

陈嗣威, 郑海粟, 张晟曼, 韩政, 邵留, 何文辉, 高阳, 王兰刚, 何培民. 不同植物组合对模拟污水厂尾水的净化效果及对根系微生物群落的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28 (2): 387-393

Chen SW, Zheng HS, Zhang SM, Han Z, Shao L, He WH, Gao Y, Wang LG, He PM. Effects of different plant combinations on purification effect of simulated wastewater treatment plant tail water and root microbial community [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2022, 28 (2): 387-393

不同植物组合对模拟污水厂尾水的净化效果及对根系微生物群落的影响

陈嗣威^{1,2} 郑海粟^{1,2} 张晟曼^{1,2} 韩政^{1,2} 邵留^{1,2} 何文辉^{1,3} 高阳³ 王兰刚³
何培民^{1,2}✉

¹上海海洋大学海洋生态与环境学院 上海 201306

²上海海洋大学水域环境生态上海高校工程研究中心 上海 201306

³上海太和水环境科技发展有限公司 上海 200433

摘 要 为阐明不同水生植物配置对污水厂尾水净化效果的影响, 选取常用于生态修复中的3种挺水植物——西伯利亚鸢尾 (*Iris sibirica*)、石菖蒲 (*Acorus tatarinowii*) 和再力花 (*Thalia dealbata*), 并将这3种挺水植物分别与粉绿狐尾藻 (*Myriophyllum verticillatum*) 进行配置, 比较3种不同植物配置系统对污水厂尾水营养物的去除效果. 结果显示, 经过40 d的试验, 狐尾藻+西伯利亚鸢尾组合对尾水中总氮、总磷和硝态氮的去除效果最佳, 最高去除率分别达94.7%、96.2%和98.9%; 狐尾藻+西伯利亚鸢尾组合的生物量增长率也是3个试验组当中最高的, 达66.4%. 高通量测序表明, 3种植物组合根系微生物表现出了明显群落差异; 其中, 狐尾藻+西伯利亚鸢尾组合在根系微生物方面拥有最高的ACE丰富度指数; 反硝化菌属和脱磷菌属相对丰度最高的植物组合是狐尾藻+石菖蒲组合, 分别达到了14.19%和9.67%. 上述结果表明植物的生长状况和根系脱氮除磷相关菌属的相对丰度均会对系统的净化能力产生影响, 但植物的生长吸收是污水中营养盐得以去除的主要途径. (图4 表5 参38)

关键词 模拟人工湿地; 脱氮除磷; 高通量测序; 根系微生物群落

Effects of different plant combinations on purification effect of simulated wastewater treatment plant tail water and root microbial community

CHEN Siwei^{1,2}, ZHENG Haisu^{1,2}, ZHANG Shengman^{1,2}, HAN Zheng^{1,2}, SHAO Liu^{1,2}, HE Wenhui^{1,3}, GAO Yang³, WANG Langang³ & HE Peimin^{1,2}✉

¹ College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

² Water Environment & Ecology Engineering Research Center of Shanghai Institution of Higher Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

³ Shanghai Taihe Water Environment Technology Development Co., Ltd., Shanghai 200433, China

Abstract To elucidate the influence of different aquatic plant configurations on the purification effect of wastewater treatment plant tail water, an experiment was performed to evaluate the influence of different emergent aquatic plants (*Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, and *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*) compared to the plant-free control. After 40 days, the best removal of total nitrogen, total phosphorus, and nitrate nitrogen was found using *M. verticillatum* + *I. sibirica*, with removal rates of 94.7%, 96.2%, and 98.9%, respectively. The highest biomass growth rate (66.4%) was also found using this plant combination. High-throughput sequencing results showed that the root microbial community structure was different among different plant combinations. The combination of *M. verticillatum* and *I. sibirica* had the highest ACE richness index in terms of root microorganisms. The highest relative abundances of denitrifying bacteria and dephosphorizing bacteria were found using *M. verticillatum* + *A. tatarinowii* (14.19% and 9.67%, respectively). Therefore, both the growth status of plants and the relative abundance of root bacteria are responsible for nitrogen and phosphorus removal from wastewater. Furthermore, growth and absorption by plants are the main ways to remove nutrients during sewage treatment.

Keywords simulated constructed wetland; nitrogen and phosphorus removal; high-throughput sequencing; root microbial community

收稿日期 Received: 2020-11-13 接受日期 Accepted: 2021-01-31

“十三五”水体污染控制与治理科技重大专项 (2017ZX07205)、河道水环境质量提升技术集成研究与示范项目 (19DZ1204500) 和国家自然科学基金项目 (31502172) 资助 Supported by the National Water Pollution Control and Governance of Science and Technology Major Special Fund of China (2017ZX07205), the Technology and Demonstration Project of River Water Environment Quality Improvement and Water Ecological Health Maintenance (19DZ1204500), and the National Natural Science Foundation of China (31502172)

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: pmhe@shou.edu.cn)

随着城镇化的快速发展,我国污水排放总量日趋升高,污水处理压力逐渐增大。虽然多数污水处理厂的出水水质能达到排放标准,但与受纳水体(接纳排放废水或经处理废水的河流或湖泊等其他水体)水质相比仍存在不小的差距。此外,由于我国城镇污水普遍存在碳氮比偏低、有机碳源不足的特点,导致污水厂污水脱氮效率较低^[1-2],污水厂尾水中氮含量尤其是硝酸盐氮含量偏高^[3],这也是污水厂尾水回用受限的主要原因。而污水厂尾水直排受纳水体又容易导致富营养化,带来严重的环境问题^[4]。因此,如何合理并有效地对污水处理厂尾水进行进一步的脱氮除磷处理成为了亟须解决的问题。

