

氧调控下人工湿地微生物群落结构变化研究

陶 敏^{1,2,3}, 贺 锋^{1*}, 徐 洪^{1,4}, 周巧红¹, 徐 栋¹, 张丽萍¹, 吴振斌^{1*}

(1.中国科学院水生生物研究所淡水生态和生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2.湖北理工学院环境科学与工程学院, 湖北黄石 435003; 3.湖北理工学院矿区环境污染控制与修复湖北省重点实验室, 湖北黄石 435003; 4.中国地质大学(武汉), 武汉430074)

摘 要:运用磷脂脂肪酸(PLFAs)技术研究了氧调控下复合垂直流人工湿地(IVCW)微生物群落结构及活性变化,结果表明,不曝气 IVCW 基质表层以好氧微生物为优势种群,但绝大部分微生物都集中在 0~20 cm 基质层,系统的净化空间受到限制;氧调控下微生物群落向基质纵深发展,表征好氧微生物的单不饱和脂肪酸的含量显著增加,曝气系统下行池表层各类群微生物的生物量为不曝气系统的 2~6 倍,表征微生物活性的 PLFAs 总不饱和度水平也明显升高;革兰氏阴性细菌成为曝气 IVCW 基质微生物群落的优势种群,群落具有更高的活性和专一性,提高了污染物的去除效果。因此,进一步研究微生物的这种适应机制可以为优化湿地系统提供一定的理论基础。

关键词:复合垂直流人工湿地;氧调控;微生物群落结构;磷脂脂肪酸

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2012)06-1195-08

Changes in Microbial Community Structure in Constructed Wetland Under Aeration Condition

TAO Min^{1,2,3}, HE Feng^{1*}, XU Hong^{1,4}, ZHOU Qiao-hong¹, XU Dong¹, ZHANG Li-ping¹, WU Zhen-bin^{1*}

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Hubei Polytechnic University, Huangshi 435003, China; 3. Hubei Key Laboratory of Mine Environmental Pollution Control & Remediation, Hubei Polytechnic University, Huangshi 435003, China; 4. China University of Geosciences(Wuhan), Wuhan 430074, China)

Abstract: Many previous results have shown that there is an improvement of ammonia removal while oxygen level inside wetland is enhanced. However, it remained unclear whether artificial aeration could improve the purification efficiency of constructed wetland and how the redox environment influence microbial community structure. Thus, changes in microbial community structure and activities in integrated vertical-flow constructed wetland(IVCW) under aeration condition were studied. The results showed that the aerobic microorganisms were the predominant group among the microbial community in surface substrate of non-aerated IVCW, but the most majority of microorganisms were concentrated in the 0~20 cm substrate layer, indicating that purifying efficiency of the system was limited. Artificial aeration enhanced growth of microbial community into depth, as well as significantly increased in microbial biomass and activity. The characteristic monounsaturated fatty acids of aerobic microorganisms were obviously increased, and the surface substrate microbial biomass in down-flow chamber of aerated system was 2 to 6 times of non-aerated system. The unsaturation degree of total phospholipid fatty acids(PLFAs) significantly increased, indicating that microbial activity also enhanced. The gram-negative bacterial became the predominant group among the microbial community, so that it had a higher activity and improved pollutants removal. Therefore, further study of microbial adaptation mechanism can provide a theoretical basis for optimizing constructed wetland system.

Keywords: integrated vertical-flow constructed wetland(IVCW); aeration; microbial community structure; phospholipid fatty acids(PLFAs)

收稿日期:2011-11-28

基金项目:国家自然科学基金项目(51178452, 50808172, 50909091);湖北省杰出青年基金项目(2010CDA093);国家科技支撑计划(2012BAJ21B03-04);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07101007-005, 2009ZX07106-002-004);湖北省教育厅科学技术研究项目(Q20114401);黄石理工学院引进人才项目(11jyz08R)

作者简介:陶 敏(1982—),男,湖北武汉人,博士,讲师,主要从事人工湿地生态工程研究。E-mail:tmiii@163.com

* 通讯作者:贺 锋 E-mail:hefeng@ihb.ac.cn;

吴振斌 E-mail:wuzb@ihb.ac.cn

人工湿地是利用基质、植物和微生物的物理、化学和生物等协同作用来实现对污水的净化。作为一种生态处理工艺,人工湿地中的氧具有非常重要的作用。一方面它可以直接影响污染物的净化过程及效率,如作为电子受体参与有机物的好氧分解,最终以 CO_2 形式释放到系统外,或者直接参与氨氮的硝化反应^[1];另一方面,它可以影响植物的生理生态、微生物的种类与数量、酶的活性、基质理化特性等,从而间接影响污染物的净化效率^[2-3]。

