

三种湿地植物在高负荷养猪废水脱氮过程中的根际效应

夏梦华, 刘铭羽, 叶磊, 李希, 李裕元, 吴金水

引用本文:

夏梦华, 刘铭羽, 叶磊, 李希, 李裕元, 吴金水. 三种湿地植物在高负荷养猪废水脱氮过程中的根际效应[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 896–905.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0806>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同植物组合人工湿地中磷去向特征研究

叶磊, 李希, 田日昌, 吴凤平, 孟岑, 夏梦华, 郭宁宁, 凡翔, 李裕元, 王辉

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2409–2419 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0761>

氟磺胺草醚及其降解菌对大豆生长及生物固氮的影响

周聪, 陈未, 高岩, 施曼, 李江叶, 刘丽珠, 陈金林

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2660–2668 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0264>

六氯苯胁迫对干湿交替运行人工湿地典型植物根系分泌物的影响

张翠萍, 王蓓, 李淑英, 卢国理, 朱春蓉, 周元清

农业环境科学学报. 2017, 36(2): 362–368 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1090>

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响

王慧敏, 陈莉荣, 任文杰, 郑春丽, 黄怡雯, 滕应, 张铁军

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2647–2659 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0332>

湿地植物香蒲根系抗氧化酶活性和根系分泌物对阿特拉津胁迫的响应

武淑文, 侯磊, 刘云根, 范黎明, 叶敏

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2751–2760 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0205>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

夏梦华, 刘铭羽, 叶磊, 等. 三种湿地植物在高负荷养猪废水脱氮过程中的根际效应[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(4): 896–905.

XIA M H, LIU M Y, YE L, et al. Rhizosphere effect of three types of macrophytes during nitrogen removal process of high-loaded swine wastewater[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2024, 43(4): 896–905.



开放科学 OSID

三种湿地植物在高负荷养猪废水脱氮过程中的根际效应

夏梦华^{1,2}, 刘铭羽^{1,2}, 叶磊³, 李希^{1*}, 李裕元¹, 吴金水¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 湖南农业大学工学院, 长沙 410128)

摘要: 为了探究不同湿地植物在处理高负荷养猪废水时的根际效应, 本研究通过野外小区控制试验, 以3种常见的挺水植物美人蕉(*Canna indica*)、梭鱼草(*Pontederia cordata*)、黄菖蒲(*Iris pseudacorus*)为研究对象构建表流人工湿地, 研究人工湿地植物根系分泌物与根际氮循环微生物之间的关系。结果显示, 梭鱼草对养猪废水的处理效果最好, 氨氮、硝氮和总氮的去除率分别为78.3%、93.4%和81.2%。与试验前相比, 梭鱼草和黄菖蒲根系可溶性有机碳(DOC)分泌速率在试验后分别增加了44.9%和13.5%; 根系总有机酸(TOA)分泌速率分别增加了125.1%和147.5%。在处理养猪废水后, 3种植物根际硝化过程氨氧化细菌(AOB)占主导地位, AOB-*amoA*基因丰度在黄菖蒲根际土中最高, 为 2.6×10^8 copies·g⁻¹; 反硝化过程*nirK*基因占主导地位, *nirK*基因丰度在梭鱼草根际土中最高, 为 4.3×10^8 copies·g⁻¹。同时, 3种植物根际均存在较明显的厌氧氨氧化过程, *hzsB*基因丰度在梭鱼草根际土中最高, 为 2.6×10^7 copies·g⁻¹。研究表明, 根系分泌DOC和TOA可促进根际氮循环微生物的生长繁殖, 进而提高人工湿地系统的脱氮能力。3种植物中梭鱼草生物量较大, 根系分泌能力较强, 在养猪废水的生态修复方面具有更高的应用潜力。

关键词: 养猪废水; 人工湿地; 氮; 根系分泌物; 根际微生物

中图分类号: X713; X173 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2024)04-0896-10 doi:10.11654/jaes.2023-0806

Rhizosphere effect of three types of macrophytes during nitrogen removal process of high-loaded swine wastewater

XIA Menghua^{1,2}, LIU Mingyu^{1,2}, YE Lei³, LI Xi^{1*}, LI Yuyuan¹, WU Jinshui¹

(1. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Changsha 410125, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Engineering, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: To explore the rhizosphere effect of different macrophytes during treating high-loaded swine wastewater, we built the surface flow constructed wetlands (CWs) planted with three different types of emergent plants (*Canna indica*, *Pontederia cordata*, and *Iris pseudacorus*). Through a controlled field experiment, the relationships between root exudates and rhizosphere nitrogen cycle-related microorganisms were investigated. The results suggested that the CW planted with *P. cordata* was more effective in treating swine wastewater, and the removal efficiencies of ammonia, nitrate, and total nitrogen were 78.3%, 93.4%, and 81.2%, respectively. Compared to before the experiment, the dissolved organic carbon (DOC) secretion rates of *P. cordata* and *I. pseudacorus* root increased by 44.9% and 13.5%, respectively, while total organic acids (TOA) secretion rates of *P. cordata* and *I. pseudacorus* root increased by 125.1% and 147.5%, respectively, after the experiment. After treating swine wastewater, the CW system nitrification was dominated by ammonia-oxidizing bacteria (AOB), and the highest abundance of AOB-*amoA* gene was found in *I. pseudacorus* rhizosphere soil at 2.6×10^8 copies·

收稿日期: 2023-10-02 录用日期: 2024-01-29

作者简介: 夏梦华(1994—), 女, 陕西西安人, 博士研究生, 主要研究方向为流域农田环境工程。E-mail: 1273725576@qq.com

*通信作者: 李希 E-mail: lixi@isa.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(42077215); 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30765); 郴州国家可持续发展议程创新示范专项(2022sfq02)