目前,许多方法都已经用作污水厂尾水处理,如过滤法、吸附法、生物反应器和生物滤池法等^[5]。其中人工湿地(CWs)作为高效、低能耗新型生态污水处理工艺,在我国各地区的污水尾水处理中应用逐渐广泛^[6-10]。在人工湿地的废水处理过程中,影响氮的去除的过程是多种多样的,包括NH₃挥发、硝化、反硝化、植物和微生物吸收利用以及基质吸附等等^[6]。植物配置是人工湿地系统中的核心部分,在净化污水过程中起着十分重要的作用^[7-8]。植物不但可以吸收、降解水体中的污染物质^[9],还能形成景观要素,美化环境^[10]。此外,植物根系也是微生物的主要附着载体,通过根系泌氧、分泌物质等作用可改变基质中氧和有机物质的含量,进一步对根系微生物的群落结构与活性产生影响^[11]。植被的类型是直接影响人工湿地性能的关键因素,不同植物对水体营养盐去除效果不同^[12]。如赵丹惠等通过研究得出,湿地植物的生长状况和净化能力受污染物种类、浓度、处理时间、水深和地理位置等诸多因素的影响^[13]。因此,选择不同组合的水生植物处理污水厂尾水会存在较大的差异。现有的相关研究主要针对单一水生植物对污水厂尾水的净化效果比较^[14-16],对于不同植物组合对污水厂尾水营养盐的去除能力研究则较少。

因此,为了进一步优化人工湿地植物配置以更好地去除污水厂尾水中的氮磷,我们选取3种水生态修复工程上常用的挺水植物——西伯利亚鸢尾(*Iris sibirica*)、石菖蒲(*Acorus tatarinowii*)和再力花(*Thalia dealbata*),并分别将其与沉水植物粉绿狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum*)搭配成植物组合,研究3种不同植物组合模式对模拟高氮尾水中总氮、总磷、氨氮和硝态氮的去除效果,以期优选出净化效果最佳的植物组合。此外,进一步对3种植物组合的生长情况及根部微生物群落结构进行分析,初步探讨不同植物配置净化能力存在差异的内在机理。本研究旨在为针对高氮污水厂尾水处理的人工湿地构建提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 供试植物与试验设计

所用水生植物购置于江苏省沭阳县盛悦花卉苗木园艺场。试验前选取生长状况良好的各类植物经清洗后暂养1周,再用于试验。模拟污水厂高氮尾水根据前期对锦溪污水厂尾水氮磷浓度的监测模拟配置而成,即采用自来水加各类营养盐(K₂HPO₄·3H₂O, NH₄Cl, KNO₃等)人工配置而成, pH为7.31-8.65,水温为26.7 ± 0.5 °C,采用自然光照,未采用供氧装置。模拟尾水水质如表1所示。

培养容器为57.5 cm × 39.5 cm × 24.5 cm塑料箱,底层铺设2.5 cm厚度的石英砂作为基质,处理水体体积为30 L。植物在经过预培养后,尽量选取长势相对良好、大小一致的植株,清洗干净,栽植于供试水体中。

根据植物不同配置,设置了4个试验组:T1,狐尾藻+西伯利亚鸢尾;T2,狐尾藻+石菖蒲;T3,狐尾藻+再力花;CK,空白对照,只添加配置污水和铺设石英砂。不同试验组初始生物量配置情况见表2。每个试验组均设置3个平行,共12个试验单元。每个培养容器所种挺水+沉水植物生物量尽量保持相同。

1.2 指标检测与分析

试验共持续40 d,其间共采样14次,在第0、1、2、3、4、6、8、10、15、20、25、30、35、40天采集水样,每次采集水样约100 mL,试验期间用纯水补充蒸发和采样所消耗的水分,以保持容器中的水位不变。常规检测的理化指标包括总氮、总磷、氨氮和硝态氮。其中,总氮采用碱性过硫酸钾-紫外分光光度计法测定,总磷采用钼酸铵分光光度法测定,氨氮采用纳氏试剂光度法测定,硝态氮采用紫外分光光度法测定。

于试验开始和结束时,即第0和40天分别测定各类植物的生物量,具体方法为将水生植物取出后用吸水纸吸干水分再称重。

1.3 根系微生物的采集与处理

在第40天水样采集后,在每组中随机截取植物根部5 g,用无菌水进行简单的清洗,将植物根部放入无菌管中,加入10 mL 0.1 mol/L磷酸钾缓冲液(pH = 8.0),震荡洗涤,该步骤重复2次。将洗涤后的根部取出,放入装有20 mL磷酸盐缓冲液的50 mL小瓶中,超声波洗涤10 min(参数:160 W, 30 s/30 s)。将3次洗涤液混合,过0.22 μm 滤膜(或13 000 g离心10 min,收集沉淀),过滤后的滤膜用液氮速冻,转移至-80 °C冰箱保存,等待后续DNA提取。

表1 模拟污水厂尾水水质 (p/mg L⁻¹)

Table 1 Simulated tail water quality of the sewage treatment plant (p/mg L⁻¹)

水质指标 Water quality index	总氮 Total nitrogen	总磷 Total phosphorus	氨氮 Ammonia nitrogen	硝态氮 Nitrate nitrogen
浓度 Concentration	10.03-10.23	0.70-0.78	0.75-0.98	8.67-9.09

表2 3种水生植物组合试验前后的生物量变化情况 (m/g)

Table 2 Biomass changes of three aquatic plant combinations before and after the experiment (m/g)

组别 Group	试验开始前 Before the experiment			试验结束时 At the end of the experiment		
	狐尾藻 <i>Myriophyllum verticillatum</i>	挺水植物 Emergent aquatic plant	总质量 Total mass	狐尾藻 <i>M. verticillatum</i>	挺水植物 Emergent aquatic plant	总质量 Total mass
T1	204.3 ± 2.5	53.3 ± 1.7	257.7 ± 3.1	314.3 ± 30.6	114.3 ± 10.0	428.7 ± 29.0
T2	205.0 ± 0	47.0 ± 2.9	252.0 ± 2.9	294.0 ± 2.4	76.0 ± 3.6	370.0 ± 2.2
T3	202.0 ± 2.2	56.7 ± 1.9	258.7 ± 2.4	233.3 ± 12.5	102.0 ± 20	335.3 ± 16.1

T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花。

T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *T. dealbata*。

1.4 高通量测序分析方法

通过FastDNA Spin Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals 美国) 提取根系样品中微生物DNA. 再使用通用细菌引物16S rRNA的引物序列 (F和R) 对提取的DNA进行PCR扩增. PCR 扩增条件: 95 °C (3 min) 初始变性, 然后进行25个循环, 95 °C变性30 s, 50 °C 退火30 s, 72 °C 延伸45 s, 最后10 min延伸至72 °C. 将所有序列读数聚类到操作分类单位 (operational taxonomic unit, OTU) (相似性阈值为97%). 高通量测序服务由上海美吉生物平台 (上海, 中国) 提供.