前期研究结果表明,通过氧调控措施不仅显著提高人工湿地有机物降解和硝化能力^[4-8],而且采用间歇曝气方式没有抑制反硝化作用^[9]。同时,许多学者研究发现氧调控措施也显著影响了微生物群落结构及功能。Li 等^[10]比较了 8 种基质中微生物群落的差别,发现其群落结构组成与基质环境特征及理化特性、污染物的去除效果密切相关。Calheiros 等^[11]研究了不同植物人工湿地中微生物群落的变化,指出不同的湿地植物对微生物群落结构有着重要的影响。Chazarenc 等^[12]通过强化曝气显著提高了湿地微生物的活性,如微生物的生物量、呼吸速率、脱氢酶等酶类的活性都得到了增强。鄢璐等^[8]研究表明供氧可显著增加湿地中硝化菌、反硝化菌数量。

复合垂直流人工湿地(Integrated Vertical-flow Constructed Wetland, IVCW)是一种新颖的湿地处理系统,其下行流-上行流(“U”型)复合水体流态以及间歇式进水方式,使系统具有良好的净化效果,但脱氮仍有一定优化空间^[12]。氧调控下 IVCW 中氧状态改善明显,表现出独特的 O-A-O 氧环境特征,去污效能显著提高^[9]。然而,这种特有氧环境特征下微生物群落的适应与应答机制尚不明确,人工湿地氧调控去污的净化机理仍处于“黑箱”之中。

目前,由于传统方法的局限性,解析基质微生物的群落结构还很困难。磷脂脂肪酸(PLFAs)是活体微生物细胞膜的重要组成部分,其组成模式可反映微生物群落结构的信息^[13-14],磷脂构成的变化能够很好地说明环境样品微生物群落结构的变化^[15-16]。因此,本文运用 PLFAs 技术解析氧调控下微生物群落结构变化,以期揭示人工湿地氧调控去污的净化机理。

1 材料与方法

1.1 试验系统

试验系统位于温室中,由两套大小相同的复合垂直流人工湿地(IVCW)小试系统组成。每套 IVCW 系

统由底部相通的下行池(1 m×1 m×0.65 m)和上行池(1 m×1 m×0.55 m)串联而成,下行池、上行池的上部基质分别为 500、400 mm 厚的细砂(粒径 4~8 mm),两池下部基质均为 150 mm 厚的砾石(粒径 16~32 mm),作为排水层。下行流池和上行流池内分别栽种美人蕉和石菖蒲。其中一套湿地下行池底部的排空管内平行埋有曝气管,其以软管与空气压缩机连接,曝气量采用气体流量计计量,曝气采用间歇停曝方式,运行/停止时间比为 8 h:16 h,平均气体流量为 $0.25 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$;另一套湿地作为不曝气对照系统,如图 1。系统进水为居民小区生活污水,采用间歇式进水,水力负荷为 $0.2 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,水力停留时间为 24 h。

1.2 样品采集

定期采集曝气与不曝气 IVCW 系统进水、出水水样,采样频率每周 1 次。

基质采用梅花点阵法布点,用直径 5 cm、长 80 cm 的柱状采样器分别采取两湿地下、上行池距表层 10、30、50 cm 处基质,共计 12 个样品。采集后立即带回实验室,于 4℃ 冰箱内保存。

按照污水在湿地系统的流向,即从下行池表层到底层,再从上行池的底层到表层,对样点依次编号为 S1(下行 5~10 cm)、S2(下行 25~30 cm)、S3(下行 45~50 cm)、S4(上行 45~50 cm)、S5(上行 25~30 cm)、S6(上行 5~10 cm)。

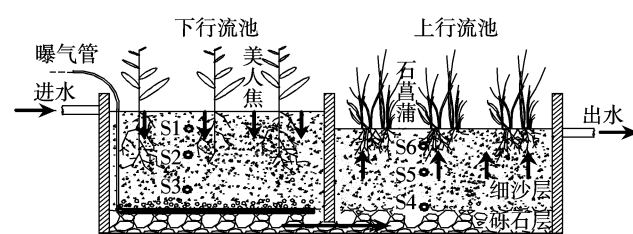


图 1 复合垂直流人工湿地系统示意

Figure 1 Schematic diagram of IVCW

1.3 磷脂脂肪酸的测定

磷脂脂肪酸(PLFAs)分析参照 MIDI 公司提供的磷脂脂肪酸分析方法^[15,17]。处理后的样品用 Agilent 6890GC/5973MS 气质联用仪进行分析。色谱柱为 HP-5MS 石英毛细管柱(0.25 mm×30 m×0.25 μm);进样口温度为 250℃,不分流进样;采用恒流模式,流速为 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,载气为高纯氦气(纯度 99.999%);程序升温:从 80℃(保持 2 min)以 $50 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 150℃(保持 2 min),然后以 $2.5 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 195℃(保持 3 min),再以 $2.5 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 240℃(保持 5

