



养猪废水中抗生素和铜对潜流人工湿地土壤呼吸和芦苇光合作用的影响

张家亮, 杨升, 唐珠, 杨新萍[✉]

南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

摘要 为了探究养猪废水中抗生素和重金属对潜流人工湿地土壤微生物和植物生长的影响, 构建了水平潜流人工湿地和垂直潜流人工湿地, 用“根袋”法区分芦苇根际和非根际土壤。每种潜流人工湿地根据进水差异设置 4 个处理组: 进水为模拟养猪废水 (CK 组)、模拟养猪废水中添加抗生素 (抗生素组)、模拟养猪废水中添加铜 (Cu 组)、模拟养猪废水中同时添加抗生素和 Cu (抗生素+Cu 组), 对 2 种潜流人工湿地土壤呼吸和芦苇光合作用指标进行为期 1 年的监测。结果表明: 养猪废水中添加 $18.3\text{--}39.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗生素或 $0.8\text{--}1.2 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜均可抑制潜流人工湿地的芦苇根际、非根际土壤呼吸和芦苇的光合作用。与 CK 组相比, 在抗生素和 Cu 复合胁迫下, 水平和垂直潜流人工湿地芦苇根际土壤呼吸分别下降了 20.4%~66.3% 和 20.8%~77.5%, 非根际土壤呼吸分别下降了 30.4%~71.0%、23.2%~60.7%, 垂直潜流人工湿地的芦苇根际、非根际土壤呼吸在春、夏、秋季均显著高于水平潜流人工湿地。在抗生素和 Cu 复合胁迫下, 水平潜流人工湿地和垂直潜流人工湿地芦苇的株高在运行后期与 CK 组相比均显著降低。与 CK 组相比, 水平潜流人工湿地和垂直潜流人工湿地芦苇净光合速率分别下降了 11.0%~73.8% 和 15.2%~45.3%, 气孔导度和蒸腾速率也受到了抑制, 胞间 CO_2 浓度则呈增加趋势。垂直潜流人工湿地比水平潜流人工湿地对养猪废水具有更好的深度处理能力。

关键词 养猪废水; 潜流人工湿地; 抗生素; 铜; 土壤呼吸; 光合作用

抗生素和 Cu 具有防治畜禽疾病和促进畜禽生长的作用而被用作饲料添加剂, 在规模养猪业中大量使用^[1, 2]。饲料中的抗生素和 Cu 仅有 10%~30% 被猪吸收, 导致养猪废水中抗生素的质量浓度达到数百 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Cu 的质量浓度达到几十 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[2-4]。规模化养猪场废水处理普遍采用“厌氧-好氧”生物工艺, 但出水水质不能稳定、完全满足《畜禽养殖业污染物排放标准》(GB 18596-2001), 而且经“厌氧-好氧”生物设施处理后, 养猪废水中残留的抗生素的质量浓度仍然可达几 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 至几千 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$, 抗性基因相对丰度数量级甚至与进水相当^[5-7]。无论从出水安全排放还是资源化利用, 都必须对经“厌氧-好氧”工艺处理的养猪废水进行深度处理。

在“根区法”理论基础上发展起来的人工湿地污水处理技术以其具有生态效应、运行简单等优势成为目前养猪废水深度处理的重要工艺。潜流人工湿地根据水流运移方式可分为水平潜流人工湿地 (horizontal subsurface flow constructed wetlands, HSFCWs) 和垂直潜流人工湿地 (vertical subsurface flow constructed wetlands, VSFCWs)^[8]。DU 等^[9] 使用沸石作为基质构建垂直潜流人工湿地, 处理含有磺胺类和四环素类抗生素的养猪废水, 结果显示氮素、抗生素和抗生素抗性基因的去除率均能达到 95% 以上。杨玲丽等^[10] 使用垂直潜流人工湿地处理重金属-抗生素复合水平的养殖尾水, 结果表明对碳氮磷、磺胺甲恶唑、Cu 的去除率较高, 均在 99% 以上。

微生物和植物作为人工湿地重要的组成部分, 对人工湿地系统稳定运行和污染物的降解/转化有重要作用, 但养猪废水中的抗生素和 Cu 可能影响微生物和植物的活性, 不利于人工湿地长期稳定高效运行^[11, 12]。土壤呼吸指土壤生物新陈代谢作用而产生 CO_2 , 是衡量土壤生态功能和土壤微生物活性的重要指标^[13]。植物光合作用是植物利用光能和 CO_2 , 产生有机物和 O_2 的过程, 能反映植物的生长发育状态^[14]。从土壤呼吸和植物光合作用角度来探究养猪废水中抗生素和 Cu 对人工湿地胁迫效应的研究鲜有报道。基于此, 本研究构

收稿日期: 2024-02-08; 录用日期: 2024-05-29

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (31870489)

第一作者: 张家亮 (1999—), 男, 硕士研究生。研究方向为水污染控制工程, 2558116015@qq.com ✉通信作者: 杨新萍 (1972—), 女, 博士, 教授。研究方向为水污染控制工程, xpyang@njau.edu.cn

建垂直潜流人工湿地和水平潜流人工湿地2种类型的潜流人工湿地，模拟养猪废水厌氧-好氧处理工艺的出水水质。同时进水中投加养猪业中常见的5大类抗生素：磺胺类、四环素类、氟喹诺酮类、 β -内酰胺类、大环内酯类抗生素^[15]及重金属Cu，进行为期1a的运行实验，研究了养猪废水中微量抗生素和Cu胁迫下，水平潜流人工湿地和垂直潜流人工湿地土壤呼吸以及植物光合作用的季节变化，以期为提高和稳定潜流人工湿地深度处理养猪废水的运行性能提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 潜流人工湿地的构建

潜流人工湿地装置（图1）位于南京农业大学牌楼教学科研基地，露天放置无遮雨和遮阳处理，以便更接近实际人工湿地的环境。HSFCWs为长76 cm、宽53 cm、高49 cm的矩形箱状结构，VSFCWs为直径60 cm、高53 cm的圆柱与下部直径为20 cm、高15 cm的圆台组合的结构，装置的主要材质均为聚氯乙烯。HSFCWs内部使用穿孔板划分进水区和出水区，VSFCWs在顶部使用导流板进水，底部出水区为边坡系数0.75的斜面汇集出水。