1.5 数据统计与分析

水质数据采用EXCEL 2010进行统计, 使用Origin 2019作图. 用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行差异性分析, 检验数据间的差异性. 用Pearson 检验方法进行相关性分析, 检验数据间的相关水平. 该数据分析用SPSS软件进行, 并且在 $P < 0.05$ 水平时被认为是显著的.

2 结果与分析

2.1 不同植物组合对尾水中营养物的去除效果

3种水生植物组合对富营养化水体中营养盐的去除情况如图1所示, 不同植物组合均表现出较高的营养盐去除效果.

如图1A所示, 3种植物组合的水体中的总氮均有较大幅度的下降, 其中T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组合的处理效果最好, 在第30天总氮浓度下降到了1.07 mg/L, 达到了地表水Ⅳ类水标准 (1.5 mg/L), 试验后期由于水体总氮浓度较低而趋于平缓, 最终去除率达到了94.7%, 其次是T2 (狐尾藻+石菖蒲) 组合, 最终达到了82.8%的去除率, 去除效果相对较差的T3 (狐尾藻+再力花) 组合去除率为72.1%; CK组由于未种植任何水生植物, 总氮基本保持稳定.

图1B是3组试验组对尾水中总磷的去除情况, 3组植物组合均表现出较强的总磷去除能力, 其中T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 对于总磷的去除效率相较于其他两组较快, 前15天总磷浓度下降较为明显, 后期由于浓度降低, 下降趋势趋于平缓. T2 (狐尾藻+石菖蒲)、T3 (狐尾藻+再力花) 试验组前期 (0-

15 d) 总磷去除效率不如T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组合, 但3组总磷浓度都在第25天下降到了最低, 后续由于植物的生长更新出现一定的反弹情况, 最终3种植物组合对于总磷的去除率为T1 (96.2%) > T2 (96.1%) > T3 (87.1%).

如图1C所示, 3组植物组合前期 (0-6 d) 对于氨氮的去除趋势大致相同, 都呈现出快速降低的趋势, T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组在第3天对于氨氮的去除率就达到了78.7%, 后面由于水体中残留氨氮浓度降低, 去除速率有所下降. T2 (狐尾藻+石菖蒲)、T3 (狐尾藻+再力花) 在第6天的浓度也达到了较低的水平, 总体来说, 3种植物组合对氨氮的去除效果差异不大, 后期的氨氮浓度基本维持稳定, 没有再出现下降的情况, 并且有一定程度的反弹情况. 3组最终的氨氮去除率为T2 (86.6%) > T3 (81.4%) > T1 (76.3%).

如图1D所示, 3种植物组合硝态氮浓度变化趋势与总氮的变化趋势基本相同, 在前期 (0-5 d) 对于硝态氮的去除效果并不明显, 甚至出现一定程度的上升, 后续时间才出现了下降的趋势, 且基本都在第21天下降趋势开始趋于平缓, 但相对来说T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组的去除效率一直略高于其余两组, 比较40 d的处理效果可以看出, 对于硝态氮的去除效率, T1 (98.9%) > T2 (84.6%) > T3 (72.4%).

综上所述, T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组对尾水中总氮、总磷和硝态氮的去除率均优于T2 (狐尾藻+石菖蒲) 和T3 (狐尾藻+再力花) 组. 其中T1组与T2组仅在氨氮去除率上存在显著性差异 ($P < 0.05$); T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 与T3 (狐尾藻+再力花) 在总氮、总磷、氨氮和硝酸盐氮的去除率方面均存在显著性差异 ($P < 0.05$); T2组与T3组在总磷和氨氮去除率方面存在显著性差异 ($P < 0.05$).

2.2 水生植物的生物量变化情况

由表2可知, 经过40 d的试验后, 不同植物组合生物量 (鲜重) 的增长情况有较大的差异 ($P < 0.05$), 其中T1 (狐尾藻+西伯利亚鸢尾) 组在40 d试验周期结束时全部植物鲜重由257.7 g左右增长到了428.7 g左右, 增长率为66.4%, 明显高于T2组 (46.8%) 和T3组 (29.6%).

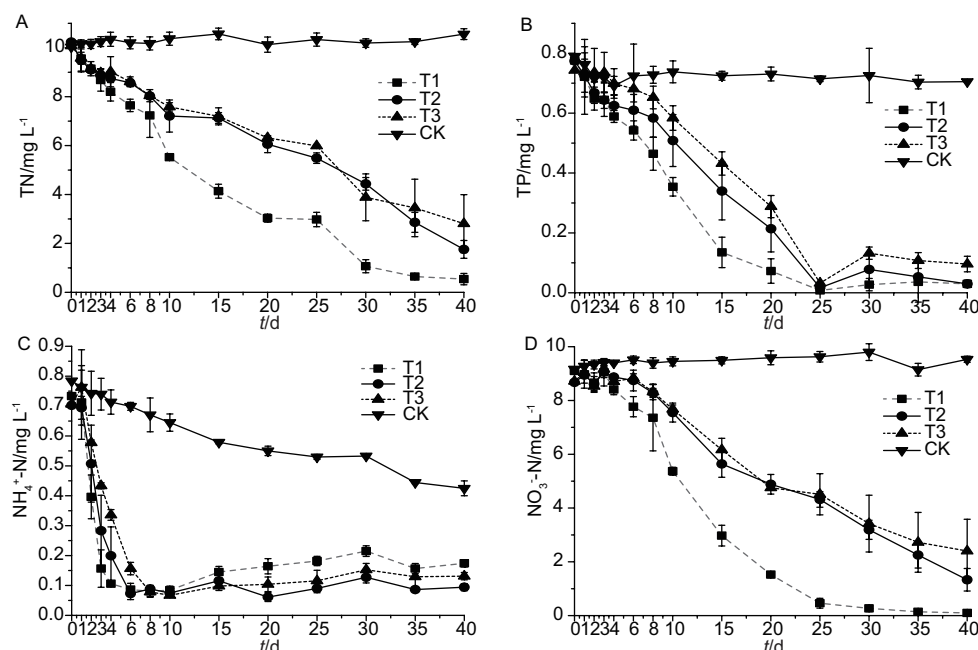


图1 不同植物组合对尾水营养盐的去除效果. TN: 总氮; TP: 总磷. T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花; CK: 空白对照.
Fig. 1 Effects of different plant combinations on nutrient removal from tail water. TN: Total nirtogen; TP: Total phosphorus. T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*, CK: Control.

