

人工湿地污水净化效率与根际微生物群落多样性的相关性研究

魏 成, 刘 平

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘 要:微生物是人工湿地中净化污水最主要的因素之一。已有研究结果表明,植物根际微生物群落在有机污染物和氨氮等物质的降解过程中均发挥了重要的作用。本研究的目的是通过建立小型实验湿地系统,考察在不同植物组合条件下人工湿地系统的污染物去除效率与植物根际微生物群落功能多样性的相互关系。研究结果显示,旱伞草、美人蕉和芦苇组合系统的 TN、TP 和 BOD₅ 去除效率最高,而旱伞草和美人蕉组合系统的 COD_{Cr} 净化效率最高。旱伞草、美人蕉、芦苇 3 种植物组合系统和旱伞草和美人蕉两种植物组合系统根际微生物群落功能多样性较高,利用碳源的能力较强;而单一旱伞草植物系统根际微生物群落功能多样性较小,利用碳源能力较差。实验结果表明,通过不同植物组合而成的湿地系统,可提高根际微生物群落功能多样性,从而提高人工湿地污染物净化的效率和稳定性。

关键词:人工湿地;植物组合系统;根际微生物群落;多样性

中图分类号:X703.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2401-06

Relationship Between Wastewater Purification and Diversity of Rhizosphere Microorganism in the Constructed Wetland

WEI Cheng, LIU Ping

(Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: Microorganism is one of the main factors affecting wastewater purification in constructed wetland. Current studies have showed that rhizosphere microorganism communities play an important role in degradation of organic pollutants and ammonia nitrogen. The purpose of this study was to investigate the relationship between wastewater purification and rhizosphere microorganism communities at the conditions of different plants combinations through a lab scale constructed wetland. Results showed that the purification efficiency in the combined plant systems was higher and more stable than that of single plant, i.e., the highest purification efficiencies of TN, TP and BOD₅ in the mixture of *Phragmites*, *Canna indica* and *Cyperus alternifolius*, and the highest purification efficiency of COD_{Cr} in the mixture of *Canna indica* and *Cyperus alternifolius*. In addition, the diversity and carbon source utilization of microorganism community in different plant systems were showed as following in turn; the highest was the mixture of *Canna indica* and *Cyperus alternifolius*, then the higher was the mixture of *Phragmites*, *Canna indica* and *Cyperus alternifolius*, and the lowest was that the single plant, *Cyperus alternifolius*. Therefore, it can be concluded that the combined plant system in the constructed wetland can increase the efficiency and its stability of wastewater treatment by promoting the variety of rhizosphere microorganism communities.

Keywords: constructed wetland; combined plant system; rhizosphere microorganism community; diversity

人工湿地中微生物的活动是湿地净化污水最主要的因素,已有研究结果表明,微生物在 BOD₅、COD_{Cr} 以及氮的降解过程中微生物都发挥了重要作用。梁威

等(2003)发现湿地中微生物与其净化功能之间存在显著关系^[1],微生物数量越多污染物质的去除率越高,其中污水中 BOD₅ 的去除率与湿地细菌总数显著相关,氨氮的去除率与硝化细菌和反硝化细菌的数量密切相关;李科德等(1995)在芦苇床中发现污水中总大肠杆菌去除率与湿地原生动物和放线菌数量也存在显著相关性^[2]。

