

文章编号:1000-0615(2009)03-0462-08

## 固定化微生物修复养殖池塘污染底泥的围隔试验

郑忠明<sup>1</sup>, 陆开宏<sup>1</sup>, 蔡惠风<sup>2</sup>, 王扬才<sup>3</sup>, 金春华<sup>1</sup>, 宁修仁<sup>4</sup>

(1. 宁波大学教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江 宁波 315211;

2. 宁波市鄞州区渔业技术管理服务站, 浙江 宁波 315100;

3. 宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315100;

4. 国家海洋局第二海洋研究所, 浙江 杭州 310012)

**摘要:**通过测定上覆水的多项水质指标、底泥总有机碳(TOC)、底泥生物降解能力(G值)、底泥异养细菌数和反硫化细菌数等指标值,在野外实验围隔条件下比较了固定化微生物和游离微生物(FR-M)对污染底质的生物修复能力。微生物固定所用载体包括:纤维网状活性炭,生物活性炭,沸石和硅藻土(相应的固定化微生物分别标记为FC-M,BC-M,ZE-M和DI-M组)。结果显示:固定化微生物对围隔内水质有间接影响,试验后期固定化微生物组(ZE-M,DI-M和FC-M组)的上覆水硝氮浓度显著高于对照组( $P < 0.05$ );BC-M组和ZE-M组上覆水中的COD值显著低于游离微生物组(FR-M)和对照组( $P < 0.05$ ),说明固定化微生物有效削减了水底界面还原性物质的污染程度;与游离微生物或对照组相比,固定化微生物组(FC-M组,DI-M组和ZE-M组)能更有效地降解底泥有机质。固定化微生物对底泥生物降解能力(G值)的影响明显,实验后期固定化微生物组(BC-M组,DI-M组和ZE-M组)的G值均显著高于对照组和游离微生物组( $P < 0.05$ ),说明固定化微生物技术的运用显著提高了围隔底泥的生物降解能力;固定化微生物对围隔内底泥异养细菌总数影响不显著( $P > 0.05$ ),可能是由于底泥微生物群落结构受其它多种因子的综合影响所致。固定化微生物对底泥反硫化细菌影响显著( $P < 0.05$ ),与对照组和游离微生物组相比,固定化微生物(尤其是ZE-M和BC-M组)能更有效地减少围隔底泥反硫化细菌数。实验结果表明,利用载体固定微生物技术能显著提高微生物对污染底质的生物修复能力,其中以ZE-M和BC-M组效果最好。

**关键词:**固定化微生物;游离微生物;生物修复;养殖池塘;污染底质

**中图分类号:**X 52; S 917

**文献标识码:**A

随着我国池塘养殖面积的不断增长以及集约化养殖的发展,由投饵养殖引起的生态恶化及环境污染日益严重,国内外学者正致力于探索其治理方法,其中利用微生物降解原理对养殖水体进行生态调控和污染修复的研究已取得较大进展,并显示出良好的应用前景<sup>[1-10]</sup>。但已有的方法侧重于利用微生物改善养殖水质,强化水层中的有机物降解,而对池底污染物的分解转化影响较小。养殖自身污染的最大特点是残饵、粪便及动

植物残骸等有机质大量沉积于池底,生物修复菌只有在池底增殖才能最大程度地发挥作用。李秋芬等<sup>[11]</sup>曾分离、筛选出若干消除虾池底泥有机污染的菌株,但能否将足够的作用菌携带到池塘底部,并营造适宜的生存环境,对提高引入菌株的生存机率,增强其对污染底泥的修复效率将具更重要的意义。

利用载体固定微生物的技术是强化外来微生物污水处理效率的有效途径<sup>[12-17]</sup>。然而由于养

收稿日期:2008-09-03 修回日期:2008-10-16

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2007AA10Z409);国家海洋局 908 专项(908-02-04-07);浙江省自然科学基金(Z505319, Y307542)

通讯作者:陆开宏, Tel: 0574-87600232, E-mail: lukaihong@nbu.edu.cn

殖池塘底部环境的特殊性,如池底的低光照、低溶氧条件;生物载体难以回收;池底的工艺过程控制困难等,使该项技术在室外养殖水体中的应用受到较大限制。为验证固定化微生物对养殖池塘污染底泥原位修复的效果,本研究选择了几种不同的微生物载体,在养殖池塘进行围隔比较试验,以期对固定化微生物技术的实际应用提供基础理论和借鉴。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

