

凤眼莲及底泥对富营养化水体反硝化脱氮特征的影响研究

马涛^{1,2}, 张振华¹, 易能^{1,2}, 刘新红¹, 王岩¹, 严少华^{1*}, 高岩^{1*}

(1.江苏省农业科学研究院农业资源与环境研究所, 南京 210014; 2.南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要:利用改进的漂浮箱法,通过直接测定水体释放的 N_2O 、 N_2 ,在模拟实验中研究种养及未种养漂浮植物凤眼莲条件下富营养化水体硝化、反硝化脱氮释放 N_2 、 N_2O 特征及其对消减水体氮的贡献。结果表明,种养或未种养凤眼莲的富营养化水体硝化、反硝化脱氮的产物以 N_2 为主,硝化、反硝化脱氮释放 N_2O 而脱除的氮仅占水体 TN 损失量的 $0.01\%\pm 0.003\%$ 。在实验设定的水体富营养化条件下(NH_4^+-N 浓度 $6.0\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 NO_3^--N 浓度 $0.81\sim 5.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TN 浓度为 $8.9\sim 12.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),种养凤眼莲的富营养化水体(无底泥)以向大气界面累积释放 N_2 形式损失的氮量(N_2-N 量,以 N 计)为 $(1\ 609.1\pm 303.4)\sim (2\ 265.2\pm 262.6)\text{mg}$,占水体氮损失量的 $63.2\%\pm 17.0\%$,凤眼莲吸收的 N 仅占水体 TN 损失量的 $(23.7\pm 3.1)\%\sim (28.7\pm 4.8)\%$,并不是净化水体氮的唯一途径。未种养凤眼莲的富营养化水体(无底泥)向大气界面累积释放 N_2 形式损失的氮占整个水体 N 损失量的 $(40.7\pm 8.6)\%\sim (43.6\pm 0.8)\%$,是富营养化水体自净脱氮的主要途径。施加底泥进一步促进了水体通过反硝化脱氮释放 N_2 而损失的氮量。凤眼莲与底泥对促进反硝化脱氮过程具有良好的交互作用($P<0.01$)。种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放 N_2 的浓度显著($P<0.05$)高于相应处理下未种养凤眼莲的对照水体,说明凤眼莲可能对水体反硝化脱氮过程有促进作用。

关键词:富营养化水体;凤眼莲;反硝化脱氮; N_2O 、 N_2 释放

中图分类号:X52 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)12-2451-09 doi:10.11654/jaes.2013.12.019

Nitrogen Removal Via Denitrification from Eutrophic Water as Influenced by *Eichhonia crassipes* and Sediment

MA Tao^{1,2}, ZHANG Zhen-hua¹, YI Neng^{1,2}, LIU Xin-hong¹, WANG Yan¹, YAN Shao-hua^{1*}, GAO Yan^{1*}

(1.Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2.College of Resources and Environment Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Nitrogen gas (N_2) is believed to be the main gaseous product of nitrification and/or denitrification occurred in eutrophic water. Total removal of N_2 and N_2O from eutrophic water with or without cultivation of water hyacinth (*Eichhonia crassipes*) was investigated using an improved floating-chamber method to directly measure N_2 and N_2O emission from water. Under the high concentrations of N (NH_4^+-N : $6.0\sim 7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; NO_3^--N : $0.81\sim 5.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; TN $8.9\sim 12.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), growing *E. crassipes* without sediment removed $(1\ 609.1\pm 303.4)\sim (2\ 265.2\pm 262.6)\text{mg}$ N from the water, accounting for $(63.2\pm 17.0)\%$ of the total N loss from the water. However, only $(23.7\pm 3.1)\%\sim (28.7\pm 4.8)\%$ of the total N loss was from N uptake by *E. crassipes*. In the treatments without *E. crassipes* or sediment, N_2 emission $[(689.0\pm 29.2)\sim (1\ 142.9\pm 17.5)\text{mg}\ \text{N}_2-\text{N}]$ accounted for $(40.7\pm 8.6)\%\sim (43.6\pm 0.8)\%$ of total N loss from the water. Applying sediment to the water further increased N_2 emission via nitrification and/or denitrification. Interactions between *E. crassipes* and sediment were significant ($P<0.01$). In general, N_2 produced in the water was significantly higher ($P<0.05$) with than without *E. crassipes*. The findings suggest that cultivation of *Eichhonia crassipes* had a stimulation effect on denitrification process in eutrophic water.

Keywords: eutrophic water; water hyacinth; nitrification; denitrification; N_2O and N_2 emission

收稿日期:2013-04-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31100373);973 计划前期研究专项(2012CD426503)

作者简介:马涛(1989—),男,安徽滁州人,硕士研究生,研究方向为水体氮循环研究。E-mail: matao07@163.com

*通信作者:高岩 E-mail: lucy.gaoyan@yahoo.com.cn; 严少华 E-mail: shyan@jaas.ac.cn

氮(N)是生态系统中最活跃的元素之一,它的迁移转化规律涉及到物理、化学及生物等作用的复杂过程,与水体富营养化关系密切。富营养化水体(湖泊、河流、水库等)中部分过量的氮可通过微生物驱动的反硝化、反硝化反应转化为气态产物 N_2O 、 N_2 进入到空气中^[1-2],这对减缓水体生态系统中过量 N 负荷带来的负面效应具有重大意义。然而,目前对富营养化水体硝化、反硝化脱氮释放 N_2O 、 N_2 的规律及其对消减水体氮的贡献尚了解甚少。这主要是由于 N_2 在空气中的本底值极高,强烈干扰着脱氮过程产生的 N_2 的收集和测定过程,使得以往关于水体脱氮的研究只能借助间接测定的方法,并不能对水体向大气释放的氮量做出直接测定和定量化评估^[3-4]。

N_2 直接测定法是可以反映水体硝化、反硝化脱氮规律和程度的最直接的方法,但由于空气中 N_2 的背景值强烈干扰着 N_2 的检测,该方法仍在广泛探索之中。目前,国际上主要采用漂浮静态箱法(Floating Static Chamber)直接观测水气-大气界面释放的温室气体,主要包括 N_2O 、 CH_4 、 CO_2 等^[5-6]。漂浮静态箱法是一种原理简单、操作方便的水气界面气体通量观测方法,它通过在水体表面放置一个顶部密封的箱体,箱体底部中通,收集表层水体以扩散方式排放的待测气体,合理改进后即可适用于监测水体-大气界面释放 N_2 。