收稿日期:2007-12-02

基金项目:中国科学院生态中心科技创新资助项目

作者简介:魏 成(1981—),男,浙江杭州人,硕士生,主要从事生态工程和城市生态学研究。E-mail:wilsonweicheng@hotmail.com

植物根系将氧气输送到根区,形成了根表面的氧化状态,废水中大部分有机物质在这一区域被好氧微生物分解成二氧化碳和水,氨则被这一区域的硝化细菌硝化;离根表面较远区域氧气浓度降低(属于兼性厌氧区),硝化作用仍然存在,但主要是靠反硝化细菌将有机物降解,并使氮素物质以氮气的形式释放到大气中。Coneley 等发现在根区的还原状态区域,则是经过厌氧细菌的发酵作用将有机物分解成有机物和甲烷释放到大气中^[3]。由于人工湿地存在这样一个氧化区、兼性区和还原区,通过不同区域微生物的相互配合作用而将有机物以及氮素化合物等去除。微生物种群对湿地土壤的很多化学反应产生重要影响,土壤中各种元素的循环与转化都与微生物的作用密切相关,而这些微生物过程又受土壤 Eh 与 pH 的强烈影响。Mclatchey 等通过实验发现微生物的生物量随着土壤 Eh 的降低而降低,结果土壤酶活性与有机碳、N 和 P 的矿化反应也随之下降,它们之间有显著的相关性($P<0.01$)^[4]。Reddy 等认为植物除吸收与吸附功能外,另一个重要的净化场所来自其根际微生态系统的综合作用^[5]。正如 Guntenspergen 等所指出:“目前对根际微生态系统的化学过程还不很清楚,但可以肯定的是,这些过程都是有利于污水净化的”^[6]。Nguyen 等认为元素与废物本身的降解、沉淀、固结、挥发等都能降低自身浓度,使污水得到净化^[7]。而且 Brix 等和 Brix 发现这些理化反应在有植物存在时常常会变得更强烈,因为根系分泌物往往能加速这些反应,而且植物体外表亦为这些反应的发生提供物理支撑^[8-9]。

目前大量实验研究已经能够证明,微生物在人工湿地当中占核心作用,而微生物的生物量和活性直接影响微生物对有机污染物的作用。而基质的特性,植物的种类和种植方式对植物根基微生物有很大影响,但是目前有关植物根际微生物群落与植物以及基质相关性研究相对较少。

本项研究的目标就是在于系统探讨和研究人工湿地植物根际微生物净化机理,通过在实验温室构建小型立流人工湿地模型,比较不同的植物组合方式下植物根际微生物群落功能多样性的特点来分析和讨论在污水净化过程中生植物因素的对它们的影响。

1 材料与方法

1.1 材料的选取

本实验选取了 3 种常见的湿地植物芦苇(*Phragmites*)、旱伞草(*Cyperus alternifolius*)、美人蕉(*Canna*

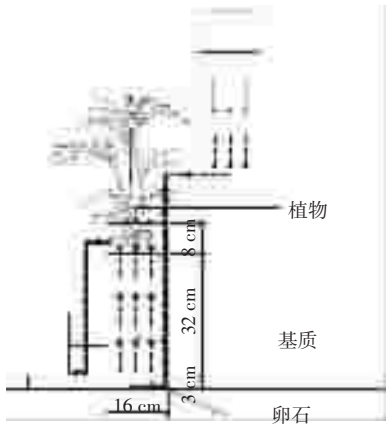


图 1 实验系统
Figure 1 Experiment system

india),在温室运行的栽培桶(高 430 mm,直径 160 mm 的塑料栽培器皿)里培养,构建如图 1 所示的小型立流上行人工湿地系统。

设计参数:以细沙为基质,分 3 种不同的种植方式,每种种植方式 3 盆,共 9 盆。处理区的体积为 6.4 L;水力负荷为 $0.13\text{ m}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$;水力停留时间为 8 h;基质孔隙度为 42.1%;处理区有效体积为 2.70 L。

实验当中设计了不同的植物组合方式:旱伞草(每桶 3 株);旱伞草和美人蕉两种植物组合(旱伞草 2 株、美人蕉 1 株);旱伞草、芦苇和美人蕉 3 种植物的组合(3 种植物各 1 株);空白对比系统。每种情况各设置了 3 个重复。为了排除其他因素对微生物的影响,实验运行的污水用葡萄糖、尿素、 K_2HPO_4 、 KH_2PO_4 配成高浓度的人工污水(人工污水指标: $\text{COD}_{\text{Cr}}=255.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{BOD}_5=128.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{TN}=12.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{TP}=2.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

