

人工湿地-池塘养殖复合系统水质影响因子及碱性磷酸酶活性研究

侯燕松^{1,2}, 李 谷^{1,2,3}, 梁 威¹, 成水平¹, 贺 锋¹, 吴振斌¹

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 荆州 434000)

摘 要:通过实验现场采样及室内测试方法,对复合垂直流人工湿地-池塘养殖复合系统中的物理、化学、生物和生化指标进行因子分析,并在养殖周期、日变化上对碱性磷酸酶活性进行了研究。结果表明,循环池的水质明显好于对照池,影响系统水质的主要因子在循环池和对照池中是不同的,其中循环池主要影响因子是生物指标细菌,对照池主要影响因子是氮、磷等化学因子;碱性磷酸酶存在明显的日变化规律,20时达到一天的最高;循环池和对照池的碱性磷酸酶活性以及叶绿素 a 含量等方面存在显著性差异,其中循环池碱性磷酸酶的日变化范围是 $2.81\sim 6.83\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,对照池是 $5.21\sim 8.72\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$;循环池的叶绿素 a 浓度在 $11.67\sim 25.11\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的范围内,对照池的浓度变化范围是 $66.97\sim 231.61\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,说明湿地系统对于养殖水体水质改善具有显著效果。

关键词:复合垂直流人工湿地;池塘养殖;碱性磷酸酶活性;因子分析

中图分类号:X171.1 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)04-1550-05

Studies on Alkaline Phosphatase Activities and Water Quality Influence Factors in the Integrate Vertical-Flow Constructed Wetland-Aquaculture Combined System

HOU Yan-song^{1,2}, LI Gu^{1,2,3}, LIANG Wei¹, CHENG Shui-ping¹, HE Feng¹, WU Zhen-bin¹

(1.State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2.Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3.Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Jingzhou 434000, China)

Abstract: The wastewater pollution has become a very serious problem to natural aquatic ecosystem. Constructed wetland (CW) as an effective wastewater treatment system has been largely applied to the treatment of domestic wastewater, mine wastewater, landfill leachate and ground runoff etc. The present study was designed to investigate the effect of integrated vertical-flow constructed wetland (IVCW) in a recirculation system on wastewater treatment of aquaculture pond so as to reuse the water for aquaculture and reduce the discharge of nutrients into natural water body. In this paper, the integrated vertical-flow constructed wetland (IVCW)-pond aquaculture combined system was built, physical, chemical, biological indexes were determined, and the water quality influence factors in the experimental system and control were analyzed, together with alkaline phosphatase activities (APA) during the culture period and whole a day were also determined. The results were as following: 1) The water quality indexes in the circulating system were much better than those in the control, and the main influence factors in the experimental circulating system and control were different, bacteria and chemical indexes (nitrogen, phosphorus and ammonia) were the main influence factors, respectively. 2) There was obvious diurnal variance for APA, and the highest APA happened at 8 pm in a day. 3) There were significant differences for APA and concentrations of chlorophyll a in the circulating pond and the control in a day, among them, the APA ranged $2.81\sim 6.83\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ and $5.21\sim 8.72\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, respectively, and the concentrations of chlorophyll a ranged $11.67\sim 25.11\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $66.97\sim 231.61\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. 4) IVCW system probably could improve the water quality of aquaculture significantly.

Keywords: integrated vertical-flow constructed wetland; aquaculture; alkaline phosphatase activity; factor analysis

收稿日期:2007-11-08

基金项目:国家十五重大科技专项(2002AA601021);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-102);国家杰出青年科学基金项目(39925007)

作者简介:侯燕松(1976—),女,河北唐山人,博士研究生,研究方向为环境生物学。

通讯作者:吴振斌 E-mail:wuzb@ihb.ac.cn

池塘养殖是我国淡水养殖的主要来源之一。随着养殖业的快速发展,养殖产生的矛盾日益突出,主要表现为病害发生增多、鱼产品品质降低、环境污染严重、废水处理技术落后等^[1,2]。人工湿地是 20 世纪 70 年代兴起的污水处理生态工程技术,它主要通过物理、化学和生物的协同作用,达到水质净化的目的,具有投资小、管理方便等优点^[3],已经广泛应用于生活污水、矿山废水、垃圾渗滤液和地表径流等的处理。但将人工湿地技术应用到养殖废水处理的研究还不多见^[4,5]。

本研究将复合垂直流人工湿地 (Integrated Vertical-flow Constructed Wetland, IVCW) 和池塘养殖相结合,构建一个稳定的复合生态系统,通过人工湿地净化养殖废水,达到养殖废水零排放,提高鱼产品品质,实现水产养殖的可持续发展。