Project supported: National Natural Science Foundation of China (42077215); Natural Science Foundation of Hunan Province, China (2021JJ30765); Chenzhou National Sustainable Development Agenda Innovation Demonstration Project(2022sfq02)

g^{-1} . The denitrification was dominated by *nirK* gene, and the highest abundance of *nirK* gene was found in *P. cordata* rhizosphere soil at 4.3×10^8 copies $\cdot \text{g}^{-1}$. Anammox was also present in the rhizosphere, and the highest abundance of *hzsB* gene was found in *P. cordata* rhizosphere soil at 2.6×10^7 copies $\cdot \text{g}^{-1}$. The study demonstrated that the root secretion of DOC and TOA could stimulate the growth and reproduction of rhizosphere nitrogen cycle-related microorganisms. Moreover, they could improve the nitrogen removal efficiency in CW systems. Among the three plants, *P. cordata* had larger biomass and stronger root secretion ability, which had a higher application potential in ecological restoration of swine wastewater.

Keywords: swine wastewater; constructed wetland; nitrogen; root exudate; rhizosphere microorganism

农业面源污染已成为制约农业经济和农村生态环境可持续发展的主要因素^[1]。其中,畜禽养殖废水因排水时间较为集中,污染负荷较高等原因,难以快速地控制和利用。目前,养殖废水处理技术主要包括二级处理工艺(预处理+活性污泥法/生物膜法)^[2-3]和生态环境工程法^[4],生态环境工程投资相对较少,且资源回收利用率较高,因此更受利润较低且易受市场影响的中小型养殖企业青睐^[2]。其中人工湿地组合模式较多,可满足不同的污染消纳需求^[3],因此应用前景更加广泛。

人工湿地对污水中氮的去除依靠微生物、植物和填料基质间的协同作用^[5],微生物作用目前被认为是人工湿地中最主要的脱氮机制,氮脱除量可达到系统总量的43%~95%^[6-10],植物同化贡献率约为0.5%~60%^[11]。除了直接吸收氮素以外,植物根系还可以向根际释放分泌物,根分泌物不仅可以诱导和刺激根际特定菌群的生长^[12],还可以作为有效碳源被根际微生物利用^[13],从而使根际微生物的丰度及种类远高于非根际^[14],进而影响湿地的脱氮过程及脱氮效果。例如Zhai等^[15]研究显示,在低污染负荷的潜流人工湿地中,植物根系分泌物可能会使反硝化速率增加94~267 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ (以N计); Salvato等^[16]发现香蒲(*Typha orientalis*)和芦苇(*Phragmites australis*)根系能分泌更多的溶解性有机碳,反硝化率分别达到37%和34%,显著高于其他试验植物; Wu等^[17]研究表明根系分泌的低分子量有机碳能显著提高根际反硝化基因(*nirS*和*nirK*)的丰度; Gu等^[18]研究表明水生植物的存在有利于氨氧化菌的生长繁殖。

目前关于湿地植物根系分泌物的释放速率与种类对湿地系统氮去除效果及根际微生物群落组成影响的研究已较多,但是在污染负荷较高的养猪废水中植物根系分泌物的释放特征及其对根际脱氮过程影响的研究还较少。已有研究表明绿狐尾藻(*Myriophyllum elatinoides*)^[19]、凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)^[20]和美人蕉(*Canna indica*)^[21]等水生植物可在高负荷养

猪废水中正常存活且脱氮效果可观,表明利用水生植物构建人工湿地治理养猪废水具有可行性。基于此,本文通过野外小区控制试验,综合考虑耐受性及生长特性后,选择美人蕉、梭鱼草(*Pontederia cordata*)和黄菖蒲(*Iris pseudacorus*)3种挺水植物为试验对象,构建表面流人工湿地,研究3种湿地植物在处理养猪废水过程中根系分泌物对根际氮循环功能基因丰度的影响,以期揭示湿地植物根际脱氮机理,探寻提高人工湿地脱氮能力的途径,为高负荷养猪废水的生态修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验区位于中国科学院长沙农业环境观测站(28°33′4.01″N, 113°20′4.75″E),属亚热带季风气候,四季分明,年平均气温17℃,年平均降雨量1470 mm,年平均无霜期为260 d。试验期间月平均温度21℃,月平均降雨量100 mm。

1.2 试验材料

试验所用养猪废水取自长沙县开慧镇锡福村某猪场,猪场占地面积约为5800 m^2 ,生猪存栏量约为1500头。废水为经过厌氧处理的沼液,其总氮浓度为294 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。试验所选植物为当地较为典型且萌蘖能力较强的挺水植物,幼苗购于附近花卉市场,挑选株高大致相同且生长状态良好的植株作为试验材料。小区内填料基质选用当地典型水稻土,土壤砂粒(>0.05 mm)含量为42%,黏粒(<0.002 mm)含量为10%,质地为粉砂壤^[22],土壤pH为5.2,全氮、全磷、全钾和总有机质含量分别为1.2、0.4、22.5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和18.3 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.3 试验设计

试验时间为2018年9—11月,为野外小区控制试验,共4组处理,分别为美人蕉、梭鱼草、黄菖蒲植物组及无植物对照组,每组设置3次重复,共12个试验小区,小区长80 cm、宽50 cm、深40 cm。为使小区正

常排水,在一侧墙壁距池底 28 cm 的位置开两个半径为 1 cm 的排水孔。小区内定植基质(水稻土)填装厚度为 12 cm,且均已均质过筛(3 mm),每个小区种植幼苗 15 丛,并控制其鲜质量保持一致(约 1.6 kg)。缓慢加入清水至刚刚淹没土壤,稳定 10 d。待植物生长稳定后一次性加废水至排水孔处,记作试验正式开始的第 1 天,后使用两台蠕动泵(LabV3)从储水桶向 12 个试验小区同时泵入废水,进水流速均为 $6.33 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,全天不间断供水,共运行 56 d。各小区进水量为 $9.14 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$,即人工湿地表面水力负荷为 $0.02 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,水力停留时间为 7 d^[19],试验期间根据自然状况定期加水以补充因蒸散发而损失的水分。

