °C 冰箱中。背景样取自构建湿地时的原始基质。

1.3 微生物碳、氮和磷的测定

1.3.1 样品处理

测定前除去样品中可见植物须根等残体,土壤过孔径 1 mm 筛,混匀。砾石尽量取得均匀。在处理时如果含水量过高应在室内适当风干,以手感湿润疏松但不结块为宜(大约为 40% 的饱和持水量),砾石样品以颗粒表面润湿但没有可见水为宜。样品湿度不够用蒸馏水调节。

1.3.2 氯仿纯化

去除分析纯氯仿中的稳定剂乙醇,按文献[20]方法进行。

1.3.3 样品熏蒸、提取及测定

熏蒸、提取步骤见文献[21]。称取经前处理的土壤 8.0 g、砾石 15 g 各 6 份,分别放入 50 mL 广口瓶中。将其中 3 份置于真空干燥器中,干燥器底部放入盛有 2 个 25 mL 去乙醇氯仿的烧杯和 100 mL 水的烧杯 1 个,然后抽真空使氯仿剧烈沸腾 5 min,在 25 °C 黑暗条件下熏蒸 24 h。之后将土样转入干净的真空干燥器内,反复抽真空 3 次,每次 4 min,彻底除去土壤中氯仿。熏蒸完毕后,向熏蒸的样品和另外 3 份不熏蒸样品的广口瓶中加入 30 mL 0.5 mol L^{-1} 的 K_2SO_4 溶液,振荡提取 30 min (200 r min^{-1}),用双层慢性定量滤纸过滤,装入 25 mL 的 TOC 瓶中,然后用 TOC 测定仪^[15](SHIMADZU TOC-VCPAN)测定浸提液的 TOC 和 TN。微生物碳/氮 = $\text{C/N}_{\text{熏蒸}} - \text{C/N}_{\text{不熏蒸}}$ 。按转换系数 $K=0.4$ 计算。

测微生物磷时,采用浸提液无机磷的增加作为基质微生物磷量^[22]。操作同上,但是浸提液为 0.5 mol L^{-1} 的 NaHCO_3 。振荡完毕后过滤,采用钼酸盐法测定。

1.4 水质测定

TN 的测定采用过硫酸钾-紫外分光光度法,TP 的测定采用过硫酸钾消解-钼酸铵分光光度法。

2 结果与讨论

2.1 微生物碳的变化特征

水平潜流湿地中的基质微生物碳空间及季节的变化情况如图 1。从中可见,湿地中基质微生物碳基本遵循前部大于后部、上部大于下部的规律。由于湿地进水从前往后流动,污水流动的过程也是污水中营养物质被降解而逐渐降低的过程,湿地前部基质接受的污染负荷大于湿地中后部,前部基质微生物有更充足的营养物质,因此,微生物的生长繁殖优于后部基质微生物。湿地基质上部微生物碳量明显大于湿地基质下部,主要是由于湿地中下部水体的氧化还原电位与溶解氧低于上部所致,植物根系主要分布在基质的上层,植物根系的输氧作用以及生理活动对根圈的微生物生长有很大促进作用^[23-25]。从图 1 中还可以看出,湿地基质的微生物碳量比构建湿地之前的背景基质微生物碳量提高了 1.23 ~ 5.54 倍,说明在试验运行条件下,基质微生物量发生了明显的变化,并在不同的季节维持在不同的水平。