试验用微生物制剂为美国 General Environmental Science 公司生产的 LLMO 菌液,按体积比量取 LLMO 1 号菌液和伴侣 1 号各 1 份,加经玻璃纤维膜(孔径 0.45  $\mu\text{m}$ )过滤后的池塘水 8 份,48 h 曝气培养后使用。选用 2 种活性炭和沸石、硅藻土各 1 种作为载体,载体经马弗炉在 300 ~ 400  $^{\circ}\text{C}$  高温下处理约 3 h 后,分别放入上述活化后的菌液中,并吸附 6 h 后使用(各载体在吸附 6 h 时对菌液的吸附量最大)。几种载体的

形状和比表面积见表 1。

实验围隔以粗钢丝为支架,高密度两面涂塑的聚乙烯编织布为围隔幔,制成 1 m  $\times$  1 m  $\times$  2 m 长方体形状;围隔下部埋入池塘底泥 20 cm,露出水面 10 ~ 20 cm。选择位于浙江省余姚市水产养殖基地的一口面积为 0.8  $\text{hm}^2$  的咸淡水鱼塘进行围隔试验,试验池池底污泥层厚度 30 ~ 50 cm。

### 1.2 试验方法

试验设对照组(不施加任何微生物,以下简称 Control 组)、游离微生物组(简称 FR-M 组)、普通(纤维网状)活性炭固定化微生物组(简称 FC-M)、生物活性炭固定化微生物组(简称 BC-M 组)、沸石固定化微生物组(简称 ZE-M 组)和硅藻土固定化微生物组(简称 DI-M 组)。每个处理设 3 个重复,随机设置于同一池塘条件相近的区域。吸附微生物的载体经表面风干后,按每平方米池底面积 5 g 用量分别施入相应围隔,间隔 15 d 追施一次。试验从 2007 年 9 月 22 日开始,至 2007 年 10 月 24 日结束,试验开始后,不换水,只补充少量蒸发和渗漏水,保持水深(150  $\pm$  5) cm。

表 1 不同载体的形状和比表面积

Tab. 1 The shape and specific surface ratios of different carriers

| 载体名称<br>carrier   | 普通活性炭<br>active carbon | 生物活性炭<br>biological active carbon | 沸石<br>zeolite   | 硅藻土<br>diatomite  |
|---|------------------------|-----------------------------------|-----------------|-------------------|
| 形状<br>shape   | 纤维网状<br>fibrous net    | 颗粒状<br>granular                   | 颗粒状<br>granular | 粉末状<br>scobicular |
| 比表面积( $\text{m}^2 \cdot \text{g}$ )<br>specific surface ratio | 1 000                  | 1 800                             | 800             | 45                |

### 1.3 采样与分析方法

每隔 7 d 采样一次,采样时间为上午 10:00 ~ 11:00。上覆水检测指标为水体叶绿素 a 含量、水温、溶氧(DO)、pH、氨氮( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ )、硝氮( $\text{NO}_3^- - \text{N}$ )和化学耗氧量( $\text{COD}_C$ );底泥测定指标包括总有机碳(TOC)、底泥生物降解能力(G 值)、异养细菌数和反硫化细菌数。

用美国产 Hydrolab 综合水质测定仪现场测定水温、溶氧(DO)和 pH;叶绿素 a 含量用德国产(BBE) FluoroProbe 荧光测定仪测定;用德国产 Beeker 型沉积物采样器采集池底表层泥样。水样和泥样采集完毕后,低温条件下带回实验室分析测定其它指标。水样中的氨氮( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ )、硝氮( $\text{NO}_3^- - \text{N}$ )、化学耗氧量( $\text{COD}_C$ )等指标按照

文献[18]中的标准方法测定;泥样中的 TOC<sup>[19]</sup>、底泥 COD<sup>[19]</sup>、G 值<sup>[17,20]</sup>等各项指标均按相关文献提供的方法测定。异养细菌的计数采用平板倾注法,28  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 48 h 后计数;反硫化细菌的计数采用 MPN 法,28  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养 7 d 后计数<sup>[21]</sup>。

### 1.4 数据处理

统计分析等数据处理在 SPSS 13.0 统计软件上进行,不同处理及日期间的指标值先进行两因素方差分析(Two-way ANOVA),然后进行 Duncan 多重比较。底泥中 TOC 含量(百分比数据)比较时,数据先通过反正弦变换后再进行统计分析;异养细菌和反硫化细菌数据分析时,细菌数先经对数变换再进行方差分析及多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 固定化微生物对底泥上覆水水质的影响

