

人工湿地各组分氮素削减定量及功能基因分析

高静湑, 汤世科, 刘哲铭, 张鹏, 于凤萍, 李卫平

引用本文:

高静湑, 汤世科, 刘哲铭, 张鹏, 于凤萍, 李卫平. 人工湿地各组分氮素削减定量及功能基因分析[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(3): 654–664.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0622>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

外加电压对人工湿地处理生活污水效果的影响

罗昕怡, 叶延超, 石玉翠, 游少鸿

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1297–1304 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1236>

不同植物类型复合垂直流人工湿地根系微生物群落结构的研究

蒋旭瑶, 吉喜燕, 黄德英, 张继彪

农业环境科学学报. 2019, 38(1): 176–183 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0250>

洱海北部表流人工湿地氮截留的长效性及影响因子

梁启斌, 侯磊, 李能发, 陈鑫, 王克勤

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1585–1593 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1324>

微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究

吴梦莉, 李洁, 智燕彩, 李刚, 赖欣, 居学海, 张贵龙

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 1071–1078 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1368>

不同处理梯度污水对细菌群落和酶活性的影响

吴晓斐, 何源, 黄治平, 张丹丹, 郑宏艳, 丁健

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 2026–2035 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0155>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

高静湉, 汤世科, 刘哲铭, 等. 人工湿地各组分氮素削减定量及功能基因分析[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(3): 654–664.

GAO J T, TANG S K, LIU Z M, et al. Quantification of nitrogen reduction of each component in constructed wetland and functional gene analysis[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(3): 654–664.



开放科学 OSID

人工湿地各组分氮素削减定量及功能基因分析

高静湉^{1,2}, 汤世科^{1,2}, 刘哲铭^{1,2}, 张鹏^{1,2}, 于凤萍^{1,2}, 李卫平^{1,2*}

(1. 内蒙古科技大学能源与环境学院, 内蒙古 包头 014010; 2. 黄河流域内蒙古段生态保护与综合利用自治区协同创新中心, 内蒙古 包头 014010)

摘要:为探讨人工湿地各组分氮素削减贡献度及微生物脱氮机理,本研究构建6组(3组无植物对照)不同类型人工湿地系统,3组有植物人工湿地基质分别为陶粒+煤渣、陶粒+沸石、沸石+煤渣,探究其对包头南海湖水中氮素的去除效果;采用氮稳定同位素示踪技术,量化植物、基质和微生物在人工湿地氮去除中的贡献度;并利用高通量测序技术分析人工湿地系统中微生物的群落结构及氮代谢功能基因。结果表明:陶粒+煤渣有植物组人工湿地氮去除效果最佳,对TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N的去除率分别为(41.18±2.61)%、(50.44±2.63)%、(40.93±2.32)%、(74.34±1.97)%。¹⁵N示踪发现,植物、基质和微生物对人工湿地系统NO₃⁻-N去除的贡献率分别为27.74%、48.43%和23.83%。高通量测序和PICRUSt2功能预测分析结果表明,植物对微生物群落组成和代谢途径有显著影响。在植物根部样本中,优势菌门为Proteobacteria,其大部分菌属均参与了氮代谢,在生物脱氮过程中发挥重要的作用。有植物人工湿地系统基质中微生物的*nirS*基因、植物根系的*nirK*基因丰度明显增加,植物有效促进了人工湿地系统中微生物的反硝化作用。

关键词:人工湿地;氮同位素;微生物群落;氮代谢;功能基因

中图分类号:X703 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)03-0654-11 doi:10.11654/jaes.2023-0622

Quantification of nitrogen reduction of each component in constructed wetland and functional gene analysis

GAO Jingtian^{1,2}, TANG Shike^{1,2}, LIU Zheming^{1,2}, ZHANG Peng^{1,2}, YU Fengping^{1,2}, LI Weiping^{1,2*}

(1.School of Energy and Environment, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China; 2.Autonomous Region Collaborative Innovation Center for Ecological Protection and Comprehensive Utilization of Inner Mongolia Section of Yellow River Basin, Baotou 014010, China)

Abstract: Six groups (three groups without plants) of constructed wetland systems with substrates of ceramic pellets+cinder, ceramic pellets+zeolite, and zeolite+cinder were constructed to investigate the effect of nitrogen removal in Baotou Nanhai Lake and explore the contribution of nitrogen reduction of each component in a constructed wetland and the mechanism of microbial nitrogen removal. Nitrogen stable isotope tracing technology was used to quantify the contribution of plants, substrates, and microorganisms to nitrogen removal in a constructed wetland. High-throughput sequencing technology was used to investigate the microbial community structure and nitrogen metabolism functional genes in the system. The results showed that the constructed wetland with plants comprising ceramic+cinder was the most effective in nitrogen removal, with removal rates of (41.18±2.61)%, (50.44±2.63)%, (40.93±2.32)%, and (74.34±1.97)% for TN, NH₄⁺-N, NO₃⁻-N, and NO₂⁻-N, respectively. ¹⁵N tracing revealed that the contribution rates of plants, substrates, and microorganisms to the NO₃⁻-N removal in the constructed wetland system were 27.74%, 48.43%, and 23.83%, respectively. High-throughput sequencing and PICRUSt2 functional prediction results revealed that plants significantly impacted microbial composition and metabolic pathways. The dominant phylum was Proteobacteria, most of whose genera are involved in the nitrogen cycle and are crucial in biological denitrification. The abundance of *nirS* on the substrate and *nirK* in the plant roots of a planted constructed wetland system increased significantly. Plants effectively promoted the denitrification of microorganisms in constructed wetland systems.

Keywords: constructed wetland; nitrogen isotope; microbial community; nitrogen metabolism; functional gene

收稿日期:2023-08-01 录用日期:2023-10-31

作者简介:高静湉(1988—),女,博士,副教授,主要研究方向为寒区湖泊水污染控制及水生态修复。E-mail:nkdjgtsmile@163.com

*通信作者:李卫平 E-mail:sjlwp@163.com

基金项目:内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY21376)

Project supported:Scientific Research Project of Colleges and Universities in Inner Mongolia Autonomous Region, China(NJZY21376)

《2022中国生态环境状况公报》^[1]显示湖泊(水库)等重要水域的氮含量超标。水体中氮含量过高,将不利于水生态健康发展^[2-3],所以亟需对受污染水体进行高效脱氮,提高水质。包头南海湖是我国西北部寒旱区的代表性湖泊之一,近年自然环境和人为活动常导致污染加重,对南海湖进行全年水质监测,结果显示TN和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度分别高达 $5.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.39\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,并且随季节变化幅度较大,夏秋季浓度较高。

人工湿地(CWs)是天然湿地的工程模拟,具有良好的水体生态修复能力,是一种成本低、生态友好型水处理技术^[4-8]。目前,CWs在废水的二级和三级处理中得到广泛应用,主要包括工业废水、河湖水和农业废水^[9]。其中人工湿地系统的氮素去除性能受到多种因素的影响,如植物及基质类型、微生物群落结构等^[10-12]。植物在脱氮过程中起着至关重要的作用,同时对人工湿地系统的微生物群落结构也有较大影响,是影响工艺运行的重要因素之一^[13-15]。而基质不仅是湿地植物生长的介质,又是微生物附着的载体,其本身还可吸附污染物,成为保障人工湿地系统实现高效脱氮的关键^[16]。由于组成有差异,各类型人工湿地各组分对人工湿地的氮去除贡献度尚不明晰。

近年来,新兴的稳定同位素示踪技术取得了长足进步,氮稳定同位素已被用于生物氮循环的示踪研究^[17-18]。基于此,本研究采集南海湖原水,通过对比不同基质组成的有植物、无植物人工湿地系统,通过探究其对氮素的去除效果优选人工湿地组成。并通过向最优组中投加 ^{15}N 同位素进行氮示踪,实现对人工湿地脱氮效果的准确定量及各组分氮的去除贡献率量化;利用高通量测序技术对微生物群落多样性进行探究,研究人工湿地中微生物对反硝化过程的影响,旨在阐明人工湿地对地表水体氮素削减机制,为人工湿地设计及功能的优化提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验装置与运行

由于垂直下行流人工湿地占地面积小,渗透速率快且在脱氮方面优势显著^[9],因此本实验采用白色聚乙烯圆柱桶装置构建高为0.6 m,内径15 cm,体积为3.38 L规模的垂直流人工湿地系统(图1)。水样取自包头南海湖。在基质选择上,查阅国内外文献和实际应用案例,并考虑实用性和使用寿命等因素,选用了3种材料,分别为陶粒(粒径2~4 mm)、煤渣(粒径2~5 mm)和沸石(粒径3~5 mm),这些基质具有储量多,成