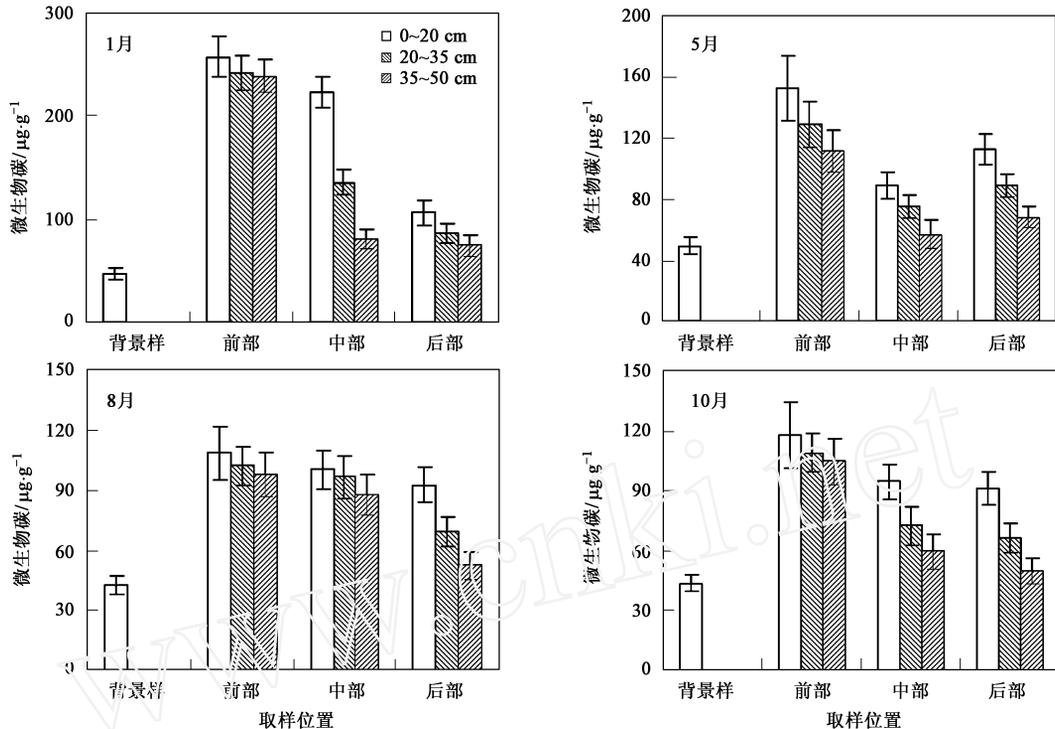


图1 湿地中微生物碳空间分布和季节变化

Fig. 1 Seasonal variation and spacial distribution of microbial biomass carbon of substrate in constructed wetland

比较不同月份的微生物碳量,1、5月份微生物碳较多,8、10月份微生物碳较低,平均年变化在 $85.0 \sim 160.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这种现象与湿地在8、10月份净化效果好,1、5月份净化效果差的情况相反。微生物量在不同季节的变化主要与能源供应、温度变化和植物生长有关^[26-28]。在有明显季节变化的地区,春天气温升高,植物开始快速生长,直到夏季,植物一直处于生长旺盛期,植物的生长对微生物形成营养竞争,此时湿地净化效果最佳,湿地内部营养物质浓度也最低,低营养的生存环境导致了微生物量的降低。冬季湿地植物衰亡,植物对微生物不但不形成营养竞争,而且还会在初春因为植物残体分解释放养分^[29]。同时,由于温度低,微生物代谢弱,以较少的能量即可存活,此时湿地净化效果变差,湿地中营养物质浓度就升高,形成了有充足营养物质的生存环境,从而使基质中能维持较多的微生物量^[30,31]。

2.2 微生物氮的变化特征

图2为湿地中基质的微生物氮空间及季节变化情况。微生物氮的变化与微生物碳的情况相似。基本是湿地前部大于中后部、上层大于下层,平均年变化在 $16.3 \sim 34.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这种波动与微生物自身的繁衍死亡以及植物对微生物氮的利用有关。湿地脱氮能力主要取决于微生物的氨化、硝化和反硝化等生

化作用,但微生物氮本身也参与到了湿地系统内部氮循环过程中,成为氮循环转化的一部分。

2.3 微生物磷的变化特征

微生物磷的特征与微生物碳、氮相似(图3),都是以1、5月份多,8、10月份低,平均年变化为 $3.12 \sim 5.77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。湿地微生物磷的变化也是从前往后减小,上层一般大于下层。与背景值相比,在4个月份中湿地的前部微生物磷量都是大于背景值的,但是,在中后部除了1月份和5月份的中部及1月份后部0~35 cm层的微生物磷量大于背景值之外,其他情况小于背景值的。这说明,在植物生长期,微生物磷参与了对植物的营养供应,微生物磷本身也是磷转化的一个重要来源。

2.4 湿地氮素、磷素去处效果与微生物量的关系

表2为水平潜流湿地微生物量与氮磷去除率情况。将湿地基质微生物碳、氮和磷与湿地TN、TP去除率做相关性分析,结果表明,微生物量与TN去除率相关性不显著,主要是因为控制氮转化过程的是一些对温度非常敏感的亚硝化细菌和硝化细菌,这类细菌只占微生物量的一小部分,但温度是影响它们活性的主要因素,即使冬季微生物量较多,但活性却被抑制。湿地微生物量与TP去除率呈现显著负相关,MB-C与TP去除率的 $r = -0.98 (p < 0.05)$,