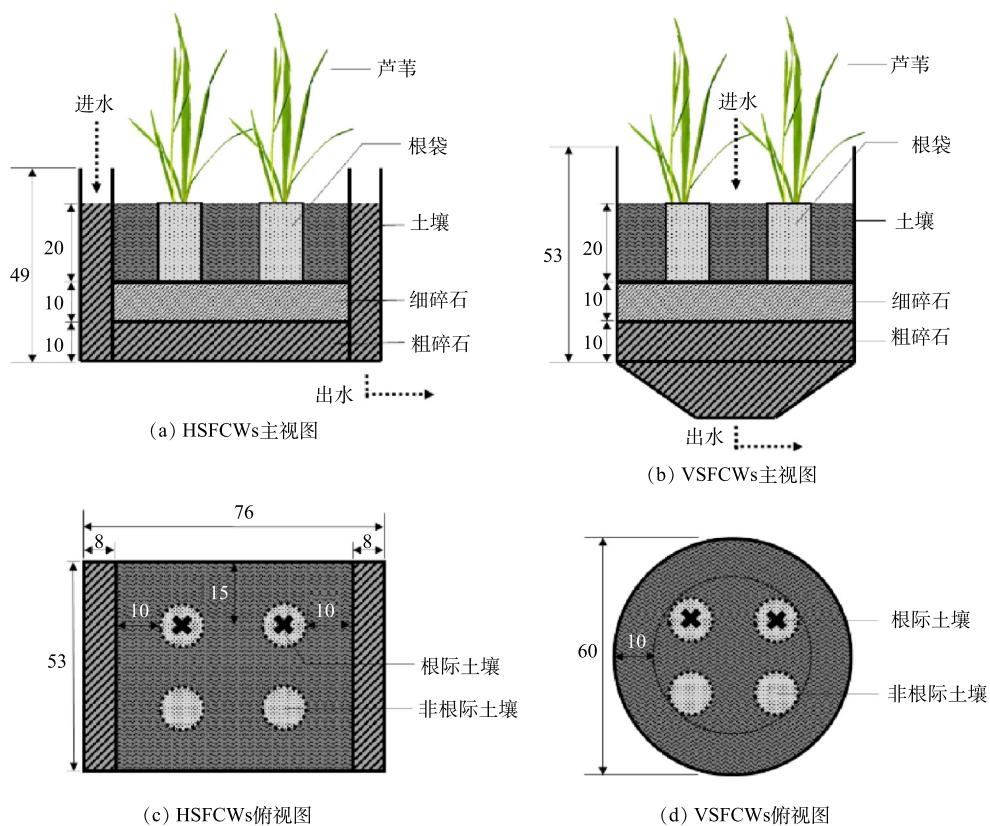


图1 潜流人工湿地装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of subsurface flow constructed wetland device

HSFCWs进水区和出水区均铺设40 cm高的粗碎石（粒径20~40 mm），处理区自下而上依次填充厚度分别为10 cm高的粗碎石、10 cm高的细碎石（粒径10~20 mm）和20 cm高的土壤。VSFCWs出水区铺设高40 cm高的粗碎石，处理区自下而上依次填充高度为10 cm高的粗碎石、10 cm高的细碎石和20 cm高的土壤。HSFCWs和VSFCWs均在处理区埋设4个300目尼龙网袋（ $\Phi=11\text{cm}$ ），具体的位置如图1所示，其中VSFCWs中4个网袋呈中心对称分布。网袋填充相应的基质和土壤，2个网袋中以 $13 \text{株}\cdot\text{m}^{-2}$ 的密度种植长势相同的芦苇（*Phragmites australis*），另2个网袋中不种植芦苇，种有芦苇的网袋内土壤为根际土壤，未种植芦苇的网袋中土壤为非根际土壤。实验所用土壤挖取自南京农业大学牌楼实验基地，碎石购买于当地建材市场，芦苇挖取自基地附近河边。

1.2 潜流人工湿地的运行

潜流人工湿地的进水为模拟养猪废水尾水, 进水水质参照《畜禽养殖业污染物排放标准(二次征求意见稿)》的出水水质。购买猪粪有机肥, 以固液比1:45加入自来水浸泡24 h得到原液, 浸泡液稀释后投入适量葡萄糖、氯化铵和磷酸二氢钾调节水质。运行期间因为猪粪浸泡原液的水质不稳定, 水质具有一定波动性, 其中化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)被等量换算为总有机碳(total organic carbon, TOC), 具体的进水水质: TOC为24.1~48.6 mg·L⁻¹, 总氮(total nitrogen, TN)为48.4~94.5 mg·L⁻¹, 氨氮(ammonia nitrogen, NH₄⁺-N)为33.6~63.9 mg·L⁻¹, 总磷(total phosphorus, TP)为3.36~7.12 mg·L⁻¹, Cu为0.8~1.2 mg·L⁻¹。调配好的废水通过高位水箱流入潜流人工湿地, 表面水力负荷97.6 cm·d⁻¹, 采用间歇流的运行方式, 批次运行水力停留时间约为1 d, 设计参数符合《人工湿地水质净化技术指南》。

从2021年7月, 使用不含抗生素和Cu的模拟养猪废水尾水运行装置4个月后, 同类型的潜流人工湿地对污染物的去除率相近且出水水质稳定, HSFCWs对TOC、NH₄⁺-N、TN、TP的平均去除率分别为72.1%、50.2%、59.7%、76.5%, VSFCWs分别为85.9%、89.6%、83.6%、97.5%。开始在进水中分别投加抗生素和Cu进行正式运行。正式运行时间从2022年3月开始到2022年12月结束。南京属于亚热带季风气候, 2022年气温变化如图2所示, 数据来源于网站www.tianqi24.com, 参照候温法划分季节: 4—5月属于春季; 6—9月属于夏季; 10—11月属于秋季; 其余月份属于冬季。