min)。溶剂延迟 4 min;电离方式 EI(70 eV);离子源温度 150 ℃;四极杆温度 230 ℃;接口温度 280 ℃;扫描方式 SIM。

1.4 数据处理

利用 SPSS 13.0 进行方差分析,评价曝气对污染物去除效果和特征 PLFAs 相对含量的影响;且利用 SPSS 13.0 对微生物功能类群生物量和污染物去除效果之间进行相关分析。PLFAs 图谱用 Canoco 4.5 进行 PCA 分析,评价采样点、曝气对 PLFAs 图谱的影响。

2 结果与分析

2.1 氧调控下人工湿地净化效果

由表 1 可见,曝气 IVCW 对 TSS、COD_G、BOD₅、NH₄⁺-N 的平均去除率较不曝气系统分别提高了 4.7%、4.8%、9.8%、8.3%,其中曝气与不曝气系统对 BOD₅、NH₄⁺-N 的平均去除率存在极显著差异 ($P < 0.01$),氧调控下 IVCW 有机物降解和硝化能力显著增强。另外,曝气对 TP 去除影响不明显 ($P > 0.05$);并且采用间歇曝气方式,出水中 NO₃⁻-N 浓度没有明显增加 ($P > 0.05$)。

表 1 氧调控下复合垂直流人工湿地净化效果

Table 1 Pollutants removal of integrated vertical-flow constructed wetland under aeration

指 标	进水浓度/ mg·L ⁻¹	不曝气 IVCW		曝气 IVCW	
		出水浓度/ mg·L ⁻¹	去除率/%	出水浓度/ mg·L ⁻¹	去除率/%
pH	7.5	6.8	—	6.6	—
TSS	86	8.4	90.2	4.4	94.9*
COD _G	176	44.9	74.5	36.4	79.3*
BOD ₅	40	8.0	80.0	4.1	89.8**
TN	28	8.4	69.9	7.9	71.8
NH ₄ ⁺ -N	8.4	2.0	76.2	1.3	84.5**
NO ₃ ⁻ -N	0.6	0.30	50.0	0.31	48.3
TP	1.5	0.37	75.3	0.39	74.0

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 磷脂脂肪酸组成及相对含量

由表 2 可见,不曝气 IVCW 基质中检测到的 PLFAs 从 C₁₁ 到 C₂₀ 共计 20 种,包括饱和脂肪酸、支链脂肪酸、环丙烷脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。偶数链饱和脂肪酸的相对含量为 55.05%~74.63%,是基质中含量最丰富的脂肪酸种类,其次是单不饱和脂肪酸和支链脂肪酸,相对含量分别为 9.83%~24.34%和 9.92%~13.33%。多不饱和脂肪酸和

环丙基脂肪酸的相对含量较低,仅占总 PLFAs 的 1.39%~2.97%和 2.78%~4.39%,而奇数链饱和脂肪酸的相对含量最低,不到总 PLFAs 的 3%。其中,饱和脂肪酸 16:0 和 18:0、支链脂肪酸 i15:0、单不饱和脂肪酸 18:1 ω 9c、18:1 ω 9t 和 16:1 ω 9 为优势脂肪酸。

曝气 IVCW 基质中检测到的 PLFAs 共计 16 种,比不曝气系统少了 11:0、12:0、13:0、19:0 四种饱和脂肪酸。偶数链饱和脂肪酸的相对含量为 42.59%~68.35%,较不曝气系统减少了 6.28%~12.46%,但仍然是基质中含量最丰富的脂肪酸种类;单不饱和脂肪酸的相对含量为 14.07%~29.47%,较不曝气系统提高了 4.24%~5.13%;多不饱和脂肪酸的相对含量为 1.5%~8.05%,较不曝气系统提高了 0.11%~5.08%;而其他类型的脂肪酸,如支链脂肪酸、环丙基脂肪酸、奇数链饱和脂肪酸的相对含量与不曝气系统相差不大 ($P > 0.05$)。

2.3 特征脂肪酸的比值分布

特征脂肪酸通常是指指示不同微生物类群的生物标志物。根据文献中常用的特征脂肪酸,以 i15:0、a15:0、i16:0、i17:0 代表革兰氏阳性细菌的磷脂脂肪酸 (GP-PLFA);以 cy17:0、18:1 ω 9c、cy19:0 代表革兰氏阴性细菌的磷脂脂肪酸 (GN-PLFA);以 18:2 ω 6,9 作为真菌的标志脂肪酸 (fungiPLFA)^[13,18]。表 2 统计了曝气与不曝气湿地基质中常见特征脂肪酸的比值。