大型水生植物是水生态系统的重要组成部分。以往关于大型水生植物修复富营养化水体的研究主要侧重于植物吸收 N 对消减水体氮的贡献^[7-8],其对富营养化水体硝化、反硝化脱氮释放 N_2O 、 N_2 的影响研究偏少,而“水葫芦治理滇池污染试验性工程”结果表明,水体氮的消减量远大于漂浮植物吸收带走的量^[9]。近期的模拟实验发现漂浮植物凤眼莲在修复不同程度富营养化水体过程中,扣除植物对 N 的吸收量后,仍有 12.3%~55.3%的 N 去除途径不明确^[10]。推测硝化、反硝化作用可能对这部分氮的去除做出了主要贡献。然而,目前关于凤眼莲对富营养化水体反硝化释放气态终产物 N_2 的影响程度并不明确。

因此,本研究将根据漂浮静态箱法,并结合排水集气原理,根据大型水生漂浮植物的漂浮生长特性,尽量降低空气 N_2 背景值的干扰,设计研究水体-大气界面释放 N_2 、 N_2O 的装置。期望借助该装置,通过直接测定水体释放的 N_2O 、 N_2 ,阐明种养及未种养凤眼莲条件下富营养化水体硝化、反硝化脱氮释放 N_2 、 N_2O 特征及其对消减水体氮的贡献。

1 材料与方法

1.1 供试植物

凤眼莲(*Eichhonia crassipes*),俗称水葫芦,属雨久花科,为大型漂浮水生植物。试验开始前,在江苏省农业科学院蓄水塘凤眼莲种养区选取植株健壮且长势一致的风眼莲进行移栽。

1.2 供试富营养化水体

富营养化水体的来源为江苏省农科院 1# 蓄水塘污水。该蓄水塘的水主要来源于生活污水和雨水,氨氮含量较高,而硝氮浓度大部分时间维持在 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,主要用于灌溉水稻田。2012 年,蓄水塘水体的 pH 值变化范围在 6.9~8.2、DO 变化范围为 $7.4\sim13.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TN 变化范围为 $5.0\sim10.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TP 变化范围为 $0.2\sim0.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验所用底泥挖自太湖,有机质含量为 2.5%,TN 为 $1.74\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、TP 为 $0.39\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

在本实验中,直接将该污水作为实验用水,或者向其中以 KNO_3 的形式加入一定浓度的 NO_3^- -N。实验开始前,测得每个水泥池中水体 NH_4^+ -N 浓度为 $6.0\sim7.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在未加 NO_3^- -N 处理中,水体 NO_3^- -N 浓度为 $0.81\sim1.59\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 NO_2^- -N 浓度为 $0.15\sim0.33\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TN $6.3\sim9.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;在施入 NO_3^- -N 处理中,加入约 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NO_3^- -N 后水体平衡 1 d,测定 NO_3^- -N 浓度为 $3.86\sim5.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 NO_2^- -N 浓度为 $0.15\sim0.33\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TN 浓度为 $8.9\sim12.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在有底泥的处理中,测得水体中相应的各种形态氮初始浓度较低。

1.3 试验方法

1.3.1 实验处理

实验处理设为两种富营养化水体的初始营养盐浓度(1# 蓄水塘原污水及 1# 蓄水塘污水中施入约 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N),并同时设有种植与不种植凤眼莲,以及加与不加底泥处理。每个处理重复 3 次,具体表示为:处理 1,原污水+ NO_3^- -N(EuW+ NO_3^-);处理 2,原污水+ NO_3^- -N+凤眼莲(EuW+ NO_3^- +WH);处理 3:原污水(EuW);处理 4,原污水+凤眼莲(EuW+WH);处理 5:原污水+ NO_3^- -N+底泥(EuW+ NO_3^- +SD);处理 6:原污水+ NO_3^- -N+底泥+凤眼莲(EuW+ NO_3^- +SD+WH);处理 7:原污水+底泥(EuW+SD);处理 8:原污水+底泥+凤眼莲(EuW+SD+WH)。

为了消除采气装置和采气过程微量空气渗透对所收集 N_2 浓度测定的影响,设定用纯净水(水中加入主要成分为次氯酸钠的漂白水抑制细菌繁殖)作为所有处理的空白对照。

1.3.2 实验设计

实验在江苏省农业科学院室外实验基地进行。实验用水为非流动的静态水体,贮存于长×宽×深=80 cm×60 cm×70 cm 的混凝土池中。在设有施加底泥的处理中,水泥池底部填充 20 cm 厚的底泥(底泥采自太湖),水池排水口位于底泥正上方。为了尽量降低空气中 N_2 背景值对监测气体浓度变化的影响,并达到原位收集水体经硝化、反硝化反应释放 N_2O 、 N_2 的目的,实验开始前将采气装置完全压入水体中,赶除装置内部来源于空气中的气体(此时装置顶部的两个通气阀门处于打开状态)。当采气装置完全浸入水里后,从装置底部向水中通入 79%He/21% O_2 10 min,目的是尽量降低水体中溶存的 N_2 及 N_2O 含量。然后,关闭装置顶部的通气阀门,继续从装置底部向密闭箱体内部的水中通入 79% He/21% O_2 和微量 CO_2 ,同时移去外力,使得采气装置浮出水面一定体积,作为用于抽取气体样品和水生植物茎叶生长(适用于种植植物情况)的顶空(顶空体积为长×宽×高=45 cm×30 cm×15 cm)。最后用浮球支架固定采气装置,使其平衡地浮在水中。

在种植凤眼莲的处理中,也采用相同的方式采集气体,实验开始前将采气装置及凤眼莲一起压入水体中即可。该采气装置是由透明有机玻璃制成的(长×宽×高=45 cm×30 cm×45 cm),结构示意图如图 1 所示。在种植凤眼莲的处理中,在约 200 L 水体中种植覆盖度约为 60% 的凤眼莲,初始放养量约为 1.0 kg (以鲜重计)。实验期间将 1/3 总量的凤眼莲限制在采气装置内生长,每日通过通气阀门 1 向装置内充入一定量 95% O_2 +5% CO_2 ,以保证凤眼莲在生长过程中进行正常的光合作用和呼吸作用。在一定时间间隔内

(0、3、5、7、10、12 d)定期采集水样,测定水体中 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 NO_2^- 及总氮的浓度变化,并通过装置上的取气孔定期从顶空抽取气体样品测定 N_2 、 N_2O 气体浓度。采样时间在上午 8:00—10:00,采样时采气装置箱体内部温度变化为 28~35 $^{\circ}C$,外界环境气温变化为 22~30 $^{\circ}C$ 。凤眼莲种植 12 d 后收获,测定植株体内氮含量。