1.4 取样与检测

分别在人工湿地运行的第 8、16、24、32、40、48 天和 56 天采集水样,共采集 7 次,沿小区对角线取 3 份水样,混合后储于 100 mL 塑料瓶中,同时采集储水桶中原液,过滤(0.45 μm)后取上清液待测。铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)使用 AA3 流动分析仪直接测定(德国 seal),总氮(TN)采用碱性过硫酸钾消解后使用 AA3 流动分析仪测定。使用便携式水质分析仪(美国 HQ40d)测定水温(T)、pH 及溶解氧(DO)。

分别于试验前(稳定期后,养猪废水添加前)和试验后(培养 56 d)对分泌物和根际微生物进行收集。每个小区选择 2 株生长较好且具有代表性的植株,测定植株高后将植物样品带底泥切出,装在灭菌袋中,低温保存并快速送回实验室。清理根系附着的大量底泥后,用玻璃棒将根际土轻轻刮下,用锡纸包裹后放入纱网袋中 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存。底泥样品中微生物 DNA 用 DNeasy PowerSoil kit(德国 QIAGEN)试剂盒提取,用 NanoDrop 核酸蛋白测定仪(美国 Thermo)测定 DNA 浓度。分别以 16S rRNA、氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的氨单加氧酶编码基因(*amoA*)、亚硝酸盐还原酶编码基因(*nirK*、*nirS*)和联氨合成酶编码基因(*hzsB*)为目的基因进行 qPCR(美国 Roche)扩增。对含有目的基因且浓度已知的质粒载体进行梯度稀释,制备成标准曲线,将标准曲线及样品同时置于 384 孔板中进行扩增,默认标准曲线 R^2 大于 0.99,目的基因扩增效率在 90%~110% 时数据可用。扩增体系为 10 μL ,其中 DNA 样品 1 μL ,上下游引物 0.4 μL ,Takara SYBR Premix Ex Taq(2 $\times$)5 μL ,用灭菌去离子水补足 10 μL 。qPCR 反应条件:95 $^\circ\text{C}$ 预变性 2 min;随后 95 $^\circ\text{C}$ 变性 5 s;57 $^\circ\text{C}$ 退火 20 s;72 $^\circ\text{C}$ 延伸 20 s。反应共进行 40 个循环,具体引物信息见表 1。

表 1 目的基因 qPCR 引物信息

Table 1 Primers of target genes used in qPCR

基因名称 Gene	引物名称 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence	参考文献 Reference
16S rRNA	338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	[23]
	806R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	
AOA- <i>amoA</i>	Arch- <i>amoA</i> F	STAATGGTCTGGCTTAGACG	[24]
	Arch- <i>amoA</i> R	GCGGCCATCCATCTGTATGT	
AOB- <i>amoA</i>	<i>amoA</i> -1F	GGGGTTTCTACTGTTGGT	[24]
	<i>amoA</i> -2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	
<i>nirK</i>	<i>nirK</i> -876F	ATYGGCGGVAYGGCGA	[24]
	<i>nirK</i> -1040R	GCCTCGATCAGRTTGTGTT	
<i>nirS</i>	<i>nirS</i> -cd3aF	GTSAACGTSAAAGGARACSGG	[25]
	<i>nirS</i> -R3cd	GASTTCGGRTGSGTCTTGA	
<i>hzsB</i>	HSBeta396F	ARGGHTGGGGHAGYTGGAAG	[26]
	HSBeta742R	GTYCCHACRTCATGVTCTG	

取完根际土后,用超纯水将植物根系表面清洗干净,再用滤纸吸干表面水分,放入 0.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 培养液中(已灭菌)室温培养 24 h,培养结束后采集 100 mL 培养液,过 0.45 μm 有机相滤膜(Nylon 材质)纯化后使用有机碳分析仪(日本 岛津)测定培养液中溶解性有机碳(DOC)含量。再取一份 50 mL 培养液,冷冻干燥至近干后过 0.22 μm 有机相滤膜纯化,用高效液相色谱仪(美国 Agilent)测定培养液中乙酸(AA)、柠檬酸(CA)、琥珀酸(SA)及丙二酸(MA)的含量,4 种有机酸(OA)含量总和计为总有机酸(TOA)含量。收集完分泌物后将植物在 80 $^\circ\text{C}$ 下烘干至质量恒定,记录植株生物量及根系生物量。植物体内全氮含量经 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解后使用 AA3 流动分析仪测定。

1.5 数据计算与分析

人工湿地中污染物去除效率计算公式:

$$R=(C_0-C)/C_0\times 100$$

式中, R 为去除效率,%; C_0 为试验期间人工湿地的平均进水浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C 为试验期间人工湿地的平均出水浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

根系 DOC 或 OA 分泌速率计算公式:

$$v_e=C_e\times V_e/m_r/t$$

式中, v_e 为分泌速率, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; C_e 为培养液中 DOC 或不同种类 OA 的含量, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; V_e 为培养液体积,mL; m_r 为根系干质量,g; t 为培养时间,h。

根系 TOA 分泌速率计算公式:

$$v_{\text{toa}}=C_{\text{toa}}\times V_e/m_r/t$$

式中, v_{toa} 为分泌速率, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; C_{toa} 为培养液中 4 种有机酸含量总和, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