结合表3结果可以分析得出,植物的生物量增长率和总氮、总磷和硝态氮的去除率呈现出显著正相关关系,与氨氮未表现出显著性相关。

2.3 植物根系微生物群落

2.3.1 微生物序列和多样性分析 不同植物配置组根系微生物多样性指数和丰富度指数如表4所示。所有试验组的根系微生物测序中样本文库覆盖率(coverage)均大于0.98,说明了测序结果可以很好地代表样本的真实情况。在进行数据处理之前对各组数据按最小样本序列数抽平;试验结果表明:Sobs指数即T1、T2和T3试验组检测到的OTU数目分别为1 284、1 189和1 223,ACE(用来估计群落中OTU数目的指数)分别为1 663.85、1 607.16和1 588.49,表明西伯利亚鸢尾+粉绿狐尾藻的配置种植改善了根系微生物的丰富度。T1、T2和T3组的Shannon指数分别为5.03、4.65和5.15, Simpson指数为0.028 9、0.043 6和0.018 6,表明T2(狐尾藻+石菖蒲)组的根系微生物多样性指数偏低。

2.3.2 微生物门、纲分类水平组成差异分析 图2展示了不同植物组合根系微生物独有和共有的OTU数目。3组中共有的OTU数目为1 202,分别占到T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)、T2(狐尾藻+石菖蒲)和T3(狐尾藻+再力花)组的62.3%、69.4%和69.5%,这说明不同植物配置的根系微生物种群呈现出明显的差异。

不同植物组合中各组微生物门分类水平组成如图3所示,将微生物检测丰度占比大于1%的菌门作为主要菌门,小于1%的归为其他类分作1组。共发现8种主要菌门,分别为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和疣微菌门(Verrucomicrobia)。其中5种优势菌门为变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、浮霉菌门和放线菌门。变形菌门为最主要的菌门,T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)组、T2(狐尾藻+石菖蒲)组和T3(狐尾藻+再力花)组的相对丰度为61.5%、63.4%和60.8%,其次为拟杆菌门,分别为17.2%、24.6%和18.7%,蓝细菌门分别为9.1%、2.7%和4.7%,浮霉菌门分别为4.1%、3.2%和7.4%,放线菌门分别为2.4%、2.1%和4.1%。3种植物组合的变形菌门的相对丰度都较高。

各试验组变形菌的纲水平组成如图4所示。若将微生物丰度>1%的菌纲作为主要的菌纲,共发现8个菌纲,分别为γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)、拟杆菌纲(Bacteroidia)、

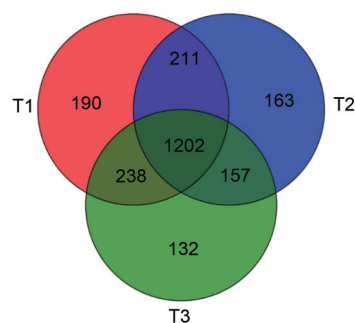


图2 不同植物组合根系微生物独有和共有的OTU数量Venn图。T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花。

Fig. 2 Venn chart of unique and common OTU numbers of root microorganisms in different plant combinations. T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*.

α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)、产氧光细菌纲(Oxyphotobacteria)、浮霉菌纲(Planctomycetacia)、放线菌纲(Actinobacteria)、厌氧绳菌纲(Anaerolineae)和疣微菌纲(Verrucomicrobiae); γ-变形菌纲是3组占比最高的菌纲,相对丰度T2(45.0%)>T1(44.8%)>T3(35.1%)。

2.3.3 功能微生物差异分析 有研究表明:芽孢杆菌属(*Bacillus*)、生丝微菌属(*Hyphomicrobium*)、微球菌属(*Micrococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)和弧菌(*Vibrio*)属等都是环境中较为常见的具有反硝化功能的菌属,能够参与氮的转化^[17-18]。如图5所示,本研究在不同植物组合中检测出相对丰度大于0.3%的4种反硝化菌属,分别为不动杆菌属、根瘤菌属、假单胞菌属和生丝微菌属。不动杆菌属相对丰度为T2组(6.13%)>T3(1.54%)>T1(1.10%),根瘤菌属丰度为T2(4.19%)>T1(2.97%)>T3(1.84%),假单胞菌属丰度为T1(7.48%)>T2(3.54%)>T3(3.41),生丝微菌属丰度为T2(0.33%)>T3(0.23%)>T1(0.15%)。

3 讨论

3.1 不同植物配置对尾水营养盐去除效果的影响

对于污水厂尾水的处理,营养盐的去除是其最为重要的目标之一。本研究中T1组(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)的去除效

表3 生物量增长率和营养盐去除率的Pearson相关性分析

Table 3 Pearson correlation analysis of biomass growth rate and nutrient removal rate

指标 Index	总氮去除率 Removal rate of total nitrogen	总磷去除率 Removal rate of total phosphorus	硝态氮去除率 Removal rate of nitrate nitrogen	氨氮去除率 Removal rate of ammonia nitrogen
生物量增长率 Biomass growth rate	0.919**	0.795**	0.901**	-0.445

*表示在0.05水平(双侧)显著相关,**表示在0.01水平(双侧)上显著相关。

* indicates significant correlation at the 0.05 level (bilateral), and ** indicates significant correlation at the 0.01 level (bilateral).

表4 不同植物组合根系微生物多样性和丰富度

Table 4 Microbial diversity and abundance of three aquatic plant combinations

组别 Group	测序数量 Sequencing quantity	多样性指数 Diversity index		丰富度指数 Richness index		覆盖率 Coverage
		Shannon	Simpson	Sobs	ACE	
T1	35355	5.03	0.0289	1284	1663.85	0.987
T2	67456	4.65	0.0436	1189	1607.16	0.987
T3	44277	5.15	0.0186	1223	1588.49	0.987

T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花。

T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*.