1.3.3 N_2O 气体测定方法

N_2O 由带有 Ni^{63} 电子捕获检测器的岛津 GC-14B 气相色谱仪测定,柱温 65 $^{\circ}C$,检测温度为 300 $^{\circ}C$,载气流速 40 mL·min $^{-1}$ 。 N_2 由带有热导检测器的岛津 GC-2014 气相色谱仪测定,以高纯 He 为载气,载气流速 40 mL·min $^{-1}$,分子筛色谱柱(直径 3 mm,高 2 m),柱温 50 $^{\circ}C$,检测器温度 100 $^{\circ}C$,电流 80 mA,采用面积外标法测定样品中 N_2 的含量。

1.3.4 水样 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 NO_2^- 及 TN 的浓度测定

水样经过滤后用德国 Seal 公司 AutoAnalyzer 3 流动分析仪测定 NH_4^+ 、 NO_3^- 及 NO_2^- 浓度。另取未过滤的水样,加入碱性过硫酸钾氧化剂(20 g $K_2S_2O_8$:3 g NaOH),在 120 $^{\circ}C$ 消煮 30 min 后,用流动分析仪测定 TN 浓度。

1.4 计算方法

水体 N 消减量(R)、水体累积释放 N_2 -N 量(E_{N_2-N})和水体累积释放 N_2O -N 量(E_{N_2O-N})的计算公式如下:

$$(1) R = (C_{TN0} - C_{TNi}) \times V$$

式中: C_{TN0} 为水体初始的总氮浓度,以 N 计,mg·L $^{-1}$; C_{TNi} 为实验结束时水体的总氮浓度,以 N 计,mg·L $^{-1}$; V 为水体的体积,L。

$$(2) C_{N_2} = C_{N_2,ti} - C_{N_2,t0} - C_{N_2,S,ti}$$

$$E_{N_2} (g \cdot m^{-2}) = C_{N_2} \times \rho / S_{CO}$$

$$E_{N_2-N} (mg) = \text{水体 } N_2 \text{ 累积释放量} (g \cdot m^{-2}) \times S_c (m^2) \times (2N \text{ 原子数}) \times 10^3$$

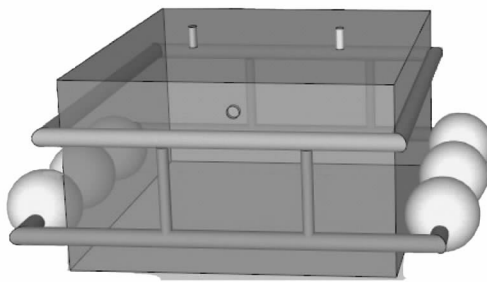
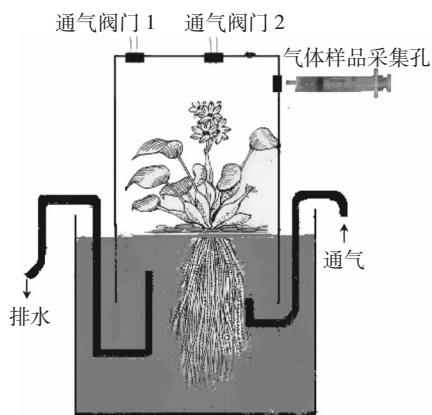


图 1 原位采集种养及未种养凤眼莲水体释放 N_2O 、 N_2 的密闭装置剖面和外形示意图

Figure 1 Sketch diagram of enclosed chamber for in situ collecting N_2O released from water with cultivation of *Eichhornia crassipes*

式中: $C_{N_2,ti}$ 为实验结束时最后一次测得的 N_2 浓度, $\mu L \cdot L^{-1}$; $C_{N_2,t0}$ 为实验开始时测定的采气装置顶空的 N_2 背景值; $C_{N_2,S,ti}$ 为加入了漂白水的空白对照处理中采气装置顶空的 N_2 浓度, $\mu L \cdot L^{-1}$, 目的是消除采气装置和采气过程微量空气渗透对所收集 N_2 浓度测定的影响(因为实验期间采气装置一直密闭收集水体释放的气态产物, 所以在理想状态下采气装置覆盖的一定面积水体释放的 N_2 全部累积在采气装置顶空。在这种情况下直接用实验结束时最后一次测得的 N_2 浓度, 并根据高岩等^[9]使用的 N_2O 气体重量计算方法, 计算获得水体累积释放 N_2 量); ρ 为标准状态下 N_2 的密度(温度 $0^\circ C$, 压力 $0.1013 MPa$), 取值为 $1.251 g \cdot L^{-1}$; S_{c0} 为气体采集装置覆盖水体面积, m^2 ; S_c 为水体总面积, m^2 。

$$(3) E_{N_2O} = C_{N_2O} \times \rho \times 10^{-3} \times V_{H_0} / S_{H_0}$$

$$E_{N_2O-N} = E_{N_2O} \times S_c \times k \times 10^3$$

式中: E_{N_2O} 为水体累积释放 N_2O 量, $g \cdot m^{-2}$; C_{N_2O} 为实验结束时最后一次测得的 N_2O 浓度, $\mu L \cdot L^{-1}$; ρ 为标准状态下被测气体的密度, 取值为 $1.964 kg \cdot m^{-3}$ (N_2O 的摩尔质量 44 / 气体在标准状况下的摩尔体积 $22.4 L$); V_{H_0} 为气体采集装置顶空体积, m^3 ; S_{H_0} 为气体采集装置覆盖水体面积, m^2 ; E_{N_2O-N} 为水体累积释放 N_2O-N 量, mg ; S_c 为水体总面积, m^2 ; k 为参数, 取值为 $2 \times N$ 原子数 / N_2O 分子数。

1.5 统计方法

各处理的水体在不同培养时间释放 N_2O 、 N_2 浓度用重复测量方差(Repeated measure ANOVA)进行多次比较检验, 显著水平为 5% , 极显著水平为 1% (SPSS 13.0)。重复测量方差的组间因素效应检验(Test of Between-Subjects Values)结果比较显示, 不同处理(加入 NO_3^- 、种养凤眼莲、施入底泥)对水体释放 N_2 浓度均有显著影响。重复测量方差的组内因素(时间 time)效应检验(Test of Between-Subjects Values)用于比较培养时间对水体释放 N_2O 、 N_2 浓度的影响。