同类型的潜流人工湿地根据进水不同设置4个处理组, 分别是: 进水为模拟养猪废水的尾水(CK组)、进水中额外添加Cu(Cu组)、进水中额外添加抗生素(抗生素组)、进水中额外添加抗生素和Cu(抗生素+Cu组)。分别从养猪业常见的5大类抗生素中, 选择环境检出频率高、残留量相对大的抗生素进行投加, 分别为磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole, SMX)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)、土霉素(oxytetracycline, OTC)、头孢噻呋-ceftiofur(CEF)、罗红霉素(roxithromycin, ROX), 参考实际养猪废水抗生素的检出浓度^[16], 设置每种抗生素进水质量浓度约为40 μg·L⁻¹, 每种抗生素实际进水质量浓度为18.3~39.1 μg·L⁻¹。

1.3 样品的采集与测定

1) 土壤呼吸。使用静态箱收集土壤微生物呼吸释放的CO₂气体, 静态箱由底座和气室构成, 材质为有机玻璃, 气室长6 cm、宽6 cm、高15 cm。为了降低对土壤微生物的扰动, 底座提前预埋至芦苇根际和非根际土壤中。采样时间为每月上旬, 选择晴朗天, 从早晨8:00开始, 将采样箱放入底座凹槽, 加入适量水进行水封, 防止采样箱气体外泄。采样箱密封准备就绪, 以此时为采样0 min, 开始计时, 分别在10、20、40、60 min使用注射器采集10~20 mL气体于气袋中, 样品采集完成后将气袋密封并立即带回实验室, 使用气相色谱仪(GC-7890B, Agilent Technologies, USA)检测样品中CO₂的浓度。土壤CO₂排放通量的计算参考CHENG等^[17]的研究, 计算公式如式(1)所示。

$$F = \frac{M}{V_0} \times \left(\frac{273}{273 + T} \right) \times \frac{V}{A} \times \frac{dc}{dt} \quad (1)$$

式中: F为CO₂排放通量, mg·(m²·h)⁻¹; M为CO₂摩尔质量, g·mol⁻¹; V₀为气体在标准状态下的摩尔体积, 22.41 L·mol⁻¹; T为采样时气室气温, °C; V气室体积, m³; A为静态箱底座面积, m²; dc/dt为由线性模型得到的箱内CO₂浓度变化率。

2) 植物光合作用。使用卷尺(精度1 mm)于每月的15号测量芦苇的株高, 每组设置3个平行样, 因芦苇在春季进行新的移栽, 而冬季节进行了收割, 故仅对夏季和秋季的株高进行测量。使用便携式光合测定仪

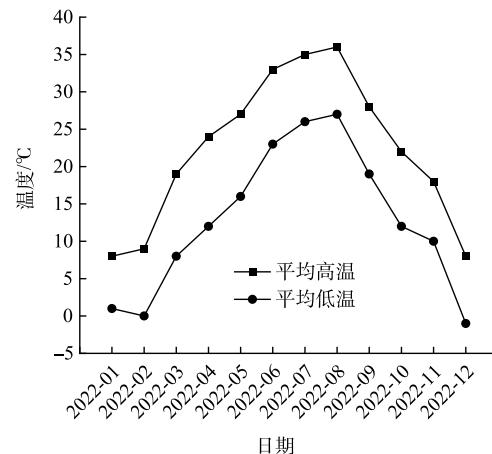


图2 2022年南京气温变化

Fig. 2 Variation of temperature in Nanjing in 2022

(Li-6400 XT, LI-COR technology, USA) 原位测定芦苇光合作用参数: 净光合速率 (net photosynthetic rate, Pn)、气孔导度 (stomatal conductance, Gs)、胞间 CO₂ 浓度 (intercellular carbon dioxide concentration, Ci) 和蒸腾速率 (transpiration rate, Tr)。在每月下旬晴朗天 (根据天气状况在每月 20 号左右) 测定植物的光合作用, 设定内置光强为 1 200 μmol·(m²·s)⁻¹, 预热仪器 20 min, 随机选取芦苇不同高度 3 片受光均匀的叶片进行测定。