本低,且吸附能力强,对环境无害等优点,满足实验需求。基质层上表面覆盖防止基质流失和便于植物定植的生态席垫(厚度为5 mm)。为模拟流态水动力环境,在盛放试验用水的塑料桶内安装同一规格的微型蠕动水泵(流量为 $10\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$)。

实验所选用的基质煤渣购置于网络商家,沸石购置于河南同德环保科技有限公司,陶粒购置于巩义市水处理药剂公司。考虑到南海湿地中水生植物大部分是芦苇,且芦苇有较高的脱氮效率^[20],因此选用芦苇作为实验植物。

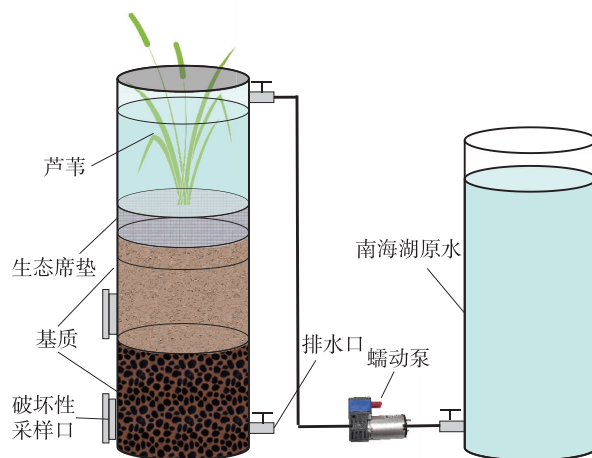


图1 人工湿地示意图

Figure 1 Schematic diagram of CWs

1.1.1 人工湿地系统氮素去除效果分析

每组人工湿地只填充两种基质,并各设一组无植物人工湿地,探究植物对脱氮的影响。因此共设6组实验,分为有植物实验组陶粒+煤渣(TMZ)、陶粒+沸石(TFZ)、沸石+煤渣(FMZ),和无植物对照组(陶粒+煤渣(TM)、陶粒+沸石(TF)、沸石+煤渣(FM))。各类基质填充厚度为15 cm,总厚度均为30 cm,水力停留时间为24 h。实验期间,每5 d在出水口取100 mL水样过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后,立即进行 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和TN浓度的测定。

1.1.2 ^{15}N 示踪对人工湿地系统各组分的 NO_3^- 去除量化

选用氮去除效果最佳的人工湿地继续开展各组分的 NO_3^- 去除量化研究。准确称量 ^{15}N 同位素标记的硝酸钾447.06 mg(^{15}N 为64 mg)加入蓄水箱中,实验进水体积为2.5 L,搅拌均匀后加入实验装置内。设置系统运行时间为15 d,分别在第5、10、15天对人工湿地植物、上层基质、下层基质和出水口进行破坏性采样。植物样品放入冰箱 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏保存,水样和基质样品放入冰箱 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻保存,所有样品于实验第16

天用冰袋泡沫箱保存送往科学指南针天津办事处进行氮同位素含量检测。

1.2 分析方法

TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 分别采用过硫酸钾紫外分光光度法和纳氏试剂分光光度法测定; $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 测定采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法和紫外分光光度法。

1.3 高通量测序

为探究反应系统中微生物群落变化,分别采集系统中上、下两层基质及植物根部样品。有植物人工湿地系统,基质样品煤渣、陶粒依次标号为 A、B;植物根部样品分别为 C。无植物人工湿地系统,基质样品煤渣、陶粒依次标号为 A'、B'。进行 2 次重复采样,共采集 10 个样品,将离心、抽滤后的样品放置于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下干冰保存送至上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina MiSeq 平台进行 16S rDNA 高通量测序。本实验选择通用引物 338F (5'-ACTCTACGGGAG-GCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT-3') 对细菌 16S rDNA 基因中的 V3~V4 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件参数为: $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性温度下保持 3 min; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性温度下保持 30 s, $55\text{ }^\circ\text{C}$ 退火温度下保持 30 s, $72\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸温度下保持 45 s, 进行 27 次循环扩增; $72\text{ }^\circ\text{C}$ 下终止延伸 10 min, $10\text{ }^\circ\text{C}$ 至反应结束, PCR 扩增产物使用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。采用美国 AXYGEN 公司的 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 扩增产物,并对其进行检测定量分析,之后构建 MiSeq 文库,利用 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序,将所得序列通过 OTUs (运算分类单位) 以 97% 的相似度进行聚类,本实验的测序工作由测序公司完成。

1.4 数据分析与计算

为量化人工湿地中各组分 ^{15}N 去除,需对人工湿地各组分样品中 ^{15}N 含量进行计算。

出水中 ^{15}N 含量根据式(1)计算:

$$^{15}\text{N}_{\text{出}} = V_{\text{出}} \times (\text{atom}\%_{\text{出}} - \text{atom}\%_{\text{背}}) \times C_{\text{出}} \quad (1)$$

式中: $V_{\text{出}}$: 出水总体积, L; $\text{atom}\%_{\text{出}}$: 出水样品中 ^{15}N 原子百分比; $\text{atom}\%_{\text{背}}$: N 的自然丰度, 0.365%; $C_{\text{出}}$: 出水中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

植物中 ^{15}N 含量根据式(2)计算:

$$^{15}\text{N}_{\text{植}} = m_{\text{植}} \times (\text{atom}\%_{\text{植}} - \text{atom}\%_{\text{背}}) \times \text{TN}\%_{\text{植}} \quad (2)$$

式中: $m_{\text{植}}$: 整棵植物干质量, mg; $\text{atom}\%_{\text{植}}$: 测得植物样品中 ^{15}N 原子百分比; $\text{TN}\%_{\text{植}}$: 植物样品氮含量的质量百分比。

基质中 ^{15}N 含量根据式(3)计算:

$$^{15}\text{N}_{\text{基}} = m_{\text{基}} \times (\text{atom}\%_{\text{基}} - \text{atom}\%_{\text{背}}) \times \text{TN}\%_{\text{基}} \quad (3)$$

式中: $m_{\text{基}}$: 基质样品的干质量, mg; $\text{atom}\%_{\text{基}}$: 测得基质样品中 ^{15}N 原子百分比; $\text{TN}\%_{\text{基}}$: 基质样品氮含量的质量百分比。

此外, 为表示 ^{15}N 同位素在物质中的净含量, 需计算人工湿地各组分中 ^{15}N 绝对丰度。水样中 ^{15}N 绝对丰度利用式(4)进行计算; 基质及植物中 ^{15}N 绝对丰度利用式(5)进行计算。

$$^{15}\text{N} \text{ 绝对丰度} (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}) = \text{AT}\% \times \text{NO}_3^-\text{浓度} \times 0.006 \quad (4)$$

$$^{15}\text{N} \text{ 绝对丰度} (\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}) = \text{N 含量} \times \text{AT}\% \times 0.10 \quad (5)$$

实验数据采用 SPSS 24.0 软件对其进行统计分析, 采用 Excel 2021 和 Origin 2022 进行数据处理和图表绘制。

2 结果与讨论

2.1 人工湿地系统对 TN 的去除

各人工湿地系统中 TN 的起始浓度均为 $4.59\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 6 组人工湿地出水中 TN 浓度随时间变化如图 2 所示。6 组人工湿地对 TN 的去除效果存在着显著差别, 含植物的人工湿地在两个周期中 TN 的含量均有显著降低; 未种植植物的人工湿地中 TN 含量则表现为先升高后降低。经过各组人工湿地系统的净化后, TMZ、FMZ、TFZ、TM、FM、TF 水体中的 TN 浓度分别下降至 (2.70 ± 0.12) 、 (3.71 ± 0.11) 、 (3.09 ± 0.12) 、 (3.47 ± 0.14) 、 (3.07 ± 0.13) 、 $(3.27 \pm 0.11)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。有植物组中陶粒+煤渣人工湿地系统对 TN 的去除效果最好, 去除率为 $41.18\% \pm 2.61\%$, 无植物组中是陶粒+沸石人工湿地系统对 TN 的去除效果最好, 去除率为 $28.76\% \pm 2.40\%$ 。有植物的人工湿地系统比无植物的人工湿地系统具有更高的 TN 去除率, 说明植物对 TN 的去除性能影响较大。一方面由于人工湿地系统上层基质中存在植物的一些细小根系, 植物根系本身可以吸附一些氮素污染, 同时也可以附着微生物并提供氧气, 有利于微生物的生长, 从而增强微生物对氮素的去除^[18]; 另一方面植物可促进基质的氮吸附作用, 植物的根系可以改善基质的孔隙结构, 帮助基质缓解堵塞^[21], 更利于基质对南海原水中氮素的吸收。因此植物的加入提高了人工湿地整体的氮去除性能。

