

# 海水人工湿地系统脱氮效果与基质酶活性的相关性

吴俊泽<sup>1,3</sup>, 王艳艳<sup>3</sup>, 李悦悦<sup>3</sup>, 祝佳玄<sup>3</sup>, 曲克明<sup>2,3</sup>, 崔正国<sup>2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071; 3. 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 利用海水人工湿地系统处理海水养殖外排水, 分析了人工湿地对不同形态氮的净化效果, 探讨了人工湿地表层基质酶活性变化及其对系统脱氮效果的影响。选取互花米草作为人工湿地植物, 煤渣、珊瑚石和细砂作为人工湿地基质, 实验期间连续进水, 系统运行稳定。研究结果表明: 海水人工湿地系统对氨氮(NH<sub>4</sub>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub>-N)、总氮(TN)和可溶性有机氮(DON)去除效果显著, 去除率分别为(99.6±0.7)%、(99.9±0.0)%、(98.2±2.0)%、(92.6±1.5)%和(86.1±4.8)%。人工湿地表层基质下行池脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶的酶活性均高于上行池, 下行池对污染物的去除效果更好。脱氢酶活性与海水人工湿地系统氨氮的去除有关; 硝酸还原酶活性影响着海水人工湿地硝态氮的去除; 脲酶活性与人工湿地总氮和硝态氮的去除存在明显相关趋势。下行池硝酸还原酶和脲酶的酶活性间具有显著相关性( $r=0.76$ ,  $P<0.05$ )。人工湿地微生物种类丰富, 下行池微生物多样性高于上行池, 植物根部微生物多样性最高, 提高了系统脱氮的效率。上述研究结果将有助于阐明海水人工湿地系统中不同形态氮的迁移转化机理。

**关键词:** 人工湿地; 海水养殖外排水; 氮去除; 酶活性

中图分类号: X55

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2019)05-0036-09

DOI: 10.11759/hyxx20190121002

近年来随着海水养殖业不断发展, 高密度和集约化海水养殖逐渐成为主流<sup>[1]</sup>, 但养殖过程中残饵和粪便的分解会污染水质, 滋生致病微生物<sup>[2-3]</sup>。我国近岸海水养殖模式相对粗放, 部分养殖场存在着养殖规模超限、缺乏有效的水处理装置、高污染的养殖废水直接排放等违规操作<sup>[4]</sup>。这些违规操作一方面导致局部海域水体富营养化, 危害海洋生物, 破坏近岸生态平衡<sup>[5]</sup>; 另一方面, 随着近年来海洋环保督查力度的提升, 违规养殖被大规模整治和取缔。因此, 从环境保护和养殖业可持续发展两方面考虑, 通过技术手段净化海水养殖外排水, 减少海水养殖污染是非常必要的<sup>[6]</sup>。

人工湿地是模拟自然湿地生态系统构建而成的一种污水处理工程, 它利用植物、基质、微生物三者的协同作用, 通过物理、化学和生物反应去除水体中的污染物, 实现净化污水的目标<sup>[7]</sup>。人工湿地处理效果良好, 投入费用低, 能耗少, 便于管理, 具有较高的生态效益, 目前已被广泛应用于净化江河湖水和生活污水<sup>[8, 9]</sup>, 但对于处理海水养殖外排水的应用尚

处于起步阶段。

人工湿地基质酶在污水净化中起关键作用, 它主要来源于人工湿地微生物、动物和植物根系在土壤中的生命活动, 是一种具有生物功能的催化剂<sup>[10]</sup>, 可参与许多有机物的反应和氧化还原反应, 提高人工湿地污染物的去除效率。其中脲酶是一种广泛存在于自然界微生物和植物中的水解酶, 能够水解线性酰胺键 C-N, 和污水中氮去除有关<sup>[11]</sup>; 脱氢酶在有机质脱氢反应中起到传递氢的作用, 能够加速污染物的去除<sup>[12]</sup>, 是探究人工湿地去污能力的有效指标之

收稿日期: 2019-01-21; 修回日期: 2019-04-16

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费专项课题(2019CY0102); 国家自然科学基金项目(31101906); 国家科技支撑计划课题(2011BAD13B04); 山东省博士后创新项目专项资金(201703050)

[Foundation: Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS, No.2019CY0102; National Natural Science Fund, No.31101906; National Key Technologies R&D Program, No.2011BAD13B04; Shandong Province Special Fund for Postdoctoral Innovation Projects, No.201703050]

作者简介: 吴俊泽(1994-), 男, 天津人, 硕士研究生, 主要从事人工湿地净化海水养殖外排水研究, E-mail: junze825@163.com; 崔正国, 通信作者, 副研究员, E-mail: cuizg@ysfri.ac.cn

一; 硝酸还原酶是一种诱导酶, 可直接将硝态氮还原为亚硝态氮, 在氮代谢反硝化步骤中起关键作用<sup>[13]</sup>。

氮元素是海水养殖外排水中的主要污染物之一, 氮的去除对水体净化起关键作用<sup>[14]</sup>。人工湿地氮去除的途径和效率、氮的迁移转化一直是国内外学者研究的热点<sup>[15-16]</sup>, 李智等<sup>[17]</sup>研究发现人工湿地基质酶活性具有空间分布特性, 王艳艳等<sup>[18]</sup>研究了人工湿地对海水养殖外排水的脱氮效率, 但海水养殖外排水脱氮效果与人工湿地基质酶活性间的关系未见报道。为了探究人工湿地脱氮效果和基质酶活性的相关性, 本实验采用海水人工湿地系统, 以牙鲆海水养殖外排水作为人工湿地的处理对象, 探究了人工湿地对可溶性无机氮(Dissolved Inorganic Nitrogen, DIN)、可溶性有机氮(Dissolved Organic Nitrogen, DON)和总氮(Total Nitrogen, TN)的去除效果, 分析了基质中脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶的酶活性变化、微生物多样性和群落结构与脱氮效果的相互关系。