1.2 实验运行

将已经在土壤中长成幼苗的植物移栽到实验装置中,待植物生长正常后进行实验。实验开始前用蒸馏水浇灌实验桶,等落干后再用蒸馏水浇灌一次。然后一次性分别向进水装置中加入配置好的同一浓度的污水,然后打开实验夹子,使水在重力的作用下缓慢均匀流过实验装置的基质床。早晨 8:00 开高位水箱运行系统,通过测试控制一次渗流时间 8 h,晚上 4:00 关阀门同时开始放水落干,使得系统运行和落干时间基本在 1:2。较长的落干时间便于系统基质补充足够的氧气。

1.3 水质分析

水质的取样分析(每周取样 1 次):实验从 5 月 24 日开始,共 10 周时间,研究所选的 3 种不同植物

种植方式对实验污水的净化效果。在出水检测管管端套一根乳胶管,取样时把乳胶管伸入容器的底部到水样充满容器至溢流,然后将容器密闭。水样检测包括 TN、TP、BOD₅、COD_G,测定方法参照《水和废水检测分析方法》^[10]。

1.4 BIOLOG 实验

植物根际微生物群落分析(第 5 和第 10 周取样):用吸管在栽培桶中部距离出水口 20~25 cm 处吸取植物根际的溶液。BIOLOG 检测方法:即 10 g 基质外加 95 mol 无菌 0.145 mol·L⁻¹NaCl 溶液在摇床上振荡 15 mL,然后将样品稀释至 10⁻³,再从中取 125 μL 该悬浮液接种到革兰氏阴性板的每一个孔中,最后将接种好的板放置于 25 °C 恒温培养箱中培养,每隔 4 h 在波长为 595 nm 的 BIOLOG 读数器上读数,培养时间共为 240 h。

孔的平均颜色变化率计算采用 Garland^[11]的公式: $r(AWCD)=\sum(c \cdot R) n^{-1}$,其中, c 为每个有培养基孔的光密度值, R 为对照孔的光密度值, n 为培养基数目,GN 板 n 值为 95。培养基的丰富度(Richness)和多样性(Diversity)与植物生态学中的计算公式相同。丰

富度指数[n(SRI)]指被利用的碳源的总数目。多样性指数采用 Shannon—Wiener 指数(H): $H'=\sum(P \cdot \log P_i)$ 。式中 P_i 为有培养基的孔与对照孔光密度值的差异与整板总差异的比值, $P_i=(C-R) \cdot [\sum(C-R)]^{-1}$ 。

本研究采用 Garland^[12]、Insam^[13]的方法,在 r_{AWCD} 值接近 0.6 时的数据来比较 BIOLOG 板中的微生物代谢多样性类型,这样可以比较颜色变化率相同的情况下 BIOLOG 板的碳源利用情况而不考虑接种密度带来的差异。