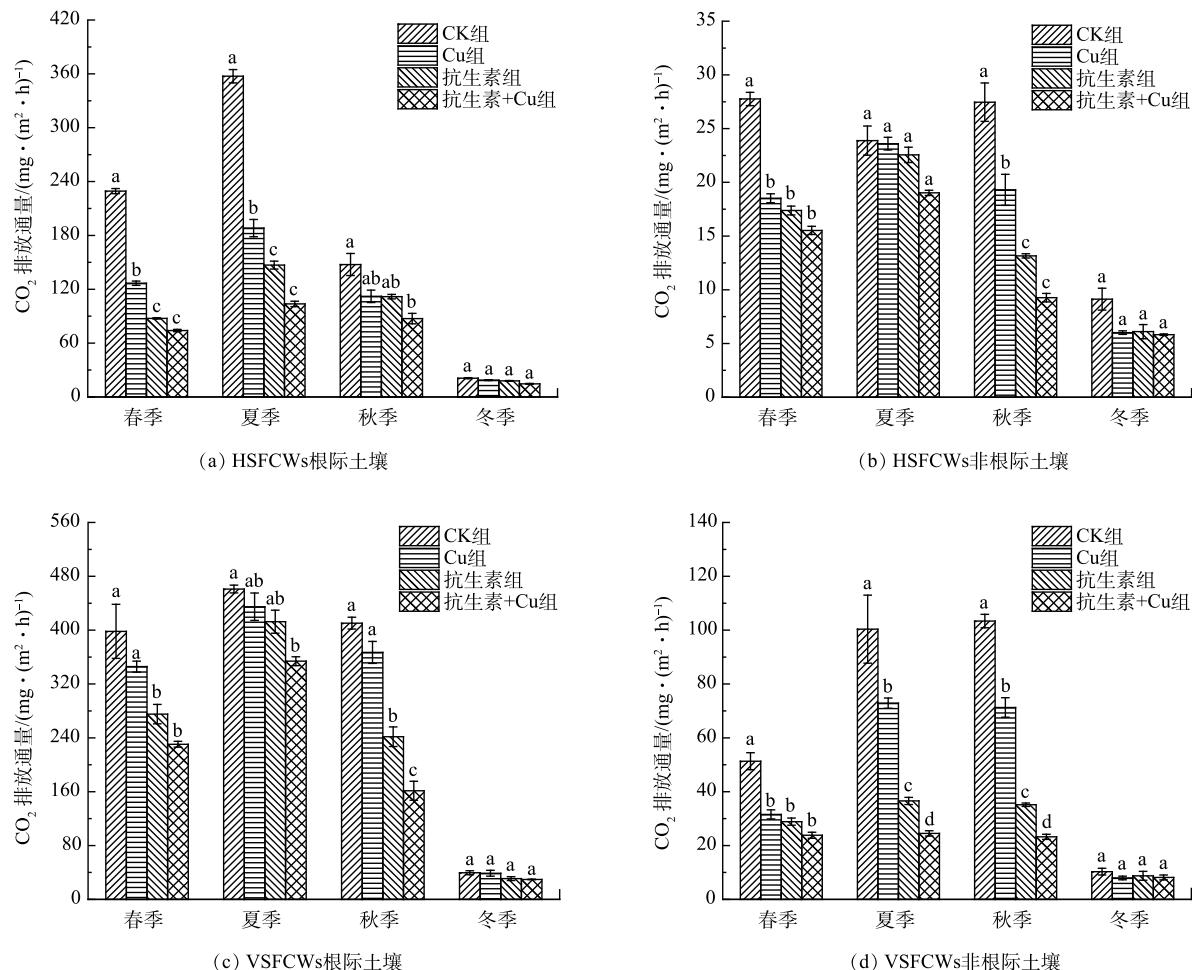
1.4 数据处理

使用 Excel 2019 分析数据, 结果表示用平均值±标准误差 (Mean±SE) 的形式, 使用 SPSS 23.0 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA, $P<0.05$ 表明数据间存在差异为显著, 使用 Origin 8.5 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 潜流人工湿地芦苇根际和非根际土壤呼吸

潜流人工湿地土壤呼吸变化如图 3 所示。可见, 芦苇根际土壤 HSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组, 土壤季节平均 CO₂ 排放通量分别为 20.93~229.34、18.79~126.70、17.92~87.54、14.57~74.02 mg·(m²·h)⁻¹, VSFCWs 中对应处理组季节平均 CO₂ 排放通量分别为 39.60~398.22、38.81~345.87、30.91~275.24、29.69~230.50 mg·(m²·h)⁻¹。在春、夏、秋、冬 4 个季节, VSFCWs 各处理组的芦苇根际土



注: 图中相同小写字母代表处理组间无显著差异, 不同小写字母代表处理组间具有显著差异。

图 3 不同季节潜流人工湿地芦苇根际和非根际土壤 CO₂ 排放通量的变化

Fig. 3 Changes in CO₂ emission fluxes in reed rhizosphere and non-rhizosphere soils of subsurface flow constructed wetlands in different seasons

壤 CO_2 排放通量均显著高于 HSFCWs 对应处理组 ($P<0.05$)。HSFCWs 芦苇非根际土壤中 CK 组、Cu 组、抗生素组和抗生素+Cu 组, 季节平均 CO_2 通量分别是 $9.13\sim27.76$ 、 $6.01\sim18.52$ 、 $6.10\sim17.38$ 、 $5.82\sim15.52 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$, VSFCWs 中对应处理组的季节平均 CO_2 排放通量分别为 $10.30\sim51.33$ 、 $7.97\sim31.56$ 、 $8.77\sim28.87$ 、 $8.15\sim23.82 \text{ mg}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{h})^{-1}$, VSFCWs 各处理组的芦苇非根际土壤 CO_2 排放通量均高于 HSFCWs, 夏季和秋季显著性高于 HSFCWs ($P<0.05$)。HSFCWs 和 VSFCWs 各处理组中, 根际土壤 CO_2 排放通量均显著高于非根际土壤 ($P<0.05$); 无论非根际还是根际土壤, CO_2 排放通量均呈现春、夏、秋季显著高于冬季的趋势 ($P<0.05$)。

与 CK 组比, HSFCWs 在 Cu、抗生素和抗生素+Cu 处理下, 芦苇根际土壤季平均 CO_2 排放通量分别降低了 $10.2\%\sim47.4\%$ 、 $14.4\%\sim61.8\%$ 和 $30.4\%\sim71.0\%$; 而芦苇非根际土壤季节平均 CO_2 排放通量分别降低了 $1.19\%\sim34.1\%$ 、 $5.55\%\sim52.1\%$ 和 $20.4\%\sim66.3\%$ 。在 VSFCWs 中, 与 CK 组比, 芦苇根际土壤的季节平均 CO_2 排放通量, Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组分别降低了 $2.0\%\sim13.1\%$ 、 $10.5\%\sim41.1\%$ 和 $23.2\%\sim60.7\%$, 芦苇非根际土壤分别低了 $22.6\%\sim38.5\%$ 、 $14.9\%\sim66.0\%$ 和 $20.8\%\sim77.5\%$ 。与 CK 组相比, 在抗生素和 Cu 单独或复合胁迫下, HSFCWs 和 VSFCWs 中芦苇非根际和根际土壤季节 CO_2 排放通量均有所降低, 除冬季外, 春、夏、秋季的降低呈显著 ($P<0.05$), 且抗生素和 Cu 的复合胁迫产生的抑制效应高于单独抗生素胁迫或 Cu 胁迫。

2.2 潜流人工湿地芦苇的光合作用

1) 芦苇的生长状况。芦苇在夏、秋 2 个季节月平均株高随着时间的变化如表 1 所示。HSFCWs 中芦苇株高在 10 月份达到峰值, VSFCWs 中芦苇株高在 11 月份达到峰值, VSFCWs 中芦苇的生长高度显著高于 HSFCWs 中的芦苇 ($P<0.05$)。HSFCWs 和 VSFCWs 的芦苇株高在 6—9 月, 组内无显著性差异, 但在 10 月和 11 月, Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组中芦苇株高均显著低于 CK 组 ($P<0.05$), 说明芦苇生长受到了抑制。