磷酸酶作为水环境中磷的指示剂已被广泛接受^[6-8]。不仅如此,磷酸酶还与水环境当中的浮游植物和水生细菌密切相关。它快速及时的特点,适合养殖水体生态稳定性差、受天气变化影响和人工干扰大的特点。

本文通过对养殖池塘中碱性磷酸酶活性的监测,研究利用人工湿地净化养殖废水效果和评价养殖池塘的水质状态和营养水平的可能性。

1 材料与方法

1.1 实验场地

本实验所建的人工湿地系统采用复合垂直流结构设计^[9],其中人工湿地面积 320 m²。每组湿地由串联的 L×W×H 分别为 10 m×8 m×1 m 的两个单元组成,其下行流池栽种美人蕉 (*Canna indica*),上行流池栽种香蒲 (*Typha latifolia*) 等植物。养殖池塘的水通过水泵经布水管进入人工湿地的下行流池;湿地出水经水渠流进养殖池塘 (如图 1 所示)。水力停留时间大约 8 h。

该实验选用二个池塘,面积均为 220 m²,底质为泥质,池壁砖混结构。养殖品种搭配和数量也基本相同,主要品种是团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 和

美国斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*),投喂的饵料量也大体相同,区别仅在于循环池的养殖用水是经人工湿地处理的循环水,对照池是按常规的池塘养殖方法进行的养殖,补水主要靠天然降水。循环池每天交换水量为池塘总水量的 10%,进水频率为每日 2~4 次。

1.2 实验方法

碱性磷酸酶活性 (APA) 采用分光光度法测定^[10]。取采集的水样,加入 0.1 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲溶液和叠氮钠, (37±2)°C 培养 4 h 后,在 UNICO UV-2000 分光光度计上测定,波长 410 nm。潜在的碱性磷酸酶活性以每小时释放的对硝基苯酚 (PNP) 量计算。

总磷 (TP)、无机磷 (IP)、总氮 (TN)、氨氮 (NH₄⁺)、硝酸盐氮 (NO₃⁻)、亚硝酸盐氮 (NO₂⁻) 等各种化学指标的测定方法采用常规的水质指标测定方法^[11]。水生细菌 (Bacteria) 的测定采用 MPN 法^[12];叶绿素 a 的测定采用乙醇抽提法^[13]。

1.3 统计分析方法

数据处理采用因子分析统计方法,数据分析工具采用 Statistic 6.0 统计分析软件。

2 结果与讨论

2.1 养殖期间循环池塘和对照池塘主要水质参数

养殖期间对主要水质参数进行定期测定,结果见表 1。

由表 1 可见,通过复合垂直流人工湿地的净化处理,循环池和对照池主要水质指标存在显著性差异,

表 1 循环池和对照池之间主要水质参数比较

Table 1 Key parameters of water quality in the circulating pond and control pond (Mean ±SE, n=17)

水质参数 Indexes of water quality	循环池 Circulating pond	对照池 Control
水温/°C	24.0±5.3	23.6±4.9
透明度/cm	41.6±13.8	30.0±7.6*
BOD ₅ /mg·L ⁻¹	6.2±2.0	12.0±2.2*
TSS/mg·L ⁻¹	17.6±8.9	34.9±23.1*
Chl-a/μg·L ⁻¹	18.2±9.5	43.4±32.2*
NH ₄ ⁺ -N/mg·L ⁻¹	0.56±0.29	0.82±0.43*
NO ₂ ⁻ -N/mg·L ⁻¹	0.03±0.02	0.04±0.03
NO ₃ ⁻ -N/mg·L ⁻¹	0.10±0.06	0.09±0.05
TN/mg·L ⁻¹	2.07±0.82	3.22±1.28*
TP/μg·L ⁻¹	0.18±0.12	0.32±0.27*
IP/μg·L ⁻¹	0.03±0.01	0.04±0.02
DO/mg·L ⁻¹	4.64±1.5	3.64±1.9
pH	7.18±0.26	7.07±0.31

注:* 表示两组数据之间存在显著性差异 (P<0.05)。

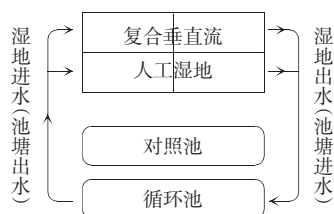


图 1 实验系统

Figure 1 The experimental systems

其中循环池水体透明度平均是对照池的 1.76 倍, BOD₅、TSS、Chla、NH₄⁺-N、TN 和 TP 分别为对照池的 51.6%、50.4%、41.5%、68.3%、64.3%和 56.3%。

