

DOI:10.3880/j.issn.1004-6933.2020.01.013

白洋淀养鸭废水对生物膜生物量和胞外酶活性的影响

马牧源^{1,2},崔丽娟^{1,2},张曼胤^{1,2},于一雷^{1,2}

(1. 中国林业科学研究院湿地研究所,北京 100091; 2. 湿地生态功能与恢复北京市重点实验室,北京 100091)

摘要:为了对应用生物膜进行湖泊的生态监测与评价提供理论依据,通过微宇宙试验研究了不同浓度梯度养鸭废水对生物膜生物量和胞外酶活性的影响。结果表明:养鸭废水会显著增加生物膜的生物量;在短期暴露中,生物膜的生物量与养鸭废水浓度线性相关;而在长期暴露中则符合 Logistic 方程,养鸭废水对生物膜生物量的促进具有饱和效应。养鸭废水对生物膜胞外酶活性的效应受暴露时间的影响:短期暴露(24 h)时养鸭废水会促进碱性磷酸酶、β-葡萄糖苷酶和亮氨酸肽酶活性的增加,3 种酶活性均随养鸭废水浓度的升高而呈对数增加;长期暴露(60 d)时,养鸭废水对 3 种酶活性均产生抑制作用,酶活性随养鸭废水浓度升高而呈对数降低。

关键词:生物膜;胞外酶活性;养鸭废水;白洋淀

中图分类号:X171.1 文献标志码:A 文章编号:1004-6933(2020)01-0089-08

Effects of duck wastewater from Baiyangdian Lake on biofilm biomass and extracellular enzyme activities // MA Muyuan^{1,2}, CUI Lijuan^{1,2}, ZHANG Manyin^{1,2}, YU Yilei^{1,2} (1. Institute of Wetland Research, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Beijing Key Laboratory of Wetland Services and Restoration, Beijing 100091, China)

Abstract: In order to provide a theoretical basis for ecological monitoring and evaluation of lakes using biofilm, the effects of duck wastewater with different concentration gradient on the biomass and extracellular enzyme activities of biofilm were studied by microcosmic experiment. The results showed that duck wastewater significantly increased the biomass of biofilm. In short-term exposure, the biomass of biofilm (chlorophyll a and ash-free dry weight) was linearly correlated with the concentration of duck wastewater, while in long-term exposure, it was in accordance with Logistic equation, which indicated that the duck wastewater had saturation effect on the promotion of biofilm biomass. The effect of duck wastewater on extracellular enzyme activity of biofilm was affected by exposure time. The activities of alkaline phosphate (APA), glucosidase (GLU) and leucine peptidase (LAMP) were increased by short-term exposure (24 h). The activities of these three enzymes increased logarithmically with the increase of the concentration of duck wastewater. While in the long-term exposure (60 days), the activity of three kinds of enzymes were inhibited by duck wastewater, which decreased logarithmically with the concentration of duck wastewater.

Key words: biofilm; extracellular enzyme activities; duck farm effluents; Baiyangdian Lake

白洋淀的鸭养殖业占淀内畜禽养殖的 99% 以上。淀区以湖心岛分散式的鸭养殖为主要模式^[1],规模小、随机性强、变化性大,污染集中治理较为困难,严重威胁湖泊生态系统安全与人类健康。该地区粪便无害化和资源化处理能力不足,污染物会随雨水冲刷或人工冲扫排入淀区水体。据估算,白洋淀鸭粪年排放量约为 4.02 万 t,TN、TP 和 NH₄⁺-N 排放量分别为 1 389.75 t、498.64 t 和 34.85 t,Cu 和 Zn

的排放量为 1.50 t 和 9.46 t^[2]。

由细菌、藻类、真菌和微型生物等组成的微生物细胞和由粘多糖基质组成的胞外聚合物组成的生物膜,是湖泊生态系统中重要的组成部分,其初级生产力约占湖泊总初级生产力的一半以上^[3],在湖泊生态系统物质循环与能量转化中发挥巨大作用^[4]。由于生物膜胞外酶在有机物分解同化过程中起限制性作用,且与有机物分解、营养物质循

基金项目:中国林业科学研究院林业新技术所基本科研业务费专项(CAFINT 2013K06);国家自然科学基金(41401615)

作者简介:马牧源(1981—),女,助理研究员,博士,主要从事湿地恢复与水污染治理研究。E-mail: xiaogu67@126.com

通信作者:于一雷,副研究员。E-mail: yuyilei@caf.ac.cn

环、能量传递等生态过程密切相关,因此生物膜在一定程度上控制着湖泊生态系统的物质循环过程^[5]。在胞外酶的催化作用下,水体中不能被植物直接吸收利用的有机态氮磷矿化、分解为简单的能被植物直接利用的无机态氮磷,从而实现氮磷由水相到生物相的转化,且酶活性的变化往往先于物种数目的变化,具有较高的灵敏度和可靠性^[6],因此,生物膜胞外酶活性可以作为指示性指标反映湖泊生态系统的状态,其中碱性磷酸酶被广泛应用在磷缺乏的评价中^[5-8], β -葡萄糖苷酶活性与水体中有机碳、磷密切相关^[9-10],亮氨酸肽酶活性受到有机碳、无机氮等多种因素的影响^[11]。目前,针对生物膜胞外酶活性对污染物的响应研究多集中在营养物质^[12-16]或重金属^[17-20]等单一污染上,而对养鸭废水这类复合污染的研究相对较少。本文通过构建微宇宙系统,模拟白洋淀水生生态系统,研究不同浓度梯度的养鸭废水对生物膜生物量及酶活性的影响,旨在为管理部门制定废水排放标准提供参考。