**透明度和叶绿素** 由图1可见,试验期间,各试验围隔内上覆水透明度和叶绿素a含量均有较大波动。试验开始后的第一个星期内,试验组透明度均有不同程度上升,而对照组则因“水华”发生而明显下降;试验中后期 ZE-M 和 BC-M 组围隔内无“水华”发生,透明度随温度下降而上升,而对照组及其它试验围隔,因有较为严重的蓝藻“水华”发生,透明度均明显低于 ZE-M 和 BC-M 组。各围隔内上覆水藻类叶绿素 a 浓度与透明度呈极显著的负相关关系 ( $r = -0.9719, P < 0.01$ )。

**氨氮、硝氮和化学耗氧量** 由图2-A可见,试验开始时,各围隔底层水中的氨氮浓度基本一致且较高。试验初期(9月30日)因藻类繁殖,水体溶氧较高,氨氮下降显著,其后因溶氧下降,氨氮含量大多维持在0.4~0.6 mg/L 范围内,后期(10月23日)对照组呈上升趋势,氨氮浓度显著高于其它各组 ( $P < 0.05$ ),而各处理组之间则无显著差异 ( $P > 0.05$ )。相反,各试验围隔的硝氮含量在试验中后期均有明显升高(图2-B),且在后期(10月23日)ZE-M, DI-M 和 FC-M 组的底层水硝氮浓度均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。

围隔内上覆水的 COD 值在试验初期均有大幅度下降(图3),与对照组(Control)和游离微生物组(FR-M)相比,固定化微生物组(FC-M, BC-M, DI-M 和 ZE-M)的上覆水 COD 值下降更显著。中期因水温下降各组 COD 值均有一定回升,而试验后期各处理组的上覆水 COD 值显著低于对照组的 ( $P < 0.05$ ),在试验最后(10月23日),各固定化微生物组差异不显著,而固定化微生物 BC-M 组和 ZE-M 组显著低于游离微生物组(FR-M)和对照组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 固定化微生物对底泥有机质的降解

**总有机碳(TOC)和底泥生物降解能力(G值)** 图4-A反映了试验期间底泥总有机碳含量的动态,从图中可见,在试验的初期(9月22日-30日),固定化微生物组的底泥总有机碳有一个升高的过程。在试验后半程,固定化微生物组底泥 TOC 明显下降,至实验结束(10月24日)时,FC-M 组、DI-M 组和 ZE-M 组分别比各自的最高值下降 27.5%、23.9% 和 20.9%,同时底泥 TOC 含量显著低于此时的对照组和游离微生物组 ( $P < 0.05$ )。各试验组底泥的生物降解能力(G)在试验第二周也明显上升(图4-B),在实验中期时(10月8日),固定化微生物组(FC-M 组、BC-M 组、DI-M 组和 ZE-M 组)的 G 值显著高于对照组和游离微生物组 ( $P < 0.05$ ); 至实验后期

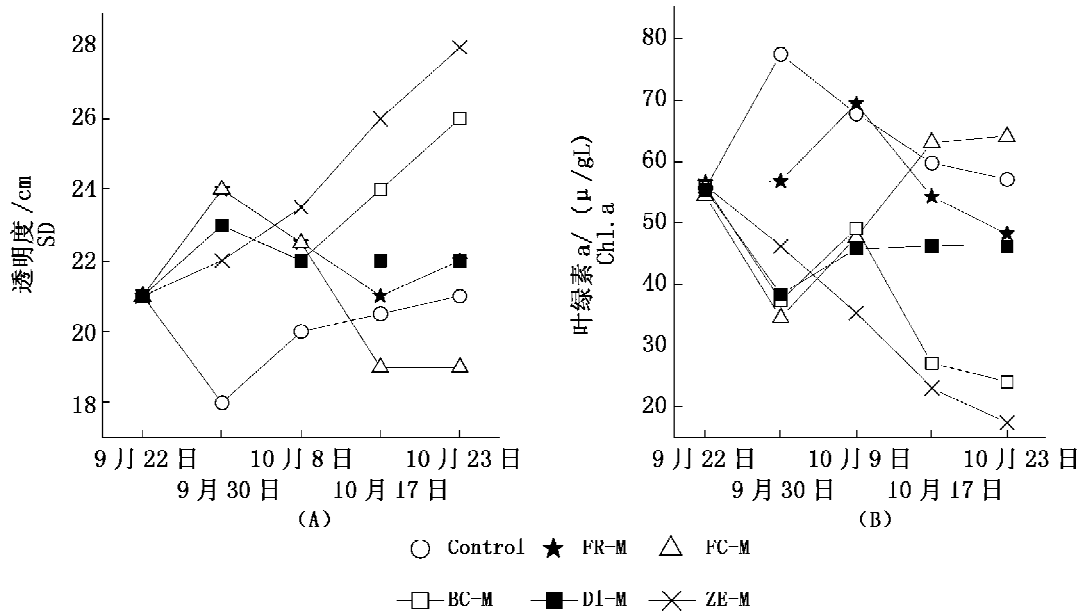


图1 上覆水水温、透明度和叶绿素的变化

Fig.1 Variations of water temperature (WT), SD and Chl. a concentrations in the overlying water