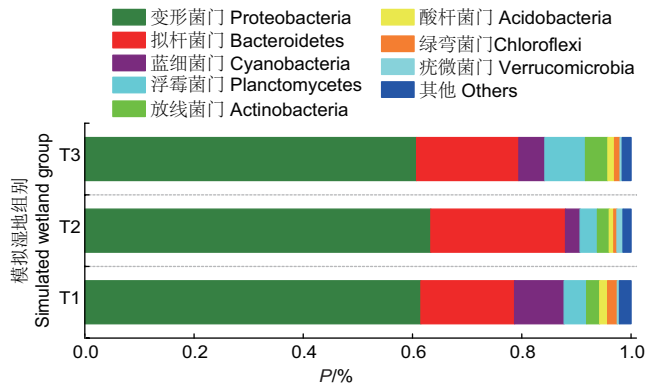


图3 不同植物组合根系微生物门分类水平上细菌菌落组成. T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花.

Fig. 3 Bacterial colony composition at the phylum level of root microflora in different plant combinations. T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*.

果较好,可能是由于以下几种原因:(1)西伯利亚鸢尾的污染物净化能力较强^[19-21].西伯利亚鸢尾是一种四季常绿的湿地植物,近年来常被应用于人工湿地工程中^[19].Liu研究了植物特征与植物的水处理性能之间的关系后发现,植物系数(植物实际的蒸散量与对照植物的蒸散量的比值)与植物对污染水体的去除效率之间存在负相关的关系,且该研究中种植西伯利亚鸢尾的湿地的植物系数在8个试验组当中是最小的,同时净化效果高于平均值^[21].Kumwimba也在研究18种植物对于生活污水中的养分去除能力之后发现,西伯利亚鸢尾和香蒲对氮和磷的去除效率最高^[20].这在一定程度上解释和证实了研究结果.(2)狐尾藻和西伯利亚鸢尾两种植物的组合相性更好,促进了彼此的生长.曾小梅通过研究发现,混种水生植物可以造成植物的竞争性增长,导致根系变得更加发达,吸收能力加强^[22].朱思宇发现西伯利亚鸢尾与沉水植物的组合对于水质净化的效果明显好于芦苇与沉水植物的处理效果^[23].本研究中的生物量数据也表明,狐尾藻和西伯利亚鸢尾两种植物的组合的生物量增长量显著高于其余两组.戴小梅通过研究发现,常绿水生鸢尾的植株高度和鲜重的增长均明显高于石菖蒲,对不同浓度的总氮和总磷的去除率也均优于石菖蒲^[24],与本研究结果类似.(3)根系微生物丰富度较高强化了微生物对氮磷的去除.潘傲研究发现微生物丰富度的改善有利于微生物对氮的去除作用^[25].由表4可以看出狐尾藻和西伯利亚鸢尾的种植改善了微生物的丰富度.植物根际通过提供微生物生长的根根部表面,通过根系分泌物提供碳化合物的源以及通过释放系泌氧形成的微生物环境来刺激微生物群落的密度和活性^[8].有研究表明,植物根基微生物的数量受植物种类和植物生长状态等因素的综合影响^[26].西伯利亚鸢尾侧根呈绳索状,有皱缩的横纹^[27].有利于微生物的附着生长.植物生长状态方面,T1组狐尾藻和西伯利亚鸢尾的生物量增长率都高于其余两组,拥有更好的生长状态,则根系的活动也更为活跃,为微生物提供了更好的生存环境.还有研究发现,在高养分情况下(总氮 ≥ 10 mg/L),西伯利亚鸢尾的根系活力很强,且微生物群落的密度和活性非常出色^[28].这很好地佐证了我们的结果.

3.2 不同植物配置对根系微生物群落结构的影响

3组中共有的OTU数目占到T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)、T2(狐尾藻+石菖蒲)和T3(狐尾藻+再力花)组的62.3%、69.4%和69.5%,说明根系微生物的种群出现了明显的变化,这是因为不同植物根系形成了不同的微生物生长环境,使得微生物群落出现了差异^[29].旭雷等研究了美人蕉、梭鱼草和再力

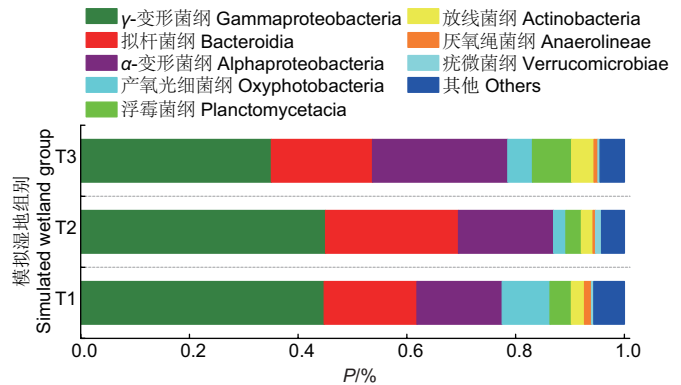


图4 不同植物组合根系微生物纲分类水平上细菌菌落组成. T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花.

Fig. 4 Bacterial colony composition at the class level of root microflora in different plant combinations. T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*.

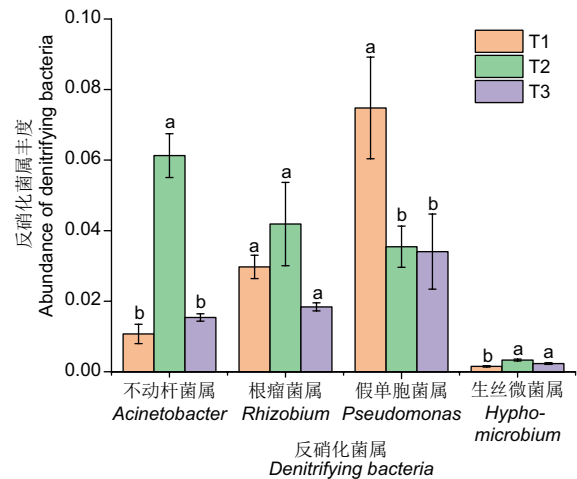


图5 不同植物组合中除氮相关功能属丰度. T1: 狐尾藻+西伯利亚鸢尾; T2: 狐尾藻+石菖蒲; T3: 狐尾藻+再力花. 不同小写字母表示不同处理组之间差异显著.