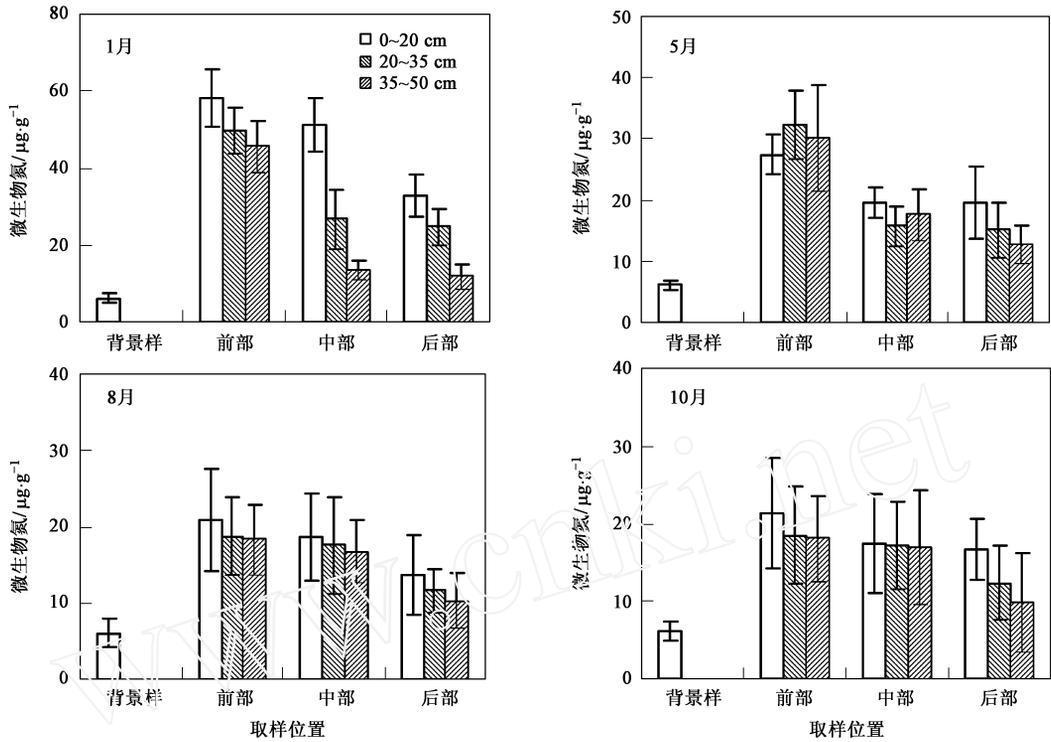


图2 湿地中微生物氮空间分布和季节变化

Fig.2 Seasonal variation and spacial distribution of microbial biomass nitrogen of substrate in constructed wetland

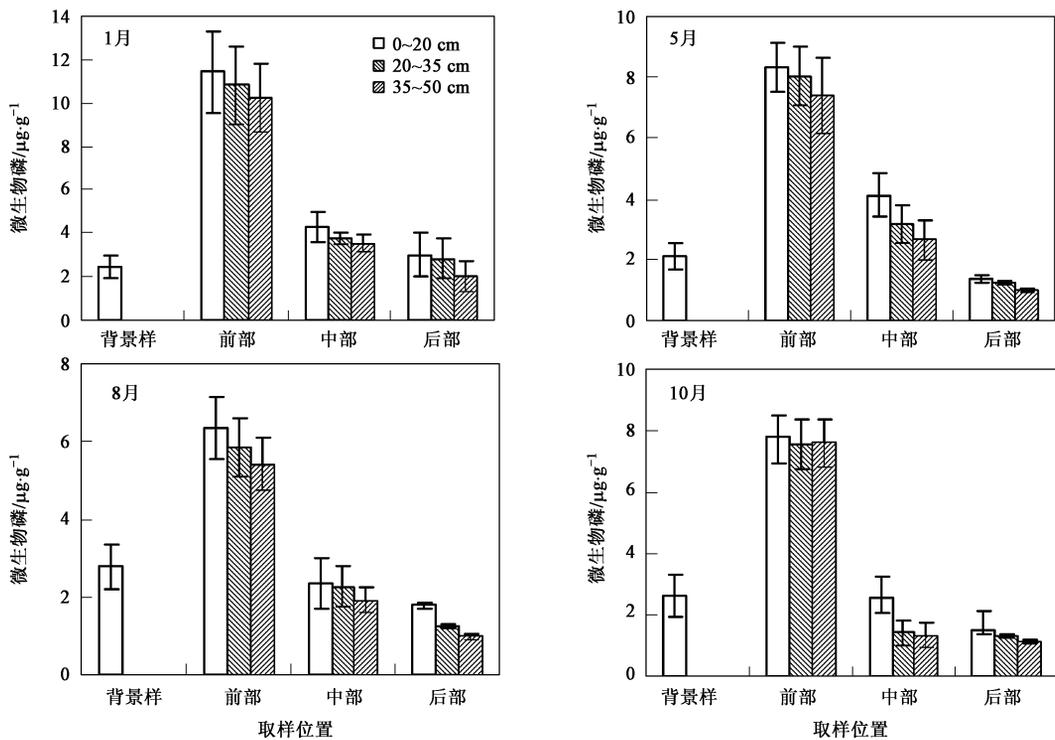


图3 湿地中微生物磷空间分布和季节变化

Fig.3 Seasonal variation and spacial distribution of microbial biomass phosphorus of substrate in constructed wetland