2.2 人工湿地系统对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除

6 组人工湿地出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度随时间变化如图 3 所示。各人工湿地均能高效净化南海湖的含氮

污染物。各人工湿地系统出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 都有下降的趋势,整个过程有植物组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度低于无植物组。实验29 d后,TMZ、FMZ、TFZ、TM、FM、TF水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度从初始的 $2.28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 分别下降到 (1.13 ± 0.06) 、 (1.20 ± 0.07) 、 (1.27 ± 0.06) 、 (1.58 ± 0.05) 、 (1.32 ± 0.08) 、 $(1.38\pm0.07) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结果显示,有植物组中陶粒+煤渣人工湿地系统对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果最好,去除率为 $50.44\%\pm2.63\%$,而无植物组中沸石+煤渣人工湿地系统对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果最好,去除率为 $42.11\%\pm3.51\%$;同时在陶粒+煤渣人工湿地系统

中植物的作用在 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除中体现最明显。植物对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除作用主要表现在两个方面,一方面,植物可以直接吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ^[22]。另一方面,植物也有分泌氧气的作用,可以将空气中的氧气传递至根部区域^[23],南海湖原水在人工湿地中,表层溶解氧充足,在好氧的环境中,硝化反应条件适宜,将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 。此外,通过无植物组的人工湿地出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的29 d变化结果可知,基质对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的吸附作用也是一种重要的氮去除方式^[16]。因此在本研究中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除主要依赖于基质的吸附、植物的吸

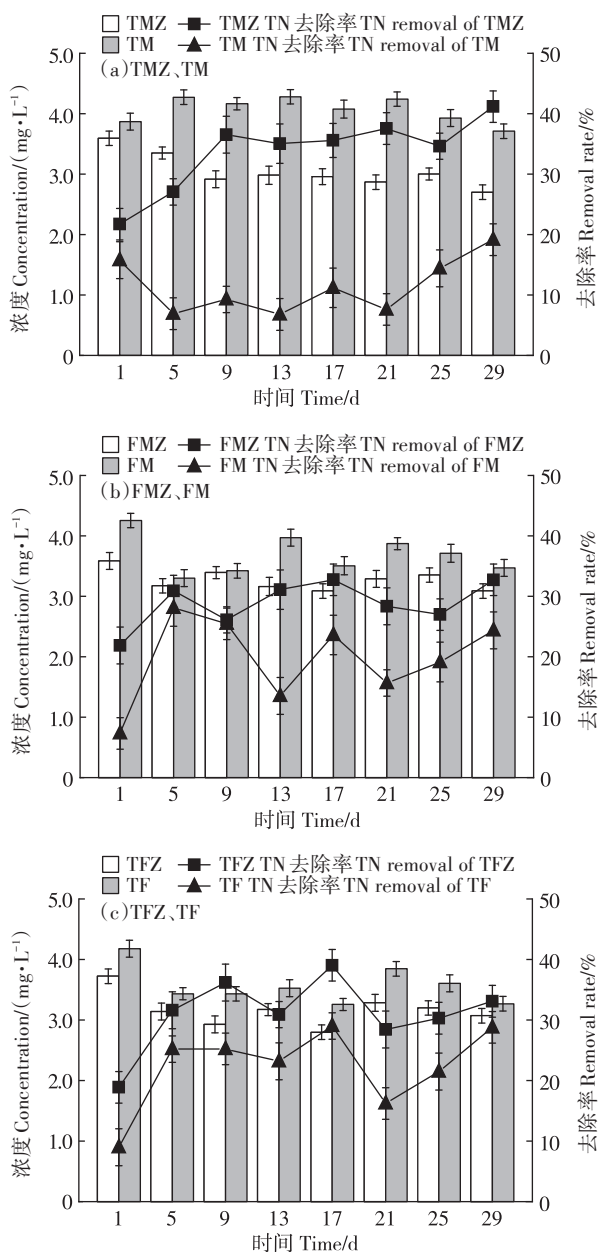


图2 6组人工湿地系统出水TN浓度与去除率

Figure 2 TN concentration and removal by six CWs

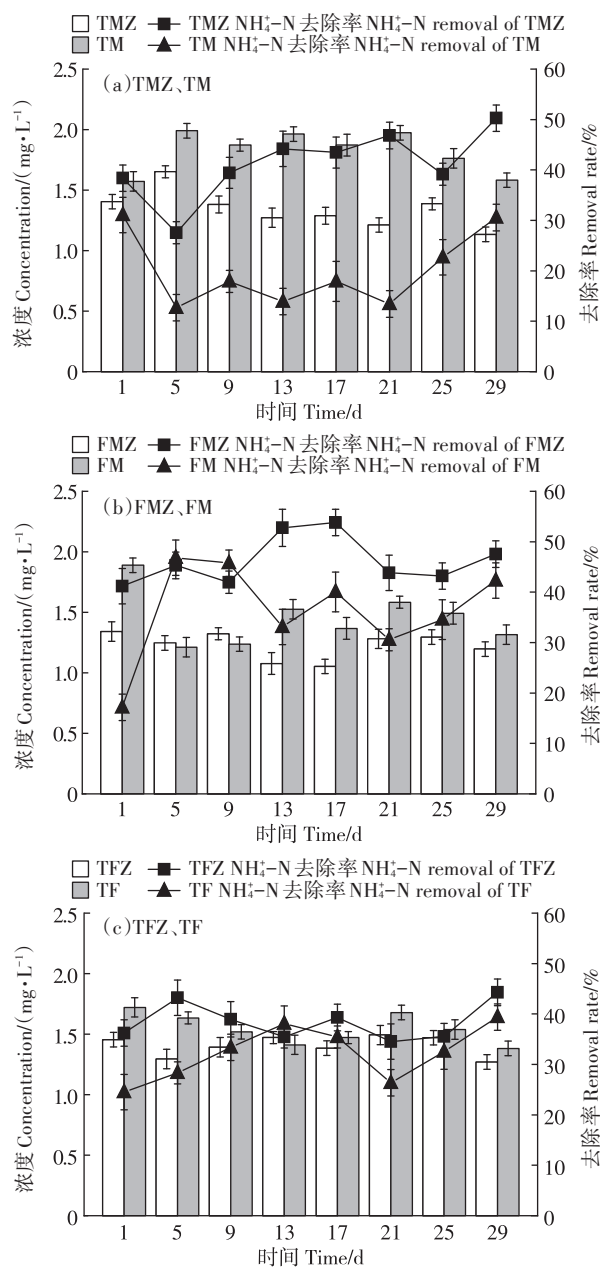


图3 6组人工湿地系统出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度与去除率

Figure 3 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration and removal by six CWs

收与硝化反应。

2.3 人工湿地系统对 NO_3^- -N 的去除

6组人工湿地出水中 NO_3^- -N 浓度随时间变化如图4所示。各人工湿地系统中 NO_3^- -N 的起始浓度平均为 $2.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 经各组人工湿地系统的净化后, TMZ、FMZ、TFZ、TM、FM、TF 水体中 NO_3^- -N 的浓度分别为 (1.53 ± 0.06) 、 (1.84 ± 0.05) 、 (1.76 ± 0.05) 、 (2.07 ± 0.07) 、 (2.09 ± 0.08) 、 $(1.83 \pm 0.06) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间。并且运行 29 d 后, 有植物组陶粒+煤渣人工湿地系统对 NO_3^- -N 的去除效果最好, 去除率为 $40.93\% \pm 2.32\%$, 而无植物组中陶粒+沸石人工湿地系统对 NH_4^+ -N 的去除效果最好, 去除率为 $29.34\% \pm 2.33\%$ 。3 种有植物的人工湿地对 NO_3^- -N 的去除率均高于无植物的, 即植物在人工湿地系统中对 NO_3^- -N 的去除起到重要作用。植物在 NO_3^- -N 去除过程中主要表现为植物的直接吸收。含植物的人工湿地, 特别是具有发达根系的植物, 可以吸收水中更多的 NO_3^- -N 以供其生长发育^[24]。此外, 人工湿地植物根部可以富集微生物, 具有根际效应, 能够产生氧气和分泌物, 并被微生物用于生长繁殖^[25]。植物可以通过影响微生物的活性而对人工湿地中氮污染物的去除效果产生影响^[26]。在有植物的人工湿地系统中, 特别是在植物根系中, 有较多的微生物和较强的生物活性; 而不含栽种植物的人工湿地系统因为植物的缺失, 一方面, 基质缺乏反硝化所需的微生物、酶等; 另一方面, 基质中缺乏有氧与无氧的过渡环境, 导致底物中 NO_3^- -N 的持续积累, 致使底物中 NO_3^- -N 的浓度非但没有下降, 反而升高。