1 试验方法

1.1 微宇宙试验系统

试验装置(图1)为开放系统,36个玻璃缸分3排露天放置,放置方向为东西向,各玻璃缸间距40 cm,以保证各玻璃缸光照条件一致。玻璃缸内空间规格为60 cm×40 cm×80 cm,容积为192 L。仔细清洗后,在每个玻璃缸中铺上10 cm厚的白洋淀底泥(来自无养殖污染的枣林庄),随后缓缓注入100 L配置好的试验用水,静置后使用。

1.2 试验设计

将220条2 cm×10 cm的有机玻璃片垂直悬挂在枣林庄水面下10 cm处2个星期,将在白洋淀养鸭场采集的废水(废水质量浓度为 ρ_1)放入玻璃缸,用来自枣林庄的水(废水质量浓度为 ρ_0)进行稀释,分别稀释0、1.25、2、4、5、10、20、25、50、100、500倍,

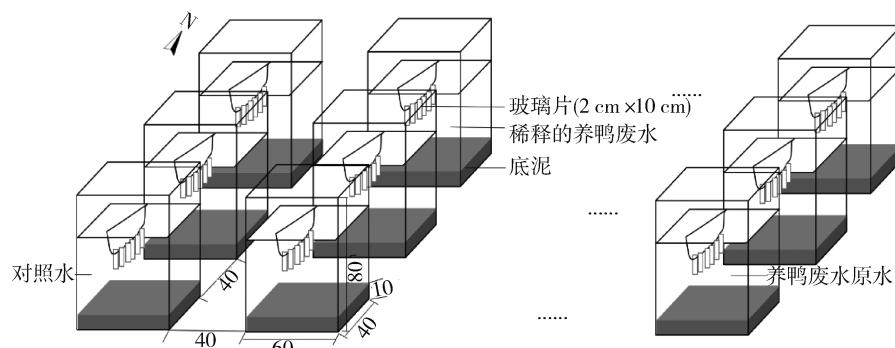


图1 微宇宙装置示意图(单位:cm)

Fig. 1 Schematic diagram of a microcosmic device

设置不同浓度梯度以表征鸭养殖废水污染程度,将枣林庄采集的水样作为对照,研究无养鸭废水污染时生物膜的生物量和酶活性的正常变化情况,每个浓度设置3个重复。养鸭废水原水与对照水的水质情况见表1。将已置于枣林庄水2周的有机玻璃片分别移入对照组和11个不同浓度的养鸭废水中培养,每缸放置6条。于0,24 h后和60 d后分别采集水样,测定其水质参数(水温、DO、色度、COD、TN、 NH_4^+ -N、TP、Cu和Zn)。同时采集生物膜样品,每次采集3条分别用于碱性磷酸酶活性(APA)、葡萄糖苷酶活性(GLU)、亮氨酸肽酶活性(LAMP)、无灰干重(AFDW)和叶绿素a(Chl-a)的测定。每天用蒸馏水进行补水。

表1 试验用水相关理化指标质量浓度

Table 1 Mass concentration of physical and

chemical indexes of water for test mg/L

类别	DO	COD	TN	NH_4^+ -N	TP	Cu	Zn
原水	2.12	85.30	18.95	12.66	8.32	0.05	0.1326
对照水	9.85	<2.00	0.52	0.13	0.08		0.0027

1.3 样品采集与测定

1.3.1 水质参数的测定

水温、DO在现场测定。色度、COD、TN、 NH_4^+ -N、TP、Cu和Zn等水质参数需采集后冷藏保存送回实验室进行测定。各指标的测定方法参照GB3838—2002《地表水环境质量标准》进行。

1.3.2 生物膜生物量与胞外酶活性的测定

用小刀刮取有机玻璃片上的生物膜,将用经0.2 μm滤膜过滤后的培养水悬浮,冷冻保存待测。

a. 无灰干重。将生物膜样品用2 mL蒸馏水悬浮,用孔径为0.2 μm的玻璃纤维膜过滤,将过滤后的滤膜于105 °C条件下烘干24 h后称干重,再将烘干后的滤膜在500 °C马弗炉(SX-4-10 Fiber Muffle, Test China)内烘干1 h后称量样品灰重,将干重与样品灰重相减计算得到无灰干重。

b. Chl-a。采用热乙醇反复冻融法提取Chl-a,

并通过分光光度法测定其吸光度^[21]。将生物膜样品用2 mL蒸馏水悬浮,加入数滴1% MgCO₃悬浮液,用孔径0.45 μm、直径50 mm的醋酸纤维滤膜进行抽滤;用定性滤纸将滤膜水分吸干,在-20 ℃冷冻20 min后,在室温下解冻5 min,如此反复冻融3~5次,然后将滤膜在-20 ℃过夜;将滤膜剪碎放入5 mL离心管中,加入5 mL加热至80 ℃的90%乙醇,在热水浴中加热2 min,然后置于暗处4 ℃下提取Chl-a 4~6 h。采用热乙醇-反复冻融法对Chl-a进行提取后,在3000 r/min下离心30 min,用90%乙醇定容,以90%乙醇作参照对比,用分光光度计于750 nm、664 nm、647 nm、630 nm下测其吸光度。Chl-a质量浓度计算公式为

$$\rho_{(\text{Chl-a})} = \{ [12.12(D_{664} - D_{750}) - 1.59(D_{647} - D_{750})] - 0.09 \times (D_{630} - D_{750}) V_E \} / Sd \quad (1)$$