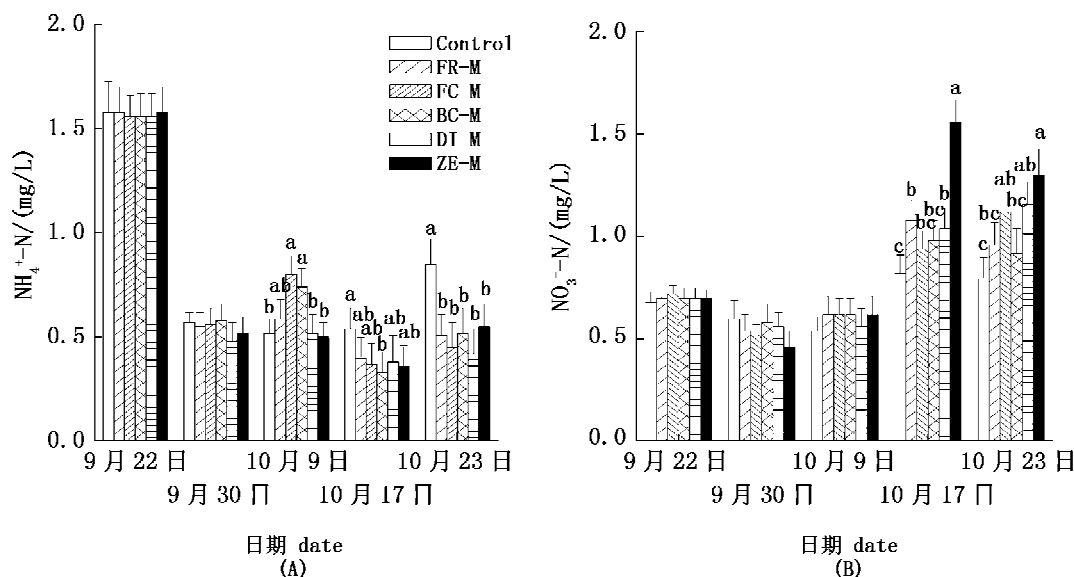


图2 围隔底层水氨氮和硝氮变化

竖线表示标准差;同一采样日内,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),未标字母的各组没有显著差异( $P > 0.05$ )

Fig.2 Variations of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  of the bottom water in the experimental enclosures

Bars indicate SD, Letters indicate the differences between groups within same sampling date. Means not sharing a common letter are significantly different ( $P < 0.05$ ). Non-labeled columns mean no difference at the significance level of  $P > 0.05$

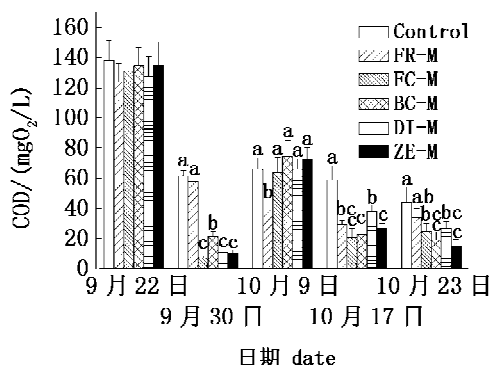


图3 围隔底层水化学耗氧量变化

竖线表示标准差;同一采样日内,不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),未标字母的各组没有显著差异( $P > 0.05$ )

Fig.3 Variations of COD of the bottom water in the experimental enclosures

Bars indicate SD, Letters indicate the differences between groups within same sampling date. Means not sharing a common letter are significantly different ( $P < 0.05$ ). Non-labeled columns mean no difference at the significance level of  $P > 0.05$

(10月17日-24日)固定化微生物除FC-M组外,其它各组(BC-M组、DI-M组和ZE-M组)的G值均显著高于同期的对照组和游离微生物组( $P < 0.05$ )。

底泥异养细菌(HB)和反硫化细菌(ASB)

