嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

人工濕地之銨氧化菌分布之研究

計畫類別：■個別型計畫　　□整合型計畫

計畫編號：CNBT-93-10

執行期間：93 年 1 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

計畫主持人：王姿文

共同主持人：

計畫參與人員：

執行單位：生物科技系

中華民國 94 年 2 月 26 日

人工溼地之銨氧化菌分佈之研究

摘　要

本研究主要探討添加農藥的人工溼地中的銨氧化菌之分布及變化，包括生態分布與數量變化，與在溼地中所扮演的角色。首先由 DNA 資料庫中，找出所有相關的銨氧化菌之 16S rRNA 的基因序列，再參考相關文獻，設計出適當的引子（primers）。在多次的聚合酵素連鎖反應（PCR）實驗中，設計的兩組 primer 並未得到明顯的結果，故乃改以 universal primer 進行 PCR，多次實驗後，僅於兩次獲得微弱的 DNA band，故仍需修正樣品 DNA 之抽取與 PCR 條件之設計，以獲得較佳的結果。

此外，亦直接配置含 tryptone，yeast extract 與 glucose 的 TYG 培養基及 Coliform agar，篩選可培養之菌種，目前已得到約 15 種菌種，將進一步培養與鑑定，分析這些菌株之特性與是否屬於銨氧化菌。

關鍵詞：人工溼地、銨氧化菌、聚合酵素連鎖反應（PCR）

一、前言

溼地具有維護生態棲息地[1]、保護自然資源、防洪、保護海岸、蓄洪抗旱、調節氣候和淨水的功能[2]，所以自然溼地為自然生態系統的一個重要環節。人工溼地系統(constructed wetland system)是將生態工程技術運用於水或廢水管理及處理上的一種自然淨化程序，包含兩種類型[3]，一為自由表面流動式濕地(FWS)，另一為表面下流動式濕地(SSF)操作上無需曝氣、攪拌、加壓等人為動力輸入，亦不需加入化學藥劑、介質單體等人造物質。同時，人工溼地亦可提供生態保育[4、5、6]、土地復育、自然景觀等多重功能，且當達到使用年限後土地亦可再行利用，因此為一種省能源、低成本、無二次污染[7、8]、操作維護簡單、不破壞生態的綠色環保技術。

人工溼地具有天然溼地淨水及生態保育的功能，數年來，本校「人工溼地研究團隊」所建立的人工溼地，包括二仁溪人工溼地、養殖魚類與蝦類的人工溼地、處理校園污水的人工溼地，及處理生活污水之人工溼地等，對於進流廢污水的處理效果均相當不錯，包括氮、磷、有機物、微生物等，都有一定的去除率。溼地去除這些物質的過程中，微生物所扮演的角色相當重要，通常，去除率會隨著季節氣候、種植的水生植物種類、或進流水之水質而有所變化，故計劃進一步探討不同人工溼地中的微生物社會結構，由於溼地中微生物的種類相當多，故本計劃首先針對去除銨氮的銨氧化菌做探討，建立銨氧化菌的社會結構，了解其生態分布，與在溼地中所扮演的角色。

二、實驗設備及方法

1. 人工溼地系統：

本研究所採用的人工溼地系統的設計為由一個進流水儲存桶以並聯方式，分別接三個表面下流動式(subsurface flow，SSF)及三個自由表面流動式(free water surface，FWS)溼地，系統配置及流程請見圖 1。每個溼地系統規格為長 0.67m、寬 0.48m、深

0.32m。SSF 溼地填滿礫石，孔隙率約為 45%分別種植香蒲、蘆葦及不種植任何植物的空白對照組；FWS 溼地則底部覆土約 18cm，分別種植香蒲、蘆葦及不種植任何植物的空白對照組，並於溼地中放入隔板使水流成 S 型流動。