2.2 养殖池塘的因子分析

将所测得的各项化学指标和生物指标 APA、TP、TN、NH₄⁺、NO₃⁻、NO₂⁻、TN/TP、细菌(Bacteria)等 8 个水环境因子、7 个样本进行统计学分析。循环池和对照池的因子分析结果如表 1、2 所示($P>0.700\ 00$)。

表 2 循环池的因子分析结果
Table 2 Factor Analysis of the circulating pond

变量名	因子 1	因子 2	因子 3	因子 4
APA	-0.123	0.124	0.028	0.957
TP	0.071	-0.918	-0.255	-0.153
IP	-0.168	-0.936	-0.018	-0.258
TN	0.607	0.011	-0.055	0.727
NH ₄ ⁺ -N	0.079	-0.946	0.232	0.097
NO ₃ ⁻ -N	0.631	-0.231	0.705	0.154
NO ₂ ⁻ -N	-0.176	0.093	0.959	0.007
TN/TP	0.617	0.262	0.268	0.684
Bacteria	-0.961	-0.010	0.149	0.025
特征值	2.156	2.760	1.635	2.036
贡献率	23.96%	30.67%	18.16%	22.63%
累积贡献率	23.96%	54.63%	72.79%	95.42%

表 3 对照池的因子分析结果
Table 3 Factor Analysis in the control pond

变量名	因子 1	因子 2	因子 3	因子 4
APA	0.213	-0.374	0.030	-0.892
TP	-0.945	-0.235	0.033	-0.156
IP	-0.992	0.024	0.007	0.125
TN	-0.134	-0.068	-0.314	-0.930
NH ₄ ⁺ -N	-0.856	0.471	0.002	0.105
NO ₃ ⁻ -N	-0.093	0.961	-0.059	0.248
NO ₂ ⁻ -N	0.513	0.633	-0.506	0.283
TN/TP	0.554	0.431	-0.710	-0.012
Bacteria	0.147	0.009	0.944	0.280
特征值	3.274	1.932	1.755	1.931
贡献率	36.38%	21.46%	19.50%	21.46%
累积贡献率	36.38%	57.84%	77.34%	98.80%

从表 2 和表 3 看出,因子分析结果包含了所分析全部环境因子的 88.89%(7/8)的信息。两个池塘的主要影响因子是有区别的,循环池以生物因子中的细菌影响占首位,而对照池以化学因子中的 TP、IP、NH₄⁺-N 为主。这种区别与人工湿地对循环池的净化作用有关。两个池塘的相同之处在于所检测的化学指标中, TP、IP、NH₄⁺-N 都是影响水质的重要指标,这可能与在淡水水体中磷通常是第一位的限制性营养元素有

关^[4]。NH₄⁺-N 来源主要有含氮化合物的分解以及水生动物的排泄,它对鱼类的毒害很大,也对复合垂直流人工湿地系统应用于水产养殖提出了更高的要求。

这些影响因子的作用也是有区别的,其中循环池中 APA 与 TP、IP、NH₄⁺-N 的作用方向是相反的,而对照池中 APA 与 TP、IP、NH₄⁺-N 的作用方向是相同的。造成这种结果的原因与人工湿地对养殖水体的净化作用有关。循环池的 TP、IP 浓度都较对照池低,APA 主要受 IP 浓度的影响;而对照池的 TP、IP 浓度较高,APA 主要受 TP 的影响较大。