式中: $\rho_{(\text{Chl-a})}$ 为生物膜中Chl-a质量浓度,μg/cm²;D₆₆₄、D₆₄₇、D₆₃₀、D₇₅₀分别为萃取液在664 mm、647 mm、630 mm、750 nm处的吸光度;V_E为离心管中萃取液的定容体积,mL;S为生物膜样品的面积,cm²;d为比色皿光程,cm。

c. 胞外酶活性。取3份生物膜样品用1.5 mL蒸馏水悬浮,分别加入0.5 mL对应的缓冲液和1 mL酶作用底物,30 ℃水浴,加入1 mL 0.1 mol/L的NaOH终止反应。对APA和GLU在反应1 h后在410 nm测其吸光度,对LAMP在反应30 min后在405 nm测其吸光度,以底物加去离子水为空白。酶活性表示单位面积生物膜所包含的酶在单位有机质中水解产生的对应反应产物的量(即对硝基苯胺或对硝基苯酚),其计算公式为

$$E = \frac{AV}{\varepsilon StW} \quad (2)$$

式中:E为单位无灰干重的酶活性,nmol/(mg·h);A为吸光度;ε为产物的摩尔消光系数(对硝基苯胺为9870 L/(mol·cm),对硝基苯酚为17500 L/(mol·cm));V为反应体系体积,L;S为生物膜样品的面积,cm²;t为反应时间,h;W为生物膜的无灰干重,mg/cm²。

1.4 数据分析

采用方差分析(ANOVA)对不同浓度的生物膜生物量、胞外酶活性的显著性进行检验,并通过事后多重比较进一步判断各变量间差异的显著性。短期(24 h)和长期(60 d)效应之间、试验期间不同浓度处理的水质参数,主要通过重复测量方差分析(repeated measures ANOVAs)进行显著性检验,养鸭废水各水质参数与生物膜生物量、酶活性的相关性采用Person相关系数进行分析。

2 结果与分析

2.1 养鸭废水对生物膜的影响

2.1.1 生物量

短期暴露(24 h)后,对照组中生物膜的ρ(Chl-a)和无灰干重分别为(0.087 ± 0.011) μg/cm²和(0.022 ± 0.003) mg/cm²,养鸭废水中生物膜的ρ(Chl-a)和无灰干重的变化范围分别为0.083~0.168 μg/cm²和0.021~0.048 mg/cm²。高浓度处理中的ρ(Chl-a)和无灰干重与对照组存在显著差异。其中ρ(Chl-a)在ρ ≥ 4/5ρ₁(ρ₁为未经稀释浓度)时与对照组呈显著差异(ANVOA,F = 21.95,P < 0.01,图2中,·表示与对照ρ存在显著差异,P < 0.05。下同),无灰干重在ρ ≥ 1/2ρ₁时与对照组呈显著差异(ANVOA,F = 12.85,P < 0.01,图3)。在ρ₁浓度的养鸭废水中处理24 h后,ρ(Chl-a)和无灰干重分别比对照组增加了0.93倍和1.2倍。长期暴露(60 d)后,对照组中生物膜的ρ(Chl-a)和无灰干重分别为(0.863 ± 0.050) μg/cm²和(0.246 ± 0.023) mg/cm²,养鸭废水中生物膜ρ(Chl-a)和无灰干重的变化范围分别为0.845~26.79 μg/cm²和0.217~20.38 mg/cm²。ρ(Chl-a)和无灰干重在高浓度养鸭废水中(ρ ≥ 1/25ρ₁或ρ ≥ 1/20ρ₁)与对照组存在显著差异(Chl-a, ANVOA, F = 11 337.30, P < 0.01; AFDW, ANVOA, F = 6 052.69, P < 0.01, 图2、3)。ρ₁浓度的养鸭废水中生物膜的ρ(Chl-a)和无灰干重分别比对照增加了30.0倍和81.8倍。这表明无论暴露时间长短,只要养鸭废水浓度增加到一定程度,就会增加生物膜的生物量。不同暴露时间中,Chl-a和无灰干重对养鸭废水响应的敏感性不同。在短期暴露中,无灰干重更敏感;而在长期暴露中,Chl-a更为敏感。

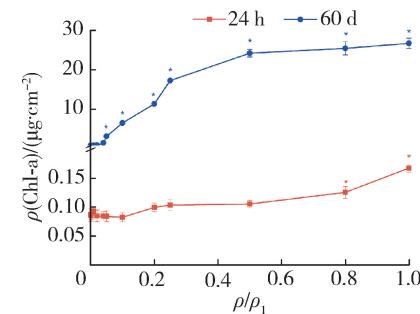


图2 短期暴露和长期暴露下不同浓度养鸭废水中生物膜的ρ(Chl-a)变化情况

Fig. 2 Changes of (Chl-a) in different concentrations of duck wastewater under short-term and long-term exposure

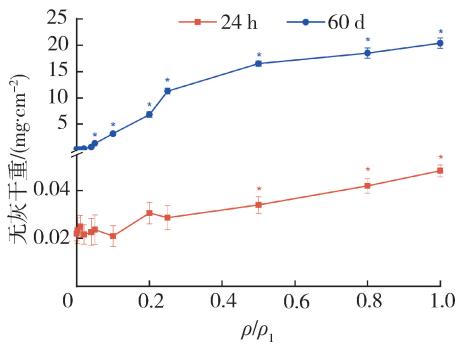


图3 短期暴露和长期暴露下不同浓度养鸭废水中生物膜的无灰干重变化情况

Fig. 3 Variation of AFDW in duck wastewater with different concentrations under short-term and long-term exposure