表 2 湿地基质微生物生物量与氮磷去除率的关系¹⁾

Table 2 Correlation between microbial biomass and nutrient removal of wetland in different seasons

时间/月	微生物碳/ $\mu\text{g g}^{-1}$	微生物氮/ $\mu\text{g g}^{-1}$	微生物磷/ $\mu\text{g g}^{-1}$	TN 去除率/ %	TP 去除率/ %
1	160.6(16.3)	34.9(12.1)	5.8(0.6)	44.6(13.1)	73.4(12.7)
5	97.8(5.6)	21.2(6.4)	4.1(0.4)	87.7(5.7)	80.4(3.4)
8	89.4(11.2)	16.3(3.9)	3.1(0.3)	87.0(3.6)	83.7(0.8)
10	84.9(13.5)	16.57(4.2)	3.4(0.3)	77.4(4.1)	83.5(2.5)

1) 微生物生物量样本数 3, 去除率样本数 8, 括号外为平均值, 括号内为标准偏差

MB-N、MB-P 与 TP 去除率的 $r = -0.99$ ($p < 0.01$)。这也说明, 微生物量不能完全反映微生物的生理活性, 氮磷去除效果较好的季节微生物量较少, 但活性可能会高, 去除效果较差的季节微生物量多, 但生理活性却较低。因此, 湿地净化能力和微生物量的季节变化是温度、微生物、植物、基质以及酶等因素综合作用的结果。

3 结论

(1) 处理富营养化污水的水平潜流湿地基质微生物生物量在空间上基本遵循前部大于中部大于后部和上层大于下层的规律。在时间上, 基质微生物生物量 1、5 月份较多, 8、10 月份较少。这主要是由于在固定水力负荷条件下, 随着植物生长和温度的变化, 在 1、5 月份湿地内部容易形成营养物质丰富的环境, 8、10 月份则相反。

(2) 将湿地基质微生物碳、氮和磷与湿地对 TN、TP 去除率做相关性分析, 结果表明, 湿地微生物量与 TN 去除率相关性不显著; MB-C 与 TP 去除率以及 MB-N、MB-P 与 TP 去除率呈显著负相关, r 分别为 -0.98 ($p < 0.05$) 和 0.99 ($p < 0.01$), 说明微生物量不能完全反映微生物的生理活性, 湿地微生物量与氮磷净化能力的季节变化特征是温度、微生物、植物、基质以及酶等因素综合作用的结果。

(3) 在人工湿地系统中, 微生物是系统中有机物质、氮素、磷素的循环转化的核心, 微生物生物量本身也是这种转化的一部分, 可被植物利用, 是一个动态活性营养库, 在每个生长年内随植物生长和温度变化而波动, 在本试验条件下, 第 2 年 MB-C、MB-N 和 MB-P 分别平均为 $85.0 \sim 160.6$ 、 $16.3 \sim 34.9$ 和 $3.12 \sim 5.77 \mu\text{g g}^{-1}$ 。

参考文献:

- [1] Hatano K, Trettin C C, House C H, *et al.* Microbial population and decomposition activity in three subsurface constructed wetlands [A]. In: Moshiri G A. Constructed wetlands for water quality improvement [C]. Chelsea, MI: Lewis Publisher, 1993. 541-547.
- [2] Kadlec R H, Knight R L. Treatment wetlands [M]. Boca Raton, FL: Lewis Publishers, 1996. 119-126.
- [3] IWA. Constructed wetlands for pollution control: processes, performance, design and operation [M]. International Water Association Scientific and Technical report No. 8, London, UK: IWA Publishing, 2000. 55-78.
- [4] Jenkinson D S. The turnover of the organic carbon and nitrogen in soil [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 1990, **329**: 361-368.
- [5] Smith J L, Paul E A. The significance of soil microbial biomass estimations [A]. In: Bollag J M, Stotzky G. Soil Biochemistry [C]. New York: Marcel Dekker Inc, 1991. 359-396.
- [6] Peter M G, William H M, Jennie C, *et al.* Soil microbial biomass and activity in tropical riparian forests [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, **33**: 1339-1347.
- [7] Wu J, Brookes P C, Jenkinson D S. Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of glucose and ryegrass in soil [J]. Soil Biology & Biochemistry, 1993, **25**(10): 1435-1441.
- [8] 李科得. 芦苇床系统净化污水的机理 [J]. 中国环境科学, 1995, **15**(2): 140-144.
- [9] 成水平, 夏宜净. 香蒲、灯心草人工湿地的研究——净化污水的空间 [J]. 湖泊科学, 1998, **10**(1): 62-66.
- [10] 付融冰, 杨海真, 顾国维, 等. 人工湿地基质微生物状况与净化效果相关分析 [J]. 环境科学研究, 2005, **18**(6): 44-49.
- [11] Corre M D, Schnabel R R, Stout W L. Spatial and seasonal variation of gross nitrogen transformations and microbial biomass in a US grassland [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, **34**: 445-457.
- [12] 孙维, 赵吉. 不同草原生境下的土壤微生物生物量研究 [J]. 内蒙古农业大学学报, 2002, **23**(1): 29-31.
- [13] Goffman P M, McDowell W H, Myers J C, *et al.* Soil microbial biomass and activity in tropical riparian forests [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, **33**: 1339-1348.
- [14] Rogers B F, Tate R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, **33**: 1389-1401.
- [15] Calbrix R, Barray S, Chabrierie O, *et al.* Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land [J]. Applied Soil Ecology, 2007, **35**: 511-522.
- [16] 梁巍, 岳进, 吴劼, 等. 微生物生物量 C、土壤呼吸的季节性变化与黑土稻田甲烷排放 [J]. 应用生态学报, 2003, **14**(12): 2278-2280.
- [17] Rejmánek Á E, Sirovák D. Wetland macrophyte decomposition under different nutrient conditions: relationships between decomposition

- rate, enzyme activities and microbial biomass [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, **39**: 526-538.
- [18] 彭佩钦, 张文菊, 童成立, 等. 洞庭湖湿地土壤碳、氮、磷及其与土壤物理性状的关系 [J]. *应用生态学报*, 2005, **16**(10): 1872-1878.
- [19] Tietz A, Kirschner A, Langergraber G, *et al.* Characterisation of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed wetlands [J]. *Science of the Total Environment*, 2007, **380**: 163-172.
- [20] Williamson W M, Blunt J W, Greenfield L G. Method for rapid removal of ethanol from chloroform in soil microbial biomass determination [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1995, **26**(3/4): 407-410.
- [21] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 228-232.
- [22] 吴金水, 肖和艾, 陈桂秋, 等. 旱地土壤微生物磷测定方法研究 [J]. *土壤学报*, 2003, **10**(1): 70-78.
- [23] Armstrong W, Armstrong J, Beckett P M. Measurement and modeling of oxygen release from roots of *Phragmites australis* [A]. In: Cooper P F, Findlater B C. *The use of constructed wetlands in water pollution control* [C]. Oxford: Pergamon, 1990. 41-51.
- [24] Armstrong J, Armstrong W. A convective throughflow of gases in *Phragmites australis* (Cav) trin ex steud [J]. *Aquatic Botany*, 1991, **39**: 75-88.
- [25] Tanner C C. Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands [J]. *Water Science and Technology*, 2001, **44**(11/12): 9-17.
- [26] Joergensen R G, Brookes P C, Jenkinson D S. Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1990, **22**: 1129-1136.
- [27] Joergensen R G, Meyer B, Mueller T. Time-course of the soil microbial biomass under wheat: one year field study [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, **26**: 987-994.
- [28] Gallardo A, Schlesinger W H. Factors limiting microbial biomass in the mineral soil and forest floor of a warm-temperate forest [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, **26**: 1409-1415.
- [29] Smith J L, Paul E A. The significance of soil microbial biomass estimations [A]. In: Jear-Marc B, Stotzky G. *Soil Biochemistry* [C]. New York: Marcel Dekker Inc, 1990. 357-396.
- [30] Wu J. *The turnover of organic carbon in soil* [D]. UK: University of Reading, 1991.
- [31] Brookes P C, Ocio J A, Wu J. The soil microbial biomass, its measurement, properties and role in soil nitrogen and carbon dynamics following substrate incorporation [J]. *Soil Microorganisms*, 1990, **35**: 39-51.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2007年11月15日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了2006年“百种中国杰出学术期刊”评选结果,《环境科学》再次荣获“百种中国杰出学术期刊”的称号,这也是《环境科学》连续6次获此殊荣。

“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定,该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响。