现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置

本实验采用海水人工湿地系统, 实验装置如图 1 所示, 海水人工湿地系统由人工湿地和储水池两部分组成, 其中人工湿地由下行池和上行池构成, 规格(长×宽×高)为 100 cm×50 cm×100 cm, 有效体积为 145 L。海水人工湿地系统的处理对象是牙鲆海水养殖外排水, 水体盐度较高, 因此选取耐盐植物互花米草(*Spartina alterniflora*)作为人工湿地植物, 种植密度为 160 株/m<sup>2</sup>, 互花米草可以在高盐度水体中存活和生长<sup>[19]</sup>。使用三种基质进行填充, 自上而下依次为细砂(粒径 1~2 mm)、煤渣(粒径 2~4 cm)、珊瑚石(粒径 3~5 cm), 基质粒径逐渐增大, 优化污染物去除效果; 每层基质分别设置一个排污口, 系统进水口略高于出水口, 以便防止堵塞, 提高系统水利效率。

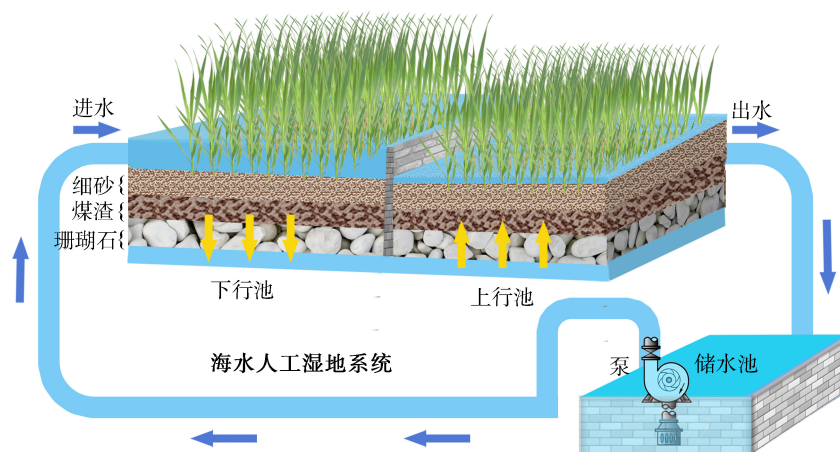


图 1 海水人工湿地系统原理图

Fig. 1 Schematic of the constructed marine wetland

### 1.2 实验方法

实验期间连续运行 28 d, 共计 4 个周期, 每个周期为 7 d。每个周期结束后将系统内海水全部排空, 补充未经处理的海水养殖外排水。在每周周期补充海水后的第 0、1、3、5 d 采集储水池中的水样, 采样时间为上午 9:00, 调节水力停留时间约为 1 h, 海水养殖外排水盐度约为 30。将采集的水样过滤后储藏于-30℃冰箱中保存, 用于氨氮(NH<sub>4</sub>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub>-N)和 TN 浓度的测定。

采集水样的同时, 在本实验的第 0、2、4、6、8、12、16、20、24、28 d 采集海水人工湿地系统下行

池和上行池的表层基质。基质呈正方形排列, 使用 5 点取样法采样, 将基质中心点和 4 角采集的样品混合均匀, 同时采集 1 个平行样。采样时间为上午 9:00, 采样深度为 0~5 cm, 采样质量约为 5 g。采样结束后将样品储藏于 4℃冰箱中, 用于测定脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶的活性。

在实验运行结束后, 将系统内海水全部排空, 分别采集海水人工湿地系统下行池和上行池的表层基质细砂和植物根部组织。使用五点取样法采集 0~5 cm 的基质样品, 将样品混合均匀, 同时采集一个平行样。采样结束后将样品置于 50 mL 的离心管, 储藏于-80℃冰箱中, 用于测定海水人工湿地系统基质的微

生物群落信息。

### 1.3 水质测定与数据分析

本实验的海水养殖外排水取自实验室牙鲆养殖海水,牙鲆养殖期间定期换水并投喂饲料,海水养殖外排水中氮污染物  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度为 0.28~0.56 mg/L,  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度为 0.66~1.03 mg/L,  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度为 1.43~2.16 mg/L, DON 浓度为 2.13~5.36 mg/L, TN 浓度为 5.28~8.00 mg/L。海水养殖外排水的理化参数采用多参数水质测定仪测定,如图 2 所示,实验期间温度( $T$ )为 17.55~23.53℃,盐度为 30.61~32.03,溶解氧(DO)为 7.05~8.96、pH 为 7.52~8.08。

$\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度依据《海洋监测规范》(GB12763 4-2007)进行测定:  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度采用靛酚蓝分光光度法测定;  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度采用萘乙二胺分光光度法测定;  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度采用铈钼还原法测定; TN 浓度使用岛津 TOC 测定仪进行测定。脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶活性采用南京建成试剂盒和分光光度法进行测定。采用 PCR-DGGE 方法对基质和植物根部样品微生物的 16s rDNA 序列进行分析。使用 Origin 8.5 软件作图,用 Excel 2010 和 SPSS 19 软件进行数据处理与分析。

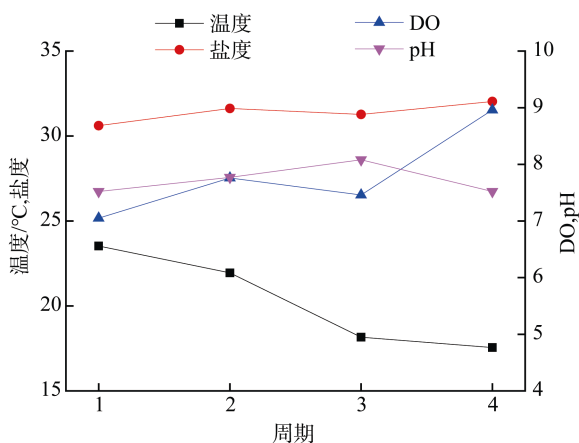


图 2 海水养殖外排水理化参数变化

Fig. 2 Changes in physical and chemical parameters in mariculture wastewater

## 2 结果与分析

### 2.1 无机氮去除效果

海水人工湿地系统无机氮浓度变化如图 3 所示。每个周期  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度下降极为显著,进水  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度为 0.28~0.56 mg/L,  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度为 0.66~