2.1.2 胞外酶活性变化

暴露 24 h 后,对照组中生物膜的 APA、GLU 和 LAMP 分别为 (0.78 ± 0.02) nmol/(mg · L), (1.91 ± 0.11) nmol/(mg · h) 和 (0.90 ± 0.04) nmol/(mg · h), 养鸭废水中的 APA、GLU 和 LAMP 分别为 $0.87 \sim 3.82$ nmol/(mg · L), $1.79 \sim 4.83$ nmol/(mg · L) 和 $0.87 \sim 3.71$ nmol/(mg · h)。养鸭废水中的 APA (ANOVA, $F = 311.88, P < 0.01$)、GLU (ANOVA, $F = 141.01, P < 0.01$) 和 LAMP (ANOVA, $F = 183.66, P < 0.01$) 均与对照组呈显著差异(图 4)。当养鸭废水浓度达到一定程度(分别为 $\rho \geq 1/4\rho_1, \rho \geq 1/5\rho_1$ 和 $\rho \geq 1/10\rho_1$)时,APA、GLU 和 LAMP 显著高于对照组(ANVOA, $P < 0.05$)。3 种酶活性对养鸭废水敏感性的从大到小排序为:LAMP、GLU、APA。暴露 60 d 后,对照组中的 APA、GLU 和 LAMP 分别为 (4.69 ± 0.27) nmol/(mg · h), (2.16 ± 0.12) nmol/(mg · h) 和 (3.05 ± 0.10) nmol/(mg · h), 养鸭废水中的 APA, GLU 和 LAMP 分别为 $0.96 \sim 4.93$ nmol/(mg · h), $1.07 \sim 2.36$ nmol/(mg · h) 和 $1.17 \sim 3.37$ nmol/(mg · h)。与 24 h 相同,生物膜的 APA (ANOVA, $F = 581.95$,

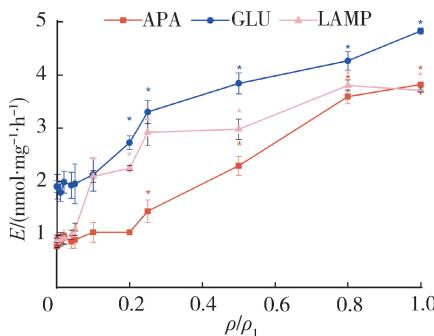


图4 不同浓度养鸭废水中暴露 24 h 后生物膜酶活性变化情况

Fig. 4 Changes of enzyme activities of biofilms exposed to different concentrations duck wastewater for 24 hours

$P < 0.01$), GLU (ANOVA, $F = 119.54, P < 0.01$) 和 LAMP (ANOVA, $F = 386.76, P < 0.01$) 与对照组呈显著差异(图 5)。APA、GLU 和 LAMP 分别在养鸭废水浓度达到 $\rho \geq 1/10\rho_1, \rho \geq 1/5\rho_1$ 和 $\rho \geq 1/20\rho_1$ 时显著低于对照组(ANVOA, $P < 0.01$),3 种酶活性对养鸭污染敏感性排序从大到小为:LAMP、APA、GLU。

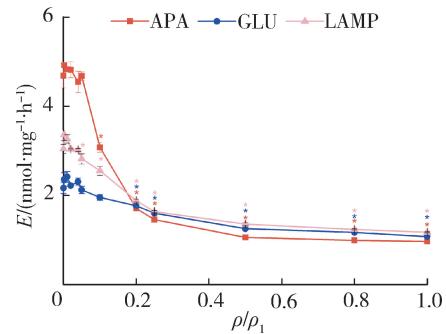


图5 不同浓度养鸭废水中暴露 60 d 后生物膜酶活性变化情况

Fig. 5 Changes of enzyme activities of biofilms exposed to different concentrations duck wastewater for 60 days

2.2 暴露时间对养鸭废水效应的影响

2.2.1 生物量变化

生物膜的 Chl-a (repeated measures ANOVA, $F = 254.23, P < 0.01$) 和无灰干重 (repeated measures ANOVA, $F = 319.31, P < 0.01$) 在养鸭废水中短期暴露(24 h)与长期暴露(60 d)呈显著差异(图 6 和图 7)。短期暴露中,生物膜的生物量与养鸭废水浓度呈线性关系($P < 0.01$),Chl-a 和无灰干重的确定系数分别为 0.8200 和 0.8014;而在长期暴露中,Chl-a 和无灰干重与养鸭废水浓度的关系符合 Logistic 曲线,确定系数分别为 0.9936 和 0.9944。比较不同暴露时间的浓度-生物量曲线可以看出,养鸭废水对生物膜生物量的影响随暴露时间增加而放大,通过比较两条曲线的斜率可以确定效应的放大倍数,Chl-a 的放大倍数为 $37.8 \sim 1141.3$,无灰干重

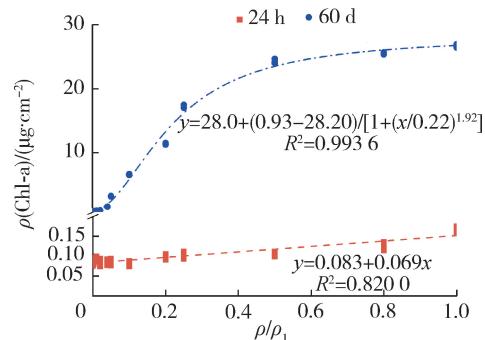


图6 短期暴露和长期暴露下养鸭废水对生物膜 ρ (Chl-a) 的效应曲线

Fig. 6 Effect curve of duck wastewater on biofilm Chl-a under short-term and long-term exposure