目的基因丰度计算公式:

$$A_g = C_s \times n \times V_w / m_s$$

式中, A_g 为目的基因丰度, $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$; C_s 为根据标准曲线计算出的扩增体系中目的基因拷贝数, $\text{copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$; n 为样品稀释倍数; V_w 为 DNA 提取完成后的最终定容体积, μL ; m_s 为底泥干质量, g 。

采用 Excel 2010 进行数据分析; 采用 SPSS 22 进行单因素方差分析, 差异显著 ($P < 0.05$) 则进一步进行多重比较; 采用 R 语言 4.1.3 中的 ggplot2 包绘制柱状图, corrplot 包绘制 Pearson 相关性热图。

2 结果与分析

2.1 养猪废水脱氮特征

试验期间人工湿地系统中水温呈下降趋势, 变化范围为 $14.3 \sim 27.5^\circ\text{C}$, 与气温 ($13.7 \sim 30.7^\circ\text{C}$) 变化趋势一致, 不同处理间水温无显著差异 ($P > 0.05$), 详见表 2。水体呈微碱性, 植物处理组 pH 均值为 7.7, 对照组 pH 均值为 8.1, 植物处理组 pH 显著低于对照组 ($P < 0.05$)。水体中 DO 含量偏低, 植物处理组 DO 均值为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对照组 DO 均值为 $0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 植物处理组 DO 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。试验期间 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 TN 进水浓度变化范围分别为 $127.0 \sim 384.8$ 、 $0.2 \sim 1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $170.0 \sim 429.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 养猪废水中 N 的主要形态为 NH_4^+-N , NO_3^--N 含量极低。植物处理组对 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 TN 的平均去除率分别为 68.3%、81.6% 和 71.4%, 出水浓度为 62.6 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $71.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 效果均显著优于对照组 ($P < 0.05$)。试验期间梭鱼草处理脱氮效果最好。

2.2 根际氮循环功能基因的定量分析

试验期间人工湿地系统中 AOB-*amoA* 基因丰度显著高于 AOA-*amoA* ($P < 0.05$), 详见图 1, 表明湿地系统中氨氧化过程 AOB 占主导地位。植物组根际土中 AOB-*amoA* 基因丰度为 $2.8 \times 10^7 \sim 2.6 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 对照组中为 $7.1 \times 10^6 \sim 1.6 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 根际土中 AOB-*amoA* 基因丰度显著高于非根际土 ($P < 0.05$)。4 组处理中 AOB-*amoA* 基因丰度试验前为 $7.1 \times 10^6 \sim 5.1 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 试验后为 $1.6 \times 10^7 \sim 2.6 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 试验后 AOB-*amoA* 基因丰度显著高于试验前 ($P < 0.05$)。AOB-*amoA* 基因丰度在黄菖蒲处理中最高, 试验前为 $5.1 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 试验后为 $2.6 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

试验期间人工湿地系统中 *nirK* 基因丰度显著高于 *nirS* ($P < 0.05$), 可见根际 NO_2^--N 还原过程主要靠 *nirK* 编码的还原酶催化转化。试验期间 *nirK* 基因丰度

表 2 养猪废水脱氮特征

Table 2 Characteristics of nitrogen removal of swine wastewater

处理名称 Name of treatment	测定指标 Index	进水 Inlet	出水 Outlet	去除率 Removal efficiency
黄菖蒲	NH_4^+-N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$202.4 \pm 83.4\text{a}$	$67.4 \pm 22.9\text{bc}$	$65.8 \pm 3.4\text{b}$
	NO_3^--N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.6 \pm 0.6\text{a}$	$0.1 \pm 0.1\text{b}$	$83.1 \pm 5.0\text{b}$
	TN 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$252.8 \pm 83.5\text{a}$	$73.3 \pm 24.3\text{bc}$	$70.9 \pm 2.3\text{b}$
梭鱼草	NH_4^+-N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$202.4 \pm 83.4\text{a}$	$42.5 \pm 13.4\text{c}$	$78.3 \pm 3.0\text{a}$
	NO_3^--N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.6 \pm 0.6\text{a}$	$0.1 \pm 0.1\text{b}$	$93.4 \pm 1.7\text{a}$
	TN 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$252.8 \pm 83.5\text{a}$	$47.3 \pm 15.0\text{c}$	$81.2 \pm 2.3\text{a}$
美人蕉	NH_4^+-N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$202.4 \pm 83.4\text{a}$	$77.8 \pm 27.7\text{b}$	$60.9 \pm 2.8\text{b}$
	NO_3^--N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.6 \pm 0.6\text{a}$	$0.2 \pm 0.2\text{b}$	$68.3 \pm 5.5\text{c}$
	TN 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$252.8 \pm 83.5\text{a}$	$94.5 \pm 27.9\text{b}$	$62.2 \pm 3.5\text{c}$
对照	NH_4^+-N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$202.4 \pm 83.4\text{a}$	$142.0 \pm 55.4\text{a}$	$28.8 \pm 11.4\text{c}$
	NO_3^--N 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.6 \pm 0.6\text{a}$	$0.4 \pm 0.4\text{a}$	$34.4 \pm 9.1\text{d}$
	TN 浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$252.8 \pm 83.5\text{a}$	$172.8 \pm 53.6\text{a}$	$30.8 \pm 9.9\text{d}$
黄菖蒲	T/ $^\circ\text{C}$	$21.1 \pm 3.8\text{a}$	$20.1 \pm 3.8\text{a}$	—
	pH	$8.2 \pm 0.3\text{a}$	$7.8 \pm 0.2\text{b}$	—
	DO/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.3 \pm 0.1\text{a}$	$1.3 \pm 0.2\text{a}$	—
梭鱼草	T/ $^\circ\text{C}$	$21.1 \pm 3.8\text{a}$	$19.8 \pm 3.7\text{a}$	—
	pH	$8.2 \pm 0.3\text{a}$	$7.7 \pm 0.2\text{b}$	—
	DO/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.3 \pm 0.1\text{a}$	$1.3 \pm 0.1\text{a}$	—
美人蕉	T/ $^\circ\text{C}$	$21.1 \pm 3.8\text{a}$	$20.6 \pm 3.7\text{a}$	—
	pH	$8.2 \pm 0.3\text{a}$	$7.7 \pm 0.2\text{b}$	—
	DO/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.3 \pm 0.1\text{a}$	$1.0 \pm 0.1\text{b}$	—
对照	T/ $^\circ\text{C}$	$21.1 \pm 3.8\text{a}$	$20.9 \pm 3.9\text{a}$	—
	pH	$8.2 \pm 0.3\text{a}$	$8.1 \pm 0.3\text{a}$	—
	DO/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$0.3 \pm 0.1\text{a}$	$0.7 \pm 0.1\text{c}$	—