由于人工干预和野外条件下诸多不确定因素的影响,各试验围隔底泥异养细菌数量波动较大,规律性不强(图5-A)。而游离微生物和固定化微生物对底泥的反硫化细菌数量的影响较为明显,试验初期试验组和对照组反硫化细菌数量都比较大,底泥也有明显的黑臭现象,但随着试验的继续,各试验围隔底泥反硫化细菌数量显著下降,黑臭现象也明显改善;实验中后期(10月8日以后),各处理组底泥反硫化细菌数量均显著低于对照组( $P < 0.05$ )(图5-B),尤其是ZE-M和BC-M组,至试验结束时,已基本检测不到反硫化细菌。

3 讨论

外来微生物同载体结合成为具有高生物活性的固定生长体后,具有菌体密度高、活性强、反应启动快、处理效率高、操作稳定等一系列优点<sup>[10,13,22-24]</sup>。对于养殖池塘而言,外来微生物吸附于载体后,还能明显改进投加方式,增加微生物与底泥中目标污染物的混合接触机会,从而增强底泥的原位生物修复能力<sup>[9,12,25]</sup>。本实验的结果基本上支持了上述观点。

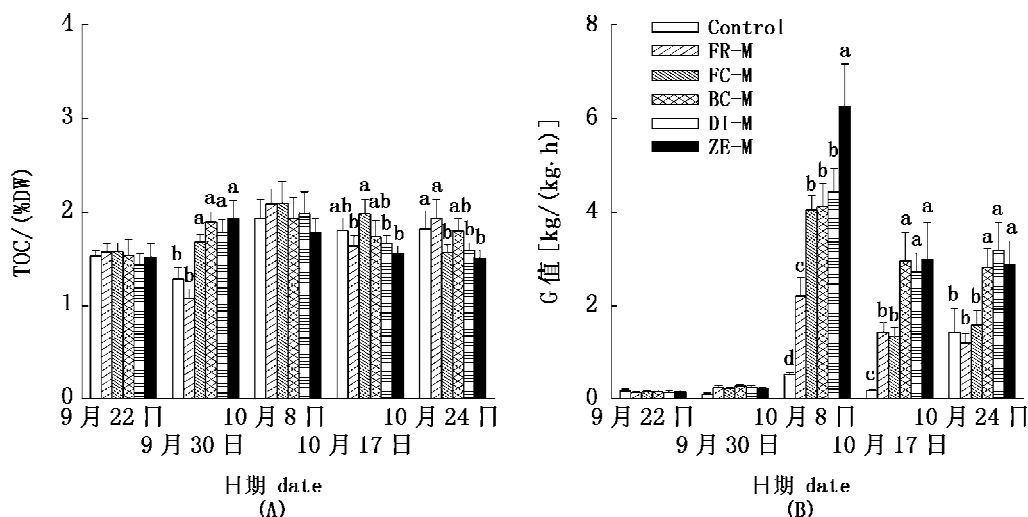


图4 底泥总有机碳含量及底泥生物降解能力的变化

竖线表示标准差;同一采样日内,不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),未标字母的各组没有显著差异 ( $P > 0.05$ )

Fig.4 Variations of TOC concentrations and G values in sediments

Bars indicate SD, Letters indicate the differences between groups within same sampling date. Means not sharing a common letter are significantly different ( $P < 0.05$ ). Non-labeled columns mean no difference at the significance level of  $P > 0.05$

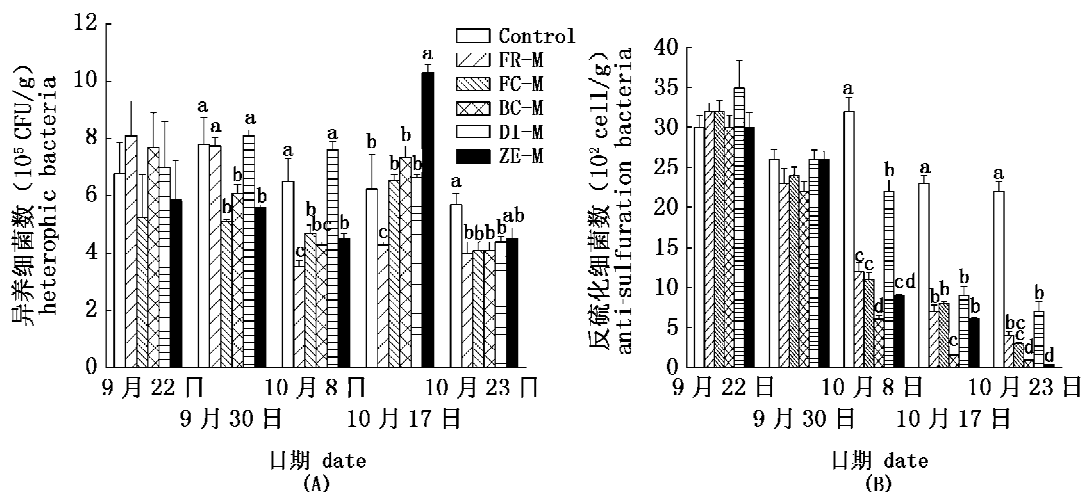


图5 底泥异养细菌(HB)和反硫化细菌(ASB)的数量变化

竖线表示标准差;同一采样日内,不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),未标字母的各组没有显著差异 ( $P > 0.05$ )