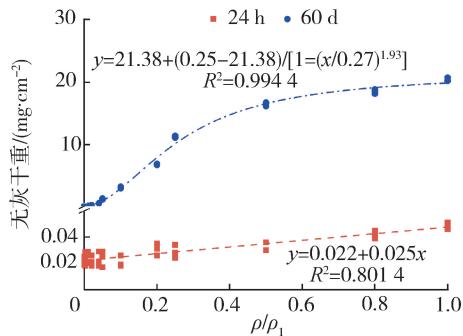


图 7 养鸭废水对生物膜无灰干重的效应曲线

Fig. 7 Effect curve of duck wastewater on biofilm AFDW

的放大倍数为 109.1~2000.9, 这种放大效应随养鸭废水浓度的增加而不断变化, Chl-a 在浓度 $0.12\rho_1$ 时放大效应最大, 此时的 $\rho(\text{TN})$, $\rho(\text{TP})$ 和 $\rho(\text{COD})$ 分别为 2.16 mg/L, 0.96 mg/L 和 9.76 mg/L; 无灰干重在浓度 $0.15\rho_1$ 时放大效应最大, 此时的 TN, TP 和 COD 的质量浓度分别为 2.72 mg/L, 1.20 mg/L 和 12.20 mg/L。

2.2.2 胞外酶

养鸭废水对生物膜胞外 APA (repeated measures ANOVA, $F = 848.37, P < 0.01$), GLU (Repeated measures ANOVA, $F = 2474.75, P < 0.01$) 和 LAMP (Repeated measures ANOVA, $F = 714.01, P < 0.01$) 的短期效应和长期效应均呈显著差异(图 8~10, $P < 0.01$)。养鸭废水污染对 APA、GLU 和 LAMP 的效应都符合 Logistic 曲线, 但不同暴露时间 3 种相对酶活性的变化趋势不同。总体来说, APA、GLU 和 LAMP 都在短期暴露时随养鸭废水浓度升高而升高, 在长期暴露时随废水浓度的升高而降低。长期暴露和短期暴露的条件下, APA、GLU 和 LAMP 的变化曲线分别相交于 $26.3\% \rho_1$ 、 $7.1\% \rho_1$ 和 $15.2\% \rho_1$ 浓度, 这表明当养鸭废水浓度分别低于 $26.3\% \rho_1$ 、 $7.1\% \rho_1$ 和 $15.2\% \rho_1$ 时, 养鸭废水中的生物膜胞外 APA、GLU 和 LAMP 长期暴露高于短期暴露; 而高于前述相应浓度时, 短期暴露的 APA、GLU 和 LAMP 更高。

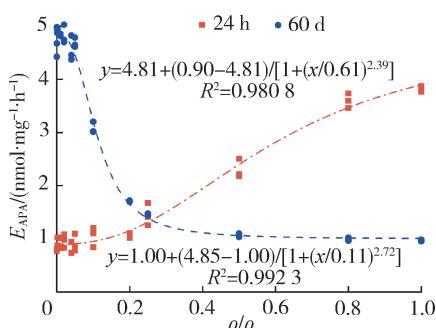


图 8 短期暴露和长期暴露下养鸭废水对生物膜 APA 的效应曲线

Fig. 8 Effect curve of duck wastewater on biofilm APA under short-term and long-term exposure

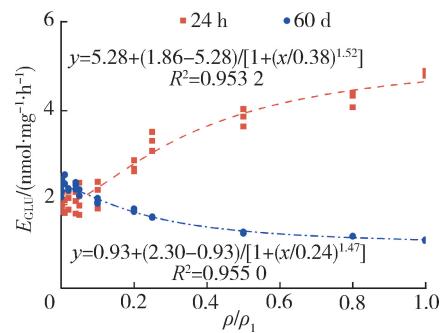


图 9 短期暴露和长期暴露下养鸭废水对生物膜 GLU 的效应曲线

Fig. 9 Effect curve of duck wastewater on biofilm GLU under short-term and long-term exposure

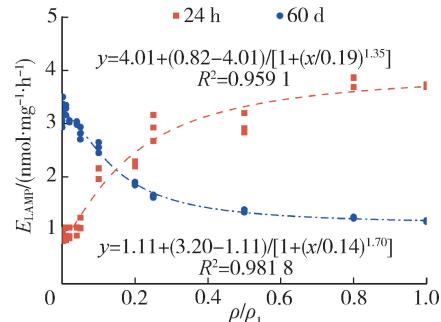


图 10 短期暴露和长期暴露下养鸭废水对生物膜 LAMP 的效应曲线

Fig. 10 Effect curve of duck wastewater on biofilm LAMP under short-term and long-term exposure

2.2.3 水质参数与胞外酶活性的关系

养鸭废水是一种复合污染, 主要污染物为营养盐和有机污染, 此外还有 Cu、Zn 等重金属, 因此养鸭废水对生物膜的效应是多种污染物的复合效应。表 2 体现了养鸭废水中营养盐、重金属与附着生物的生物量以及胞外酶活性的关系。从表 2 可以看出, 短期暴露下, 生物膜 Chl-a、无灰干重、APA、GLU 和 LAMP 与养鸭废水的各水质参数呈显著正相关。在长期暴露条件下, 生物膜的 Chl-a、无灰干重与各水质参数呈显著正相关, APA、GLU 和 LAMP 与水质参数呈显著负相关。

3 讨论与结论

整体上, 养鸭废水会促进生物膜的增长, 废水中的营养盐会促进生物膜生物量的增加^[22-24], 但其中的重金属对生物量的效应并不十分明确。由于生物膜是一个非常复杂的微生物群, 当受到重金属的胁迫时, 敏感种的生物量下降, 但耐污种生物量仍在增加, 因此重金属对生物膜的总生物量的效应会呈现出一定的不确定性^[25]。本文重金属对生物膜的抑制作用并未表现出来, 可能有两个原因: 一是养鸭废水中重金属含量较低, 尚未达到对生物膜生物量产