Fig. 5 Abundance of nitrogen removal related functional genera in different plant combinations. T1: *Myriophyllum verticillatum* + *Iris sibirica*, T2: *M. verticillatum* + *Acorus tatarinowii*, T3: *M. verticillatum* + *Thalia dealbata*.

花3种植物根际的微生物,发现他们的种类和数量存在差异^[30].门分类水平上,3个试验组的主要组成门类类似.张悦等在进行水生植物根系微生物时发现,随着试验时间的增加(15-25 d),变形菌门、浮霉菌门、厚壁菌门和拟杆菌门在细菌门水平的群落结构中所占比例逐渐增加^[31].这与本试验的结果类似.还有研究发现,变形菌门在除氮除磷方面起着至关重要的作用^[32].浮霉菌门中的一些菌属能在厌氧条件下利用亚硝酸盐氧化铵离子生成氮气,于是又被称为厌氧氨氧化菌^[24].在纲分类水平上,研究发现 γ -变形菌纲为在反硝化作用中起到关键作用的菌纲^[33-34]. γ -变形菌纲是3个试验组最主要的菌纲,相对丰度T2(45.0%)>T1(44.8%)>T3(35.1%).这也许是T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)和T2(狐尾藻+石菖蒲)组对硝态氮的去除率明显高于T3(狐尾藻+再力花)组的原因.

3.3 营养盐的去除与相关功能菌属丰度的关系

本研究中4种丰度超0.3%的反硝化菌属总丰度总和为T2(14.19%)>T1(12.22%)>T3(6.58%).可以看出T2(狐尾藻+石菖蒲)组合的植物根系环境更适合反硝化微生物生存,反硝化微生物菌属相对丰度更高,但最终的表现仍为T1(狐尾藻

十西伯利亚鸢尾)组对于硝态氮的去除率更高, T2(狐尾藻+石菖蒲)其次, T3(狐尾藻+再力花)最差; 还有研究发现, γ -变形菌纲中的假单胞菌属和不动杆菌属细菌可以促进废水中磷的去除^[35-36]。假单胞菌属和不动杆菌属两种细菌的丰度为T2(9.67%)>T1(8.58%)>T3(4.95%), 3种植物组合对于总磷的去除率为T1(96.2%)>T2(96.1%)>T3(87.1%)。可以看出, 微生物在氮磷去除方面起到了相当的作用; 但在T1组和T2组之前出现了不匹配的情况, 原因可能是由于T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)组的植物组合的生物量增加率(66.4%)明显大于T2组的狐尾藻+石菖蒲组合(46.8%)。植物生长量情况为T1组增长率66.4%, 明显高于T2组(46.8%)和T3组(29.6%), 这与最后的氮磷去除效果相匹配。这一结果与现有的一些报道相一致。如有研究表明, 凤眼莲修复富营养化水体系统中, 植物吸收是系统总磷含量降低的最主要途径^[37]。同时还有研究发现, 水葫芦、香蒲吸收作用对水体总氮、总磷有较高的去除贡献率^[38]。陈双等同样通过试验得出, 污水中总氮去除途径主要是水生植物对营养盐氮素的吸收, 生物量高时吸收能力较强。还有研究表明, 在温度较高时, 水生植物的总生物量对氮磷的去除率有比较大的影响, 植物的生长繁殖对氮磷的去除贡献最大^[32]。由此可以认为, 相关功能菌属对于模拟湿地中的营养物的去除起到了一定的作用, 但最终, 植物本身的生长对营养盐的吸收才是水中营养盐得以去除的主要原因。

4 结论

(1) 本研究所设的不同植物组合均可有效去除尾水中的总氮、总磷、氨氮和硝态氮。对于T1(狐尾藻+西伯利亚鸢尾)、T2(狐尾藻+石菖蒲)、T3(狐尾藻+再力花)组, 总氮

的去除效果为T1(94.7%)>T2(82.8%)>T3(72.1%), 总磷的去除效果为T1(96.2%)>T2(96.1%)>T3(87.1%), 硝态氮去除效果为T1(96.2%)>T2(96.1%)>T3(87.1%), 氨氮的去除效果为T2(86.6%)>T3(81.4%)>T1(76.3%)。即种植了狐尾藻和西伯利亚鸢尾的模拟湿地对总氮、总磷和硝态氮的去除效果最好。

(2) T1组在40 d试验周期结束时生物量由257.7 g左右增长到了428.7 g左右, 增长率为66.4%, 明显高于T2组(46.8%)和T3组(29.6%)。狐尾藻和西伯利亚鸢尾在一起生长时生物量增长率最大。

(3) 不同植物组合的种植改善了根系微生物的丰富度和生物多样性, 不动杆菌属、根瘤菌属、假单胞菌属和生丝微菌属是模拟湿地中最主要的脱氮菌属, 脱氮菌属相对丰度最高的植物组合是狐尾藻+石菖蒲组合, 达到了14.19%; 不动杆菌属和假单胞菌属是最主要的脱磷菌属, 脱磷菌属相对丰度最高的植物组合是狐尾藻+石菖蒲组合, 达到了9.67%。根系脱氮除磷相关菌属之间是否存在氮磷去除强度之间的差异, 仍需进一步的研究。

(4) 植物的生长状况和根系脱氮除磷相关菌属的相对丰度均会对系统的净化能力产生影响, 但植物的生长吸收是污水中营养盐得以去除的主要因素。在不同的温度、光照等其他条件下, 是否会产生不同的影响, 仍需进一步的论证。

本研究通过分析 and 探讨4种水生植物组合成的3种不同的水生植物组合对模拟污水厂尾水的处理效果和根系微生物的影响, 可以为后续的生态修复, 尤其是针对污水厂尾水处理时的植物选择和搭配提供一定的指导, 也对后续尾水营养盐去除相关机理的深入研究具有一定的参考价值。

参考文献 [References]