2 结果

2.1 水体中 NH_4^+-N 、 NO_3^-N 、 NO_2^-N 的变化

种植和未种植凤眼莲水体中 NH_4^+-N 浓度在试验期内呈现持续下降趋势(图 2A, 图 2B)。实验进行 $7 d$ 后水体 NH_4^+-N 浓度下降幅度明显减缓。水体未施入外源 NO_3^-N 的情况下, 蓄水塘原污水的 NO_3^-N 本底浓度较低, 未种植凤眼莲水体中的 NO_3^-N 浓度呈现明显的波动变化趋势, 即下降-上升-下降的趋势(图 2B)。同时, 未种植凤眼莲水体中的 NO_2^-N 浓度也呈

现实验前期上升, 后期下降的趋势(图 2B)。当在水体中施加外源的 NO_3^-N , 种植和未种植凤眼莲水体中的 NO_3^-N 浓度均呈现逐渐降低的趋势, 但种植凤眼莲水体的 NO_3^-N 浓度下降幅度较大。然而, 未种植凤眼莲水体中的 NO_2^-N 呈现明显的上升趋势, 而在种植凤眼莲水体中(未加底泥)的 NO_2^-N 呈现先升高后降低的趋势(图 2A)。水体中未施入外源的 NO_3^-N 情况下, 无论种植或不种植凤眼莲, 未加底泥的水体 NO_3^-N 及 NO_2^-N 浓度均明显高于加底泥水体。

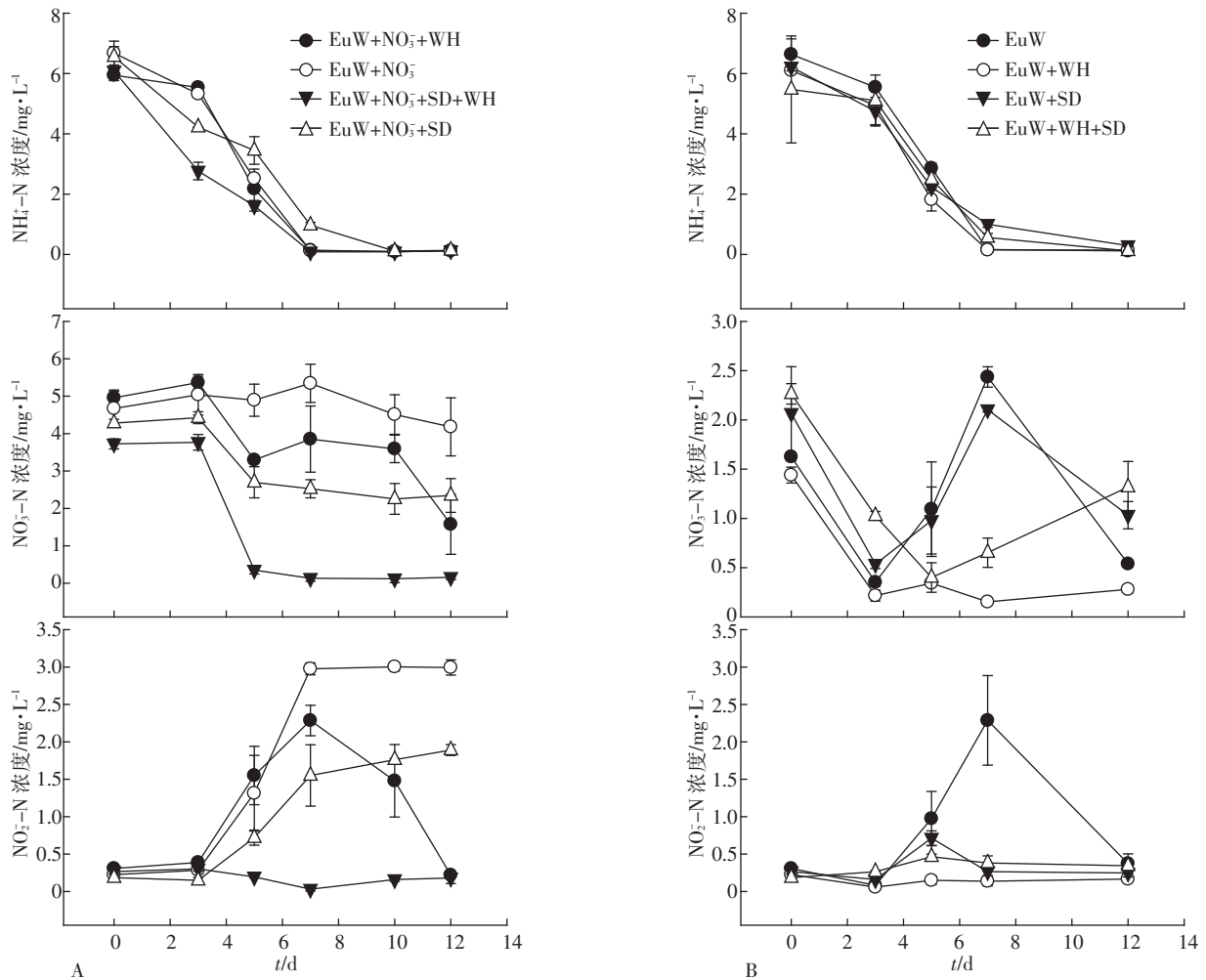
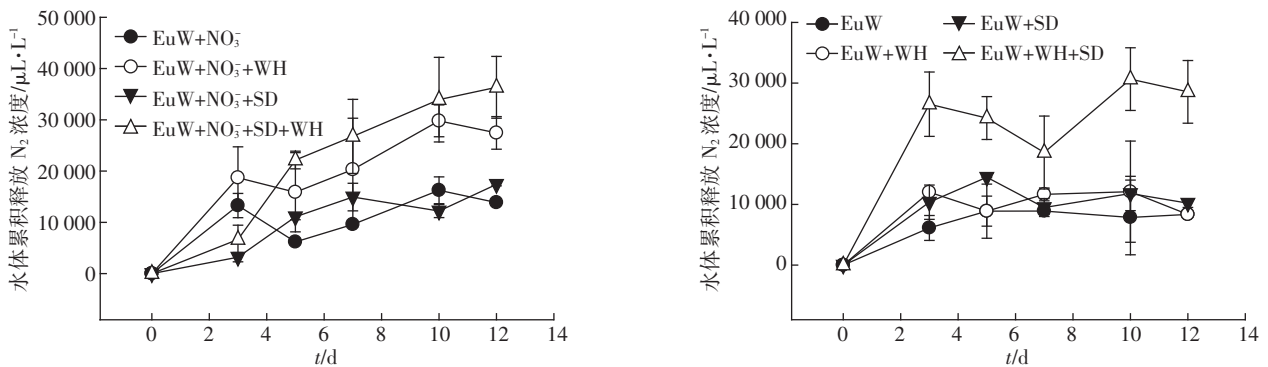
2.2 水体-大气界面释放 N_2 、 N_2O 气体浓度变化规律