表 1 夏秋两季潜流人工湿地芦苇株高变化

Table 1 Changes in the height of reed in subsurface flow constructed wetlands during summer and autumn

装置类型	取样月份	CK组	Cu组	抗生素组	抗生素+Cu组
HSFCWs	2022-06	63.27 ± 3.71 a	67.20 ± 5.91 a	66.93 ± 3.15 a	61.03 ± 2.32 a
	2022-07	94.32 ± 13.64 a	84.50 ± 7.05 a	106.87 ± 8.32 a	93.65 ± 10.45 a
	2022-08	124.67 ± 12.29 a	110.47 ± 3.73 a	116.73 ± 6.56 a	113.20 ± 5.86 a
	2022-09	139.30 ± 8.36 a	120.67 ± 7.94 a	120.03 ± 7.48 a	120.40 ± 2.80 a
	2022-10	159.13 ± 1.97 a	141.87 ± 6.99 b	137.00 ± 5.90 b	130.20 ± 3.22 b
	2022-11	145.43 ± 2.55 a	131.80 ± 1.76 b	123.90 ± 5.91 b	123.73 ± 3.43 b
VSFCWs	2022-06	57.43 ± 2.89 a	53.43 ± 1.40 a	58.77 ± 4.38 a	54.93 ± 4.09 a
	2022-07	115.60 ± 8.39 a	92.20 ± 4.53 a	105.43 ± 11.90 a	118.73 ± 3.90 a
	2022-08	162.83 ± 6.55 a	154.93 ± 6.55 a	155.67 ± 8.32 a	161.03 ± 8.17 a
	2022-09	190.63 ± 4.48 a	176.83 ± 4.66 a	178.37 ± 4.30 a	185.73 ± 6.77 a
	2022-10	253.07 ± 9.89 a	230.97 ± 6.71 b	220.93 ± 11.58 b	223.37 ± 3.23 b
	2022-11	274.77 ± 3.25 a	241.47 ± 15.66 b	225.25 ± 14.92 b	231.53 ± 1.90 b

注: 表中相同小写字母代表处理组间无显著差异, 不同小写字母代表处理组间具有显著差异。

2) 芦苇的光合作用。芦苇的光合作用指标变化如图 4 所示。HSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇的净光合速率季节平均值分别为 $-3.99\sim13.23$ 、 $-4.08\sim12.95$ 、 $-6.58\sim10.99$ 、 $-6.94\sim8.77 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$, VSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇的净光合速率季节平均值分别为 $0.69\sim17.54$ 、 $0.57\sim15.04$ 、 $0.38\sim14.88$ 、 $0.10\sim14.16 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$, 除了 Cu 组外, VSFCWs 各处理组在春夏秋冬 4 个季节均显著高于 HSFCWs ($P<0.05$)。HSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇气

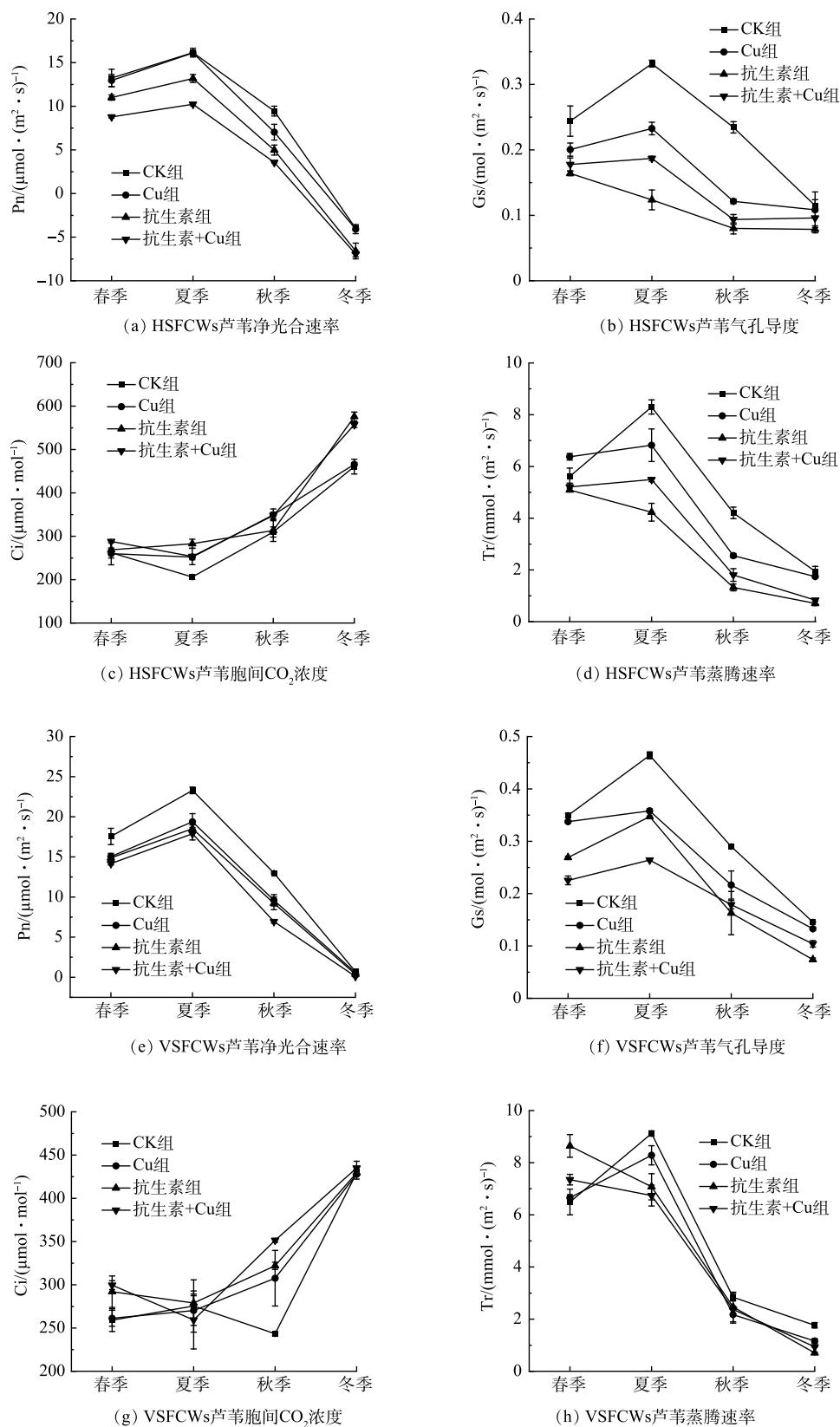


图4 不同季节潜流人工湿地中芦苇的光合作用指标变化

Fig. 4 Changes in photosynthetic index of reed in subsurface flow constructed wetlands in different seasons