注: 数据为平均值 $\pm$ 标准差 ($n=21$)。不同小写字母表示同一指标不同处理间统计差异显著, $P < 0.05$ 。

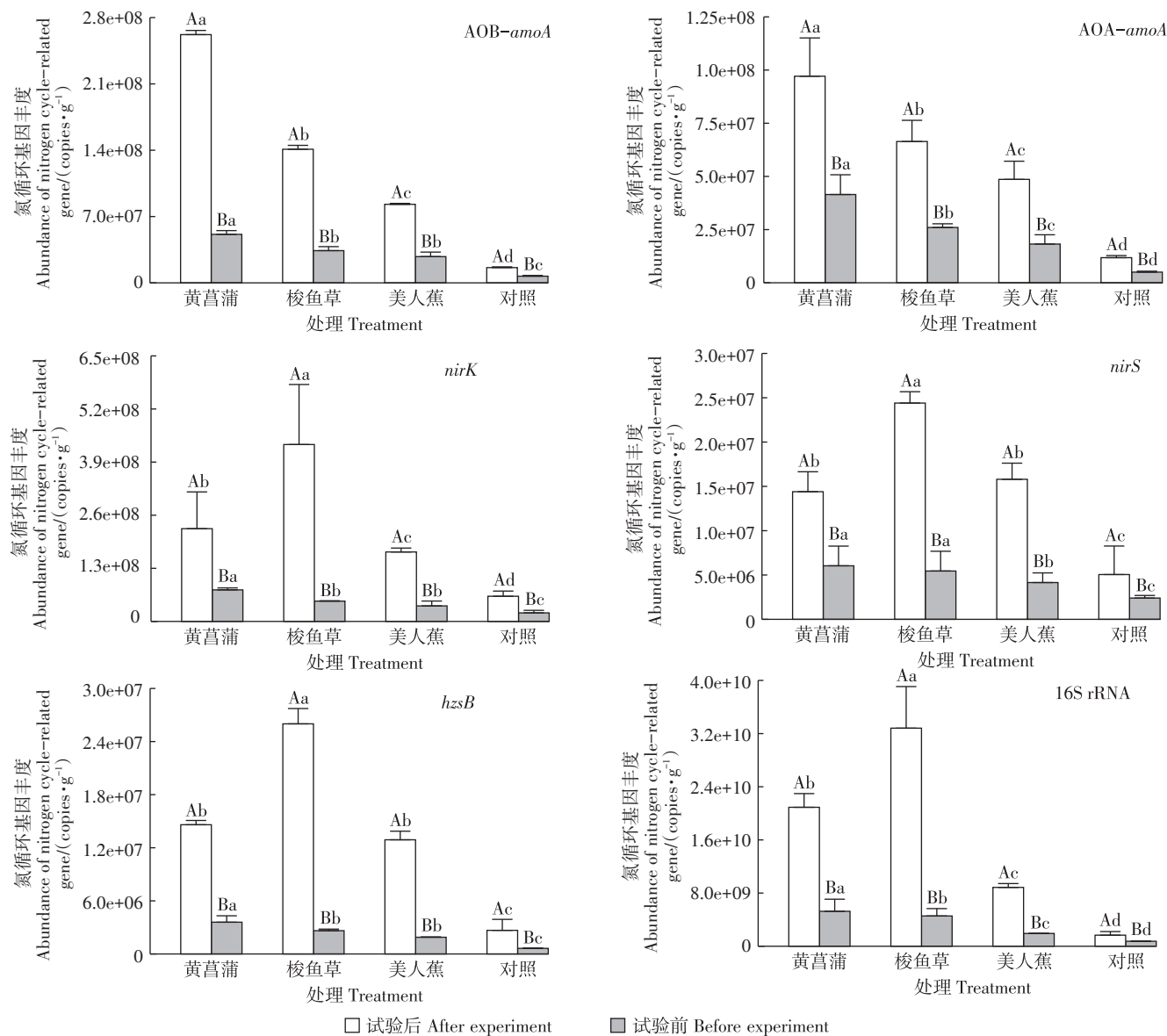
Note: Data are mean $\pm$ standard deviation ($n=21$). Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments in each index ($P < 0.05$).