1.03 mg/L。系统处理海水养殖外排水 1 d 后,出水  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度远低于 0.10 mg/L,去除率达到 95%以上;系统处理 2 d 后,  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_2\text{-N}$  浓度保持稳定,二者去除率均高达 99%,去除效果非常显著。海水人工湿地系统对  $\text{NO}_3\text{-N}$  去除效果同样良好,进水  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度为 1.43~2.16 mg/L,处理海水养殖外排水 1 d 后,出水  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度最高为 0.24 mg/L,最低低至  $2.0 \times 10^{-3}$  mg/L;系统处理外排水 2 d 后,  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度保持平缓,除第 3 周期以外,  $\text{NO}_3\text{-N}$  去除率均高于 95%,第 3 周期  $\text{NO}_3\text{-N}$  去除速率低于其余周期。海水人工湿地系统对 DIN 处理效果优异,进水 DIN 浓度为 2.63~3.48 mg/L,系统处理 1 d 后,出水 DIN 浓度降至 0.10 mg/L 以下,处理 2 d 后浓度基本保持稳定。

海水人工湿地系统  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$  在无机氮中所占比例如图 4 所示。每个实验周期进水 1 d 后  $\text{NH}_4\text{-N}$  和  $\text{NO}_2\text{-N}$  比例迅速减少,低至 5%以下;  $\text{NO}_3\text{-N}$  在系统内积累,在无机氮中占比高达 90%以上,此时硝化反应在无机氮去除中发挥主要作用。每个周期进水 3 d 时,硝态氮所占比例减少,亚硝态氮所占比例增加,此时反硝化作用在无机氮去除中起主要作用。

### 2.2 总氮和有机氮去除效果

海水人工湿地系统 TN 和 DON 浓度变化如图 5 所示,进水 TN 浓度为 5.28~8.00 mg/L,处理海水养殖外排水 1 d 后,出水 TN 浓度为 0.34~0.94 mg/L,去除率显著升高;系统处理 2 d 后, TN 浓度基本保持稳定,除第 3 周期外,其余周期 TN 去除率均高于 90%,实验连续运行期间 TN 的平均去除率为  $(92.6 \pm 1.5)\%$ ,去除效果良好。海水人工湿地系统对 DON 的去除效果稍差,4 个周期进水 DON 浓度为 2.13~5.36 mg/L,处理海水养殖外排水 1 d 后,出水 DON 浓度为 0.34~0.70 mg/L,除第 2 周期外,其余周期 DON 去除率达到 80%以上,4 个周期平均去除率为  $(86.1 \pm 4.8)\%$ 。

海水人工湿地系统 DON 和 DIN 在总氮中的所占比例如图 6 所示。在海水养殖外排水进入人工湿地时, DON 在 TN 中所占比例为 40.3%~67.1%,与 DIN 占比相当。随着实验天数的增长,海水养殖外排水在人工湿地中循环, DIN 所占比例迅速减少, DON 在总氮中的比例迅速升高,最高达到 99%以上。

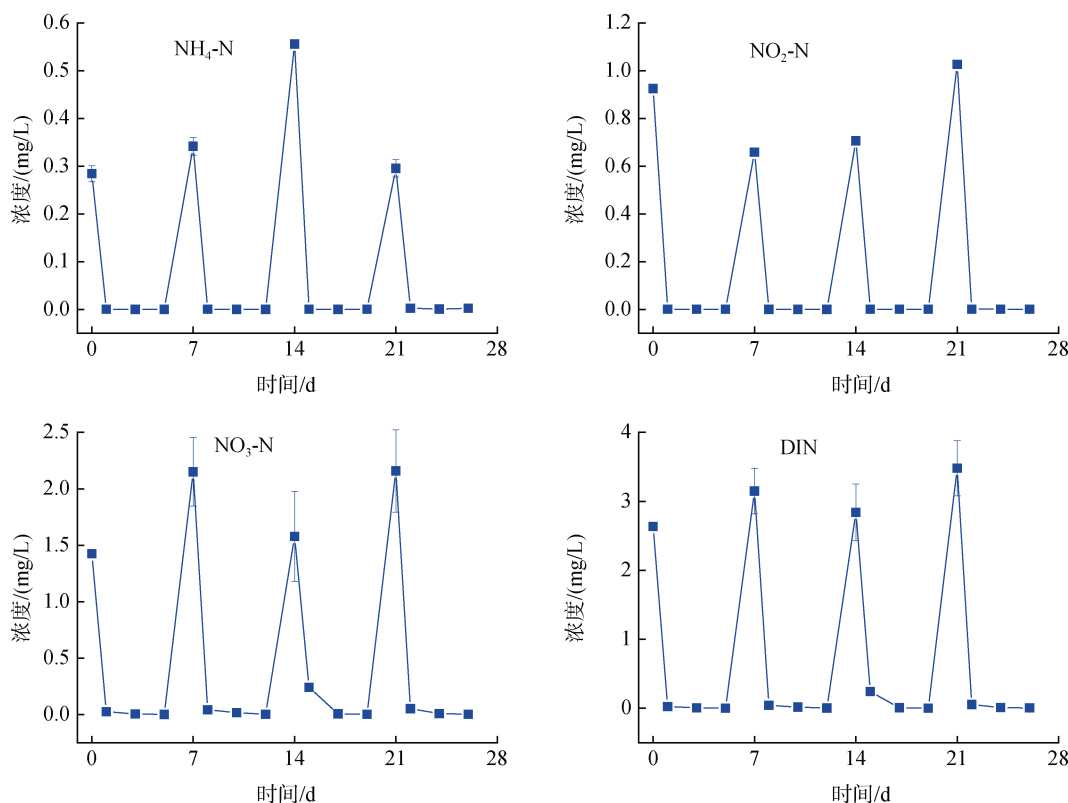


图3 无机氮浓度变化

Fig. 3 Concentration changes of  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ , and DIN