(i15:0+a15:0)/16:0 反映了采样点细菌所占的比例。由表 2 可见,无论是曝气还是不曝气 IVCW,下行池中层基质中细菌的比例最大,这可能是由于下行池栽种的美人蕉发达的根系给细菌提供了适宜的生境,吸附在植物根系的细菌较多;总体来说,该比值在下行池大于上行池,这表明下行池中细菌丰度高于上行池。曝气条件下,曝气系统该比值较不曝气系统大,尤其是下行池 3 个采样点均有提高,表明曝气扩大了细菌的生存空间,促进了细菌数量的增加。

脂肪酸的顺式/反式指示微生物在环境中受饥饿或胁迫的程度。18:1 ω 9c/18:1 ω 9t 沿着水流方向先减小,进入上行池后变大且较为恒定。由于本实验系统进水为生活污水,其中含有大量的有机物,在污水流经湿地过程中,有机负荷逐渐降低,下行池中比值的减小主要是有机胁迫降低的缘故。而上行池中的变化可能主要是由营养限制和缺氧胁迫的综合作用造成,在远离植物根区的基质下层,缺氧胁迫明显;在氧气相对充足的基质中层,由于污水得到净化、植物吸收氮磷营养元素等原因,导致营养限制成为主要的胁迫

因素,使得比值又升高。与不曝气 IVCW 相比,曝气系统下行池该比值显著降低,主要是缺氧胁迫得到了极大减小;上行池表层该比值突然增大,这可能是由于营养限制成为主要胁迫因素。总而言之,曝气极大地降低了湿地微生物的缺氧胁迫,增强了微生物的活性。

单不饱和脂肪酸/支链脂肪酸的大小反映了好氧细菌与厌氧细菌的相对优势。在曝气 IVCW 中,氧气相比更充足,该比值显著增大,表明曝气进一步促进了好氧细菌的生长,也充分反映了好氧细菌在两池中上层基质中的巨大优势。

2.4 基质微生物群落结构的变化

微生物群落结构,即微生物不同类群的相对丰度,可通过各微生物类群的特征脂肪酸的相对含量表征^[13,19]。按照 Findlay 等^[20]的分类方法,多不饱和脂肪酸是真核微生物的标志(Group I);单不饱和脂肪酸则可表征好氧原核微生物(Group II);支链脂肪酸(C₁₄~C₁₆)指示厌氧细菌与革兰氏阳性细菌(Group III);支链脂肪酸(C₁₇~C₁₉),包括以甲基为支链的脂肪酸和环丙烷脂肪酸,则表征 SRB 和其他厌氧细菌(Group IV)。

分别统计了曝气与不曝气 IVCW 中各样点微生

表 2 曝气和不曝气 IVCW 基质中 PLFAs 的相对含量(%)以及特征 PLFAs 的比值
Table 2 Relative content of substrate PLFAs and ratios of characteristic PLFAs(%) in aerated and non-aerated IVCW