- 杨乐. 污水厂节地方法初探与强化脱氮实验研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2016 [Yang L. Research on land-saving methods of wastewater treatment plants and experimental study on enhanced nitrogen removal technologies [D]. Shanghai: East China Normal University, 2016]
- 李德生, 范太兴, 申彦冰, 吴为中. 污水处理厂尾水的电化学脱氮技术[J]. 化工学报, 2013, 64 (3): 1084-1090 [Li DS, Fan TX, Shen YB, Wu WZ. Electrochemical technology for denitrification of tail water from wastewater treatment plant [J]. CIESC J, 2013, 64 (3): 1084-1090]
- 李瑶. 温度对树皮填料人工湿地反硝化和释碳的影响研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2017 [Li Y. Study on the effects of temperature on denitrification and carbon releasing in constructed wetland filled with bark [D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2017.]
- 乔煜琦. 藻菌系统处理高氮废水的机制研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2017 [Qiao YQ. Mechanism of algal bacteria in treating high nitrogen wastewater [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017]
- 张丹, 尤朝阳, 肖晓强, 刘志寅. 污水处理厂尾水深度处理技术的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (9): 5207-5209 [Zhang D, You ZY, Xiao XQ, Liu ZY. Research of advanced treatment technology of sewage treatment plant tail water [J]. J Anhui Agric Sci, 2011, 39 (9): 5207-5209]
- Vymazal J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands [J]. Sci Total Env, 2007, 380 (1): 48-65]
- 李峰平, 魏红阳, 马喆, 王超. 人工湿地植物的选择及植物净化污水作用研究进展[J]. 湿地科学, 2017, 15 (6): 849-854 [Li FP, Wei HY, Ma Z, Wang C. Research progress of selection of plants for constructed wetlands and effect of plants' purification on sewage [J]. Wetl Sci, 2017, 15 (6): 849-854]
- Tanner CC. Plants as ecosystem engineers in subsurface-flow treatment wetlands [J]. Water Sci Technol, 2001, 44 (11-12): 9-17
- 梁雪, 贺锋, 徐栋, 吴振斌. 人工湿地植物的功能与选择[J]. 水生态学杂志, 2012, 33 (1): 131-138 [Liang X, He F, Xu D, Wu ZB. Plant function and selection for constructed wetlands [J]. J Hydroecol, 2012, 33 (1): 131-138]
- 张斐斐, 黄林海, 吴海洋, 郭伟, 刘跃清, 王芳东, 熊春晖, 康智超. 人工湿地植物的选择与利用及存在的问题[J]. 江西科学, 2016, 34 (1): 32-40 [Zhang PP, Huang LH, Wu HY, Guo W, Liu YQ, Wang FD, Xiong CH, Kang ZC. Constructed wetland sewage technologies and their domestic application status [J]. Jiangxi Sci, 2016, 34 (1): 32-40]
- 易乃康, 彭开铭, 陆丽君, 黄翔峰, 刘佳. 人工湿地植物对脱氮微生物活性的影响机制研究进展[J]. 水处理技术, 2016, 42 (4): 12-16 [Yi NK, Peng KM, Lu LJ, Huang XF, Liu J. Research advances on the influence mechanism of wetland plants on microbial activity in nitrogen removal [J]. Technol Water Tre, 2016, 42 (4): 12-16]
- Sehar S, Sumera, Naeem S, Perveen I, Ali N, Ahmed S. A comparative study of macrophytes influence on wastewater treatment through subsurface flow hybrid constructed wetland [J]. Ecol Eng, 2015, 81: 62-69