变化范围为 $2.1 \times 10^7 \sim 4.3 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 同样地, 根际土中 *nirK* 基因丰度显著高于非根际土 ($P < 0.05$), 试验后 *nirK* 基因丰度显著高于试验前 ($P < 0.05$)。 *nirK* 基因丰度试验前在黄菖蒲处理中最高, 为 $7.7 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$; 试验后在梭鱼草处理中最高, 为 $4.3 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

试验期间 *hzsB* 基因丰度变化范围为 $6.4 \times 10^5 \sim 2.6 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 说明在植物根际也存在较明显的厌氧氨氧化反应。

2.3 植物根系分泌物释放特征

试验前后受试植物生理状况如表 3 所示, 可见梭鱼草生物量较大, 黄菖蒲根系较发达。试验前植物根系 DOC 分泌速率黄菖蒲 $>$ 美人蕉 $>$ 梭鱼草 (图 2), 分别为 185.8 、 $170.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $143.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 黄菖蒲与梭鱼草根根系 DOC 分泌速率差异极显著



不同小写字母表示同一试验阶段不同处理间统计差异显著, $P < 0.05$; 不同大写字母表示同一处理在不同试验阶段统计差异显著, $P < 0.05$ 。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments at the same experimental period ($P < 0.05$); different capital letters indicate significant differences between different experimental periods for the same treatment ($P < 0.05$). The same below.

图1 试验前后根际氮循环功能基因丰度

Figure 1 Abundance of nitrogen cycle-related genes in different treatments during the experimental period

($P < 0.01$); 试验后分泌速率为黄菖蒲>梭鱼草>美人蕉, 分别为 210.9 、 207.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 148.8 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 黄菖蒲、梭鱼草与美人蕉根系 DOC 分泌速率差异极显著 ($P < 0.01$)。黄菖蒲和梭鱼草根系 DOC 分泌速率在试验后显著升高, 美人蕉则是显著降低 ($P < 0.05$)。培养液中 DOC 浓度试验前在美人蕉处理中最高, 为 8.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 试验后在黄菖蒲处理中最高, 为 40.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 培养液中 DOC 浓度与根系生物量呈正相关 ($P < 0.05$)。

试验前在美人蕉和梭鱼草根际检测出 AA、CA 和

MA, TOA 分泌速率分别为 27.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 16.7 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 黄菖蒲根际检测出 AA 和 CA, TOA 分泌速率为 35.6 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 如图 3 所示。试验后三种植物根际均新增检测出 SA, 黄菖蒲和梭鱼草根系 TOA 分泌速率试验后显著高于试验前 ($P < 0.05$), 分别为 88.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 37.6 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 而美人蕉根系 TOA 分泌速率试验后显著低于试验前 ($P < 0.05$), 为 9.8 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。试验期间黄菖蒲根系 TOA 分泌能力最强, 梭鱼草根系分泌有机酸的种类最多, 且 CA、SA 和 MA 的分泌能力均较强。

表3 试验前后受试植物生理状况
Table 3 Plant physiological status during experimental period

试验阶段 Experimental period	处理 Treatment	株高 Plant height/cm	植株干质量 Plant dry weight/g	根系干质量 Root dry weight/g	全氮含量 Nitrogen content of plant/(g·kg ⁻¹)
试验前	黄菖蒲	60.03±4.88Ba	14.33±1.80Ba	0.15±0.01Bb	11.24±1.39Bb
	梭鱼草	60.51±5.07Ba	10.42±1.03Bb	0.16±0.03Bb	21.49±2.37Ba
	美人蕉	60.23±4.84Ba	9.34±0.61Bb	0.26±0.04Ba	10.31±0.54Bb
试验后	黄菖蒲	126.41±14.79Ab	27.22±2.18Ab	3.40±0.32Aa	29.63±0.91Ab
	梭鱼草	141.43±15.09Aa	31.59±2.01Aa	3.13±0.92Aa	35.26±1.86Aa
	美人蕉	88.27±11.34Ac	20.57±1.66Ac	1.05±0.16Ab	27.53±2.36Ab

注:数据为平均值±标准差($n=6$)。不同小写字母表示同一试验阶段不同处理间统计差异显著, $P<0.05$;不同大写字母表示同一处理不同试验阶段统计差异显著, $P<0.05$ 。

Note: Data are mean ± standard deviation ($n=6$). Different lowercase letters indicate significant differences among different treatment at the same experimental period ($P<0.05$); different capital letters indicate significant differences between different experimental periods for the same treatment ($P<0.05$).

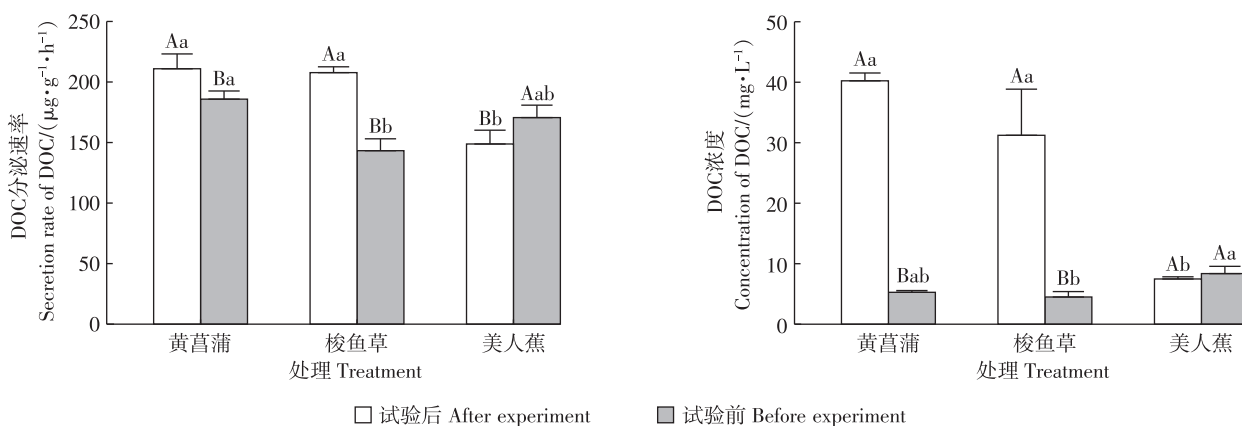


图2 三种挺水植物试验前后根系溶解性有机碳分泌情况

Figure 2 Secretion status of dissolved organic carbon in the root of different emergent plants during experimental period