2.3 实验运行期间 APA 的变化

通过将近一年的实验结果表明,碱性磷酸酶活性是不断变化的,具体结果如图 2 所示。

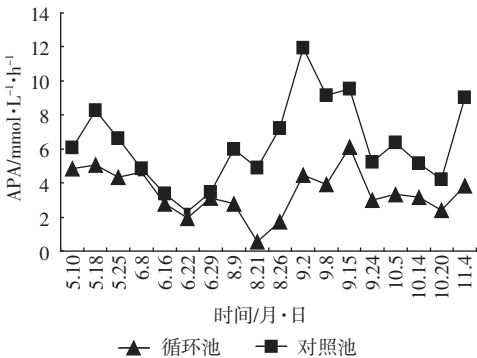


图 2 养殖池塘水体在养殖过程中 APA 的变化
Figure 2 Variance of APA in the aquaculture pond

由图 2 所示,两个池塘 APA 的变化趋势大体上相似,都是在开始时酶活性较高,然后逐渐下降,接下来酶活性又开始升高。养殖早期水体中的 APA 相对较高,这可能与池塘养殖前的清塘和生石灰消毒有关;随着饵料投喂数量的逐渐增加,水体中的浮游生物和水生细菌数量开始增长,它们对磷的需求超过了水环境中磷的供给能力,出现了磷的暂时缺乏,诱导了 APA 的产生;但随着养殖时间的延长,饵料的大量投加和池塘底泥不断向水环境中释放营养物质,使水中的磷供给满足了生物需求量,APA 的活性受到抑制;而后随着水温的升高,水体中的各种生物进入旺盛的生长期,营养物质的消耗不断增加,两个池塘都有不同程度的“水华”发生,其中对照池主要爆发了蓝藻水华,而循环池主要是以红血裸藻为主的水华,从未爆发蓝藻水华。到了 9 月初,两个池塘的酶活性都达到了最大值,水体中的可利用磷消耗过度,诱导 APA 的大量产生。此时水体中的无机磷也出现比较

低的值,循环池只有 $0.022 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,对照池为 $0.042 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,9 月末,酶活性开始下降,此时水体中的无机磷浓度也有所上升,循环池达到 $0.044 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,对照池浓度则为 $0.081 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这种酶活性变化规律说明碱性磷酸酶活性可能可以预测养殖水体中的磷盈亏。

对循环池和对照池的 APA 进行 t 检验,循环池 APA 的平均值是 1.888,对照池平均值是 3.444, $t(34) = -3.763$, $P = 0.0006$, $P < 0.001$,说明循环池和对照池存在极显著性差异。Carr 等^[15]报道了在接纳虹鳟养殖场废水的河流中碱性磷酸酶的活性可以沿河持续 700 m。可见,人工湿地能明显消除潜在的碱性磷酸酶活性。

2.4 池塘水体 APA 和叶绿素 a 的昼夜变化

图 3 和图 4 分别是 APA 和叶绿素 a 24 h 的变化情况。

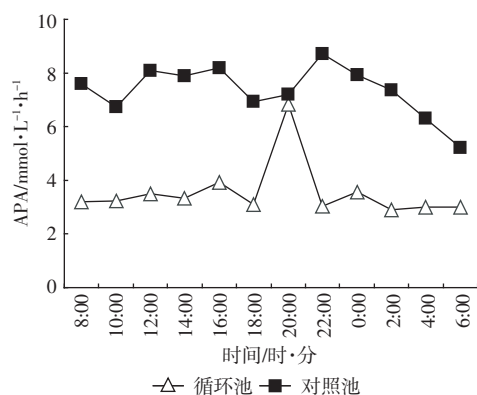


图 3 养殖池塘水体 24 h 的 APA 变化

Figure 3 Diurnal variance of alkaline phosphatase activity in aquaculture ponds

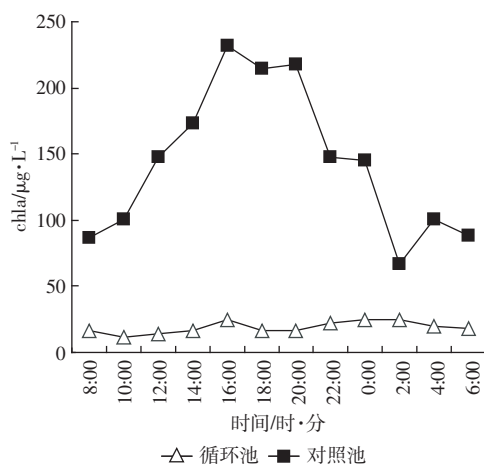


图 4 养殖池塘水体 24 h 的叶绿素 a 变化

Figure 4 Diurnal variance of chlorophyll in aquaculture ponds

从图 3 和图 4 可以看出,叶绿素 a 和 APA 昼夜变化幅度非常明显,APA 在晚上 20 时达到一天的最高峰,与叶绿素 a 24 h 的变化趋势不一致。循环池碱性磷酸酶的日变化范围是 $2.81 \sim 6.83 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,对照池是 $5.21 \sim 8.72 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$;循环池的叶绿素 a 浓度在 $11.67 \sim 25.11 \text{ µg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内,对照池的浓度变化范围是 $66.97 \sim 231.61 \text{ µg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。循环池的叶绿素 a 24 h 变化趋势并不显著,这与其本身的叶绿素 a 含量低有关,在 Chla 浓度小于 $25 \text{ µg} \cdot \text{L}^{-1}$,属于低的浮游植物现存量;对照池的叶绿素 a 浓度在 16 时左右出现极大值,循环池在此时也出现一个极大值,与其光合作用强度变化相一致^[16]。这与 Berman 等^[11]的研究结论类似。