2.4 人工湿地系统对 NO_2^- -N 的去除

6组人工湿地出水中 NO_2^- -N 浓度随时间变化如图5所示。各人工湿地系统对 NO_2^- -N 的去除均表现出了较好的效果。在实验开始时, 人工湿地系统进水的 NO_2^- -N 初始浓度为 $0.15 \sim 0.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 人工湿地系统运行 29 d 后, TMZ、FMZ、TFZ、TM、FM、TF 水体中 NO_2^- -N 的浓度分别降低到 (0.039 ± 0.003) 、 (0.053 ± 0.004) 、 (0.041 ± 0.003) 、 (0.061 ± 0.004) 、 (0.064 ± 0.005) 、 $(0.058 \pm 0.003) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 去除率均达到 58% 以上, 最高可达 76.31%。从图5中可以看出, 相较于其他氮素指标的去除, 有植物的陶粒+煤渣组并未在 NO_2^- -N 的去除方面与无植物组拉开差距, 这可能是因为 NO_2^- -N 在人工湿地环境中的转化和去除过程相对复杂。 NO_2^- -N 属于一种相对不稳定的化合物, 容易转化为其他更稳定的形态, 如 NO_3^- -N 或 NH_4^+ -N^[27]。这些转化过程可能受到人工湿地环境中多方面因素的影

响, 包括 pH 值、温度、基质孔隙大小、微生物活性等。因此, 植物的存在可能对这些转化过程产生一定的影响, 但这种影响比较微弱。此外, 在 0~9 d 的时间内, 与陶粒+煤渣组相比, 陶粒+沸石、沸石+煤渣基质的有植物组 NO_2^- -N 的去除效果对比无植物组有显著差异。说明含有沸石的基质组合更能促进人工湿地 NO_2^- -N 的去除, 由于沸石的表面结构较粗糙且多孔, 在水中有利于离子的吸附与交换且不改变晶体结构^[28]。同时具有更大比表面积, 为微生物提供了更多的依附场所和活动空间。但是随着吸附的污染物越多, 基质

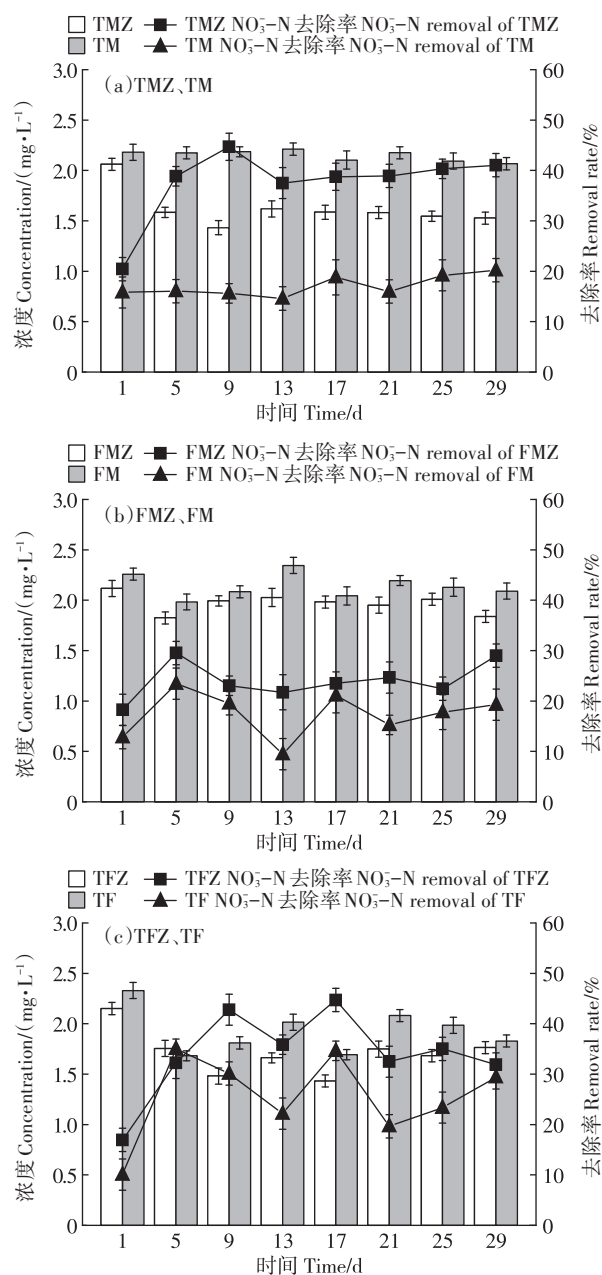
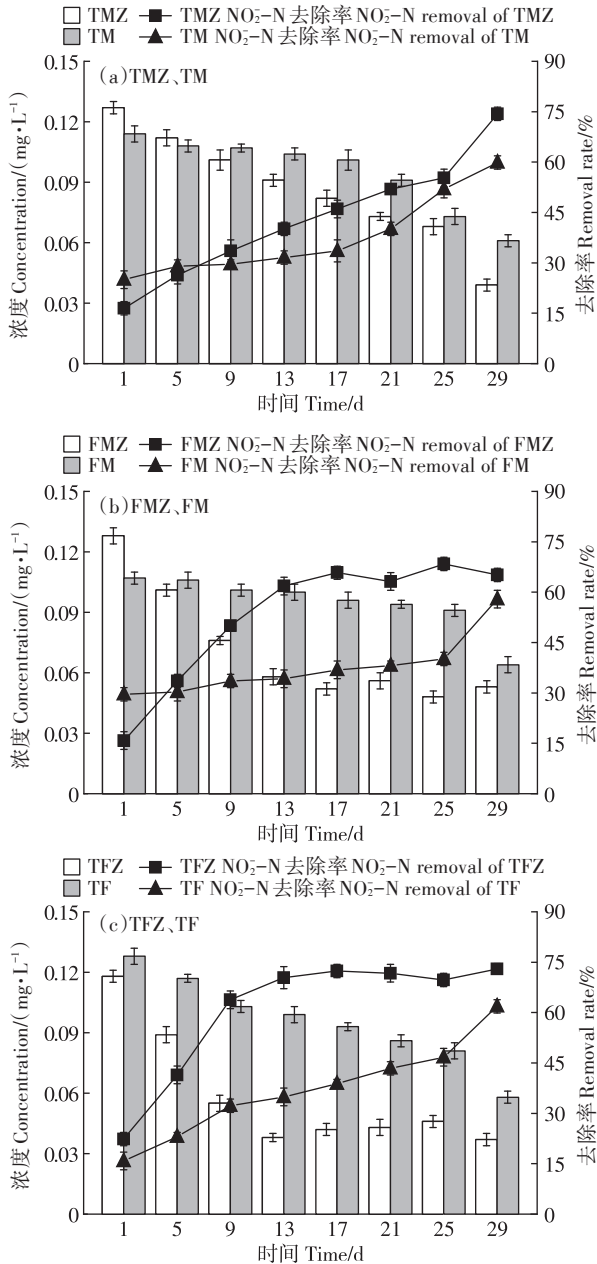


图4 6组人工湿地系统出水 NO_3^- -N 浓度与去除率

Figure 4 NO_3^- -N concentration and removal by six CWs

图5 6组人工湿地系统出水 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度与去除率Figure 5 $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration and removal by six CWs

出现明显堵塞,去除率下降,导致出水 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度逐渐趋于稳定。

2.5 ^{15}N 同位素在人工湿地中的绝对丰度质量

为进一步研究人工湿地系统中各组分对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除贡献度,采用陶粒+煤渣组人工湿地进行氮同位素标记定量实验,选择煤渣作为上层基质,陶粒作为下层基质。基质和植物中氮含量、原子百分比(AT%)和同位素 ^{15}N 的绝对丰度分别列于表1。其中,氮含量指的是基质和植物中氮元素占整体物质含量的百分比。由表1可知,植物根际的氮含量为