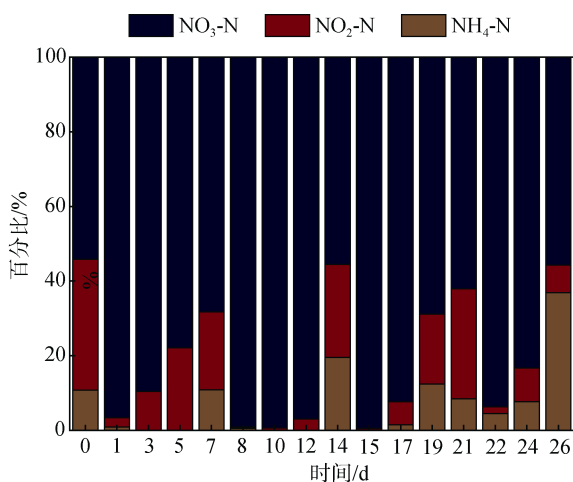


图4 各种形态的无机氮所占百分比

Fig. 4 The proportion of each form of inorganic nitrogen

### 2.3 人工湿地基质酶活性与脱氮效果的相关关系

海水人工湿地系统表层基质脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶的酶活性变化如图7所示。实验周期内下行池脱氢酶和脲酶的酶活性均高于上行池，分别具

有显著差异( $P<0.05$ )和极显著差异( $P<0.01$ )，这与李智等<sup>[17, 20]</sup>研究结果保持一致。除第1周期外，其余周期下行池硝酸还原酶的酶活性同样高于上行池( $P<0.05$ )。一方面下行池进水污染负荷较大，氮污染物的去除首要发生在下行池<sup>[21]</sup>，下行池对污染物的分解作用更强，微生物数量和酶活性更高；另一方面，下行池进水中氮磷含量丰富，植物生长繁密，根系比上行池发达，土壤有机质丰富，因此下行池对污染物的去除作用大于上行池。

海水人工湿地系统中脱氢酶活性远小于硝酸还原酶与脲酶，脱氢酶活性在第3和第4周期中后段呈现稳定增长，与此同时，氨氮在17 d和24 d后显著增加(图4)，这是由于脱氢酶参与了有机氮的反应，有机氮在氨化细菌的作用下转化为氨氮。硝酸还原酶活性变化起伏较大，系统进水时酶活性平稳或略有下降，随着实验天数的延长酶活性迅速上升。在第2、12、16和24 d硝酸还原酶活性增加，此时硝态氮占比减少，亚硝态氮比例增加(图4)，硝酸还原酶参与微生物的反硝化作用，将硝态氮还原为亚硝态氮<sup>[13]</sup>。

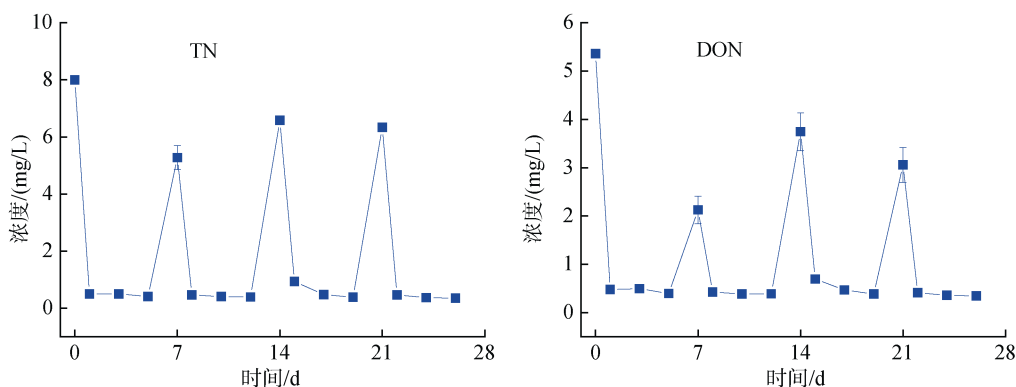


图5 TN 和 DON 浓度变化  
Fig. 5 Concentration changes of TN and DON

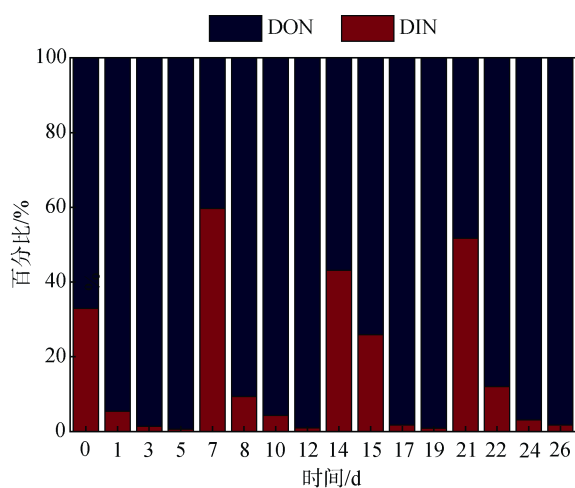


图6 DON 和 DIN 所占百分比  
Fig. 6 Proportions of DON and DIN

脲酶活性变化趋势明显,前两个周期的脲酶活性显著高于后两个周期(图7所示),这是由于脲酶活性受到温度的影响,温度通过影响微生物的数量和活性来影响脲酶的活性<sup>[22]</sup>,前两个实验周期海水养殖外排水温度高于后两个周期(图2),基质脲酶活性与外排水温度间具有显著相关性( $r=0.969$ ,  $P<0.05$ )。硝酸还原酶和脲酶活性均表现为变化趋势较大且稳定性差,对二者进行相关性分析发现,硝酸还原酶和脲酶下行池酶活性之间具有显著相关性( $r=0.7624$ ,  $P<0.05$ ),而上行池酶活性间无明显相关关系。

## 2.4 人工湿地微生物群落信息

海水人工湿地系统微生物的物种多样性指数(香农指数<sup>[23]</sup>)如图8所示,表层基质和植物根部微生物多样性指数高,微生物种类丰富,其中表层基质的微生物多样性下行池高于上行池,微生物的数量和物种丰富度与人工湿地氮的去除具有相关性<sup>[24]</sup>,下行