孔导度季节平均值分别为 $0.11\sim0.33$ 、 $0.10\sim0.23$ 、 $0.08\sim0.16$ 、 $0.09\sim0.19 \text{ mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$, VSFCWs 中分别为 $0.29\sim0.46$ 、 $0.13\sim0.36$ 、 $0.07\sim0.34$ 、 $0.10\sim0.26 \text{ mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$, 在夏季 VSFCWs 各处理组芦苇的气孔导度均显著高于 HSFCWs ($P<0.05$)。HSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇蒸腾速率季节平均值分别为 $1.94\sim8.30$ 、 $1.74\sim6.82$ 、 $0.70\sim5.09$ 、 $0.83\sim5.50 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, VSFCWs 中分别为 $1.76\sim9.12$ 、 $1.16\sim8.28$ 、 $0.71\sim8.64$ 、 $0.94\sim7.35 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, VSFCWs 中芦苇的蒸腾速率只在春季和夏季高于 HSFCWs, 在秋季和冬季含量较为接近。HSFCWs 中 CK 组、Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇胞间 CO_2 浓度季节平均值分别为 $206.16\sim460.53$ 、 $251.93\sim465.69$ 、 $268.82\sim575.96$ 、 $253.42\sim557.20 \text{ mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$, VSFCWs 中分别为 $259.12\sim429.40$ 、 $261.30\sim427.78$ 、 $278.98\sim429.51$ 、 $259.35\sim435.10 \text{ mmol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 。芦苇的光合作用指标随季节的变化而变化, 净光合速率、气孔导度和蒸腾速率总体上均呈现春、夏季高于秋、冬季的趋势, 但芦苇的胞间 CO_2 浓度随时间的变化与其他光合作用指标相反, 总体呈现春、夏季低于秋、冬季的趋势。

与 CK 组相比, HSFCWs 中 Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇的净光合速率值分别降低了 $0.2\%\sim25.6\%$ 、 $16.9\%\sim64.8\%$ 和 $11.0\%\sim73.8\%$, 抗生素+Cu 组在春夏秋冬 4 个季节均显著低于 CK 组 ($P<0.05$), 抗生素组对净光合速率的抑制强于 Cu 组, Cu 胁迫也会导致光合速率下降, 但与 CK 组比较无显著性差异 ($P>0.05$)。在抗生素或 Cu 的作用下, VSFCWs 中 Cu 组、抗生素组、抗生素+Cu 组芦苇的净光合速率也出现不同程度的降低, 其中 Cu 组下降了 $14.3\%\sim26.2\%$, 抗生素组下降了 $15.2\%\sim45.3\%$, 抗生素+Cu 组下降了 $19.3\%\sim85.5\%$, 与 HSFCWs 的抗生素+Cu 组一样, VSFCWs 中抗生素+Cu 组芦苇的净光合速率最低。与净光合速率相似, 在抗生素或 Cu 的作用下, 芦苇的气孔导度和蒸腾速率也出现不同程度的下降, 但均无显著性差异 ($P>0.05$), 潜流人工湿地中各处理组芦苇的胞间 CO_2 浓度无明显的差异现象。

3 讨论

3.1 抗生素和 Cu 对潜流人工湿地土壤呼吸的影响

深度处理养猪废水的 2 种潜流人工湿地运行了春、夏、秋、冬 4 个季节, VSFCWs 的芦苇根际土壤和非根际土壤呼吸季均值都高于 HSFCWs, 说明 VSFCWs 中土壤微生物活性更高。2 种潜流人工湿地出水水质的长期监测结果表明 VSFCWs 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 TP 的去除率显著高于 HSFCWs, 增幅分别为 $21.3\%\sim40.9\%$ 、 $16.4\%\sim24.5\%$ 和 $16.7\%\sim30.8\%$, VSFCWs 对养猪废水具有更好的深度处理性能^[18]。ZENG 等^[19]发现, 与水平潜流人工湿地和表面流人工湿地相比, 垂直潜流人工湿地对 COD 值、TN 和 TP 的去除率更高, 垂直潜流人工湿地通过减少功能基因冗余、增强细菌功能和基因间相互作用促进对碳、氮、磷等的去除。VSFCWs 由于其自上而下或自下而上流动的水力特点, 污水在进水动能或重力势能驱动下垂直入渗土壤和基质层, 水流这一流动过程容易为潜流人工湿地内部带入氧气, 有利于增强内部微生物的新陈代谢作用^[8], VSFCWs 中水流良好的氧气运输能力及渗透性是促进土壤微生物活性高于 HSFCWs 的原因之一。