0.57%,上层基质和下层基质氮含量分别为0.18%和0.13%,植物根际氮含量远高于基质。原因是基质本身只通过吸附作用去除氮,而植物能利用基质中的氮元素合成自身的物质;此外,基质本体含量高也致使其氮含量占比低于植物。

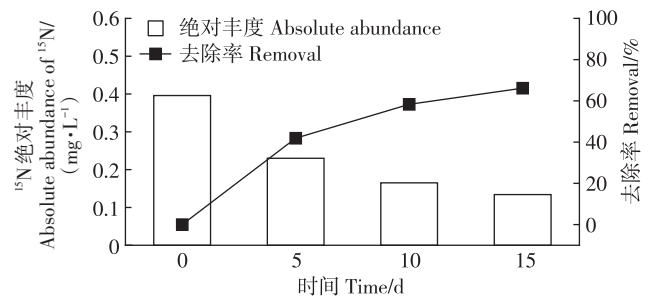
表1 基质和植物中氮含量、AT%和 ^{15}N 绝对丰度Table 1 Absolute abundance of nitrogen content, AT% and ^{15}N in substrates and plants

样品 Sample	氮含量 Nitrogen content/%	原子百分比 Atomic percent/%	^{15}N 绝对丰度 ^{15}N absolute abundance/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
植物	0.57	0.97	55.29×10^{-3}
煤渣	0.18	0.48	8.64×10^{-3}
陶粒	0.13	0.49	6.31×10^{-3}

^{15}N 同位素的绝对丰度是指一种物质中 ^{15}N 同位素的净含量,它是根据含氮量和原子百分比进行计算的。根据AT%数值及 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度,计算出实验原水 ^{15}N 的绝对丰度,见图6。实验开始时,原水中的 ^{15}N 的绝对丰度是 $0.396\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,经过5 d的处理后, ^{15}N 的绝对丰度降至 $0.230\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;15 d后降到 $0.134\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时人工湿地对 ^{15}N 的去除率达到了66.16%,也再次反映出该人工湿地良好的氮去除效果。植物和基质中 ^{15}N 的绝对丰度如表1所示:在上层基质中,单位质量的基质中 ^{15}N 浓度最高,其绝对丰度可达 $8.64\times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,单位质量基质的吸附量也最大;下层基质中, ^{15}N 的含量最小,绝对丰度为 $6.31\times 10^{-3}\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,它的吸附能力是最小的。植物中 ^{15}N 的绝对丰度达到 $55.29\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,明显高于基质,说明单位质量植物对氮的吸收量较大。

2.6 人工湿地各组分 $\text{NO}_3\text{-N}$ 去除的贡献率

人工湿地各组分 ^{15}N 去除总量变化如表2所示,在15 d后,有植物组植物、上层基质、下次基质以及微生物的 ^{15}N 去除总量分别为13.49、12.51、11.04、11.59

图6 水样中 ^{15}N 绝对丰度与去除率Figure 6 Absolute abundance and removal of ^{15}N in water samples

mg;而无植物各组分的¹⁵N去除总量分别为11.76、9.01、15.64 mg。从整个过程来看,植物的¹⁵N去除总量在0~5、10~15 d变化较小,而在5~10 d变化较大,即对¹⁵N的吸收速率呈现出先缓后快再缓的趋势。由于初期是植物对新环境的适应阶段,故¹⁵N的吸收在初期并不显著,适应后则会加速对NO₃-N的吸收。在初期,上层基质对NO₃-N的吸收发挥更重要作用。试验中后期,由于土壤养分、环境等因素的影响,植物对¹⁵N的积累速度减慢,但此时的微生物已经适应环境并逐渐发挥作用,加快对¹⁵N的吸收。此外,对比有植物和无植物组发现,有植物组微生物中¹⁵N去除总量低于无植物组,这是由于无植物组对NO₃-N有去除作用的只有基质与微生物,而有植物组中植物也能吸收氮,从而为人工湿地系统氮素去除贡献一定比例,使得微生物对NO₃-N去除的量减少;同时植物根系有泌氧功能,一定程度制约微生物对氮的反硝化^[29]。因此无植物组微生物的脱氮效果好于有植物组。

同时以各组分¹⁵N同位素的去除总量为依据,可以得出有植物人工湿地植物、基质和微生物组分在15 d后对NO₃-N去除的贡献率。植物的吸收和基质的吸附对人工湿地系统NO₃-N去除的贡献率分别为27.74%和48.43%,微生物对NO₃-N的去除贡献率占23.83%。但从表2可以看出,实验的中后期植物与基质对¹⁵N的吸收变得缓慢,而微生物则加快了对NO₃-N的去除,说明在人工湿地稳定运行后微生物将会对人工湿地NO₃-N的去除起主导作用。

2.7 植物对微生物多样性的影响

5组样品的微生物多样性指数如表3所示,通过物种多样性指数(Simpson)与丰富度指数(Chao、Ace)变化情况可知,5组样品中的多样性及丰富度均有较大的差异,有植物组的丰富度较无植物组有显著提升。植物的加入使人工湿地中的微生物数量得到了

增加,从而提高了人工湿地的氮净化性能。植物能向基质中输送氧气,维持底物中微生物的活力和多样性;植物的生长和代谢,凋落物和植物根系分泌物等也可以为微生物的繁殖和发育提供能量^[30],丰富的微生物群落物种多样性强化了人工湿地系统去除氮素的能力。

表3 微生物多样性指数
Table 3 Microbial diversity index

Sample	Simpson	Shannon	Ace	Chao	Coverage
A	0.004 9	6.98	5 177	5 027	0.96
B	0.004 5	6.87	4 865	4 688	0.97
C	0.022 4	5.70	3 323	3 128	0.98
A'	0.021 1	5.50	2 807	2 760	0.98
B'	0.020 8	5.45	2 631	2 589	0.98

2.8 植物对微生物群落结构的影响

各组人工湿地系统中微生物门水平群落结构组成如图7(a)所示。各组人工湿地系统中基质及植物根系上的细菌共鉴定出53个菌门。其中相对丰度前10为优势菌门,主要包括Proteobacteria(变形菌门)、Actinobacteriota(放线菌门)、Bacteroidota(拟杆菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Patescibacteria(骸骨菌门)、Chloroflexi(绿弯菌门)、Acidobacteriota(酸杆菌门)和Cyanobacteria(蓝藻门)。Proteobacteria的丰度最高,相关研究表明,其大部分菌门均参与氮循环途径,在生物脱氮过程中具有至关重要的作用^[31-32]。对比两组人工湿地系统,植物中的Bacteroidota数量明显高于两组基质,Bacteroidota为异养细菌,能够分解水中的碳水化合物,利用水中的NO₃-N,参与反硝化作用。Firmicutes是具有脱氮功能的互养细菌,对比5组样品,有植物组中Firmicutes相对丰度占比均较高,故有植物人工湿地系统脱氮效果更佳。

各组人工湿地系统中微生物属水平群落结构组成如图7(b)所示,各系统的群落组成存在一定的差异,主要表现在有植物的人工湿地系统优势菌属主要分布在*Pseudomonas* (49.08%~62.69%)、*Pseudarthrobacter* (4.11%~4.93%)和*Malikia* (3.25%~10.78%)菌属;无植物系统主要为*Limnobacter* (40.32%~51.58%)、*Nevskia* (9.23%~11.57%)和*Rhodobacter* (3.04%~5.45%)菌属。此外,不同于有植物系统,无植物系统两基质表面的微生物群落组成表现出明显不同,陶粒中*Saccharimonadaceae*、*Rhodobacter*、*Azoarcus*等菌属的比例显著提高,*Sulfuritalea*、*Rhodoferrax*和*Sphingomonas*等菌属显著降低。说明植物的加入使

表2 各组分¹⁵N去除总量变化

Table 2 Variation of ¹⁵N total remove mass of each component

取样位置 Sampling position	¹⁵ N 总量 ¹⁵ N Total mass/mg		
	5 d	10 d	15 d
植物	4.77	12.65	13.49
有植物组上层基质	5.59	9.87	12.51
有植物组下层基质	1.14	6.63	11.04
无植物组上层基质	4.87	9.16	11.76
无植物组下层基质	0.95	4.42	9.01
有植物组微生物	0.87	3.35	11.59
无植物组微生物	2.47	6.89	15.64