由图 3 可知, 随着培养时间的增加, 各处理中种养或未种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放 N_2 、 N_2O 浓度累积升高。根据重复测量方差(Repeated measure ANOVA)统计结果, 时间对 N_2 、 N_2O 浓度的影响极为显著($P < 0.01$)。

重复测量方差的组间因素效应检验(Test of Between-Subjects Values)结果表明, 向水体中加入 NO_3^- 、种养凤眼莲、施入底泥对水体释放 N_2 浓度均有显著影响($P < 0.01$)。种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放的 N_2 浓度显著高于相应处理下未种养凤眼莲的对照水体($P < 0.05$)。例如: 种植了凤眼莲的 2# 塘原污水(无底泥)释放 N_2 浓度范围为: $(12\ 017 \pm 212) \sim (19\ 500 \pm 3677) \mu L \cdot L^{-1}$ (处理 4: EuW+WH), 而未种植凤眼莲的 2# 塘原污水释放 N_2 浓度范围为 $(6117 \pm 2051) \sim (8350 \pm 353) \mu L \cdot L^{-1}$ (处理 3: EuW)。

在 2# 塘原污水中又加入 NO_3^-N 明显地增加了实验后期($5 d$ 后)未加底泥且未种养凤眼莲水体释放 N_2 浓度(图 3), 如: 在第 $12 d$, 加入 NO_3^-N 的水体释放 N_2 浓度为 $(13\ 850 \pm 212) \mu L \cdot L^{-1}$ (处理 1: EuW+ NO_3^-), 而未加 NO_3^-N 的水体释放 N_2 浓度为 $(8350 \pm 353) \mu L \cdot L^{-1}$ (处理 3: EuW)。与未加底泥的处理相比, 加入底泥并未明显增加种养或未种养凤眼莲水体向大气界面释放的 N_2 浓度。

由图 4 可知, 各处理中种养或未种养凤眼莲的富营养化水体也向大气界面释放一定浓度的 N_2O 气体(浓度变化范围 $0.12 \sim 2.27 \mu L \cdot L^{-1}$), 但其浓度远远低于水体释放的 N_2 浓度。水体释放的 N_2/N_2O 比例为 $1.20 \times 10^4 \sim 9.67 \times 10^6$, 即富营养化水体释放的硝化、反硝化气态产物以 N_2 为主, 可占到硝化、反硝化气态产物总量的 99.98% 以上。在整个实验期内, 种植凤眼莲并未表现出提高水体释放 N_2O 气体浓度的一致性规律, 既有个别时间点相应处理下种养凤眼莲水体释放 N_2O 气体浓度略高于未种养凤眼莲水体释放 N_2O 气

图 2 富营养化水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 随培养时间的变化规律Figure 2 Changes in $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ concentrations in eutrophic water

EuW+ NO_3^- :原污水+ NO_3^- -N(处理 1);EuW+ NO_3^- +WH:原污水+ NO_3^- -N+凤眼莲(处理 2);EuW:原污水(处理 3);

EuW+WH:原污水+凤眼莲(处理 4);EuW+ NO_3^- +SD:原污水+ NO_3^- -N+底泥(处理 5);EuW+ NO_3^- +SD+WH:原污水+ NO_3^- -N+底泥+凤眼莲(处理 6);

EuW+SD:原污水+底泥(处理 7);EuW+SD+WH:原污水+底泥+凤眼莲(处理 8)。下同

图 3 种植或未种植凤眼莲的富营养化水体-大气界面释放 N_2 气体浓度Figure 3 Concentrations of N_2 released from eutrophic water with or without water hyacinth

体浓度,也有个别时间点与该规律相反。在 2# 塘原污水中又加入 NO_3^- -N 明显地增加了实验后期各处理富营养化水体释放 N_2O 浓度。

2.3 硝化、反硝化脱氮及植物吸收对消减水体氮的贡献
硝化、反硝化脱氮释放 N_2O ,而脱除的氮仅占水体 TN 损失量的 $(0.01\pm 0.003)\%$ (表 1)。实验过程中水

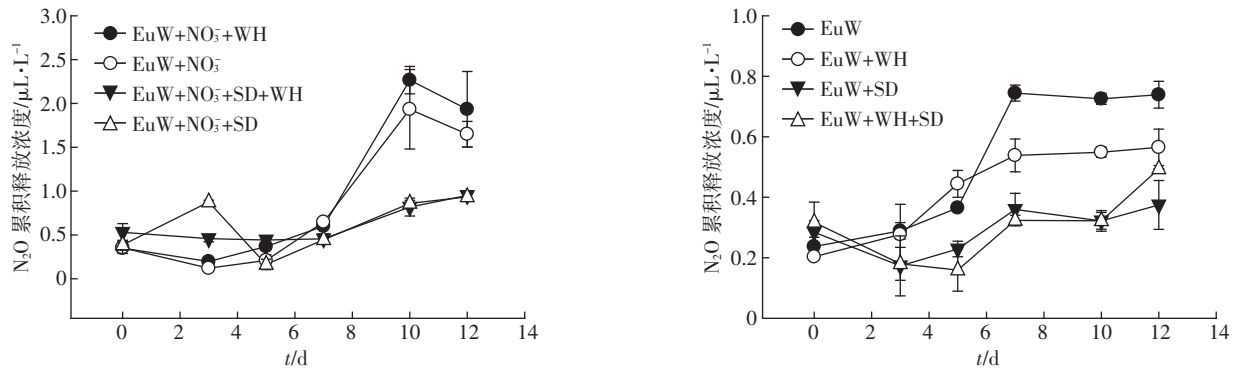


图 4 种植或未种植凤眼莲的富营养化水体-大气界面释放 N₂O 气体浓度
Figure 4 Concentrations of N₂O released from eutrophic water with or without water hyacinth

体硝化、反硝化脱氮的产物以 N₂ 为主。

在 2 个星期的培养期内, 在无底泥的条件下, 未种养凤眼莲的富营养化水体以向大气界面累积释放 N₂ 形式损失的氮量分别为(1 142.9±17.5)mg(处理 1)、(689.0±29.2)mg(处理 3)(N₂-N 量, 以 N 计), 分别占整个水体 N 损失量的(43.6±0.8)%、(40.7±8.6)%(表 1)。而种养凤眼莲的富营养化水体以向大气界面累积释放 N₂ 气体形式损失的氮量分别为(2 265.2±262.6)mg(处理 2)、(1 609.1±303.4)mg(处理 4)(N₂-N 量, 以 N 计), 分别占整个水体 TN 损失量的(70.6±2.8)%、(63.2±17.0)%(表 1)。施入底泥显著增加水体释放 N₂-N 量, 且由于底泥养分向上覆水体的扩散, 显著降低了水体 TN 损失量, 使得水体以释放 N₂ 形式损失的氮量占水体氮损失量的比例明显升高。