Fig.5 Variations of the amounts of heterophilic bacteria anti-sulfuration bacteria in sediments

Bars indicate SD, Letters indicate the differences between groups within same sampling date. Means not sharing a common letter are significantly different ( $P < 0.05$ ). Non-labeled columns mean no difference at the significance level of  $P > 0.05$

影响水体透明度和藻类浓度的因子多而复杂,如气候的变化、水温及水体营养盐浓度等。由于试验围隔面积小,严格封闭,水体相对静止,同时,野外条件下,气候变化剧烈,水体中各种化学反应受雨水、温度和光照等气候因素的影响也比较大,而固定化微生物直接作用介质是底泥,因此,其对上覆水的影响是间接的。在本实验中可以推测,造成处理组和对照组的水体透明度和叶

绿素 a 浓度存在差异的原因应该是诸多综合因素共同影响的结果,其中部分原因可能是由于各围隔中的底泥释放营养盐速率不同所致。底泥中的有机物在微生物的作用下通常会矿化成无机营养盐,通过扩散作用使上覆水中的无机盐浓度增加<sup>[26]</sup>。不同的底泥微生物群落结构会导致不同的底泥-水界面营养盐通量速率<sup>[27]</sup>,因此,固定化微生物的加入必然会影 响底泥释放营养盐。本

实验中我们没有测定围隔底泥营养盐释放速率,但从所测定的围隔上覆水透明度、叶绿素 a 浓度以及  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  浓度的结果来看,固定化微生物对底泥有机物矿化作用的影响是显著的。另外,三氮之间( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和  $\text{NO}_2^- - \text{N}$ ) 总处于不断的相互转化,条件不同其转化方向及速率也不同。其中, $\text{NO}_3^- - \text{N}$  水平高代表了氧化条件下硝化作用占优势;而  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  增多则代表低氧状态下,有机氮转化为无机氮初产物的积累增加<sup>[28]</sup>。本实验中,试验后期处理组(ZE-M、DI-M 和 FC-M 组)的底层水硝氮浓度显著高于对照组,说明固定化微生物的加入可能促进了试验组底泥表层硝化细菌数量及其硝化活性的增加。化学耗氧(COD)表示水体中有机质和其他化学物质分解耗氧以及微生物活动的强弱,从本实验围隔内上覆水的 COD 值观察结果来看,试验后期固定化微生物 BC-M 组和 ZE-M 组显著低于游离微生物组(FR-M)和对照组,说明固定化微生物有效削减了水底界面还原性物质的污染程度。

底泥有机物矿化作用的最终结果应表现为底泥中有机物含量的减少,因此,底泥中 TOC 含量的变化规律可以作为固定化微生物促进沉积有机物降解的一个重要指标。从实验结果(图 4-A)中可以看出,至实验结束时,固定化微生物组(FC-M 组、DI-M 组和 ZE-M 组)底泥 TOC 含量显著低于此时的对照组和游离微生物组,说明:与游离微生物或对照组相比,固定化微生物能更有效地降解底泥有机质。但从各围隔的实验最初及最后底泥 TOC 含量来看,TOC 含量变化不大,这可能是由于围隔内没有养殖生物等大型动物,围隔内生态系统中食物链很短,有机物矿化后释放的 N、P 等营养物质被浮游植物吸收后,大部分随着浮游植物的老化又以有机物的形式沉入池底,另一部分通过食物链传递至浮游动物,随着浮游动物的死亡也最终沉降至底泥中,致使固定化微生物虽能促进底泥有机物的降解,但未能有效减少底泥 TOC 浓度。而实验初期及中期围隔底泥 TOC 的升高可能是由于实验过程中加入固定化微生物或游离微生物本身富含有机物原因,或由于上覆水原有有机质沉降所致。G 值作为底泥生物降解能力的指标更能反应固定化微生物的生物修复能力<sup>[17]</sup>,在本实验中,固定化微生物对 G 值的影响明显,实验后期固定化微生物组(BC-M 组、DI-M