1.5 数据分析

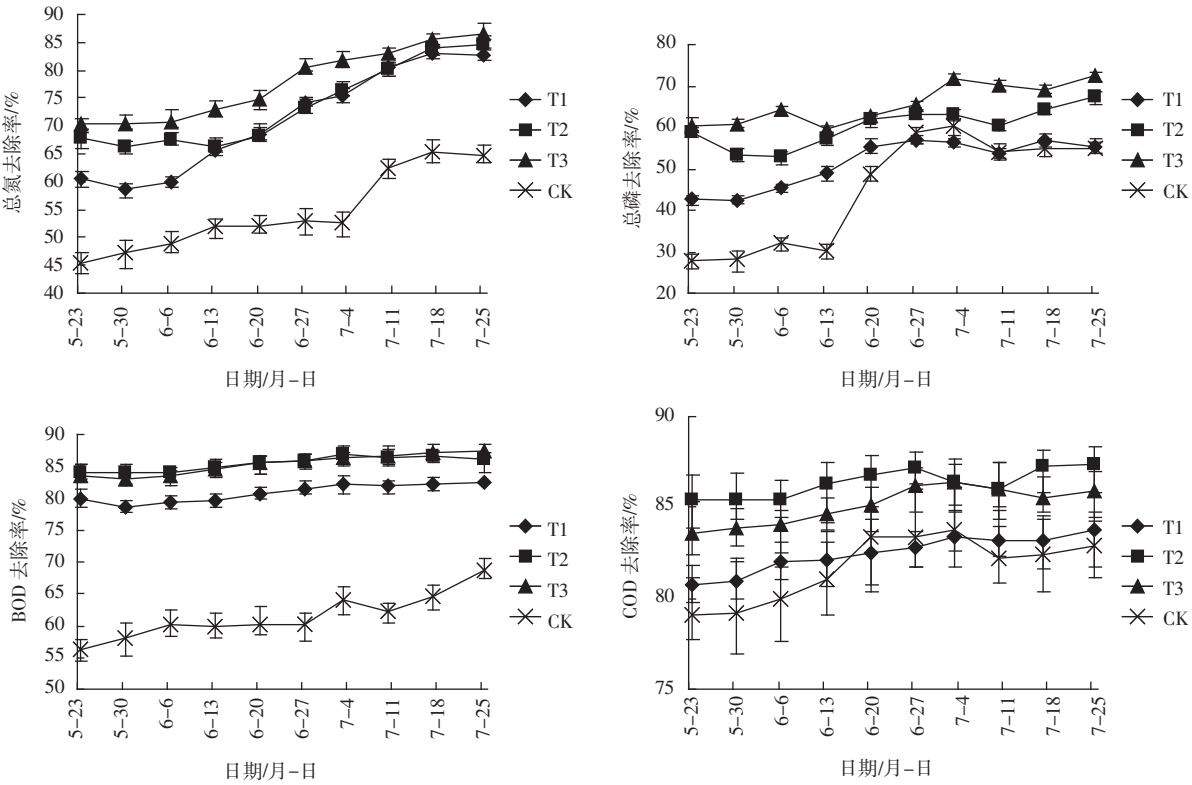
用独立样本 T 检验,T-TEST 方差分析和相关性分析对数据进行变异度、大小和相关性进行分析。使用 EXCEL 和 SPSS13.0 在计算机上完成。

2 结果与分析

2.1 不同植物组合系统污水净化效率

在 10 周的试验过程中,不同植物组合系统对总氮、总磷、BOD₅ 和 COD_G 的净化效率曲线见图 2。

通过方差分析可知不同的植物系统之间净化效率存在显著的差异。其中总氮净化效率 T3 实验系统



T1:旱伞草植物系统 *Cyperus alternifolius* system;T2:旱伞草、美人蕉植物系统 *Cyperus alternifolius* and *Canna indica* system;
T3:旱伞草、美人蕉和芦苇植物系统 *Cyperus alternifolius* ,*Canna indica* and *Phragmites* system;CK:对照系统 control system

图 2 不同植物组合系统总氮、总磷、BOD₅ 和 COD_G 的去除率

Figure 2 TN,TP,BOD₅,COD_G removal efficiency in different planted systems

明显高于 T1 和 T2 实验系统($P<0.05$),T1 和 T2 实验系统无显著差别 ($P>0.05$),T1、T2 和 T3 实验系统明显高于 CK 实验系统($P<0.05$);总磷净化效率 T3 实验系统明显高于 T2 实验系统($P<0.05$),T2 实验系统高于 T1 实验系统($P<0.05$),而 T1、T2 和 T3 实验系统明显高于 CK 实验系统($P<0.05$); COD_{Cr} 净化效率 T2 和 T3 实验系统无显著差别 ($P>0.05$),T2 和 T3 实验系统明显高于 T1 实验系统($P<0.05$),T1、T2 和 T3 实验系统明高于 CK 实验系统($P<0.05$); BOD_5 净化效率 T2 实验系统明显高于 T3 实验系统($P<0.05$),T3 实验系统明显高于 T1 实验系统($P<0.05$),T1、T2 和 T3 实验系统明高于 CK 实验系统($P<0.05$)。