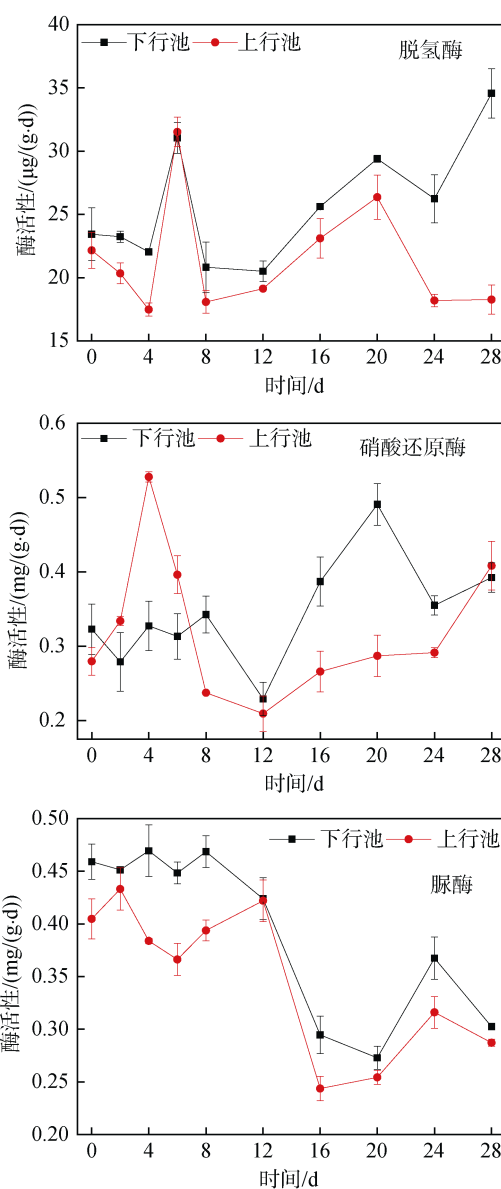


图7 脱氢酶、硝酸还原酶和脲酶活性  
Fig. 7 Dehydrogenase, nitrate reductase, and urease activities



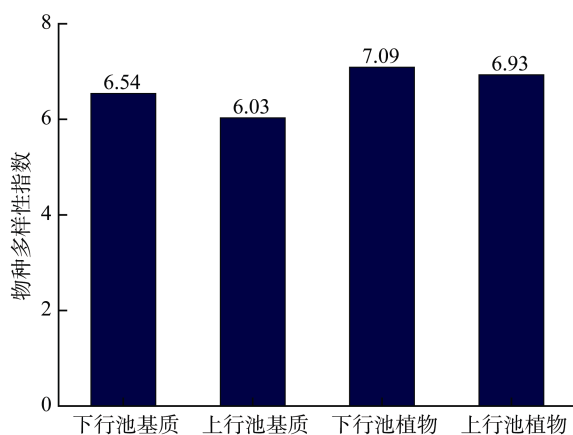


图 8 微生物多样性比较

Fig. 8 Comparison of microbial diversities

池去污染能力比上行池强,海水人工湿地系统下行池净化污染物的能力更强,这与人工湿地基质酶活性在下行池和上行池中的分布趋势保持一致。下行池植物根部处微生物多样性指数为 7.09,高于下行池表层基质的微生物多样性;上行池植物根部的微生物多样性指数为 6.93,同样高于上行池表层基质。海水人工湿地系统中植物根部处微生物多样性和丰富度较高,植物在人工湿地除氮中发挥着重要作用,发达的根系为微生物提供了生存的空间和养分,丰富了微生物的数量和种类,从而提高人工湿地系统的除氮效率<sup>[25]</sup>。

在微生物的群落结构组成上,海水人工湿地系统植物根部与表层基质的微生物群落组成相似,具备丰富的脱氮菌群,这与海水人工湿地系统脱氮效率良好有着密切关系。从微生物的分类上来看,海水人工湿地中优势菌种是变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes),两者广泛分布于人工湿地植物根部和基质中。变形菌门的丰富度最高,含有固氮功能的菌种如硝化菌等,在海水人工湿地脱氮中发挥了关键作用。

### 3 讨论

人工湿地除氮主要依靠微生物的硝化与反硝化作用<sup>[26]</sup>,pH 能够影响微生物的活性进而影响除氮效果,反硝化细菌适宜生长的 pH 为 6.5~7.5<sup>[16]</sup>。第 3 周期 pH 高于 8,其余周期 pH 在 7~8 之间,第 3 周期反硝化作用受到抑制。水体 pH 值还与氨挥发的显著程度密切相关,pH 低于 7.5 时,氨挥发不显著;当 pH 高于 9 时,氨挥发尤为显著<sup>[27]</sup>,人工湿地氨挥发一般在 pH 大于 8 的情况下发生<sup>[28]</sup>,第 3 周期的氨挥发限制了硝化和反硝化反应的速率。

海水养殖外排水进入系统后,由于基质上层具有丰富的溶氧,加上植物根部的泌氧作用,氮去除反应以好氧的硝化作用为主,氮污染物从  $\text{NH}_4\text{-N}$  转变为  $\text{NO}_2\text{-N}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$ 。此过程分为两步,第一步是  $\text{NH}_4\text{-N}$  在好氧的氨氧化细菌作用下转化为  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,第二步  $\text{NO}_2\text{-N}$  在兼性硝化细菌作用下转化为  $\text{NO}_3\text{-N}$ <sup>[29]</sup>。硝化作用受温度、pH、DO、无机碳和氨氮浓度等因素的影响,通过改变硝化反应的速率直接影响人工湿地的脱氮效率。硝化反应的适宜温度为 30~35℃,适宜 pH 为 7.0~8.2<sup>[28]</sup>。海水人工湿地系统采用喷洒式入水,通过增加水体和空气的接触面积增大水中 DO 含量,4 个周期温度为 15~25℃,pH 为 7~8,保证脱氮反应高效稳定进行。