脂肪酸	不曝气 IVCW						曝气 IVCW					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S1	S2	S3	S4	S5	S6
11:0	0.06	0.11	0.09	0.17	0.31	0.08	0	0*	0	0*	0**	0
12:0	0.22	0.33	0.12	0.08	0.27	0.19	0*	0**	0	0	0**	0*
13:0	0.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14:0	1.49	1.77	3.21	2.71	2.12	1.04	0.31**	0.89**	1.05**	1.90*	2.05	1.16
i15:0	5.20	4.93	4.22	4.04	3.72	3.85	3.48	4.36	3.86	5.05	5.67	2.87
a15:0	4.16	4.77	3.19	3.20	2.99	3.23	3.96	4.51	4.94	3.44	3.63	1.73*
15:0	0.50	0.62	0.99	0.58	0.46	0.37	0.34	0.49	0.42	0.71	0.61	0.41
i16:0	1.73	1.96	1.89	1.72	1.75	1.63	2.11	2.30	1.55	2.17	2.24	1.88
16:1ω9	12.24	12.55	7.44	4.63	8.29	8.81	8.86	11.25	9.89	8.38*	9.08	10.73
16:0	41.27	39.90	38.67	41.20	41.77	34.33	27.76**	29.67*	40.35	43.38	41.90	37.24
i17:0	1.52	1.67	1.59	1.42	1.48	1.52	2.27	2.21	1.58	1.89	1.90	1.62
cy17:0	2.64	3.12	2.84	1.38	2.22	2.09	4.21**	5.10*	2.83	0.08**	5.17**	2.38
17:0	0.18	0.25	1.18	0.23	0.27	0.39	0.59*	0.45*	0.20*	0.38	0.14	0.30
18:2ω9	2.97	1.91	1.42	1.39	1.45	2.88	8.05**	2.47	1.67	1.50	2.26*	6.03**
18:1ω9c	6.00	5.32	2.91	2.15	3.30	4.44	9.41*	7.37	3.14	2.46	1.80	8.46*
18:1ω9t	5.08	6.47	4.46	3.06	4.13	6.60	11.20**	10.20*	4.96	3.24	3.57	7.62
18:0	13.19	13.05	24.32	30.64	23.88	27.01	14.32	15.80	22.03	23.07	16.80	15.76*
cy19:0	0.99	1.27	1.47	1.39	1.61	1.47	2.94**	2.92**	1.52	2.36*	3.17**	1.70
19:0	0.18	0	0	0	0	0	0*	0	0	0	0	0
20:0	0.34	0	0	0	0	0.06	0.20	0	0	0	0	0.11*
偶数链饱和脂肪酸	56.50	55.05	66.32	74.63	68.04	62.63	42.59*	46.36*	63.43	68.35	60.75	54.27
单不饱和脂肪酸	23.32	24.34	14.80	9.83	15.73	19.85	29.47*	28.83	17.99	14.07*	14.45	26.82*
多不饱和脂肪酸	2.97	1.91	1.42	1.39	1.45	2.88	8.05**	2.47	1.67	1.50	2.26*	6.03**
支链脂肪酸	12.60	13.33	10.88	10.39	9.92	10.22	11.81	13.38	11.92	12.55	13.44	8.09
环丙基脂肪酸	3.63	4.39	4.31	2.78	3.83	3.57	7.15	8.02	4.35	2.44	8.35	4.08
奇数链饱和脂肪酸	0.98	0.98	2.26	0.97	1.03	0.84	0.93	0.94	0.63	1.08	0.75	0.71
(i15:0+a15:0)/16:0	0.23	0.24	0.19	0.18	0.16	0.21	0.27	0.30	0.22	0.20	0.22	0.12
18:1ω9c/18:1ω9t	1.18	0.82	0.65	0.70	0.80	0.67	0.84	0.72	0.63	0.76	0.50	1.11
单不饱和脂肪酸/支链脂肪酸	1.85	1.83	1.36	0.95	1.58	1.94	2.50	2.15	1.51	1.12	1.07	3.32

注: *P<0.05, **P<0.01。磷脂脂肪酸的命名采用以下原则:以总碳数:双键数(ω 表示双键距离分子末端位置)命名;前缀 a 和 i 分别表示支链的反异构和异构;cy 则表示环丙烷脂肪酸;后缀 c 表示顺式,t 表示反式。0 为未检出。

物功能类群特征 PLFAs 的相对丰度与绝对丰度,如图 2 所示。可以看出,不曝气 IVCW 两池微生物群落结构组成相似,Group II 在所有样点中比例均最高,占总脂肪酸含量的 9.83%~24.34%;其次是 Group III 和 Group IV,分别占总脂肪酸含量的 8.45%~11.68%和 4.2%~6.06%;Group I 所占比例最小,不到总脂肪酸含量的 3%。湿地中真核微生物所占比例很低,可能是由于进水中高负荷的有机污染物造成,因为分解这些有机物需要消耗大量的 DO,在通气条件差的基质层内部极易缺氧,形成厌氧环境,从而限制真核微生物的生长^[2]。微生物功能类群特征 PLFAs 的绝对丰度,反映了各类群微生物的生物量大小。由图 2 可见,在同一层面上,下行池各类群微生物的特征 PLFAs 绝对丰度均高于上行池,表明湿地中下行池各类群微生物的生物量较上行池丰富。随着基质深度的增加,各类群微生物的特征 PLFAs 绝对丰度显著降低,下行池中表层各特征 PLFAs 的绝对丰度为底层的 3~5 倍。

在曝气 IVCW 系统中,Group II 所占比例最高,为总脂肪酸含量的 14.07%~29.47%,较不曝气系统提高了 4.24%~5.13%;Group I 占总脂肪酸含量的 1.5%~

8.05%,较不曝气系统有一定的提高;各采样点的 Group III 和 Group IV 的比例与不曝气系统对应点相比差别不大,表明氧调控下厌氧细菌、革兰氏阳性细菌、SRB 的数量变化较小。从特征 PLFAs 的绝对丰度可以看出,下行池各采样点均显著高于不曝气湿地对应点,尤其是下行池表层各特征 PLFAs 的绝对丰度为不曝气系统表层的 2~6 倍,表明曝气提高了各类群微生物的生物量,这与表 2 中 (i15:0+a15:0)/16:0 比值所反映的结果一致。