组和 ZE-M 组)的 G 值均显著高于对照组和游离微生物组,说明固定化微生物技术的运用显著提高了围隔底泥的生物降解能力。

底泥有机物矿化反应起作用的微生物主要为异养细菌,但从实验结果来看,处理组及对照组围隔内底泥异养细菌总数变化规律性不强,造成这一结果的原因可能是由于底泥微生物群落结构受多种因子的综合影响,不同类型微生物之间存在复杂的竞争或抑制关系,导致了处理组和对照组异养细菌总数差异不明显。反硫化细菌为厌氧细菌,其主要作用是将硫酸根转化为  $\text{H}_2\text{S}$ ,底泥中污染物的积累,将导致局部的厌氧,从而使反硫化细菌剧增,因此,反硫化细菌数可作为底泥腐败形成水体黑臭的重要指标之一<sup>[29]</sup>。从本实验的结果可以看出,固定化微生物对底泥反硫化细菌数影响明显,与对照组和游离微生物组相比,固定化微生物(尤其是 ZE-M 和 BC-M 组)能更有效地减少围隔底泥反硫化细菌数。这一结果与前面讨论的固定化微生物对上覆水水质及底泥 G 值的影响规律也基本相符。

#### 4 结论

本实验利用载体比表面积大、吸附性能强等特点,将有益菌固定在载体表面,形成固定化微生物,以加速降解池塘底泥过量的有机物质。从实验结果可以看出:固定化微生物对围隔内水质有间接影响;与游离微生物或对照组相比,固定化微生物(FC-M 组、DI-M 组和 ZE-M 组)能更有效地降解底泥有机质。固定化微生物对底泥生物降解能力(G 值)的影响明显,实验后期固定化微生物组(BC-M 组、DI-M 组和 ZE-M 组)的 G 值均显著高于对照组和游离微生物组;固定化微生物对围隔内底泥异养细菌总数影响不显著,而对底泥反硫化细菌影响显著,与对照组和游离微生物组相比,固定化微生物(尤其是 ZE-M 和 BC-M 组)能更有效地减少围隔底泥反硫化细菌数。本实验结果显示,通过载体吸附微生物,能使有益菌在池塘底泥表层发挥更好的生物修复作用,其中以 ZE-M 和 BC-M 组效果最好。

#### 参考文献:

- [1] 韩士群,范成新,严少华. 固定化微生物对养殖水体浮游生物的影响及生物除氮研究[J]. 应用

- 与环境生物学报, 2006, 12 (2): 251-254.
- [2] 杜刚, 王京伟. 共固定化微生物对养殖水体脱氮的研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2007, 30 (4): 550-553.
- [3] 丁义. 生物修复技术在水产养殖中的应用[J]. 水产科技情报, 2007, 34(3): 135-138.
- [4] 谢冰, 史家梁, 徐亚同. 有机废水的复合光合细菌法处理及机理初探[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (增刊): 88-90.
- [5] 李雪梅, 杨中艺, 简曙光, 等. 有效微生物群控制富营养化湖泊藻的效应[J]. 中山大学学报, 2000, 39(1): 81-85.
- [6] 晏小霞, 唐文浩. 养殖水环境生物修复研究进展[J]. 热带农业科学, 2004, 24(2): 69-72.
- [7] 陈华林, 陈英旭. 污染底泥修复技术进展[J]. 农业环境保护, 2002, 21(2): 179-182.
- [8] 战培荣, 王丽华, 于沛芬, 等. 光合细菌固定化及其净化养鱼水质的研究[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 97-100.
- [9] 郑耀通, 胡开辉. 固定化光合细菌净化养鱼水质试验[J]. 中国水产科学, 1999, 6(4): 54-58.
- [10] Shan H, Obbard T P. Ammonia removal from prawn aquaculture water using immobilized nitrifying bacteria [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, (57): 791-798.
- [11] 李秋芬, 曲克明, 辛福言. 虾池环境生物修复作用的分离与筛选[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7 (3): 281-285.
- [12] Shreve G S, Vogeil T M. Comparison of substrate utilization and growth kinetics between immobilized and suspended *Pseudomonas* cells [J]. Biotech Bioeng, 1993, 41: 370-379.
- [13] Fierro S, Sánchez-Saavedra M P, Copalcúa C. Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus* [J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 1274-1279.
- [14] 王怡平, 英荣, 梅贤君. 固定化光合细菌在中华绒螯蟹人工育苗中的应用[J]. 水产学报, 1999, 23(2): 156-161.
- [15] 李谷, 黄正, 龙华, 等. 养殖水体氨氮去除的固定化微生物技术[J]. 大连水产学院学报, 2001, 16(4): 262-268.
- [16] 邹玉霞, 辛福言, 李秋芬, 等. 对虾养殖池环境修复作用菌固定化的研究[J]. 海洋科学, 2004, 28 (8): 5-8.
- [17] 蔡惠凤, 陆开宏, 金春华, 等. 养殖池塘污染底泥生物修复的室内比较实验[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 140-145.
- [18] 魏复盛. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [19] 全国主要湖泊、水库富营养化调查研究课题组. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1987.
- [20] 李开明, 刘军, 江栋, 等. 古廖涌黑臭水体生物修复及维护试验[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(6): 742-746.
- [21] 马放, 任南琪, 杨基先. 污染控制微生物学实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2003.
- [22] 黄正, 范玮, 李谷. 固定化硝化细菌去除养殖废水中氨氮的研究[J]. 华中科技大学学报, 2002, 31(1): 18-20.
- [23] 况金蓉, 冯道伦, 龚文琪. 固定化细胞技术在废水处理中的应用[J]. 武汉理工大学学报, 2001, 11: 90-93.
- [24] 马兆昆, 刘杰. 碳纤维生物膜载体在反硝化脱氮中的应用[J]. 中国环境科学, 2003, 23(3): 247-250.
- [25] 叶正芳, 倪晋仁. 污水处理的固定化微生物与游离微生物性能的比较[J]. 应用基础与工程科学学报, 2002, 10(4): 325-332.
- [26] Boyd C E. Bottom soils, sediment, and pond aquaculture [M]. New York: Chapman & Hall, 1995: 340.
- [27] Blackburn T H, Lund B A, Krom M D. C- and N-mineralization in the sediments of earthen marine fish ponds [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1983, 44: 221-227.
- [28] 林年丰, 李昌静, 钟佐桑, 等. 环境水文地质学[M]. 北京: 地质出版社, 1990.
- [29] 任翱, 史家梁. 应用微生物技术改善育蟹池水质的实验研究[J]. 农村生态环境, 2001, 17: 48-51.