2.4 根分泌物与氮循环功能基因丰度的相关性

植物根系分泌物释放速率与根际氮循环基因丰度的 Pearson 相关性分析如图 4 所示,结果表明根系 DOC 分泌速率与 5 种氮循环功能基因丰度均呈正相关($P<0.05$),可见根系分泌 DOC 对根际硝化菌、反硝化菌及厌氧氨氧化菌的生长有着促进作用。TOA 分泌速率与 AOA 和 AOB 基因丰度呈显著正相关($P<0.01$),表明根系分泌 TOA 对硝化菌的生长影响更大。CA、SA 也与 5 种氮循环功能基因丰度均呈正相关($P<0.05$),可见有机酸种类不同,对根际氮循环微生物的影响也不同。

3 讨论

3.1 影响养猪废水脱氮特征的主要因素

试验期间植物处理组 pH 显著低于对照组,这是因为相比于对照组,植物处理组脱氮效果更好, NH_4^+-N 浓度相对较低;再者,植物根系有机酸等物质的分泌、

微生物转化脱氮等生理活动也会对水体 pH 产生一定影响。湿地系统内水体 DO 含量整体较低可能是因为微生物在分解有机污染物的过程中消耗了溶解的氧气。缺氧环境有利于反硝化过程的进行,因此水体中 NO_3^--N 浓度整体较低。植物处理组中 DO 含量明显高于对照组,除了可能因为其对污染物的去除效果更好,致使大气复氧速率增强以外,还可能因为植物根系具有泌氧能力^[27-28]。

试验期间植物处理组对 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 TN 的去除效果均高于无植物对照组,与阳光等^[29]研究结果一致,这是因为植物可以吸收废水中的氮以供自身生长,研究表明 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 及溶解态有机氮均能被直接被植物吸收^[30]。再者,植物根系可以为微生物提供一个更适宜生长的环境,加快根际的氮转化进程^[31]。先前已发表的关于养猪废水中氮去向的研究表明在 3 种植物构建的人工湿地系统中,微生物转化途径脱氮量为 $1.9\sim 2.7\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$,显著高于对照组

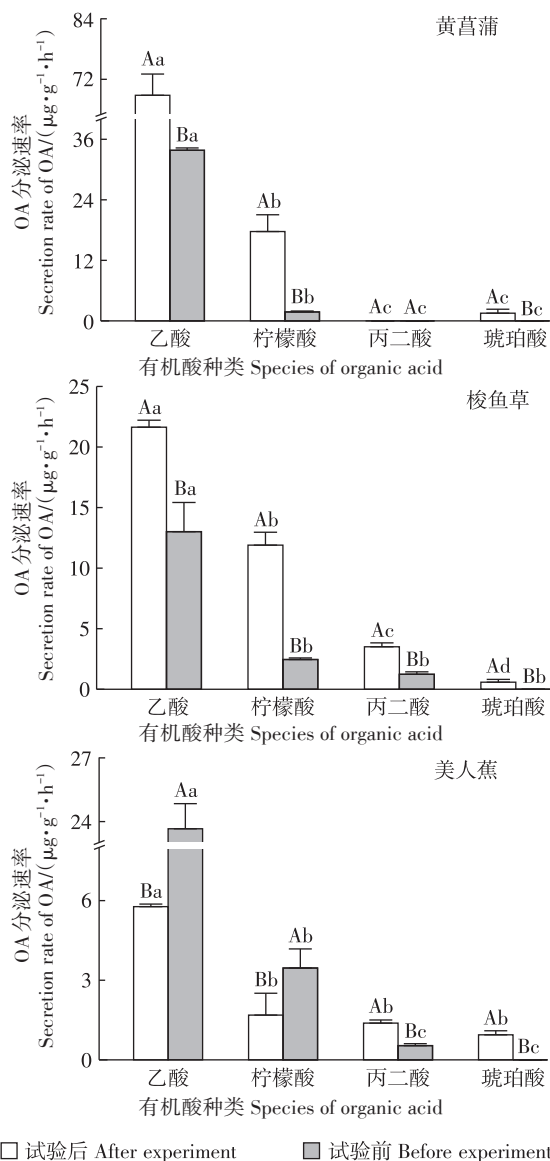


图3 3种挺水植物试验前后根系有机酸分泌速率

Figure 3 Organic acid secretion rates of root of different emergent plants during the experimental period

($1.4 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$) ($P < 0.05$)^[32], 可见植物的存在可以提高微生物转化途径的脱氮效能。梭鱼草处理脱氮效果最好, 不仅是因为其生物量较大^[32], 可吸收储存更多氮素, 也可能因为其根际细菌丰度及氮循环功能基因丰度较高。

3.2 驱动根际氮循环功能基因丰度产生差异的环境因子

根系分泌 DOC 对根际氮循环微生物的生长有着促进作用, 这是根际土中氮循环基因丰度高于非根际土的主要原因之一, 与先前学者的研究结论一致^[33]。试验后人工湿地系统中氮循环基因丰度升高, 表明系统中氮转化过程加快。氨氧化作为硝化过程的第一