2.5 磷脂脂肪酸的主成分分析

曝气与不曝气 IVCW 基质微生物群落 PLFAs 的主成分分析(PCA)如图 3 所示。其中第一主成分 PC1 的贡献率为 56.4%,与单不饱和脂肪酸(16:1 ω 9,18:1 ω 9c,18:1 ω 9t)、饱和脂肪酸(13:0,17:0,19:0,20:0)有较大的正相关系数(>0.7),其中 18:1 ω 9t 的系数最大,为 0.92;与饱和脂肪酸(11:0,16:0,14:0)有较大的负相关系数(>0.8)。第二主成分 PC2 的贡献率为 15.2%,与支链脂肪酸(i15:0,a15:0)和环丙基脂肪酸(cy17:0)有较大的正相关。

从图 3 可以看到,不曝气 IVCW 中上行池和下行池样点主要被 PC1 轴分开,不同深度的样点表现出

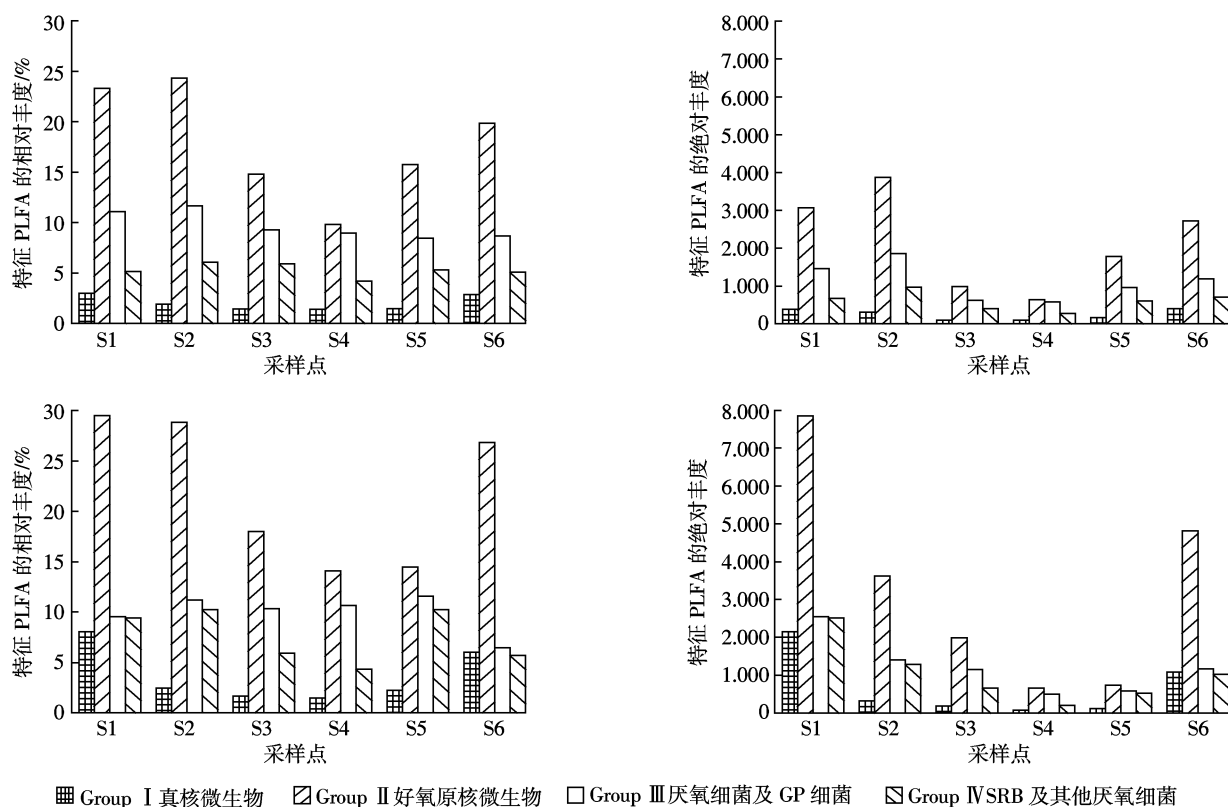


图2 曝气与不曝气 IVCW 基质中微生物功能类群的空间分布

Figure 2 Distributions of different substrate microbial groups in aerated and non-aerated IVCW