## Bioremediation of polluted aquaculture sediment by immobilized microorganisms: an *in situ* enclosure study

ZHENG Zhong-ming<sup>1</sup>, LU Kai-hong<sup>1</sup>, CAI Hui-feng<sup>2</sup>,

WAN Yang-cai<sup>3</sup>, JIN Chun-hua<sup>1</sup>, NING Xiu-ren<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Service Station of Fisheries Technology in Yinzhou District, Ningbo 315100, China;

3. Institute of Ocean and Fisheries of Ningbo, Ningbo 315110, China;

4. The Second Institute of Oceanography of State Oceanic Administration, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** Bioremediation of polluted aquaculture sediment by immobilized and free microorganisms (FR-M) was studied in pond enclosures by measuring multiple water qualities of overlying water, total organic carbon (TOC) of sediment, value of bioremediation of sediment (G-value), heterotrophic bacteria and anti-sulfuration bacteria. Immobilized microorganisms included microorganisms immobilized by fibrous net active carbon (FC-M), biological active carbon (BC-M), zeolite (ZE-M) or diatomite (DI-M). The results were as follows: immobilized microorganisms indirectly impacted water qualities of overlying water in experimental enclosures. Concentrations of nitrate of overlying water in ZE-M, DI-M and FC-M were significantly higher than those in control enclosures during final experimental period ( $P < 0.05$ ). Chemical oxygen demands (COD) of overlying water in BC-M and ZE-M were significantly lower than those in FR-M and Control ( $P < 0.05$ ), indicating that immobilized microorganisms effectively remediated polluted materials in bottom water in experimental enclosures; FC-M, DI-M and ZE-M degraded sediment organic material more effectively compared to FR-M and Control. Effects of immobilized microorganisms on bioremediation value of sediment (G-value) were apparent. G-values in BE-M, DI-M and ZE-M were significantly higher than those in FR-M and Control ( $P < 0.05$ ), which suggested that immobilized microorganisms accelerated bioremediation of polluted sediment in experimental enclosures. Immobilized microorganisms did not significantly affect the amount of heterotrophic bacteria ( $P > 0.05$ ), which probably could be explained by the reasons that many other factors influenced the community of microorganisms. Immobilized microorganisms changed the amount of anti-sulfuration bacteria significantly ( $P < 0.05$ ). Immobilized microorganisms (in particular in ZE-M and BC-M) more effectively reduced the amount of anti-sulfuration bacteria compared to Control and FR-M. All these results obtained in the present study showed that immobilized microorganisms could improve bioremediation of polluted aquaculture sediment significantly with best results in ZE-M and BC-M.

**Key words:** immobilized microorganism; free microorganism; bioremediation; pond aquaculture; polluted sediment