在系统硝化反应过后,反硝化作用逐渐占主导作用,在兼性反硝化细菌的作用下,硝化反应生成的硝态氮以有机碳作为电子供体,氮氧化物或氧气作为电子受体,先被还原为亚硝态氮,最终变为氮氧化物和氮气<sup>[27]</sup>。此外,湿地植物也会吸收一部分硝态氮,并且根系越发达的植物所需营养物质越多,氮去除效果越好<sup>[30]</sup>。反硝化作用受温度、pH、DO 和有机碳等因素的影响,通过改变生成物中氮氧化物和氮气的比例影响人工湿地的脱氮效果。海水人工湿地系统运行稳定后,由于水体内富含氮和磷,人工湿地爆发藻类。一方面藻类可以通过同化吸收直接吸收含氮污染物<sup>[31]</sup>;另一方面,藻类死亡后可以释放大量有机物<sup>[32]</sup>,为反硝化作用提供了外源碳源,加速了人工湿地的脱氮进程。

人工湿地 DON 的去除主要依靠氨化反应,有机氮在氨化细菌的作用下转化为氨氮<sup>[29]</sup>,氨氮再通过硝化和反硝化反应转化为氮气。氨化反应是好氧反应,它会与硝化反应竞争氧气<sup>[33]</sup>,因此充足的溶解氧可以保证反应的正常进行和氮去除效果良好稳定。本实验运行期间 DO 含量为 7~8 mg/L,氨化反应和硝化反应不受抑制,但海水人工湿地除氮中 DON 的去除效果仍显著低于 DIN。比较不同形态氮的去除效果(图 3 和图 5)可以发现, TN 与  $\text{NO}_3\text{-N}$  浓度变化趋势基本一致,都表现为第 3 周期去除速率较低,这是因为在海水人工湿地系统脱氮以无机氮的去除为主,主要依靠微生物的硝化和反硝化作用。

脱氢酶在有机质反应中起到传递氢的作用,第 3 和第 4 周期脱氢酶活性增加,加速有机氮转化为氨氮的反应进程,氨氮占比增加,脱氢酶活性影响着人工湿地中氨氮的去除效果,这与靖玉明等<sup>[34]</sup>研究

结果相似。人工湿地净化海水养殖外排水初期,氮的去除以硝化作用为主,随着硝酸还原酶活性增加,反硝化作用增强,硝酸还原酶加速人工湿地硝态氮的去除。脲酶活性在第3周期达到最低值,与海水人工湿地系统  $\text{NO}_3\text{-N}$  和  $\text{TN}$  浓度在第3周期下降缓慢的趋势保持一致,脲酶活性影响着系统  $\text{TN}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$  的去除效果,二者存在明显相关趋势,这与 Kong 等<sup>[35]</sup> 研究结果一致。硝酸还原酶和脲酶对下行池进水中高污染负荷和污染物分解作用具有相似的影响;上行池中污染负荷低,污染分解作用较弱,无明显相关关系,这与吴属连<sup>[21]</sup>的研究结果保持一致。

## 4 结论

(1) 海水人工湿地系统脱氮效果良好,  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{TN}$  和  $\text{DON}$  浓度显著降低,平均去除率分别达到 $(99.6\pm 0.7)\%$ 、 $(99.9\pm 0.0)\%$ 、 $(98.2\pm 2.0)\%$ 、 $(92.6\pm 1.5)\%$ 和 $(86.1\pm 4.8)\%$ 。海水养殖外排水中  $\text{DIN}$  和  $\text{DON}$  比例相当,经海水人工湿地系统循环净化后,  $\text{DIN}$  比例迅速减少,  $\text{DON}$  比例显著升高,人工湿地对  $\text{DIN}$  的去除效果更好。

(2) 海水人工湿地系统下行池酶活性大于上行池,下行池对污染物的去除效果优于上行池。海水人工湿地系统表层基质脱氮酶活性影响着海水养殖外排水中氨氮的去除;硝酸还原酶活性对硝态氮的去除具有促进作用;脲酶活性与人工湿地  $\text{TN}$  和  $\text{NO}_3\text{-N}$  的去除存在相关趋势。

(3) 海水人工湿地系统下行池微生物多样性高于上行池,植物根部处微生物多样性最高;植物发达的根部可提高微生物群落的丰富度,进而提高系统脱氮的效率。人工湿地的优势菌群是变形菌门和拟杆菌门,变形菌门微生物数量最多,含有种类丰富的脱氮细菌,有助于提高海水人工湿地系统的脱氮效率。