HSFCWs 和 VSFCWs 中芦苇根际土壤呼吸都显著强于非根际土壤, 说明根际土壤的微生物活性更强。艾超等^[20]的研究发现植物根系可以促进根系微生物量升高, 并且根际土壤水解酶活性显著高于非根际土壤。植物根系不仅可以分泌氧气, 而且可以释放根系分泌物, 使得植物根际土壤微生物的数量和组成受到根际环境的选择和影响^[21], 促进植物根际土壤呼吸作用强度的改变。抗生素和 Cu 具有生态毒性, 对土壤微生物可能产生抑制效应。李明珠等^[22]研究发现单独的磺胺嘧啶 (SDZ) 或是在其与 Cu 复合作用下, 在 60 d 培养期内, 土壤呼吸呈现先被抑制后被促进, 再被抑制的趋势。LUCAS 等^[23]通过向土壤中添加兽用的莫能菌素, 发现细菌的多样性和丰度、微生物对碳、氮的利用效率降低。养猪废水中微量抗生素和 Cu 单独或者复合胁迫对 HSFCW 和 VSFCWs 芦苇根际和非根际土壤呼吸呈现出持续抑制效应, 抗生素和 Cu 的复合胁迫抑制作用最强, 高于单独抗生素胁迫和单独 Cu 胁迫。同时抗生素和 Cu 也直接影响到了潜流人工湿地对污染物的去除效率, 在本研究的 HSFCW 和 VSFCWs 中, 加入抗生素或 Cu 的处理组对 TOC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 TP 的平均去除率相比于 CK 组分别下降了 $3.7\%\sim15.9\%$ 、 $3.8\%\sim23.1\%$ 、 $3.1\%\sim17.9\%$ 和 $1.8\%\sim8.1\%$, 除了 HSFCW 和 VSFCWs 对 TOC 的去除、VSFCWs 对 TP 的去除外, 均具有显著性的差异^[18]。

3.2 抗生素和 Cu 对潜流人工湿地芦苇光合作用的影响

潜流人工湿地进水中的抗生素和 Cu 可以通过植物根部的吸附和吸收作用进入到植物组织, 当进水中抗

生素和 Cu 的浓度高至一定范围时,不仅会抑制植物生长,还会通过降低植物叶绿素含量、抑制相关酶活性等方式削弱植物的光合作用^[24-26]。本研究中,进水中微量的抗生素和 Cu 不仅对 HSFCWs 和 VSFCWs 的土壤呼吸产生胁迫作用,而且影响了芦苇的生长和叶片的光合作用。与 CK 组相比,在抗生素和 Cu 胁迫下,潜流人工湿地中芦苇株高降低,在秋季时显著低于 CK 组,同时芦苇的净光合速率显著低于 CK 组,气孔导度和蒸腾速率相比于 CK 组降低。净光合速率能够直接反映植物的光合作用水平,气孔导度能够反映叶片的气孔开放情况,控制着植物与环境中气体的交换^[14],而蒸腾速率是植物调控自身水分耗损的重要指标,净光合速率、气孔导度和蒸腾速率之间的变化趋势呈正相关,当植物的光合作用较强时,净光合速率较大,并且叶片张开气孔,蒸腾速率变强^[27]。而芦苇胞间 CO₂ 浓度的变化趋势与净光合速率、气孔导度和蒸腾速率这些光合作用指标的变化趋势相反,可能与植物对环境中 CO₂ 的利用速率有关,当光合作用较强时,植物消耗的 CO₂ 高于进入叶片胞间的 CO₂,导致胞间 CO₂ 浓度下降^[28]。LIU 等^[29]发现当环丙沙星 (CIP)、土霉素 (OTC) 和磺胺二甲嘧啶 (SM2) 的质量浓度大于 10 μg·L⁻¹ 时,对芦苇的根系活性和叶绿素有毒性作用。杨勇等^[30]发现在不同质量浓度的环丙沙星 (CIP) 和土霉素 (OTC) 处理下,烤烟幼苗叶片的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率受到了抑制,胞间 CO₂ 浓度反而增加。WEN 等^[31]发现 0.15 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺损伤了马尾藻幼孢子体的光合系统。这些研究结果表明低质量浓度抗生素和 Cu²⁺对植物的抑制效应与本研究结果较一致。

4 结论

- 1) 在微量抗生素和 Cu 胁迫下, VSFCWs 与 HSFCWs 相比, 土壤呼吸、芦苇生长均高于 HSFCWs, VSFCWs 具有更好的深度处理养猪废水的性能。
- 2) 养猪废水中微量抗生素和 Cu, 对潜流人工湿地土壤微生物活性和植物光合作用均存在抑制效应, 从而影响用于深度处理养猪废水潜流人工湿地的处理性能。抗生素和 Cu 复合胁迫对潜流人工湿地植物和土壤微生物的生态毒性高于抗生素或 Cu 的单独胁迫。

参 考 文 献

- [1] LIU R, CHEN L, SONG X, et al. Treatment of digested piggery wastewater with a membrane bioreactor[J]. *Environmental Engineering and Management Journal*, 2016, 15(10): 2181-2188.
- [2] ZENG Z, ZHENG P, KANG D, et al. The removal of copper and zinc from swine wastewater by anaerobic biological-chemical process: Performance and mechanism[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401: 123767.
- [3] 屈健. 畜禽粪便中铜锌的污染及治理研究进展[J]. *农学学报*, 2022, 12(7): 61-63.
- [4] CHENG D L, NGO H H, GUO W S, et al. Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones from swine wastewater[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 621: 1664-1682.
- [5] 周婧, 支苏丽, 宫祥静, 等. 三类抗生素在两种典型猪场废水处理工艺中的去除效果[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(2): 430-438.
- [6] 杨钊. 厌氧共代谢去除养猪场废水中兽用抗生素的效能研究[D]. 贵州: 贵州大学, 2020.
- [7] 赵伟, 范增增, 杨新萍. 水平潜流人工湿地对畜禽养殖废水中特征污染物的去除[J]. *环境科学*, 2021, 42(12): 5865-5875.
- [8] STEFANAKIS A, AKRATOS C S, TSIHRINTZIS V A, Chapter 2 - Constructed Wetlands Classification[M]. in Vertical Flow Constructed Wetlands, 2014, Elsevier: Boston.
- [9] DU L, ZHAO Y, WANG C, et al. Removal performance of antibiotics and antibiotic resistance genes in swine wastewater by integrated vertical-flow constructed wetlands with zeolite substrate[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 721: 137765.
- [10] 杨玲丽, 马琳, 刘伟, 等. 铜和磺胺甲恶唑复合污染下人工湿地对畜禽养殖尾水的处理效果[J]. *水生生物学报*, 2022, 46(10): 1484-1493.
- [11] 王晓洁, 赵蔚, 张志超, 等. 兽用抗生素在土壤中的环境行为、生态毒性及危害调控[J]. *中国科学: 技术科学*, 2021, 51(6): 615-636.
- [12] 田彪, 卿黎, 罗晶晶, 等. 重金属铜和铅的生态毒性归一化及土壤环境基准研究[J]. *环境科学学报*, 2022, 42(3): 431-440.
- [13] MALCHAIR S, CARNOL M. Microbial biomass and C and N transformations in forest floors under European beech, sessile oak, Norway spruce and Douglas-fir at four temperate forest sites[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(4): 831-839.
- [14] 邢红爽, 乌佳美, 陈健, 等. 植物光合作用限制因素与植被生产力研究进展[J]. *生态学报*, 2023, 43(12): 5186-5199.
- [15] LV M, ZHANG D, NIU X, et al. Insights into the fate of antibiotics in constructed wetland systems: Removal performance and mechanisms[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 321: 116028.
- [16] LIU L, LIU C, ZHENG J, et al. Elimination of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical flow constructed wetlands[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(8): 1088-1093.
- [17] CHENG X, PENG R, CHEN J, et al. CH₄ and N₂O emissions from *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis* in experimental mesocosms[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(3): 420-427.
- [18] 杨升. 不同构型潜流湿地对养猪废水深度处理的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2023.
- [19] ZENG L, TAO R, TAM N F Y, et al. Differences in bacterial N, P, and COD removal in pilot-scale constructed wetlands with varying flow types[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 318: 124061.