两个基质的微生物系统逐渐均质化,使出水水质更稳定。植物根系和基质附着的微生物也有明显的不同,植物根系的优势菌属丰度更大,尤其是 *Flavobacterium* 菌属占比明显高于其他两基质。*Flavobacterium* 是常见的植物促生菌之一^[33],可以溶解磷酸盐,制造生长激素^[34],推测植物的加入提高了此类菌属的占比,反过来又促进植物生长及其对氮素的循环作用,从而通过影响基质中氮素的分布间接影响基质所附着微生物的群落结构。

2.9 微生物氮代谢功能基因分析

通过对植物根系 C、有植物组煤渣 A、陶粒 B 和无植物组煤渣 A'、陶粒 B' 基质样品的微生物氮代谢基因功能的鉴定与分析,筛选出具有脱氮功能的优势基因。目前,国内外研究已发现的氮代谢功能基因有:亚硝酸还原酶(NIR)基因 *nirS/nirK*;硝酸还原酶(NR)基因 *narG/napA*;一氧化氮(NO)还原酶基因 *norB*;一氧化二氮(N_2O)还原酶基因 *nosZ*;单加氧酶(AMO)基因 *aomA*;羟胺氧化酶(HAO)基因 *hao*;亚硝酸盐氧化酶(NXR)基因 *nor*等。在各系统中鉴定出与氮代谢相关的功能基因主要有参与反硝化过程的 *narG/narZ*、*narH/narY*、*nirK*、*nirS* 和参与固氮过程的 *nasA*、*nirA*、

nirB,如图8所示。不论是在基质还是植物中,*nasA* 与 *nirB* 基因的丰度都远高于其他基因,这表明固氮过程是本实验人工湿地微生物氮代谢的主要途径。此外,有植物人工湿地系统不同基质表面微生物 *nirS* 基因丰度明显高于无植物系统,说明植物能有效促进人工湿地系统中微生物的氮代谢,主要体现在反硝化过程中^[35]。而另一个反硝化过程的 *nirK* 基因,其在植物根系中的基因丰度明显高于基质中的。植物可以通过根系分泌多种初级代谢物,例如糖和有机酸等^[36],并释放到水体中,或附着在基质表面,被微生物吸收利用,这改变了根际区域微生物的结构与多样性,从而促进人工湿地的反硝化速率以及反硝化基因丰度,对氮素去除的反硝化过程中微生物的作用产生了不容忽视的影响^[37]。但也可以看出,无植物人工湿地基质中 *nirB* 基因丰度大于有植物系统,说明在人工湿地固氮过程中,植物反而产生了负反馈。这是由于植物可以通过光合作用产生氧气,而参与固氮过程的微生物周围氧气浓度越高,对固氮作用的抑制程度就越大,即固氮速率与氧气浓度成反比关系^[38],同时也会影响基质中固氮基因的丰度。

为了深入研究植物对人工湿地系统氮去除机理

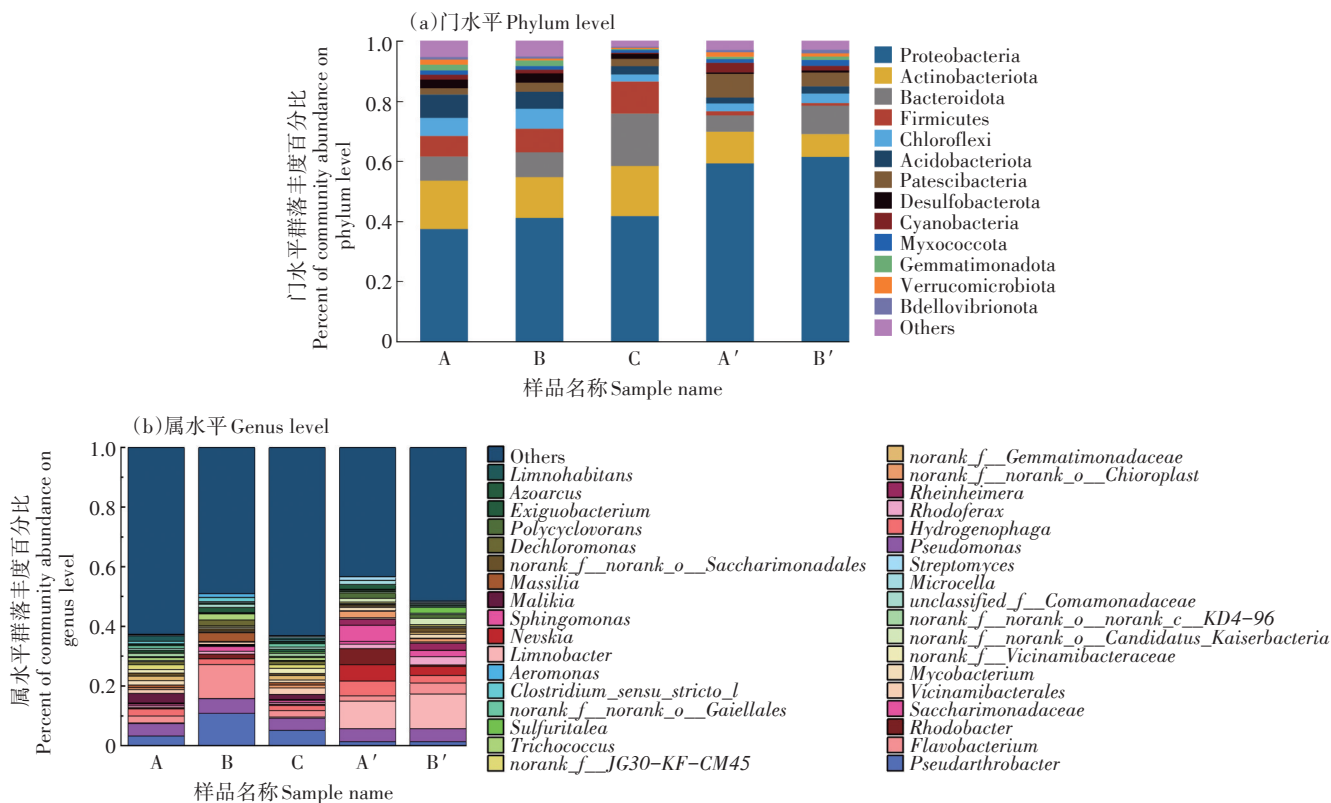


Figure 7 Microbial communities of each sample

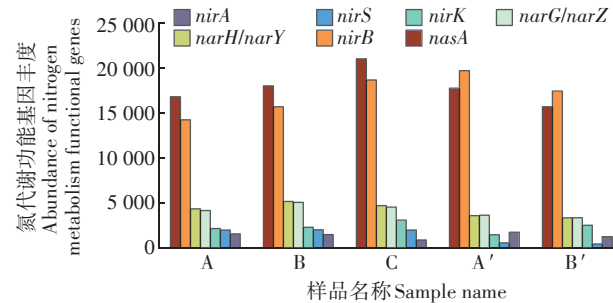


图8 氮代谢功能基因丰度图
Figure 8 Abundance map of functional genes for nitrogen metabolism

的影响,通过高通量技术获得不同处理组的非冗余基因集,将全部基因片段与KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库内氮代谢相关的酶基因信息进行比对,获得氮循环过程中相关功能酶的丰度。在本实验中检测出的氮代谢相关功能酶的具体功能和名称如表4所示。有植物和无植物人工湿地丰度前三的功能酶相同,为硝酸还原酶(EC: 1.7.99.4)、亚硝酸盐还原酶(EC: 1.7.1.15)、谷氨酸脱氢酶(EC: 1.4.1.2)。相比于无植物系统,有植物人工湿地中显著上调了NADP依赖型(谷氨酸脱氢酶,EC: 1.4.1.4)、谷氨酸合酶(铁氧还蛋白,EC: 1.4.7.1)、固氮酶(EC: 1.18.6.1)、一氧化氮还原酶(细胞色素c,EC:

1.7.2.5)、氰化酶(EC: 4.2.1.104)、羟胺还原酶(EC: 1.7.99.1)、亚硝酸盐还原酶(EC: 1.7.2.1)、氨基甲酸激酶(EC: 2.7.2.2)、一氧化二氮还原酶(EC: 1.7.2.4)、铁氧还蛋白-硝酸还原酶(EC: 1.7.7.2)、亚硝酸盐还原酶(细胞色素,氨形成,EC: 1.7.2.2)丰度,表明植物的加入有促进固氮、硝化、反硝化以及异化硝酸盐过程的作用。同时观察到植物根系微生物中的氮代谢相关功能酶丰度与两基质层几乎一致,说明功能酶在整个有植物的湿地中分布均匀,整体氮代谢作用稳定。