### 参考文献:

- [1] Zhang X, Ferreira R B, Hu J, et al. Improving methane production and phosphorus release in anaerobic digestion of particulate saline sludge from a brackish aquaculture recirculation system[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 162: 384-388.
- [2] Díaz V, Ibáñez R, Gómez P, et al. Kinetics of electro-oxidation of ammonia-N, nitrites and COD from a recirculating aquaculture saline water system using BDD anodes[J]. *Water Research*, 2011, 45(1): 125-134.
- [3] 蔡继哈, 李凯, 郑向勇, 等. 水产养殖对环境的影响及其防治对策分析[J]. *水产养殖*, 2010, 31(5): 32-38.
- [4] S S, Van Den Hende S, Se T, et al. Environmental sustainability assessment of a microalgae raceway pond treating aquaculture wastewater: From up-scaling to system integration[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 190: 321-331.
- [5] 吴伟, 范立民. 水产养殖环境的污染及其控制对策[J]. *中国农业科技导报*, 2014, 16(2): 26-34.
- [6] 刘宝良, 雷霖霖, 黄滨, 等. 中国海水鱼类陆基工厂化养殖产业发展现状及展望[J]. *渔业现代化*, 2015, 42(1): 1-5, 10.
- [7] 王博, 祁佩时, 刘云芝, 等. 潜流人工湿地氮素去除机理与影响因素[J]. *应用化工*, 2017, 46(2): 350-355.
- [8] 吴义福, 吕锡武, 杨子萱. 浸润线可控型人工湿地的生活污水脱氮除磷性能研究[J]. *水处理技术*, 2017, 43(12): 89-94.
- [9] 张菁, 李睿华, 李杰, 等. 石灰石和黄铁矿-石灰石人工湿地净化河水的研究[J]. *环境科学*, 2013, 34(9): 3445-3450.
- [10] 梁威, 胡洪营. 人工湿地净化污水过程中的生物作用[J]. *中国给水排水*, 2003, 19(10): 28-31.
- [11] Cui L, Ouyang Y, Gu W, et al. Evaluation of nutrient removal efficiency and microbial enzyme activity in a baffled subsurface-flow constructed wetland system[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146: 656-662.
- [12] 郭明, 陈红军, 王春蕾. 4 种农药对土壤脱氮酶活性的影响[J]. *环境化学*, 2000, 19(6): 523-527.
- [13] Cai Jihan, Li Kai, Zheng Xiangyong, et al. The influences of aquaculture on environment and prevention strategy analysis[J]. *Journal of Aquaculture*, 2010, 31(5): 32-38.
- [14] Liu Baoliang, Lei Jilin, Huang Bin, et al. The development state and prospect of land-based industrial mariculture in China[J]. *Fishery Modernization*, 2015, 42(1): 1-5, 10.
- [15] Wang Bo, Qi Peishi, Liu Yunzhi, et al. Nitrogen removal mechanisms and influence factors in subsurface flow constructed wetlands[J]. *Applied Chemical Industry*, 2017, 46(2): 350-355.
- [16] Wu Yifu, Lü Xiwu, Yang Zixuan. Study on Nitrogen and Phosphorus Removal from Domestic Sewage by Saturation-Line-Controlling Constructed Wetlands[J]. *Technology of Water Treatment*, 2017, 43(12): 89-94.
- [17] Zhang Jing, Li Ruihua, Li Jie, et al. Limestone and Pyrite-Limestone Constructed Wetlands for Treating River Water[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(9): 3445-3450.
- [18] Liang Wei, Hu Hongying. Biological effect in the process of wastewater purification by using constructed wetland[J]. *China Water & Wastewater*, 2003, 19(10): 28-31.
- [19] Guo Ming, Chen Hongjun, Wang Chunlei. Effect of

- soil dehydrogenase activity of four pesticides[J]. Environmental Chemistry, 2000, 19(6): 523-527.
- [13] 田华, 段美洋, 王兰. 植物硝酸还原酶功能的研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(10): 96-99.  
Tian Hua, Duan Meiyang, Wang Lan. Research Progress on Nitrate Reductase functions in Plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(10): 96-99.
- [14] 崔正国, 马绍赛, 曲克明, 等. 人工湿地净化氮、磷及其在水产养殖中的应用研究新进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2012, 2(3): 7-15.  
Cui Zhengguo, Ma Shaosai, Qu Keming, et al. Advances in nitrogen and phosphorus removal with constructed wetland and its application in aquaculture: a review[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2012, 2(3): 7-15.
- [15] Coban O, Kusch P, Kappelmeyer U, et al. Nitrogen transforming community in a horizontal subsurface-flow constructed wetland[J]. Water Research, 2015, 74(1): 203-212.
- [16] Lee C, Fletcher T D, Sun G. Nitrogen removal in constructed wetland systems[J]. Engineering in Life Sciences, 2009, 9(1): 11-22.
- [17] 李智, 岳春雷, 杨在娟. 人工湿地基质微生物和酶活性的空间分布[J]. 浙江林业科技, 2005, 25(3): 1-5.  
Li Zhi, Yue Chunlei, Yang Zaijuan. Spatial Distribution of Microbe and Enzymatic Activities in Substrate of Constructed Wetland[J]. Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology, 2005, 25(3): 1-5.
- [18] 王艳艳, 崔正国, 曲克明, 等. 复合垂直流人工湿地对海水养殖外排水脱氮效率的研究[J]. 水处理技术, 2017, 43(3): 95-100.  
Wang Yanyan, Cui Zhengguo, Qu Keming, et al. Research on Nitrogen Removal Rate of Marine Aquaculture Wastewater by the Integrated Vertical-Flow Constructed Wetlands[J]. Technology of Water Treatment, 2017, 43(3): 95-100.
- [19] 陈伟霖, 梁梓娇, 缪绅裕, 等. 不同盐度下互花米草生长状况的比较研究[J]. 广东农业科学, 2017, 44(4): 67-72.  
Chen Weilin, Liang Zijiao, Miao Shenyue, et al. Comparative study on growth status of *Spartina alterniflora* under different salinity[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2017, 44(4): 67-72.
- [20] 吴振斌, 梁威, 邱东茹, 等. 复合垂直流构建湿地基质酶活性与污水净化效果[J]. 生态学报, 2002, 22(7): 1012-1017.  
Wu Zhenbin, Liang Wei, Qiu Dongru, et al. The Correlation between the substrate enzymatic activities and purification of wastewater in the integrated vertical constructed wetland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(7): 1012-1017.
- [21] 吴属连, 刘欢, 崔理华. 复合人工湿地系统酶活性及其与污染物净化效果的相关性[J]. 环境工程, 2015, 1: 15-18.  
Wu Shulian, Liu Huan, Cui Lihua. The enzyme activities and its correlation with the purification of pollutants in integrated constructed wetland[J]. Environmental Engineering, 2015, 1: 15-18.
- [22] 黄娟, 王世和, 鄢璐, 等. 潜流型人工湿地的脲酶活性分布特性[J]. 东南大学学报 (自然科学版), 2008, 38(1): 166-169.  
Huang Juan, Wang Shihe, Yan Lu, et al. Distribution characteristic of urease activity in subsurface constructed wetlands[J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2008, 38(1): 166-169.
- [23] Jami E, Israel A, Kotser A, et al. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood[J]. Isme J, 2013, 7(6): 1069-1079.
- [24] 杜刚, 黄磊, 高旭, 等. 人工湿地中微生物数量与污染物去除的关系[J]. 湿地科学, 2013, 11(1): 13-20.  
Du Gang, Huang Lei, Gao Xu, et al. Number of microbe and relationship between it and removal of pollutants in constructed wetlands[J]. Wetland Science, 2013, 11(1): 13-20.
- [25] 章宪, 范跃新, 罗茜, 等. 凋落物和根系处理对杉木人工林土壤氮素的影响[J]. 亚热带资源与环境学报, 2014, 9(2): 39-44.  
Zhang Xian, Fan Yuexin, Luo Xi, et al. Effects of litter and root treatments on soil nitrogen content of Chinese fir plantation[J]. Journal of Subtropical Resources and Environment, 2014, 9(2): 39-44.
- [26] 陈亮, 刘锋, 肖润林, 等. 人工湿地氮去除关键功能微生物生态学研究进展[J]. 生态学报, 2017, 37(18): 6265-6274.  
Chen Liang, Liu Feng, Xiao Runlin, et al. Research advances in microbial ecology for N-removal in constructed wetlands[J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(18): 6265-6274.
- [27] 卢少勇, 金相灿, 余刚. 人工湿地的氮去除机理[J]. 生态学报, 2006, 26(8): 2670-2677.  
Lu Shaoyong, Jin Xiangcan, Yu Gang. Nitrogen removal mechanism of constructed wetland[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(8): 2670-2677.
- [28] 张政, 付融冰, 顾国维, 等. 人工湿地脱氮途径及其影响因素分析[J]. 生态环境, 2006, 15(6): 1385-1390.  
Zhang Zheng, Fu Rongbing, Gu Guowei, et al. Analyse of nitrogen removal pathways and their effect factors in constructed wetland[J]. Ecology and Environment, 2006, 15(6): 1385-1390.
- [29] 关伟, 肖蕾, 周晓铁, 等. 人工湿地脱氮技术研究进展[J]. 环境科学导刊, 2009, 28(4): 13-16.  
Guan Wei, Xiao Pu, Zhou Xiaotie, et al. Progress on denitrification by constructed wetland[J]. Environmental Science Survey, 2009, 28(4): 13-16.
- [30] Balmér P, Hellström D. Performance indicators for wastewater treatment plants[J]. Water Science and Technology, 2012, 65(7): 1304-1313.
- [31] 黄杉, 怀静, 吴娟, 等. 碳源补充促进人工湿地脱氮