- [20] 艾超. 长期施肥下根际碳氮转化与微生物多样性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [21] 王礼霄. 半人工湿地植物香蒲根系微生物群落的时空分异及构建过程[D]. 太原: 山西大学, 2022.
- [22] 李明珠. 磷酸嘧啶和铜单一及复合污染对土壤微生物的毒性效应及其修复[D]. 淄博: 山东理工大学, 2019.
- [23] LUCAS J M, SONE B M, WHITMORE D, et al. Antibiotics and temperature interact to disrupt soil communities and nutrient cycling[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 163: 108437.
- [24] 段美娜, 覃亮, 龙婧, 等. 镍和铜对海洋浮游植物的毒性效应及其机制研究进展[J]. *广东海洋大学学报*, 2021, 41(2): 139-148.
- [25] 李淑英, 徐道青, 刘小玲, 等. 畜禽抗生素对植物的生态毒理效应综述[J]. *生态毒理学报*, 2023, 18(4): 188-206.
- [26] NKOH J N, SHANG C, OKEKE E S, et al. Antibiotics soil-solution chemistry: A review of environmental behavior and uptake and transformation by plants[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 354: 120312.
- [27] 张宇, 高悦, 周紫阳, 等. 施氮量对不同品种高粱光合特性及产量的影响[J]. *分子植物育种*, 2024, 22(10): 3299-3305.
- [28] 林兵, 武胜利, 管文舸, 等. 胡杨叶片的胞间CO₂浓度及气孔和非气孔限制的探究[J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(13): 87-92.
- [29] LIU L, LIU Y-H, LIU C-X, et al. Potential effect and accumulation of veterinary antibiotics in *Phragmites australis* under hydroponic conditions[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 53: 138-143.
- [30] 杨勇, 夏运生, 念江稳, 等. 环丙沙星和土霉素对烤烟幼苗生长发育和光合特性的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2023, 42(6): 196-204.
- [31] WEN J, ZOU D. Interactive effects of increasing atmospheric CO₂ and copper exposure on the growth and photosynthesis in the young sporophytes of *Sargassum fusiforme* (Phaeophyta)[J]. *Chemosphere*, 2021, 269: 129397.

(责任编辑: 曲娜)

Effects of antibiotics and copper in swine wastewater on soil respiration and reed photosynthesis in subsurface flow constructed wetlands

ZHANG Jialiang, YANG Sheng, TANG Zhu, YANG Xinping*

College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

*Corresponding author, E-mail: xpyang@njau.edu.cn

Abstract In order to investigate the effects of antibiotics and heavy metals in swine wastewater on soil microorganisms and plant growth in subsurface flow constructed wetlands, horizontal subsurface flow constructed wetlands and vertical subsurface flow constructed wetlands were established, and ‘root bag’ method was used to distinguish rhizosphere and non-rhizosphere soil of reed. According to influent difference, four treatment groups in each kind of wetland were set as follows: the simulated swine wastewater as influent (CK group), swine wastewater added with antibiotics (antibiotics group), swine wastewater added with copper (Cu group), and swine wastewater added with antibiotics and Cu (antibiotics+Cu group). Soil respiration and reed photosynthesis indexes of two kinds of subsurface flow constructed wetlands were monitored for one year. The results showed that the addition of 18.3~39.1 μg·L⁻¹ antibiotics or 1.2 mg·L⁻¹ copper in swine wastewater could inhibit the respiration of rhizosphere and non-rhizosphere soil, and photosynthesis of reed in wetland. Compared with CK group, under the combined stress of antibiotics and Cu, rhizosphere soil respiration decreased by 20.4%~66.3% and 20.8%~77.5%, respectively, while non-rhizosphere soil respiration decreased by 30.4%~71.0% and 23.2%~60.7%, respectively. The reed rhizosphere and non-rhizosphere soil respiration in vertical subsurface flow constructed wetland was significantly higher than that in horizontal subsurface flow constructed wetland in spring, summer and autumn. Under the combined stress of antibiotics and Cu, the reed plant height of horizontal subsurface flow constructed wetland and vertical subsurface constructed wetland decreased significantly compared with CK group at the later stage of operation. Compared with CK group, the net photosynthetic rate of reed in horizontal subsurface flow constructed wetland and vertical subsurface constructed wetland decreased by 11.0%~73.8% and 15.2%~45.3%, respectively, stomatal conductivity and transpiration rate were also inhibited, while the intercellular CO₂ concentration of reed increased. Compared with horizontal subsurface flow constructed wetland, vertical subsurface flow constructed wetland has a stronger ability in advanced treatment of swine wastewater.

Keywords swine wastewater; subsurface flow constructed wetland; antibiotics; copper; soil respiration; photosynthesis