3 结论

(1)净化效果最佳的组合为陶粒+煤渣,相比无植物系统,有植物系统的TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N和NO₂⁻-N去除率分别为(41.18±2.61)%、(50.44±2.63)%、(40.93±2.32)%、(74.34±1.97)%,有植物人工湿地具有较好的氮去除效果及反硝化作用。3组有植物人工湿地系统对南海湖水体氮污染物的总体净化效果排序为陶粒+煤渣>陶粒+沸石>沸石+煤渣。无植物系统对南海湖水体氮污染物的净化效果依次为陶粒+沸石>陶粒+煤渣>沸石+煤渣。

(2)基质中¹⁵N绝对丰度值低于植物中的,单位质量植物吸收氮素能力更强。¹⁵N同位素的示踪量化了

表4 微生物群落主要功能酶丰度
Table 4 Abundance of major functional enzymes in microbial communities

酶 Enzyme	酶功能信息 Enzyme function information	A	B	C	A'	B'
6.3.1.2	谷氨酸氨连接酶	71 384.40	73 714.47	70 684.66	73 639.52	68 233.07
1.4.1.13	谷氨酸合酶	55 975.41	57 333.84	57 924.19	58 978.68	56 571.49
4.2.1.1	碳酸盐脱水酶	44 655.23	44 649.79	51 159.28	45 694.54	49 893.29
1.7.99.4	硝酸还原酶	35 142.07	34 920.80	36 286.46	33 870.90	34 120.49
1.7.1.15	亚硝酸还原酶	30 284.16	30 897.07	35 113.52	33 056.94	34 029.65
1.4.1.2	谷氨酸脱氢酶	12 269.75	11 560.94	14 584.99	14 946.78	14 479.53
1.4.1.4	谷氨酸脱氢酶[NADP(+)]	11 055.42	10 808.44	16 788.60	7 243.94	7 095.74
1.4.7.1	谷氨酸合酶	7 341.88	8 656.25	8 674.93	8 916.33	5 522.85
1.18.6.1	固氮酶	8 577.49	10 734.22	9 608.33	1 338.76	1 050.62
1.7.2.5	一氧化氮还原酶	5 322.36	6 157.35	8 570.39	3 694.08	3 131.65
3.5.1.49	犬尿氨酸甲酰胺酶	2 335.90	2 844.39	1 435.59	2 190.01	2 789.05
1.7.2.4	一氧化二氮还原酶	2 876.45	3 266.61	2 662.05	1 190.74	1 334.12
1.7.7.1	铁氧还蛋白-亚硝酸还原酶	1 434.44	1 351.52	932.93	1 752.87	1 315.31
4.2.1.104	氰化酶	3 666.08	4 559.36	2 821.08	6 510.44	7 562.89
1.7.99.1	羟胺还原酶	5 566.87	6 520.93	7 018.58	2 038.89	1 708.15
1.7.2.1	亚硝酸还原酶	4 709.11	4 899.16	5 052.64	2 284.32	2 764.41
1.7.7.2	铁氧还蛋白-硝酸还原酶	1 162.21	1 002.84	1 608.50	1 250.62	850.62
1.7.2.2	亚硝酸还原酶	1 237.42	1 232.81	1 670.66	551.52	899.00
1.7.2.6	羟胺脱氢酶	61.42	49.75	8.00	69.00	71.00
2.7.2.2	氨基甲酸激酶	4 308.99	4 369.97	5 064.42	2 110.47	2 256.99

植物、基质和微生物对人工湿地系统 $\text{NO}_3\text{-N}$ 去除的贡献率分别为 27.74%、48.43% 和 23.83%。在人工湿地建设初期, $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除主要是由上层基质完成; 稳定运行后, $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除主要以微生物为主。

(3) 在有植物人工湿地系统中, 参与氮循环的优势菌门相对丰度较高, 促进系统的脱氮性能。此外, 有植物人工湿地系统基质中的 *nirS* 基因、植物根系的 *nirK* 基因丰度显著增加, 植物有效促进了人工湿地系统中微生物的反硝化能力, 且植物根系微生物中的氮代谢相关功能酶丰度与两基质层几乎一致, 即有植物的湿地中整体氮代谢效果相对稳定。

参考文献:

- [1] 生态环境部. 2022 年中国生态环境状况公报[R]. 北京: 生态环境部, 2023. Ministry of Ecology and Environment of the PRC. China ecological environment status bulletin 2022[R]. Beijing: Ministry of Ecology and Environment of the PRC, 2023.
- [2] 尚韵依, 李治龙, 孙立宇, 等. 湟水河西宁段水体和沉积物中氮素转化关键过程与影响因素分析[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2023, 59(1): 92–104. SHANG Y Y, LI Z L, SUN L Y, et al. Microbial nitrogen transformation key processes and its influencing factors in water and sediment of Xining Section of the Huangshui River[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2023, 59(1): 92–104.
- [3] 冯婧, 贺怀振, 杜新强. 基于证据权重法地下水中氮浓度影响因素分析[J]. 中国环境科学, 2023, 43(1): 153–163. FENG J, HE H Z, DU X Q. Influencing factors of nitrogen concentration in groundwater based on weights of evidence method[J]. *China Environmental Science*, 2023, 43(1): 153–163.
- [4] 叶磊, 李希, 田日昌, 等. 不同植物组合人工湿地中磷去向特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(10): 2409–2419. YE L, LI X, TIAN R C, et al. Characteristics of phosphorus fate in constructed wetlands with different plant combinations[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(10): 2409–2419.
- [5] 翟俊, 戴元贵, 马宏璞, 等. 锰矿石人工湿地中去除双氯芬酸的机理研究[J]. 中国环境科学, 2018, 38(11): 4056–4060. ZHAI J, DAI Y G, MA H P, et al. Mechanisms of diclofenac removal in manganese ore constructed wetland[J]. *China Environmental Science*, 2018, 38(11): 4056–4060.
- [6] 谭佩阳, 侯志勇, 谢永宏, 等. 湿地植物固体碳源养分释放动态及其对人工湿地水体脱氮效率的影响[J]. 湖泊科学, 2022, 34(5): 1562–1569. TAN P Y, HOU Z Y, XIE Y H, et al. Dynamics of nutrient release from solid carbon sources of wetland plants and its effect on the efficiency of nitrogen removal from artificial wetland water bodies[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2022, 34(5): 1562–1569.
- [7] ZHUANG L L, YANG T, ZHANG J, et al. The configuration, purification effect and mechanism of intensified constructed wetland for wastewater treatment from the aspect of nitrogen removal: a review[J]. *Biore-source Technology*, 2019, 293: 122086.
- [8] KATAKI S, CHATTERJEE S, VAIRALE M G, et al. Constructed wetland, an eco-technology for wastewater treatment: a review on types of wastewater treated and components of the technology (macrophyte, bio-film and substrate) [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 283: 111986.
- [9] MENG P, PEI H, HU W, et al. How to increase microbial degradation in constructed wetlands: influencing factors and improvement measures [J]. *Biore-source Technology*, 2014, 157: 316–326.
- [10] 朱翔辉, 张树楠, 彭英湘, 等. 绿狐尾藻湿地对养殖废水中不同污染负荷氮去除效应[J]. 农业工程学报, 2020, 36(19): 217–224. ZHU H X, ZHANG S N, PENG Y X, et al. Effect of *Myriophyllum elatinoides* wetland on nitrogen removal from swine wastewater under different pollution loads[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(19): 217–224.
- [11] 李琳琳, 李荣涛, 孔维静, 等. 曝气人工湿地脱除低污染水中氮的影响因素[J]. 环境科学, 2021, 42(12): 5857–5864. LI L L, LI R T, KONG W J, et al. Influencing factors of nitrogen removal from low-pollution water by aerated constructed wetland[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(12): 5857–5864.
- [12] FU X, YU Z, KONG F, et al. Application of an integrated loach-plant-substrate-microbes non-aerated saturated vertical flow constructed wetlands: mechanisms of pollutants removal and greenhouse gases reduction[J]. *Biore-source Technology*, 2023, 368: 128337.
- [13] 蒋旭瑶, 吉喜燕, 黄德英, 等. 不同植物类型复合垂直流人工湿地根系微生物群落结构的研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(1): 176–183. JIANG X Y, JI X Y, HUANG D Y, et al. Microbial community structure in the roots of three kinds of plants in integrated vertical flow constructed wetlands[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(1): 176–183.
- [14] 胡曼利, 郝庆菊, 马容真, 等. 玉米芯和稻草秸秆强化潜流人工湿地对低 C/N 污水的处理效果[J]. 环境科学, 2022, 43(8): 4136–4145. HU M L, HE Q J, MA R Z, et al. Treatment effect of corn cob and rice straw enhanced subsurface flow constructed wetland on low C/N ratio wastewater[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(8): 4136–4145.
- [15] SPANGLER J T, SAMPLE D J, FOX L J, et al. Assessing nitrogen and phosphorus removal potential of five plant species in floating treatment wetlands receiving simulated nursery runoff[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26: 5751–5768.
- [16] 何强, 陈博文, 杨雨静, 等. 3 种人工湿地基质材料对氨氮的吸附特性[J/OL]. 环境科学: 1–13[2023–11–10]. HE Q, CHEN B W, YANG Y J, et al. Adsorption characteristics of ammonia nitrogen by three kinds of constructed wetland substrate materials[J/OL]. *Environmental Science*, 1–13[2023–11–10].
- [17] 杨隆丽, 马利民, 邓燕婷. 人工湿地的氮稳定同位素特征及污染源解析[J]. 环境工程, 2017, 35(7): 38–42. YANG L L, MA L M, DENG Y T. Nitrogen stable isotope characteristics and pollution sources in the constructed wetland[J]. *Environmental Engineering*, 2017, 35(7): 38–42.
- [18] 吴俊泽. 海水人工湿地系统脱氮的同位素定量分析及其微生物群落探究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019: 36–43. WU J Z. Isotope quantitative analysis and microbial community exploration of nitrogen removal in marine constructed wetland system[D]. Shanghai: Shanghai