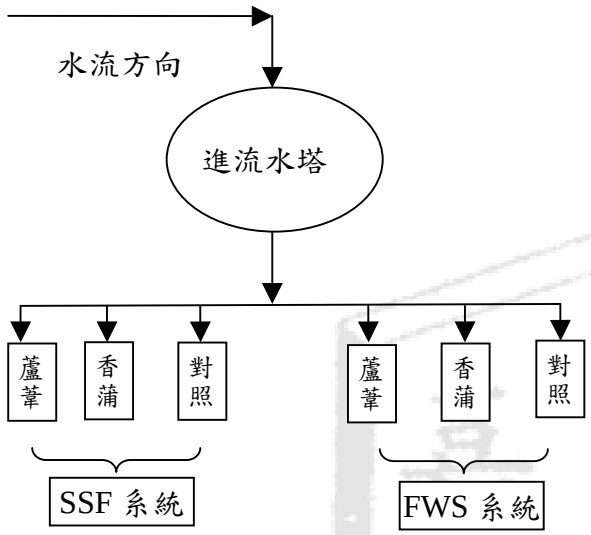

圖 1 人工溼地系統圖

2. 採樣與分析

實驗所採的樣品包括土壤及石頭表面之部分，樣品離心後以 glassbean 與 phenol，chromoform 將細胞打破，抽出 total DNA 後進行 PCR 反應。

另外，亦採各系統之水樣，土壤及石頭表面，將其系列十倍稀釋塗抹於 TYG 及 Coliform agar 培養基上，培養一～三天觀察紀錄菌相及數目，並將不同的菌種分離出來，進一步鑑定與分析。

三、結果及討論

1. PCR 的結果與改進

在多次的聚合酵素連鎖反應（PCR）實驗中，設計的兩組 primer 並未得到明顯的結果，故乃改以 universal primer 進行 PCR，多次實驗後，僅於兩次獲得微弱的 DNA band，故仍需修正樣品 DNA 之抽取與 PCR 條件之設計，以獲得較佳的結果。

2. TYG 培養基培養的結果

所採的樣本經系列十倍稀釋後，塗抹於 TYG 及 Coliform agar 培養基上，經過一～三天培養後，發現有多種不同型態的菌株，將這些菌株逐一分離出來，得到 15 株，正進行各項特性的分析。

四、結論

人工溼地，能有效的處理農藥，在處理的過程中，能生長於系統中菌多為抗農藥或耐農藥之菌種，本研究顯示在不同的溼地系統中有許多不同的菌種均具抗農藥之能力，種植植物之系統對微生物的生長亦有幫助，除了提供溫度之緩衝外，也可提供微生物之附著，或其他生長因子。未來，將分離出的這些菌種，進行特性分析外，將再探討其抗或耐農藥之機制與相關之基因。

參考文獻

1. Knight,R.L., “Wildlife Habitat and Public Use Benefits of Treatment Wetlands” *Wat. Sci. Tech*,Vol.35, No.5,pp. 35-43(1997).
2. Andrew Wood, “Constructed Wetlands in Water Pollution Control；Fundamentals to Their Understanding”, Water Science & Technology, Vol.32, No.3, pp21-29(1995).
3. Metcalf＆Eddy Ch13 Natural treatment system. In Wastewater Engineering（3ed）pp. 927-1061. Mcgraw-Hill, Inc. New

York(1991).
4. Brix, H., “Do Macrophytes Play a Role in Constructed treatment Wetlands”, Wat. Sci. Tech., 35(5), 11-17, (1997).
5. Knight, R.-L., “Wildlife Habitat and Public Use Benefits of Treatment Wetlands”, Wat. Sci. Tech., 35(5), 35-43,(1997).
6. Worall, P., Peberdy, K.J. and Millett, M.C. “Constructed wetlands and natural conservation” Wat. Sci. Tech. Vol. 35, No. 5, pp. 205-213. （1997）.
7. Bavor,H.J.,Roser,D.J.and Adcock,P.W. Challenges for the development of advanced wetlands technology.Wat.Sci.Tech.Vol.32, No.3.pp.13-20(1995).
8. Metcalf & Eddy Chap 13 Natural treatment system. In Wastewater Engineering(Third Edition). pp.927-1016.Mcgraw-Hill,Inc.New York(1991).