在无底泥施入的条件下, 种养凤眼莲的水体去除的氮量明显高于相应处理中未种植凤眼莲水体去除的氮量, 其中植物吸收的 N 占水体 TN 损失量的(28.7±4.8)%(处理 2)、(23.7±3.1)%(处理 4)。在施入底泥的条件下, 凤眼莲吸收的 N 占水体 TN 损失量的

比例如处理 6 为(41.1±3.0)%, 处理 8 为(33.1±3.8)%, 均显著高于($P<0.05$)相应未施入底泥处理中凤眼莲吸收的 N 占水体 TN 损失量的比例, 如处理 2 为(28.7±4.8)%, 处理 4 为(23.7±3.1)%。

3 讨论

在富营养化水体生态系统中, 输入水体中的部分过量外源氮经过复杂的迁移、转化过程, 最终会通过硝化、反硝化反应生成 N₂O、N₂ 释放到大气中。另外, 植物吸收以及氨的挥发也是水体中氮的重要去除途径。然而在 pH 值小于 8 的条件下, NH₄⁺-N 通过 NH₃ 挥发损失的量很小, 可以忽略^[1]。目前农业上为减少土壤 NH₄⁺-N 的挥发, 采用施加酸化剂以降低土壤的 pH 值^[12], 因此在本实验中(水体的 pH 值处于 5.8~7.8), 除了植物吸收以外, 水体中的 NH₄⁺-N 主要以硝化-反硝化脱氮(Coupled nitrification and denitrification)的形式从水体中去除^[13]。这一点可以间接地从水体中 NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 的变化情况反映出来。本实验中, 水体未施入外源的 NO₃⁻-N 情况下, 蓄水池原污水的 NO₃⁻-N 本底

表 1 植物吸收及水体释放 N₂、N₂O 对消减水体氮的贡献
Table 1 Contribution of plant uptake and N₂、N₂O emission to total N removal from water

处理	水体 TN 损失量/mg	植物吸收 N		水体释放 N ₂ O-N		水体释放 N ₂ -N	
		吸收 N 量/mg	占水体氮消减量的比例/%	累积释放 N ₂ O-N 量/mg	占水体氮损失量的比例/%	累积释放 N ₂ -N 量/mg	占水体 N 损失量的比例 (N ₂ 量直接计算)/%
处理 1	2 617.9±189.2	—	—	0.27±0.02	0.01±0.001	1 142.9±17.5	43.6±0.8
处理 2	3 208.9±245.6	914.9±84.2	28.7±4.8	0.32±0.07	0.01±0.003	2 265.2±262.6	70.6±2.8
处理 3	1 693.5±165.3	—	—	0.12±0.01	0.01±0.002	689.0±29.2	40.7±8.6
处理 4	2 544.6±201.5	600.7±31.1	23.7±3.1	0.09±0.01	0.00±0.001	1 609.1±303.4	63.2±17.0
处理 5	1 776.6±115.2	—	—	0.15±0.01	0.01±0.001	1 435.8±23.3	80.8±3.9
处理 6	1 860.4±157.2	802.0±64.0	41.1±3.0	0.16±0.00	0.01±0.000	2 998.3±497.7	161.2±24.6
处理 7	1 068.6±234.7	—	—	0.06±0.01	0.01±0.003	841.7±58.4	78.8±23.3
处理 8	1 315.6± 88.2	433.9±20.7	33.1±3.8	0.08±0.00	0.01±0.000	2 355.9±426.0	179.1±44.5

浓度较低($0.81\sim 1.59\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),水体中的无机氮主要以 NH_4^+-N 为主,实验的前期水体中的 NH_4^+-N 浓度持续下降, NO_3^--N 、 NO_2^--N 呈现明显的略微下降然后上升的趋势(图 2B),并且伴随着明显的 N_2 释放过程。这些都证明了水体中 NH_4^+-N 经硝化-反硝化生成了 NO_3^--N 、 NO_2^--N 。当在水体中施加外源的 NO_3^--N 时,在实验过程中,水体中的 NO_3^--N 浓度呈现逐渐降低的趋势,水体中的 NO_2^--N 则呈现非常明显的上升趋势(图 2A),并且升高的幅度明显比未加外源 NO_3^--N 的水体高,说明水体中发生了强烈的反硝化过程。所以在本研究中,水体中的氮的损失主要分为植物的吸收、反硝化及硝化-反硝化途径。

水体中物理和化学条件的多相性导致水体中可以同时进行硝化和反硝化的过程^[14]。水体中的氮在硝化反硝化细菌的作用下,最终生成 N_2 、 N_2O 气态产物释放到空气中,完成 N 的循环过程^[15]。在本实验中,随着培养时间的增加,各处理中种养或未种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放 N_2 、 N_2O 浓度累积升高(图 3、图 4)。根据重复测量方差(Repeated measure ANOVA)统计结果,培养时间对 N_2 、 N_2O 浓度的影响极为显著($P<0.01$),说明水体通过硝化、反硝化脱氮反应不断向大气界面释放气态产物。水体硝化、反硝化脱氮释放 N_2O 而脱除的氮仅占水体 TN 损失量的(0.01 ± 0.003)%(表 1),硝化、反硝化脱氮的产物以 N_2 为主。此前的部分研究也发现,在水体的硝化反硝化的过程中, N_2O 的释放只是很少的一部分,硝化反硝化脱氮的主要产物是 N_2 ^[16-17],这与我们的结论一致。

硝化反硝化释放的 N_2 的量化测定是评估硝化反硝化过程的重要步骤^[18],但是由于 N_2 在空气中的本底值极高,强烈干扰着硝化反硝化过程产生 N_2 的收集和测定过程^[19-20],硝化反硝化产物 N_2 的量化测定一直是难以解决的问题,而目前大多数有关水体硝化、反硝化脱氮规律的研究均建立在测定所采集的底泥或水体样品的反硝化速率之基础上^[21-22]。测定的反硝化速率实际上反映的是所采集水体或底泥样品的反硝化潜力,属于一类估计值。由于采用的测定方法不同,所得到的反硝化速率测定结果也会有很大差异,因此各类研究报道的反硝化速率之间不具有可比性^[3]。只有采用原位收集水体释放气体,直接测定水体释放 N_2 的方法,才可以消除由于样品采集对环境的扰动、样品保存、不同反硝化速率测定方法对评估水体反硝化脱氮能力所产生的影响。