- 13 赵丹慧, 李琦, 王清波, 邸雪颖, 蔡体久, 孙晓新. 种植4种植物的模拟人工湿地对污水中4种重金属的去除效果[J]. 湿地科学, 2019, **017** (2): 255-260 [Zhao DH, Li Q, Wang QB, Qiu XY, Cai TJ, Sun XX. Removal efficiency of 4 kinds of heavy metals in wastewater by simulated constructed wetlands planting 4 kinds of plants [J]. *Wetl Sci*, 2019, **17** (2): 255-260]
- 14 张瑞斌. 太湖流域河道水体污染负荷削减技术研究[J]. 污染防治技术, 2015, **28** (4): 14-17 [Zhang RB. Study on the water pollution load reduction technologies of rivers in Taihu Lake Basin [J]. *Poll Contr Technol*, 2015, **28** (4): 14-17]
- 15 岑璐瑶, 陈滢, 张进, 刘敏, 吴庆明. 种植不同植物的人工湿地深度处理城镇污水处理厂尾水的中试研究[J]. 湖泊科学, 2019, **31** (2): 365-374 [Cen LY, Chen Y, Zhang J, Liu M, Wu QM. Pilot-scale study on advanced treatment of tail water of urban sewage treatment plant by constructed wetlands with different plants [J]. *J Lake Sci*, 2019, **31** (2): 365-374]
- 16 陈双, 王国祥, 许晓光, Ruhyadi R, 马杰, 于岑岑. 水生植物类型及生物量对污水处理厂尾水净化效果的影响[J]. 环境工程学报, 2018, **12** (5): 1424-1433 [Chen S, Wang GX, Xu XG, Ruhyadi R, Ma J, Yu CC. Influence of aquatic plant types and biomasses on purification effects of tail water of wastewater treatment plant [J]. *Chin J Environ Eng*, 2018, **12** (5): 1424-1433]
- 17 Hauck RD. Atmospheric Nitrogen Chemistry, Nitrification, Denitrification, and their Interrelationships [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1984
- 18 肖晶晶, 郭萍, 霍炜洁, 于江, 朱昌雄. 反硝化微生物在污水脱氮中的研究及应用进展[J]. 环境科学与技术, 2009 (12): 97-102 [Xiao JJ, Guo P, Huo WJ, Yu J, Zhu CX. Application of denitrifying microbes to wastewater denitrification [J]. *Environ Sci Technol*, 2009 (12): 97-102]
- 19 史一鸣, 王文垓, 陈少华, 吕厚甫, 马长德, 马娜, 高镜清. 西伯利亚鸢尾人工湿地对镉污染河水的净化研究[J]. 环境工程, 2016, **34** (1): 21-24+40 [Shi YM, Wang WL, Chen SH, Lü HP, Ma CD, Ma N, Gao JQ. Study on the purification performance of constructed wetland with *Iris sibirica* for treating simulated cd contaminated river water [J]. *Water Poll Contr*, 2016, **34** (1): 21-24+40]
- 20 Kumwimba MN, Zhu B, Muyembe DK, Dzakupasu M. Growth characteristics and nutrient removal capability of eco-ditch plants in mesocosm sediment receiving primary domestic wastewater [J]. *Environ Sci Poll Res*, 2017, **24** (30): 23926-23938
- 21 Liu J, Dong B, Cui Y, Zhou W, Liu F. An exploration of plant characteristics for plant species selection in wetlands [J]. *Ecol Eng*, 2020, **143**: 105674
- 22 曾小梅, 刘鹏, 张晓斌. 水生观赏植物对城市污水的修复研究[J]. 水土保持研究, 2015, **22** (5): 349-353 [Zeng XM, Liu P, Zhang XB. Phytoremediation of urban wastewater by ornamental hydrophytes [J]. *Res Soil Water Cons*, 2015, **22** (5): 349-353]
- 23 朱思宇. 基于河湖水质净化的水生植物快速栽种及优化配置研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019 [Zhu SY. Study on rapid planting and optimal configuration of aquatic plants based on water purification of rivers and lakes [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2019]
- 24 戴小梅, 许林, 谢焰锋, 王湛昌, 陈法志, 陈卫东, 罗智勇. 水生植物对富营养化程度不同水体氮磷去除效果的研究[J]. 西南农业学报, 2015, **28** (2): 809-814 [Ji XM, Xu L, Xie YF, Wang ZC, Chen FZ, Chen WD, Luo ZY. Effects of hydrophytes on removal of nitrogen and phosphorus in different levels of eutrophic water [J]. *SW China J Agric Sci*, 2015, **28** (2): 809-814]
- 25 潘傲, 张智, 孙磊, 余里洁, 李余杰. 种植不同植物的表面流人工湿地净化效果和微生物群落差异分析[J]. 环境工程学报, 2019, **13** (8): 1918-1929 [Pan A, Zhang Z, Sun L, Yu LJ, Li YJ. Purification effects and microbial community differences of the surface-flow constructed wetlands with different vegetation plantation [J]. *Chin J Env Eng*, 2019, **13** (8): 1918-1929]
- 26 陆开宏, 胡智勇, 梁晶晶, 朱津永. 富营养水体中2种水生植物的根际微生物群落特征[J]. 中国环境科学, 2010, **30** (11): 1508-1515 [Lu KH, Hu ZY, Liang JJ, Zhu JY. Characteristics of rhizosphere microbial community structure of two aquatic plants in eutrophic waters [J]. *China Env Sci*, 2010, **30** (11): 1508-1515]
- 27 王冠群. 德国鸢尾耐寒性与根状茎生长发育化学调控研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014 [Wang GQ. Study on cold tolerance and chemical regulation on the development of rhizome in *Iris germanica* [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2014]
- 28 Gao J, Wang W, Guo X, Zhu S, Chen S, Zhang R. Nutrient removal capability and growth characteristics of *Iris sibirica* in subsurface vertical flow constructed wetlands in winter [J]. *Ecol Eng*, 2014, **70**: 351-361
- 29 王会会, 李前正, 王川, 周巧红, 吴振斌. 根系分泌物介导的根际效应及在水体生态修复中的应用潜力[J]. 水生生物学报, 2020, **44** (2): 453-460 [Wang HH, Li QZ, Wang C, Zhou QH, Wu ZB. Root exudates mediated rhizospheric effect and its potential application in waterbody ecological rehabilitation [J]. *Acta Hydr Sin*, 2020, **44** (2): 453-460]
- 30 雷旭, 李冰, 李晓, 王璐, 朱健. 复合垂直流人工湿地系统中不同植物根际微生物群落结构[J]. 生态学杂志, 2015, **34** (5): 1373-1381 [Lei X, Li B, Li X, Wang L, Zhu J. Rhizosphere microbial communities of three plants in vertical-flow constructed wetland [J]. *Chin J Ecol*, 2015, **34** (5): 1373-1381]
- 31 张悦. 水生植物及根际微生物对富营养化水体中氮磷的净化作用研究[D]. 西安: 西安理工大学, 2019 [Zhang Y. Purification of nitrogen eutrophic water by aquatic and phosphorus from plants and rhizosphere microorganisms [D]. Xi'an: Xi'an University of Technology, 2019]
- 32 Zhang X, Hua X, Yue X. Comparison of bacterial community characteristics between complete and shortcut denitrification systems for quinoline degradation [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, **101** (4): 1-11
- 33 Li C, Ren H, Xu M, Cao J. Study on anaerobic ammonium oxidation process coupled with denitrification microbial fuel cells (MFCs) and its microbial community analysis [J]. *Biores Technol*, 2015, **175**: 545-552
- 34 Lim YW, Lee SA, Kim SB, Yong HY, Park JS. Diversity of denitrifying bacteria isolated from daejeon sewage treatment plant [J]. *J Microbiol*, 2005, **43** (5): 383
- 35 Liu H, Lu Q, Wang Q, Liu W, Wei Q, Ren H, Ming C, Min M, Chen P, Ruan R. Isolation of a bacterial strain, *Acinetobacter* sp. from centrate wastewater and study of its cooperation with algae in nutrients removal [J]. *Biores Technol*, 2017, **235**: 59
- 36 Du L, Chen Q, Liu P, Zhang X, Wang H, Zhou Q, Xu D, Wu ZB. Phosphorus removal performance and biological dephosphorization process in treating reclaimed water by Integrated Vertical-flow Constructed Wetlands (IVCWs) [J]. *Biores Technol*, 2017, **243**: 204-211
- 37 陈志超. 富营养化水体凤眼莲生态修复过程中的磷去向和磷平衡研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014 [Chen ZC. Research on fate of phosphorus and balance of phosphorus total amount in the course of purifying eutrophic water by water hyacinth [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014]
- 38 朱华兵. 水生植物对富营养化水体的修复及对底泥营养释放的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2011 [Zhu HB. Effect of aquatic plants on purification of eutrophic water and nutrients release from sediment [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2011]