上面的实验结果分析,不论是两种植物还是 3 种植物,组合的系统都能获得较高的净化效率,而种植植物的系统其净化效率明显高于空白系统。计算不同植物组合条件下污染物质去除效率的变异系数来分析妆化效率的稳定性,见表 1。

表 1 不同植物组合条件下污染物质去除效率的变异系数

Table1 Coefficient variation of removal efficieucy with mixture planted systems

植物种类	TN	TP	BOD_5	COD_{Cr}
T1	0.134	0.116	0.018	0.012
T2	0.101	0.078	0.014	0.009
T3	0.083	0.074	0.019	0.012
CK	0.133	0.305	0.058	0.022

由表 1 可知 T3 实验系统 TN 和 TP 的净化效率最稳定,T2 实验系统 COD_{Cr} 和 BOD_5 的净化效率最稳定。种植植物的实验系统比空白系统的净化效率更稳定。混合种植的方式可以明显提高污染物的去除效率和效率的稳定性,这与夏汉平的研究结论一致^[15]。

植物在系统中的直接作用主要体现在对有机污染物的吸收,由于植株个体生物量的有限,植物的吸收只占污染物总体的一小部分,植物更重要的作用体现在它能为根际微生物提供生存的场所,同时向基质输出少量氧气^[15]。而不同的植物根系有不同的特性。在本实验中所采取的 3 种湿地植物,美人蕉的根系肥大,须根发达;旱伞草的主根不明显,须根也同样比较发达;而芦苇根系是匍匐根茎的形式,其主根较发达,而须根较少。植物的根系分布存在明显的差异。陈章和^[16]提出不同高度、不同根系分布特点的植物构成的多种人工湿地实验系统,从植物的时空配置的角度和对根际微生物群落的作用是更为合理的,也可能有利

于提高人工湿地的净化效果^[16],其结论和本实验结果吻合。

2.2 根际微生物功能多样性

通过 BIOLOG 实验分析植物根际微生物对碳源的利用状况,结果图 3 所示。

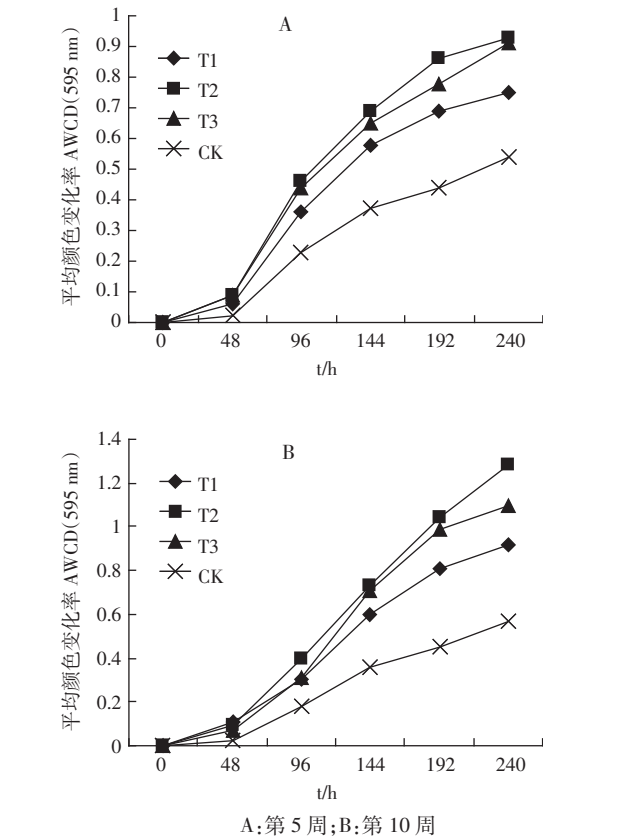


图 3 第 5 和第 10 周根际微生物群落 AWCD 平均变化率
Figure 3 AWCD of microorganism in the 5th and 10th week