表2 不同暴露时间水质参数与附着生物 Chl-a、无灰干重、APA、GLU 和 LAMP 相关性

Table 2 Correlation of water quality parameters with attachment organisms Chla, AFDW, APA, Glu and LAMP at different exposure time

水质参数	Chl-a		无灰干重		APA		GLU		LAMP	
	24 h	60 d	24 h	60 d	24 h	60 d	24 h	60 d	24 h	60 d
TN	0.963 **	0.961 **	0.981 **	0.937 **	0.980 **	-0.831 **	0.969 **	-0.926 **	0.985 **	-0.881 **
NH ₄ ⁺ -N	0.969 **	0.946 **	0.980 **	0.920 **	0.972 **	-0.819 **	0.958 **	-0.913 **	0.975 **	-0.868 **
TP	0.961 **	0.965 **	0.982 **	0.942 **	0.981 **	-0.842 **	0.975 **	-0.931 **	0.988 **	-0.890 **
COD	0.958 **	0.957 **	0.974 **	0.933 **	0.980 **	-0.829 **	0.967 **	-0.924 **	0.984 **	-0.879 **
Cu	0.939 **	0.967 **	0.964 **	0.945 **	0.976 **	-0.852 **	0.974 **	-0.935 **	0.986 **	-0.894 **
Zn	0.921 **	0.960 **	0.966 **	0.936 **	0.980 **	-0.834 **	0.969 **	-0.926 **	0.984 **	-0.884 **

注: ** 表示 $P < 0.01$ 。

生负效应的水平;二是磷浓度的增加会降低 Cu、Zn 等重金属对生物膜的负效应^[26-27],因此养鸭废水中的重金属对生物膜生物量可能的削减作用会被营养盐的正效应所补偿^[28-29]。

无论长期暴露还是短期暴露,生物膜的 Chl-a 和无灰干重都与养鸭废水浓度呈正相关关系,但不同暴露时间增长模式不同。生物膜的 Chl-a 和无灰干重在短期暴露中符合线性方程,而长期暴露时则符合 Logistic 曲线。在长期暴露中,当养鸭废水浓度大于 $1/2\rho_1$ 时,Chl-a 和无灰干重增速明显降低,这说明 Chl-a 和无灰干重与营养盐的浓度存在饱和效应^[30-31],即当营养盐达到一定浓度时,生物膜的生物量不再增加或增长变缓。

养鸭废水的污染物浓度与暴露时间共同影响生物膜胞外酶活性,在一定条件下暴露时间的影响比污染物浓度的影响更大^[32-33]。养鸭废水组分复杂,其中的氮、磷和重金属都会对 APA 产生影响^[34]。一般来说,磷的增加会减少 APA,而氮的增加会增加 APA^[35]。重金属也可对生物膜的 APA 起促进作用,因为重金属可以与磷结合从而减少水体中的可溶性磷进而引起水体中的磷缺乏^[36]。本文中,短期暴露时养鸭废水会促进生物膜的 APA、GLU 和 LAMP;而在长期暴露中,养鸭废水则会降低这 3 种酶活性。Bonet 等^[37]对生物膜中抗氧化酶的研究也表明了同样的趋势。碱性磷酸酶是一种诱导酶,当水体中的溶解性无机磷浓度较低时,生物膜的细胞内酶将被诱导,通过酶的催化作用水解有机磷释放磷酸盐。短期暴露时养鸭废水中的磷多为有机磷,无机磷浓度较低,因此生物膜 APA 随生物膜生物量的增加而增加;但随着暴露时间的增加,养鸭废水中部分有机磷被分解为无机磷,无机磷浓度随养鸭废水浓度的升高而升高,因此,生物膜 APA 随养鸭废水浓度升高而降低。生物膜的 GLU、LAMP 与 APA 相似,在短期暴露中,养鸭废水中的葡萄糖、氨基酸较低,生物膜的 GLU 与 LAMP 随生物膜生物量的增

加而增加,即随养殖废水浓度升高而增加;而长期暴露时,养鸭废水中被分解的葡萄糖、氨基酸升高、废水中可利用的多糖、多肽有所降低, GLU 和 LAMP 的活性增长有所降低,随着养鸭废水浓度的升高,生物膜生物量呈几何倍数增长,而 GLU 和 LAMP 增长速度远低于生物量的增长速度,因此在长期暴露中 GLU、LAMP 与养鸭废水浓度呈显著负相关。

参考文献:

- [1] 马牧源,崔丽娟,张曼胤,等.白洋淀养鸭废水水质组成及其扩散和消减特征[J].水资源保护,2017,33(5):145-153. (MA Muyuan, CUI Lijuan, ZHANG Manyin, et al. Water quality composition of duck farm wastewater in Baiyangdian Lake and its diffusion and reduction characteristics[J]. Water Resources Protection, 2017, 33 (5) :145-153. (in Chinese))
- [2] 刘嘉莉.白洋淀鸭养殖粪便排放规律及源头减排效果研究[D].保定:河北农业大学,2011:23-29.
- [3] 苗令占,王沛芳,侯俊,等.金属纳米材料对不同微生物聚集体的毒性研究进展[J].水资源保护,2019,35(1):73-78. (MIAO Lingzhan, WANG Peifang, HOU Jun, et al. Research progress on toxicity of metallic nanomaterials to different microbial aggregates[J]. Water Resources Protection, 2019, 35 (1) :73-78. (in Chinese))
- [4] SABATER S, GUASCH H, RICART M, et al. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2007, 387(4):1425-1434.
- [5] 陈星,许钦,何新玥,等.城市浅水湖泊生态系统健康与保护研究[J].水资源保护,2016,32(2):77-81. (CHEN Xing, XU Qin, HE Xinyue, et al. Research on health evaluation and protection of urban shallow lake ecosystem [J]. Water Resources Protection, 2016, 32 (2) :77-81. (in Chinese))
- [6] SCOTT J T, LANG D A, KING R S, et al. Nitrogen fixation and phosphatase activity in periphyton growing on nutrient diffusing substrata: Evidence for differential nutrient limitation in stream periphyton [J]. Journal of the North