- Ocean University, 2019:36-43.
- [19] 李亚静, 朱文玲, 黄柱坚, 等. 垂直流人工湿地脱氮过程的生态动力学模拟与分析[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(4):776-780. LI Y J, ZHU W L, HUANG Z J, et al. Modeling analysis of denitrification dynamics in a vertical flow constructed wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(4):776-780.
- [20] 付子斌, 刘福兴, 王俊力, 等. 基质改良对河岸带芦苇区冬季脱氮效果及土壤-植物化学计量特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(1):166-176. FU Z S, LIU F X, WANG J L, et al. Effects of substrate improvement on nitrogen removal in winter and soil-plant stoichiometric characteristics in reed (*Phragmites australis*) area of a riparian zone[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(1):166-176.
- [21] 曾银金, 许伟斌. 同步脱氮除磷基质应用于人工湿地的研究进展[J]. 湿地科学, 2022, 20(6):852-858. ZENG Y J, XU W B. Research progress on application of substrates for simultaneous nitrogen and phosphorus removal in constructed wetlands[J]. *Wetland Science*, 2022, 20(6):852-858.
- [22] 姚珊, 张璇凌, 蔡雨欣, 等. 分光光度法对白洋淀各形态氮磷分布特征及源解析的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2022, 42(4):1306-1312. YAO S, ZHANG X L, CAI Y X, et al. Study on distribution characteristics of different nitrogen and phosphorus fractions by spectrophotometry in Baiyangdian Lake and source analysis[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2022, 42(4):1306-1312.
- [23] 陈琳, 李晨光, 单欣, 等. 水生态修复植物生物活性评价与应用[J]. 环境科学与技术, 2021, 44(11):159-166. CHEN L, LI C G, SHAN X, et al. Evaluation and application of the bioactivity of aquatic plant in water purification and ecological restoration[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(11):159-166.
- [24] 刘永, 张诗涵, 肖雅元, 等. 红树林人工湿地的脱氮除磷效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8):1788-1799, 1855. LIU Y, ZHANG S H, XIAO Y Y, et al. Efficiency of mangrove wetlands in nitrogen and phosphorus removal from wastewater[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(8):1788-1799, 1855.
- [25] MU X, LV X, LIU W, et al. Biofilms attached to *Myriophyllum spicatum* play a dominant role in nitrogen removal in constructed wetland mesocosms with submersed macrophytes: evidence from N-15 tracking, nitrogen budgets and metagenomics analyses[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266:115203.
- [26] 黄娟, 李瑞, 马溢轩, 等. 微塑料暴露下有/无植物人工湿地脱氮性能的对比[J]. 东南大学学报(自然科学版), 2023, 53(3):504-511. HUANG J, LI R, MA Y X, et al. Comparison of nitrogen removal performance of constructed wetlands with/without plants under exposure of microplastics[J]. *Journal of Southeast University: Natural Science Edition*, 2023, 53(3):504-511.
- [27] 董一慧, 余圣品, 张书缘, 等. 鄱阳湖流域农灌区浅层土壤无机氮分布特征及影响因素分析[J]. 地球与环境, 2023, 51(5):492-504. DONG Y H, YU S P, ZHANG S Y, et al. Distribution of inorganic nitrogen in shallow soils and the influencing factors in the irrigation area of the Poyang Lake Basin[J]. *Earth and Environment*, 2023, 51(5):492-504.
- [28] 林海, 安梦宇, 董颖博, 等. 基于氮磷废水处理的沸石多孔吸附材料制备[J]. 同济大学学报(自然科学版), 2019, 47(1):85-91. LIN H, AN M Y, DONG Y B, et al. Preparation of zeolite porous adsorption material based on nitrogen and phosphorus wastewater treatment[J]. *Journal of Tongji University: Natural Science*, 2019, 47(1):85-91.
- [29] LI C, LI S L, YUE F J, et al. Identification of sources and transformations of nitrate in the Xijiang River using nitrate isotopes and Bayesian model[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 646:801-810.
- [30] 李瑜婷, 鲍文秀, 张闻, 等. 根系分泌物对生物强化修复PAHs污染土壤的影响[J]. 中国环境科学, 2023, 43(8):4183-4193. LI Y T, BAO W X, ZHANG W, et al. Effects of root exudates on bioremediation of PAHs contaminated soil[J]. *China Environmental Science*, 2023, 43(8):4183-4193.
- [31] 崔中利, 叶现丰, 张宇, 等. 根际微生物组组装与植物健康[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(6):1-9. CUI Z L, YE X F, ZHANG Y, et al. The rhizosphere microbiome assembly and plant health[J]. *Journal of Microbiology*, 2022, 42(6):1-9.
- [32] ZHU W T, ZHANG X H, YUAN S C, et al. Effects of different aeration strategies on removal of organics, nitrogen and phosphorus in sequencing batch biofilm reactor (SBBR): performance, microbial community and nitrogen cycling pathways[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2022, 49:103118.
- [33] 郭巨先, 李桂花, 符梅, 等. 微生物有机肥对芋头产量品质性状及土壤微生物类群的影响[J]. 中国农学通报, 2023, 39(3):20-27. GUO J X, LI G H, FU M, et al. Effects of microbial organic fertilizers on yield and quality of taro and soil microbial populations[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, 39(3):20-27.
- [34] 张娜, 朱艳, 肖娴, 等. 沼泽红假单胞菌与枯草芽孢杆菌混施对水稻根域细菌多样性与功能的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(1):58-71. ZHANG N, ZHU Y, XIAO X, et al. Effects of co-inoculation of *Rhodopseudomonas palustris* and *Bacillus subtilis* on the diversity and function of soil bacteria in rice root zone[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(1):58-71.
- [35] LI J, WANG J T, HU H W, et al. Changes of the denitrifying communities in a multi-stage free water surface constructed wetland[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650(1):1419-1425.
- [36] GUYONNET J P, VAUTRIN F, MEIFFREN G, et al. The effects of plant nutritional strategy on soil microbial denitrification activity through rhizosphere primary metabolites[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(4):1.
- [37] 刘丹丹, 李正魁, 叶忠香, 等. 伊乐藻和氮循环细菌技术对太湖氮素吸收和反硝化的影响[J]. 环境科学, 2014, 35(10):3764-3768. LIU D D, LI Z K, YE Z X, et al. Nitrogen uptake and denitrification study on the joint treatment of aquatic vegetation and immobilized nitrogen cycling bacteria in Taihu Lake[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(10):3764-3768.
- [38] 李双青, 肖燕, 王鑫威, 等. 固氮蓝细菌束毛藻生物固氮策略研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(8):3606-3619. LI S Q, XIAO Y, WANG X W, et al. Progress in the nitrogen fixation strategy of *Trichodesmium*[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(8):3606-3619.

(责任编辑:叶飞)