计算不同植物组合条件下 $AWCD_n(SRI)$ Shan-non—Wiener 指数(H)得到表 2、3。

不同植物组合种植方式对根际微生物的影响是很明显的。实验中 AWCD 颜色变化率是反映根际微生物活性即利用单一碳源能力的重要指标。结果显示 T2 实验系统对单一碳源的利用率最高(见表 2、3),T2 和 T3 实验系统对单一碳源的利用率相类似(见表 2)。种植植物的实验系统 T1、T2 和 T3 变化率明显高于空白系统(见表 2、3)。

丰富度指数和多样性指数是在颜色变化率一致的情况下,各个不同的植物组合系统能够利用碳源类型的多少,即反映的是植物根际微生物群落功能多样性的指标。结果显示 T2 实验系统微生物群落功能多样性最高,其次是 T3 实验系统和 T1 实验系统,种植

表 2 第 5 周不同植物组合条件下 AWCD,n(SRI)
Shannon—Wiener 指数(H)
Table 2 AWCD, richness, diversity in different plant system at
fifth week

不同基质或植物组合	AWCD	n(SRI)	H'
T1	0.75	58.66	3.91
T2	0.93	62.53	4.09
T3	0.91	62.23	4.06
CK	0.54	49.06	3.77

表 3 第 10 周不同基质和植物组合条件下 AWCD,n(SRI)
Shannon—Wiener 指数(H)
Table 3 AWCD, richness diversity in different plant system at
tenth week

不同基质或植物组合	AWCD	n(SRI)	H'
T1	0.92	58.87	4.04
T2	1.28	63.28	4.21
T3	1.1	60.36	4.09
CK	0.57	49.09	3.89

植物的实验系统 T1、T2 和 T3AWCD 颜色变化率明显高于 CK 系统(见表 2、3)。

梁威(2003)的研究发现微生物数量越多污染物质的去除率越高,其中污水中 BOD₅ 的去除率与湿地细菌总数显著相关,氨氮的去除率与硝化细菌和反硝化细菌的数量密切相关^[1]。但他没有就根际微生物群落特征做进一步的分析研究。而本实验对比分析了微生物功能多样性和污染物净化效率之间的关系,结果显示两者之间存在一定的联系。种植植物的实验系统(T1、T2、T3)微生物功能多样性明显高于空白实验系统,而反应在对污染物的净化效率上前者也更高更稳定;而实验系统(T2 和 T3)植物根际微生物功能多样性较高,利用碳源能力较强,而显示出污染物的净化效率也相对较高较稳定。由此可见湿地系统植物根际微生物功能多样性对与湿地对污染物的净化效率存在正相关,进一步验证了植物根际微生物在整个人工湿地系统中的核心作用。

本实验也存在一定缺陷。由于整个实验在温室室内的小型实验桶中完成,不能完全模拟野外湿地条件,而实验周期也相对较短,取得的数据有一定局限性。

3 结论

芦苇、旱伞草和美人蕉是 3 种生长周期较短,且稳定性和抗逆能力较高的植物。在整个实验周期内上述 3 种植物均生长良好,以上植物都是构建高适应性

高效能人工湿地良好的植物材料。

其中芦苇、旱伞草和美人蕉 3 种植物混合种植的实验系统对总氮、总磷和 BOD₅ 的净化效率较高;旱伞草和美人蕉两种植物混合种植的实验系统对 COD_{Cr} 的净化效率最高;种植植物的实验系统对污染物的净化效率明显高于没有植物的空白实验系统。种植两种和 3 种植物的实验系统所获得的净化效率比单种植物实验系统更加稳定,而种植植物的实验系统也比空白系统对污染物的净化效率更稳定。两种和 3 种植物混合种植的实验系统根际微生物群落对单一碳源的利用能力和功能多样性高于单种植物实验系统。由实验结果可知:

(1)植物能很大程度上提高人工湿地系统净化效率和效率的稳定性。

(2)混合种植的模式能提高人工湿地系统对污染物的净化效率和效率的稳定性。

(3)混合种植植物模式可能获得较高的根际微生物功能多样性。

(4)提高人工湿地系统根际微生物群落多样性对提高湿地系统净化效率和效率的稳定性质有很大的帮助。

参考文献:

[1] 梁 威,吴振斌,周巧红,等. 构建湿地基质微生物类群与污水净化效果及其相关分析[J]. 中国环境科学, 2002, 22(3):282-258.
LIANG Wei, WU Zheng-bin, ZHOU Qiao-hong, et al. The relationship between substrate microorganism community and wastewater removal effect[J]. *China Environmental Science*, 2002, 22(3):282-258.

[2] 李科德,胡正嘉. 芦苇床系统净化污水的机理 [J]. 中国环境科学, 1995, 15(2):140-144.
LI De-ke, HU Zheng-jia. Mechanism of wastewater removal in reed bed system [J]. *China Environmental Science*, 1995, 15(2):140-144.

[3] Coneley L M, Dick R, Lion L W, et al. An assessment of the root zone method of wastewater treatment[J]. *Res JWPCF*, 1991, 63(2):239-247.

[4] Mclatchey G P, Reddy K R. Regulation of organic matter decomposition and nutrient release in a wetland soil[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27(1):1268-1274.

[5] Reddy K R, D' Angelo E M. Biogeochemical indicators to evaluate pollutant removal efficiency in constructed wetlands [J]. *Water Science and Technology*, 1997, 35(5):1-10.

[6] Guntenspergen G R, Hammer D A. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Municipal, Industrial, and Agricultural [M]. Chelsea: Lewis Publishers, 1989.

[7] Nguyen L M. Organic matter composition, microbial biomass and microbial activity in gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wasters[J]. *Ecological Engineering*, 2000, 16(1):199-221.

[8] Brix H. Functions of macrophytes in constructed wetlands[J]. *Water Sci-*

ence and Technology, 1994, 29(4):71–78.

[9] Brix H. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands?[J]. *Water Science and Technology*, 1997, 35(5):11–17.

[10] 国家环境保护局.《水和废水检测分析方法》编委会. 水和废水检测分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社, 2003.

State Environmental Protection Administration of China. Water and Wastewater examination analysis method[M]. Beijing:Chinese Environmental Press, 2003.

[11] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. *Appl & Environ Microb*, 1991, 57(2):2351–2359.

[12] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of sample microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. *Soil Biol & Biochem*, 1996(5), 128:213–221.

[13] Insam H, Hitzl W. Data evaluation of community-level physiological profiles;a reply to letter of P. J. A. Howard [J]. *Soil Biol & Biochem*, 1999, 31(4):1198–1200.

[14] Stottmeister U. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment [J]. *Biotechnology Advances*, 2003, 21(1):93–101.

[15] 夏汉平. 人工湿地处理污水的机理与效率[J]. 生态学杂志, 2002, 39(1):51–59.

XIA Han-ping. The wastewater treatment efficiency and mechanism of constructed wetland[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2002, 39(1):51–59.

[16] 陈章和, 陈 芳, 刘胥诚, 等. 测定潜流人工湿地根系生物量的新方法[J]. 生态学报, 2007, 27(2):668–673.

CHEN Zhang-he, CHEN Fang, LIU Xu-cheng, et al. A new method for root biomass measurement in subsurface flow gravel-bed constructed wetlands[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 2007, 27(2):668–673.