- American Bentholgical Society,2009,28(1):57-68.
- [7] BRULAND G L, RICHARDSON C J, DANIELS W L. Microbial and geochemical responses to organic matter amendments in a created wetland [J]. Wetlands, 2009, 29 (4) :1153-1165.
- [8] HILL B H, ELONEN C M, SEIFERT L R, et al. Microbial enzyme stoichiometry and nutrient limitation in us streams and rivers [J]. Ecological Indicators, 2012, 18 :540-551.
- [9] RIER S T, NAWROCKI K S, WHITLEY J C. Response of biofilm extracellular enzymes along a stream nutrient enrichment gradient in an agricultural region of north central pennsylvania, USA [J]. Hydrobiologia, 2011, 669 (1) :119-131.
- [10] YLLA I, BORREGO C, ROMANÍ A M, et al. Availability of glucose and light modulates the structure and function of a microbial biofilm [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009, 69 (1) :27-42.
- [11] REJMÁNKOVÁ E, SIROVA D. Wetland macrophyte decomposition under different nutrient conditions: Relationships between decomposition rate, enzyme activities and microbial biomass [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39 (2) :526-538.
- [12] 吕小央, 张松贺, 刘凯辉, 等. 水生植物-生物膜体系的生态功能与互作机制研究进展 [J]. 水资源保护, 2015, 31 (2) : 20-25. (LYU Xiaoyang, ZHANG Songhe, LIU Kaihui, et al. Advances in ecological function and interaction mechanism of aquatic macrophyte biofilm system [J]. Water Resources Protection, 2015, 31 (2) :20-25. (in Chinese))
- [13] DENICOLA D M, DE EYTO E, WEMAERE A, et al. Periphyton response to nutrient addition in 3 lakes of different benthic productivity [J]. Journal of the North American Bentholgical Society, 2006, 25 (3) :616-631.
- [14] ÖZKAN K, JEPPESEN E, JOHANSSON L S, et al. The response of periphyton and submerged macrophytes to nitrogen and phosphorus loading in shallow warm lakes:a mesocosm experiment [J]. Freshwater Biology, 2010, 55 (2) :463-475.
- [15] LU H, FENG Y, WANG J, et al. Responses of periphyton morphology, structure, and function to extreme nutrient loading [J]. Environmental Pollution, 2016, 214 :878-884.
- [16] HOYLE G M, HOLDERMAN C, ANDERS P J, et al. Water quality, chlorophyll, and periphyton responses to nutrient addition in the kootenai river, Idaho [J]. Freshwater Science, 2014, 33 (4) :1024-1029.
- [17] 马培, 鲍锦磊. 沙颍河表层沉积物中氮与重金属的分布特征及污染评价 [J]. 水资源保护, 2018, 34 (2) :61-67. (MA Pei, BAO Jinlei. Characterization and ecological risk assessment of nitrogen and heavy metal pollution in surface sediments of Shaying River [J]. Water Resources Protection, 2018, 34 (2) :61-67. (in Chinese))
- [18] PANDEY L K, BERGEY E A. Exploring the status of motility, lipid bodies, deformities and size reduction in periphytic diatom community from chronically metal (Cu, Zn) polluted waterbodies as a biomonitoring tool [J]. Science of the Total Environment, 2016, 550 :372-381.
- [19] GAUTAM S, PANDEY L K, VINAYAK V, et al. Morphological and physiological alterations in the diatom gomphonema pseudoaugur due to heavy metal stress [J]. Ecological Indicators, 2017, 72 :67-76.
- [20] MORIN S, CORCOLL N, BONET B, et al. Diatom responses to zinc contamination along a mediterranean river [J]. Plant Ecology and Evolution, 2014, 147 (3) :325-332.
- [21] 黄廷林, 丛海兵, 何文杰. 水生藻类叶绿素测定方法: CN1631117A [P]. 2005-06-29.
- [22] FERMINO F S, BICUDO D C, BICUDO C. Seasonal influence of nitrogen and phosphorus enrichment on the floristic composition of the algal periphytic community in a shallow tropical, mesotrophic reservoir (São Paulo, Brazil) [J]. Oecologia Australis, 2011, 15 (3) :476-493.
- [23] FERRAGUT C, DE CAMPOS BICUDO D. Periphytic algal community adaptive strategies in n and p enriched experiments in a tropical oligotrophic reservoir [J]. Hydrobiologia, 2010, 646 (1) :295-309.
- [24] ROSEMOND A D, MULHOLLAND P J, ELWOOD J W. Top-down and bottom-up control of stream periphyton: Effects of nutrients and herbivores [J]. Ecology, 1993, 74 (4) :1264-1280.
- [25] LINDSTROM E A R B. The effects of heavy metal pollution on periphyton in a norwegian soft-water river [J]. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie, 1991, 24 (4) :2215-2219.
- [26] 于炎湖. 饲料安全性问题(3)畜禽日粮中添加高铜, 高锌导致的问题及其解决办法 [J]. 养殖与饲料, 2003 (1) :5-6. (YU Yanhu. Feed safety issues (3) :livestock and poultry diets to add high copper, high zinc problems and their solutions [J]. Breeding and Feed, 2003 (1) :5-6. (in Chinese))
- [27] GUASCH H, NAVARRO E, SERRA A, et al. Phosphate limitation influences the sensitivity to copper in periphytic algae [J]. Freshwater Biology, 2004, 49 (4) :463-473.
- [28] SERRA A, CORCOLL N, GUASCH H. Copper accumulation and toxicity in fluvial periphyton: the influence of exposure history [J]. Chemosphere, 2009, 74 (5) :633-641.
- [29] TLILI A, BÉRARD A, ROULIER J L, et al. PO_4^{3-} dependence of the tolerance of autotrophic and heterotrophic biofilm communities to copper and diuron [J]. Aquatic Toxicology, 2010, 98 (2) :165-177.
- [30] ROSEMOND A D, MULHOLLAND P J, ELWOOD J W. Top-down and bottom-up control of stream periphyton:

- Effects of nutrients and herbivores [J]. *Ecology*, 1993, 74 (4): 1264-1280.
- [31] GUASCH H, PAULSSON M, SABATER S. Effect of copper on algal communities from oligotrophic calcareous streams [J]. *Journal of Phycology*, 2002, 38 (2): 241-248.
- [32] LE FAUCHEUR S, BEHRA R, SIGG L. Thiol and metal contents in periphyton exposed to elevated copper and zinc concentrations: a field and microcosm study [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39 (20): 8099-8107.
- [33] 张超兰, 韦必帽, 刘敏, 等. 含镉废水人工湿地处理系统中基质微生物数量和酶活性研究 [J]. *水资源保护*, 2010, 26 (4): 57-6. (ZHANG Chaolan, WEI Bimao, LIU Min, et al. Microorganism population and enzyme activity in substrate of vertical-flow constructed wetland treating Cd wastewater [J]. *Water Resources Protection*, 2010, 26 (4): 57-6.)
- [34] LANG D A, KING R S, SCOTT J T. Divergent responses of biomass and enzyme activities suggest differential nutrient limitation in stream periphyton [J]. *Freshwater Science*, 2012, 31 (4): 1096-1104.
- [35] KLOTZ R. Factors influencing alkaline phosphatase activity of stream epithilona [J]. *Journal of Freshwater Ecology*, 1992, 7 (2): 233-242.
- [36] PAULSSON M, NYSTRÖM B, BLANCK H. Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Göt Älv, based on a microcosm study [J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 47 (3/4): 243-257.
- [37] BONET B, CORCOLL N, GUASCH H. Antioxidant enzyme activities as biomarkers of Zn pollution in fluvial biofilms [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 80: 172-178.

(收稿日期:2019-01-03 编辑:彭桃英)

(上接第 88 页)

- [26] 杨亮杰, 吕光汉, 竺俊全, 等. 横山水库浮游动物群落结构特征及水质评价 [J]. *水生生物学报*, 2014, 38 (4): 720-728. (YANG Liangjie, LYU Guanghan, ZHU Junquan, et al. Characteristics of zooplankton community in Hengshan Reservoir and water quality assessment [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38 (4): 720-728. (in Chinese))
- [27] 王庆, 刘丽君, 杨宇峰. 南方某水库轮虫群落特征及其对环境因子的响应 [J]. *生态学报*, 2010, 30 (13): 3385-3395. (WANG Qing, LIU Lijun, YANG Yufeng. Response of rotifer community characteristics to environmental factors in a reservoir, Southern China [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 (13): 3385-3395. (in Chinese))
- [28] 杨桂军, 秦伯强, 高光, 等. 太湖不同湖区轮虫群落结构季节变化的比较研究 [J]. *环境科学*, 2008, 29 (10): 2963-2969. (YANG Guijun, QIN Boqiang, GAO Guang, et al. Comparative study on seasonal variations of community structure of rotifer in different lake areas in Lake Taihu [J]. *Environmental Science*, 2008, 29 (10): 2963-2969. (in Chinese))
- [29] 吴晓敏, 郝瑞娟, 潘宏博, 等. 黄浦江浮游动物群落结构及其与环境因子的关系 [J]. *生态环境学报*, 2018, 27 (6): 1128-1137. (WU Xiaomin, HAO Ruijuan, PAN Hongbo, et al. Community structure of zooplankton and its relationship with environmental factors in Huangpu River [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27 (6): 1128-1137. (in Chinese))
- [30] 陈炳辉, 刘正文. 滤食杂食性鱼类放养对浮游动物群落结构的影响 [J]. *生态科学*, 2012, 31 (2): 161-166. (CHEN Binghui, LIU Zhengwen. Effect of filter-feeding omnivorous fish on zooplankton community [J]. *Ecological Science*, 2012, 31 (2): 161-166. (in Chinese))
- [31] 陈光荣, 钟萍, 张修峰, 等. 惠州西湖浮游动物及其与水质的关系 [J]. *湖泊科学*, 2008, 20 (3): 351-356. (CHEN Guangrong, ZHONG Ping, ZHANG Xiufeng, et al. Zooplankton and its relationship with water quality in Huizhou West Lake [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2008, 20 (3): 351-356. (in Chinese))
- [32] 胡翠林, 王圣瑞, 过龙根, 等. 泸海鲢鳙的食物组成及与太湖新银鱼的食性重叠研究 [J]. *水生生物学报*, 2014, 38 (4): 706-713. (HU Cuilin, WANG Shengrui, GUO Longgen, et al. Food composition of Hypophthalmichthys molitrix and Aristichthys nobilis and the diet overlap with Neosalanx taihuensis in Lake Erhai [J]. *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2014, 38 (4): 706-713. (in Chinese))
- [33] SLIDEEK V. Rotifers as indicators of water quality [J]. *Hydrobiologia*, 1983, 100 (1): 169-201.

(收稿日期:2019-01-23 编辑:熊水斌)