- 研究进展[J]. 水处理技术, 2018, 44(1): 13-16.
- Huang Shan, Huai Jing, Wu Juan, et al. Research progress of nitrogen removal promotion in constructed wetland system by carbon addition[J]. Technology of Water Treatment, 2018, 44(1): 13-16.
- [32] 裴海燕, 李富生, 汤浅晶, 等. 藻细胞破碎释放有机物的特性[J]. 中国环境科学, 2003, 23(3): 272-275.
- Pei Haiyan, Li Fusheng, Tang Qianjing, et al. The characters of organic matter released from crushed algae[J]. China Environmental Science, 2003, 23(3): 272-275.
- [33] 周强, 崔正国, 王加鹏, 等. 海水人工湿地脱氮效果与系统内基质酶、微生物分析[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(1): 10-17.
- Zhou Qiang, Cui Zhengguo, Wang Jiapeng, et al. Substrate enzyme, microbe distribution and denitrification effects of the constructed sea water wetland[J]. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(1): 10-17.
- [34] 靖玉明, 张建, 张成禄, 等. 人工湿地中脱氢酶活性及其与污染物去除之间的相关性研究[J]. 环境工程, 2008, 26(1): 95-96.
- Jing Yuming, Zhang Jian, Zhang Chenglu, et al. Study on correlation between dehydrogenase activity and pollutants removal in constructed wetland[J]. Environmental Engineering, 2008, 26(1): 95-96.
- [35] Kong L, Wang Y, Zhao L, et al. Enzyme and root activities in surface-flow constructed wetlands[J]. Chemosphere, 2009, 76(5): 601-608.

## Enzyme activity in constructed marine wetlands

WU Jun-ze<sup>1, 3</sup>, WANG Yan-yan<sup>3</sup>, LI Yue-yue<sup>3</sup>, ZHU Jia-xuan<sup>3</sup>, QU Ke-ming<sup>2, 3</sup>, CUI Zheng-guo<sup>2, 3</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China; 3. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Shandong Provincial Key Laboratory of Fishery Resources and Eco-Environment, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

**Received:** Jan. 21, 2019

**Key words:** constructed wetland; mariculture wastewater; nitrogen removal; enzyme activity

**Abstract:** Herein, a constructed marine wetland system was used to treat mariculture wastewater. The removal rates of different forms of nitrogen and substrate enzyme activity in the constructed wetland were explored. *Spartina alterniflora* was selected as the plant of the constructed wetland. The substrates were filled with cinder, coral rock, and fine sand. In four continuous experimental periods, the correlation trend between substrate enzyme activity and denitrification effects was investigated. Results showed that the removal rates of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , TN, and DON were  $(99.6 \pm 0.7)\%$ ,  $(99.9 \pm 0)\%$ ,  $(98.2 \pm 2)\%$ ,  $(92.6 \pm 1.5)\%$ , and  $(86.1 \pm 4.8)\%$ , respectively. Nitrogen concentration decreased, and nitrogen removal rates significantly increased. Surface substrate activities of dehydrogenase, nitrate reductase (NR), and urease (UE) in the downstream pool were higher than those in the upstream pool. Nitrogen removal effects in the downstream were better than those in the upstream pool. Dehydrogenase activity was related to the removal of ammonia nitrogen in the constructed marine wetland. NR activity affected nitrate removal in the constructed wetland. Urease activity was significantly correlated with the removal of total nitrogen and nitrate in the constructed wetland. A significant correlation was observed between the activities of NR and UE in the downstream pool ( $r = 0.76$ ;  $P < 0.05$ ). Rich species of microorganisms were present in the constructed wetland. Microbial diversity was higher in the downstream pool than that in the upstream pool, and it was highest in plant roots, thereby improving nitrogen removal efficiency. These study results are expected to contribute to the research on the migration mechanism of different forms of nitrogen in constructed marine wetlands.

(本文编辑: 康亦兼)