3 结论

(1)影响养殖水体水质的主要化学指标是总磷、无机磷和氨氮。

(2)复合垂直流人工湿地对水产养殖废水的净化作用效果明显,可有效地抑制蓝藻水华的发生,提高水体透明度,降低叶绿素 a 浓度。

(3)碱性磷酸酶活性存在明显的日变化规律,晚上 20 时左右酶活性最大。

(4)循环池的碱性磷酸酶活性明显低于对照池,人工湿地显著消除了潜在的碱性磷酸酶活性。

参考文献:

- [1] 宋 妍,宋碧玉.淡水网箱养殖对环境的影响[J].水产科学,2006,25(1):42-44.
SONG Yan, SONG Bi-yu. The effect of freshwater cage-aquaculture on environment in china[J]. *Fisheries Science*, 2006, 25(1):42-44.
- [2] 梁 威,吴振斌,等.构建湿地基质微生物类群与污水净化效果及相关分析[J].中国环境科学,2002,22(3):282-285.
LIANG Wei, WU Zhen-bin, et al. Analysis of substrate microorganisms in the constructed wetland and their correlation with wastewater purification effects[J]. *China Environmental Science*, 2002, 3:282-285.
- [3] 吴振斌,成水平,等.垂直流人工湿地的设计及净化功能初探 [J].应用生态学报,2002,13(6):715-718.
WU Zhen-bin, CHENG Shui-ping, et al. Design and purification performance of vertical flow constructed wetland[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(6):715-718.
- [4] 吴振斌,李 谷,等.基于人工湿地的循环水产养殖系统工艺设计及净化效能[J].农业工程学报,2006,22(1):129-133.
WU Zhen-bin, LI Gu, et al. Technological design and purification performance of a recirculation aquaculture system based on constructed wetlands[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2006, 22(1):129-133.

- [5] Freeman C, Liska G, Ostle N J, et al. The use of fluorogenic substrates for measuring enzyme activity in peatlands [J]. *Plant Soil*, 1995, 175: 147-152.
- [6] Jansson M, Olsson H, Pettersson K. Phosphatases; origin, characteristic and function in lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1988, 170: 157-175.
- [7] Vrba J, Vyhňálek V, Hejzlar J, et al. Comparison of phosphorus deficiency indices during a spring phytoplankton bloom in a eutrophic reservoir [J]. *Freshwater Biology*, 1995, 33: 73-81.
- [8] Rose C, Axler P R. Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency [J]. *Hydrobiologia*, 1998, 361: 145-156.
- [9] 李 谷, 钟 非, 等. 人工湿地-养殖池塘复合系统构建及初步研究 [J]. *渔业现代化*, 2006, 1: 12-14.
- LI Gu, ZHONG Fei, et al. Construction and primary study on the constructed wetland-aquaculture combined system [J]. *Fishery Modernization*, 2006, 1: 12-14.
- [10] Berman T. Alkaline phosphatase and phosphorus availability in Lake Kinneret [J]. *Limnol Oceanogr*, 1970, 15(5): 663-674.
- [11] 国家环境保护局. 水和废水检测分析方法[M]. (第四版), 北京: 科学环境科学出版社, 2002.
- State Environmental Protection Administration of China. Water and waste water monitoring analytic method [M]. (the 4th edition), Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [12] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1989.
- XU Guang-hui, ZHENG Hong-yuan. Manual of analytical methods of soil microbe [M]. Beijing: Agriculture Press, 1989.
- [13] 湖泊生态调查观测与分析[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- Survey, Observations and Analysis of Lake Ecology [M]. Beijing: Standard Press of China, 2000.
- [14] OECD. Eutrophication of waters monitoring, assessment and control. OECD, Paris, 1982.
- [15] Carr O J, Goulder R. Directly counted bacteria in a trout farm and its effluent [J]. *Aquaculture and Fisheries Management*, 1993, 24: 19-27.
- [16] Dominique Jamet, Lofti Aleya, Jean Devaux. Diel changes in the alkaline phosphatase activity of bacteria and phytoplankton in the hyper-eutrophic Villerest reservoir (Roanne, France) [J]. *Hydrobiologia*, 1995, 300/301: 49-56.

致谢:在实验选题及论文写作过程中得到了付贵萍、刘保元、邓家齐、谭渝云、詹发萃等老师的悉心指导;在实验过程中得到了钟非、于涛、张金莲、何起利及其他课题组同志的大力帮助,谨致辞谢忱。