本研究试图采用直接测定水体排放气体中 N_2 含

量的方法,研究水体硝化、反硝化脱氮特征。研究根据静态漂浮箱法,并结合排水集气原理,利用 He 置换背景 N_2 ,显著地降低了全部采气箱中 N_2 的初始背景值,为(9737 ± 3202) $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 。但利用 He 气置换空气背景后,由于漂浮箱顶空的 N_2 、 N_2O 分压降低至零,导致水体中溶解的 N_2 、 N_2O 向顶空扩散速率增加,因此仅仅通过测定顶空中 N_2 、 N_2O 浓度计算水体排放 N_2 、 N_2O 通量,可能会导致高估 N_2 、 N_2O 的排放,但可通过扣除对照水体(氮浓度很低的纯净水)向顶空扩散的 N_2 、 N_2O 浓度来进行矫正,降低高估水体排放 N_2 、 N_2O 的风险。通过测定采气箱中 N_2 的浓度并进行相应的计算,发现未种养凤眼莲的富营养化水体以向大气界面累积释放 N_2 形式损失的氮量分别为($1\,142.9\pm 17.5$) mg (处理 1:EuW+ NO_3^-)、(689.0 ± 29.2) mg (处理 3:EuW)(N_2-N 量,以 N 计),分别占整个水体 N 损失量的(43.6 ± 0.8)%、(40.7 ± 8.6)%(表 1)。说明在本实验条件下,硝化、反硝化脱氮释放 N_2 是水体自净脱氮的重要途径。重复测量方差的组间因素效应检验(Test of Between-Subjects Values)结果表明,种养凤眼莲对水体释放 N_2 浓度均有显著影响($P<0.01$),种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放的 N_2 浓度显著高于($P<0.05$)相应处理下未种养凤眼莲的对照水体(图 3)。然而,计算获得的以释放 N_2 形式脱除的氮占水体 TN 损失量高于 100%,分别为(70.6 ± 2.8)%(处理 2:EuW+ NO_3^- +WH)、(63.2 ± 17.0)%(处理 4:EuW+WH)。导致该结果的原因可能是种养凤眼莲促进了水体硝化、反硝化脱氮反应。课题组前期研究工作表明,在高温、高氨氮的富营养化水体中种养凤眼莲确实能促进水体硝化、反硝化脱氮反应,提高了水体释放 N_2O 的量^[10]。在人工构建水生植物群落条件下,水生植物可通过自身的特性来影响改变所处介质环境中的物理、化学条件,形成与其相适应的生物学环境条件^[23-24],与水体中的硝化、反硝化脱氮微生物进行复杂的交互作用,最终影响环境介质中的硝化、反硝化脱氮过程。

Russell 等的研究表明,底泥在水体中的营养物质、重金属以及污染物的传输过程中起到重要的作用^[25]。在本研究中,施入底泥相比没有底泥的处理中水体总氮的损失量显著降低,这可能是由于底泥对营养元素再分配的结果^[26]。底泥对进入水体的养分再分配作用存在两方面:在大量养分进入水体的初期,水体养分浓度高,可能出现底泥快速滞留水体养分现象,当人工加入养分平衡 24 h 后测定水体养分初始值,已经造成了水体养分初始浓度降低;在水体净化的后期,

水体中的养分浓度大幅度降低,底泥养分可能会向上覆水体扩散^[27]。两方面的因素均会导致上覆水体 TN 的损失量降低。施加底泥显著增加水体释放 N_2-N 量,并且凤眼莲吸收的氮量减少,水体总氮的损失量显著降低,使得水体以 N_2 形式损失的氮量占水体氮损失量的比例显著($P<0.05$)升高(表 1)。根据以往的研究,底泥中的环境介质条件非常有利于发生反硝化或硝化反硝化耦合的脱氮反应^[28]。另外,仅施加底泥的处理相对种养凤眼莲同时施加底泥的处理相比,后者释放的 N_2 量显著增加(表 1)。这可能是由于模拟实验的水体水位低(55 cm),使凤眼莲的根系可以与底泥发生交互作用形成生物膜^[29],为硝化反硝化细菌的传播和繁殖提供了一个很好的微生物的环境,从而有利于反硝化脱氮过程的进行。所以当水体污染的主要营养物质是氮时,可以使用根系较长的漂浮植物治理水体污染的方法以省去移除底泥的方法。

大型水生植物是水体生态系统的重要组成部分。植物吸收水体中氮后通过收获打捞可去除水体中部分过量的氮^[30]。在本研究中,在无底泥施入的条件下,种养凤眼莲的水体损失的 TN 量明显高于相应处理中未种植凤眼莲水体损失的氮量,其中植物吸收的 N 占水体 TN 损失量的(28.7±4.8)%(处理 2:EuW+NO₃+WH)、(23.7±3.1)%(处理 4:EuW+WH)(表 1)。在不同 TN 浓度的水体中,植物吸收对去除水体 N 的贡献率并不相同。凤眼莲在修复不同程度富营养化水体过程中(6.22、15.06、20.08 mg·L⁻¹),植物对 N 的吸收量占水体氮去除总量的 82.7%、46.41%、42.32%^[10],表明在低浓度的氮含量条件下,植物吸收是水体中氮损失的主要途径。在高浓度的氮含量条件下,植物吸收的氮量仅占水体中氮损失的一半,而硝化反硝化途径脱氮在去除水体中的氮占很大的比例。

4 结论

种养或未种养凤眼莲的富营养化水体反硝化脱氮气态产物以 N_2 为主,通过 N_2O 释放而去除的氮仅占水体 TN 损失量的很小一部分。在本实验设定的水体富营养化条件下,未种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面累积释放 N_2 形式损失的氮量占整个水体 N 损失量的(40.7±8.6)%~(43.6±0.8)%,是富营养化水体自净脱氮的主要途径。凤眼莲吸收的 N 仅占水体 TN 损失量的(23.7±3.1)%~(28.7±4.8)%,并不是净化水体氮的唯一途径。施加底泥进一步促进了水体通过反硝化脱氮释放 N_2 而损失的氮量。凤眼莲与底泥对

促进反硝化脱氮过程具有良好的交互作用。种养凤眼莲的富营养化水体向大气界面释放的 N_2 浓度显著高于相应处理下未种养凤眼莲的对照水体,说明凤眼莲可能对水体反硝化脱氮过程有促进作用。

参考文献:

- [1] Seitzinger S, Harrison J A, Böhlke J K, et al. Denitrification across landscapes and waterscapes[J]. *Ecological Applications*, 2006, 16(6):2064–2090.
- [2] Xing G X, Cao Y C, Shi S L, et al. N pollution sources and denitrification in water bodies in Taihu Lake region[J]. *Science in China Series B: Chemistry*, 2001, 44(3):304–314.
- [3] Groffman P M, Altabet M A, Bohlke J K, et al. Methods for measuring denitrification: diverse approaches to a difficult problem[J]. *Ecological Applications*, 2006, 16(6):2091–2122.
- [4] 徐 徽, 张 路, 商景阁, 等. 太湖梅梁湾水土界面反硝化和厌氧氨氧化[J]. *湖泊科学*, 2009, 21(6):775–781.
XU Hui, ZHANG Lu, SHANG Jing-ge, et al. Denitrification and anammox on the sediment–water interface in the Meiliang Bay of Lake Taihu [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2009, 21(6):775–781.
- [5] Tremblay A, Varfalvy L, Roehm C, et al. Greenhouse gas emissions: Fluxes and processes. hydroelectric reservoirs and natural environment [M]. *Springer–Verlag Berlin Heidelberg*, 2005.
- [6] 赵 炎, 曾 源, 吴炳方, 等. 水库水气界面温室气体通量监测方法综述[J]. *水科学进展*, 2011, 22(1):135–146.
ZHAO Yan, ZENG Yuan, WU Bing-fang, et al. Review of methods for measuring greenhouse gas flux from the air–water interface of reservoirs [J]. *Advances in Water Science*, 2011, 22(1):135–146.
- [7] Babourina O, Rengel Z. Nitrogen removal from eutrophicated water by aquatic plants//Ansari A A (eds.), *Eutrophication: Causes, consequences and controls*[M]. Springer Science, 2011, 355–372.
- [8] Fox L J, Struik P C, Appleton B L, et al. Nitrogen phytoremediation by water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2008, 194(1–4):199–207.
- [9] Wang Z, Zhang Z Y, Zhang Y Y, et al. Nitrogen removal from Lake Caohai, a typical ultra–eutrophic lake in China with large scale confined growth of *Eichhornia crassipes* [J]. *Chemosphere*, 2013, 92:177–183.
- [10] 张志勇. 凤眼莲净化系统去除富营养化水体氮、磷的效果及机理的研究[D]. 南京:江苏省农业科学院农业资源与环境研究所博士后出站报, 2009.
- [11] Hayashia K, Koga N, Fueki N. Limited ammonia volatilization loss from upland fields of andosols following fertilizer applications[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2011, 140(3–4):534–538.
- [12] Fenn L B, Richards J. Ammonia losses from surface applied urea–acid products[J]. *Fert Res*, 1986, 9:265–275.
- [13] 蔡祖聪. 尿素和 KNO₃ 对水稻土无机氮转化过程和产物的影响 II. N_2O 生成过程[J]. *土壤学报*, 2003, 40(3):414–419.
CAI Zu–cong. Effects of urea and KNO₃ on processes and products of inorganic nitrogen transformation in paddy soils II. processes for N_2O production[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(3):414–419.

- [14] Kadlec R H, Knight R L. Treatment wetlands[M]. Chelsea, MI: Lewis, 1996:928.
- [15] Focht D D, Chang A C. Nitrification and denitrification processes related to waste water treatment[J]. *Adv Appl Microbiol*, 1975, 19: 153–186.
- [16] Fulweiler R W, Nixon S W. Net sediment N_2 fluxes in a Southern New England estuary: Variations in space and time[J]. *Biogeochemistry*, 2011, DOI 10. 1007/s10533–011–9660–5.
- [17] Seitzinger S P. Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: Ecological and geochemical significance[J]. *Limnol Oceanogr*, 1988, 33: 702–724.
- [18] Valiela I, Teal J M. The nitrogen budget of a salt marsh ecosystem[J]. *Nature*, 1979, 280: 652–656.
- [19] Hamersleya M R, Howes B L. Evaluation of the N_2 flux approach for measuring sediment denitrification[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2005, 62(4): 711–723.
- [20] Wjiler J, Delwiche C C. Investigations on the denitrifying process in soil[J]. *Plant and Soil*, 1954, 5: 155–169.
- [21] Lohse L, Kloosterhuis H T, van Raaphorst W, et al. Denitrification rates as measured by the isotope pairing method and by the acetylene inhibition technique in continental shelf sediments of the North Sea[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 29: 169–179.
- [22] Steingruber S M, Friedrich J, Gächter R, et al. Measurement of denitrification in sediments with the ^{15}N Isotope pairing technique[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2001, 67(9): 3771–3778.
- [23] Siciliano S D, Germida J J. Mechanisms of phytoremediation: Biochemical and ecological interactions between plants and bacteria[J]. *Environmental Reviews*, 1998, 10. 1139/er–6–1–65.
- [24] Knops J M H, Bradley K L, Wedin D A. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling[J]. *Ecol Lett*, 2002, 5: 454–466.
- [25] Russell M A, Walling D E, Webb B W, et al. The composition of nutrient fluxes from contrasting UK river basins[J]. *Hydrol Proc*, 1998, 12: 1461–1482.
- [26] Lecce S A, Pavlowsky R T. Storage of mining-related zinc in floodplain sediments, Blue River, Wisconsin[J]. *Phys Geog*, 1997, 18: 424–439.
- [27] 朱华兵, 严少华, 封 克, 等. 水葫芦和香蒲对富营养化水体及其底泥养分的吸收[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(2): 326–331.
- ZHU Hua-bing, YAN Shao-hua, FENG Ke, et al. Nutrients uptake in eutrophic water and sediment by water hyacinth and cattail[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 28(2): 326–331.
- [28] Fazeli-Matin S, Gordon A S, Marshall H G. Sediment denitrification potential in the Elizabeth River, Virginia[J]. *Virginia Journal of Science*, 1991, 42(1): 113–122.
- [29] Wei B, Yu X, Zhang S T, et al. Comparison of the community structures of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rhizoplanes of floating aquatic macrophytes[J]. *Microbiol Res*, 2011, 166: 468–474.
- [30] 邹 乐, 严少华, 王 岩, 等. 水葫芦净化富营养化水体效果及对底泥养分释放的影响[J]. 江苏农业学报, 2012, 28: 1318–1342.
- ZOU Le, YAN Shao-hua, WANG Yan, et al. Effect of water hyacinth on purification of eutrophic water and nutrients release from sediment[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 28: 1318–1342.