异。Group II 与 TSS、COD_{Cr}、BOD₅、NH₄⁺-N、TP 去除率显著相关;Group III 与 NO₃⁻-N、TP 去除率间的相关性显著,其中与 TP 去除率为负相关。由此可见,氧调控下人工湿地净化效果的增强与基质微生物功能类群生物量的变化密切相关。

3.2 氧调控下微生物群落响应机制

人工湿地中污染物质的降解与转化主要是由基质微生物完成的,因而微生物群落的结构(如数量大小、活性高低以及优势种群等)直接关系到湿地的脱氮效率。基质为微生物提供赖以生存的栖息地,其理化性质、氧环境状况等直接影响着微生物群落的结构^[10]。因此,通过氧调控措施改善基质氧环境,进而优化基质微生物群落的结构,最终提高湿地系统的去污效果。

在不曝气 IVCW 系统中,表层 0~10 cm 的基质层通过大气赋氧和植物根系泌氧形成了好氧环境,因而以好氧微生物为优势种群;而在湿地的中层和下层,大气赋氧量和植物输氧量逐渐减少,且由于有机物好氧分解致使氧水平更低,好氧微生物的生长受到限制,兼性及厌氧微生物逐渐成为优势种群。同时,恶劣的缺、厌氧环境几乎占据了整个湿地,这极大地限制了微生物的活动区域,导致整个湿地中微生物的绝对数量偏低、系统净化功能降低^[12,22]。

前期研究表明,氧调控下 IVCW 好氧 I 区范围(以深度表示)从 17~22 cm 扩大至 44~53 cm,且主要是增强了该功能区的净化能力^[22]。本试验结果显示在曝气 IVCW 系统中,PLFAs 的绝对丰度显著升高,表征微生物的生物量显著增加;MUFA 的相对含量明显升高,使 PLFAs 总不饱和度水平升高,表征好氧原核微生物的数量明显增加。Wada 等^[23]研究发现,微型藻细胞中脂肪酸不饱和度的增加,可以增强细胞膜的流动性;Chazarenc 等^[3]研究表明曝气可增强植物根区微生物的活性,如提高细胞的呼吸速率、酶的活性等。可以推测基质微生物活性的增强可能正是基于细胞膜流动性的加快。综上,氧调控措施的主要作用是:①扩大了好氧区域的范围,为好氧微生物的生长提供更多适宜环境;②增加了微生物的数量,尤其是好氧原核微生物;③增强了微生物的活性、呼吸速率等;④促进了湿地植物的生理生态功能以及根区活动。

另外,研究结果显示,氧调控下革兰氏阴性细菌成为基质微生物群落的绝对优势种群,且微生物群落的多样性显著降低。与不曝气系统相比,这种微生物群落结构组成具有更高的活性和专一性,能降解沉积在基质中的复杂有机物,如纤维素、藻毒素等。因

为微生物群落数量的激增,可利用的营养物质不断减少,这些复杂的底物逐渐成为微生物的营养来源。Chazarenc 等^[3]研究表明,曝气可减少有机质的沉积,防止基质发生堵塞。这也间接说明曝气促使微生物分解一些难降解物质作为营养来源,进而提高了有机物的去除。

微生物群落结构对氧环境变化产生明显的应答规律,在较高的溶氧水平下微生物群落向纵深发展,其结构组成发生较大的改变,群落功能提高到较高的水平,污染物的降解与转化也被加快。进一步研究微生物的这种适应机制可以为强化湿地系统的去污效果提供一定的理论基础。

4 结论

(1)不曝气 IVCW 基质微生物绝大部分都集中在 0~20 cm 基质层,微生物生物量偏小,湿地的净化空间受到限制。

(2)氧调控下微生物群落向基质纵深发展,微生物的生物量显著提高,表征好氧微生物的单不饱和脂肪酸的含量明显增加,表征微生物活性的 PLFAs 总不饱和度水平显著升高。同时,间歇曝气对底层厌氧微生物的数量无显著影响。

(3)氧调控下人工湿地净化效果的增强与基质微生物群落结构的变化密切相关,人工湿地调控去污的技术手段是可行的。

参考文献:

- [1] Stottmeister U, Wiessner A, Kusch P, et al. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment [J]. *Biotechnology Advances*, 2003, 22(1-2): 93-117.
- [2] Jessica L M, Robert M G, Teri C B. Microbial response over time to hydrologic and fertilization treatments in a simulated wet prairie[J]. *Plant and Soil*, 2006, 284(1): 85-100.
- [3] Chazarenc F, Gagnon V, Comeau Y, et al. Effect of plant and artificial aeration on solids accumulation and biological activities in constructed wetlands[J]. *Ecological Engineering*, 2009, 35: 1005-1010.
- [4] Green M, Friedler E, Safrai I. Enhancing nitrification in vertical flow constructed wetland utilizing a passive air pump[J]. *Water Research*, 1998, 32(12): 3513-3520.
- [5] Ouellet-Plamondon C, Chazarenc F, Comeau Y, et al. Artificial aeration to increase pollutant removal efficiency of constructed wetlands in cold climate[J]. *Ecological Engineering*, 2006, 27(3): 258-264.
- [6] 孙亚兵, 冯景伟, 田园春, 等. 自动增氧型潜流人工湿地处理农村生活污水的研究[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(3): 404-408.
SUN Ya-bing, FENG Jing-wei, TIAN Yuan-chun, et al. Treatment of rural domestic sewage with self-aeration subsurface constructed wetland

- [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(3):404-408.
- [7] 任拥政, 章北平, 海本增. 局部充氧提高波形潜流人工湿地除污效能的研究[J]. 中国给水排水, 2007, 23(11):28-31.
- REN Yong-zheng, ZHANG Bei-ping, HAI Ben-zeng. Study on improvement of pollutants removal efficiency by partial aeration in wavy subsurface flow constructed wetland[J]. *China Water & Wastewater*, 2007, 23(11):28-31.
- [8] 鄢 璐, 王世和, 钟秋爽, 等. 强化供氧条件下潜流型人工湿地运行特性[J]. 环境科学, 2007, 28(4):736-741.
- YAN Lu, WANG Shi-he, ZHONG Qiu-shuang, et al. Study on running characteristics of aerating subsurface flow wetland[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(4):736-741.
- [9] Tao M, He F, Xu D, et al. How artificial aeration improved the sewage treatment of an integrated vertical-flow constructed wetland[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2010, 19(1):181-189.
- [10] Li M, Zhou Q H, Tao M, et al. Comparative study of microbial community structure in different filter media of constructed wetland[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, 22(1):127-133.
- [11] Calheiros C S C, Duque A F, Moura A, et al. Changes in the bacterial community structure in two-stage constructed wetlands with different plants for industrial wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100:3228-3235.
- [12] 陶 敏, 贺 锋, 徐 栋, 等. 复合垂直流人工湿地氧化还原特征及不同功能区净化作用研究[J]. 长江流域资源与环境, 2008, 17(2):291-294.
- TAO Min, HE Feng, XU Dong, et al. Redox character and purification of different function units in integrated vertical-flow constructed wetland[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2008, 17(2):291-294.
- [13] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: A review[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29:111-129.
- [14] Drijber R A, Doran J W, Parkhurst A M, et al. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32:1419-1430.
- [15] Ibekwe A M, Kennedy A C. Fatty acid methyl ester(FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils[J]. *Plant Soil*, 1998, 206:151-161.
- [16] 吴振斌, 王亚芬, 周巧红, 等. 利用磷脂脂肪酸表征人工湿地微生物群落结构[J]. 中国环境科学, 2006, 26(6):737-741.
- WU Zhen-bin, WANG Ya-feng, ZHOU Qiao-hong, et al. Microbial community structure in the integrated vertical-flow constructed wetland utilizing phospholipid fatty[J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(6):737-741.
- [17] Sasser M. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids[M]. Technology Note #101. Microbial ID, Newark, DE, 1990.
- [18] Kozdroj J, Van-Elsas J D. Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, 43(3):197-212.
- [19] Green C T, Scow K M. Analysis of phospholipid fatty acids(PLFA) to characterize microbial communities in aquifers[J]. *Hydrogeology Journal*, 2000, 8:126-141.
- [20] Findlay R H, Dobbs F C. Quantitative description of microbial communities using lipid analysis[M]//handbook of methods in aquatic microbial ecology. Kemp P E, Sherr B F (Eds). Lewis Publishers: Boca Raton, FL 33431, 1993:271-284.
- [21] Rajendran N, Matsuda O, Rajendran R, et al. Comparative description of microbial community structure in surface sediments of eutrophic bays[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1997, 34(1):26-33.
- [22] 陶 敏, 贺 锋, 徐 栋, 等. 氧调控下复合垂直流人工湿地脱氮研究[J]. 环境科学, 2011, 32(3):717-722.
- TAO Min, HE Feng, XU Dong, et al. Removal nitrogen of integrated vertical-flow constructed wetland under aeration condition[J]. *Environmental Science*, 2011, 32(3):717-722.
- [23] Wada H, Combos Z, Murata N. Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation[J]. *Nature*, 1990, 347(6289):200-203.

致谢:张甬元、刘保元等老师在实验设计及论文修改中给予了指导;李明、余丽华、孔令等为同学们在实验指标测定中给予了帮助,在此一并表示感谢。