步和限速步骤, 主要由 AOA 和 AOB 催化转化^[34], 湿地系统中氨氧化过程主要靠 AOB 来完成, 与 Chen 等^[35]、Di 等^[36]研究结果一致, 其原因可能是 AOA 铵耐受性较差^[37]。AOA 和 AOB 均在黄菖蒲处理中最高, 这可能是因为黄菖蒲根系 DOC 及 TOA 分泌能力较强。Ajibade 等^[38]研究表明外源碳的添加可以为氨氧化细菌创造更合适的生存环境; Gu 等^[18]的研究也表明, 部分氨氧化细菌和植物根部可形成共生关系, 根系分泌有机碳可促进这部分细菌的生长代谢。其次黄菖蒲根系生物量较大, 可以扩大污染物与微生物的接触面积。

nirS 和 *nirK* 是亚硝酸盐还原酶的编码基因, 可将 NO_2^- 转化为 NO , 是反硝化过程的限速步骤^[39], 该人工湿地中的 NO_2^- 的还原过程主要靠 *nirK* 编码的还原酶催化转化, 与 Dandie 等^[40]研究结果一致, *nirS* 和 *nirK* 型基因结构差异较大, 在环境中也占据不同的生态位, 湿地土壤中 pH 可能是驱动 *nirK* 和 *nirS* 基因丰度产生差异最主要的原因^[39]。*nirS* 和 *nirK* 基因丰度均在梭鱼草处理中最高, 结合有机酸检测结果来看, 可能是因为梭鱼草根分泌的有机酸种类较多, 而反硝化菌对碳源的利用具有选择性^[41]。

hzsB 是负责编译联氨合成酶的一个亚基, 该酶可催化 NO 与 NH_4^+ 转化为 N_2H_4 , 是厌氧氨氧化过程的步骤之一, 在缺氧环境较为常见且效能较高。研究结果表明厌氧氨氧化也是该湿地系统中一个重要的脱氮途径, 相比于 Zhang 等^[42]的研究, 本研究中 *hzsB* 基因丰度较高, 这可能是因为养猪废水环境更适合厌氧氨氧化菌生长。

3.3 影响根系 DOC 和 OA 分泌特征的主要因素

本研究表明黄菖蒲根系分泌 DOC 的能力最强, 与 Zhai 等^[15]研究结果一致, 这可能是因为植物的物理特征和根系分布策略导致的。试验后期黄菖蒲与梭鱼草根系 DOC 分泌速率增大, 可能是因为根系 DOC 的释放受外界营养状况的强烈影响^[43], Xu 等^[44]研究表明在阈值范围内, NH_4^+-N 的存在会促进根系 DOC 的释放。试验后期美人蕉根系 DOC 分泌速率降低, 这可能是因为高铵环境破坏了美人蕉的根系结构或抑制了根系的生理代谢^[45]。本研究结果与马涛等^[46]的研究结果存在一定差异, 这可能是因为植物生长在野外, 外部环境因素、苗龄均对 DOC 分泌速率有较大影响。

OA 属于小分子初级代谢物, 一般通过扩散或离子通道转移到根际环境, 不受植物本身控制^[47]。试验后所检出的有机酸种类更多, 这可能是由于试验结束时植物正处于生长相对旺盛的阶段, 有相关研究表明

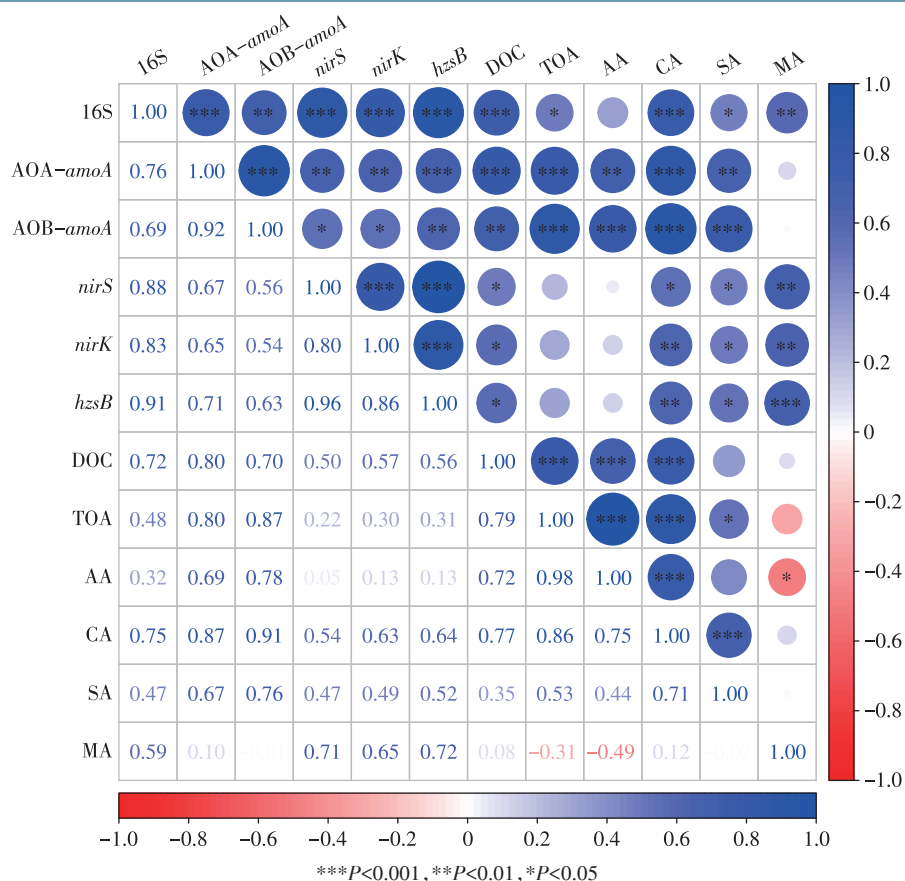


图4 根系分泌物释放速率与根际氮循环基因丰度相关性分析

Figure 4 Correlation analysis between the secretion rates of root exudates and the abundance of nitrogen cycle-related genes

植物所处的生长阶段是导致根系分泌物种类存在差异的主要原因^[48]。其次,根系OA的分泌可能也受外界营养状况的影响。CA和SA作为三羧酸(TCA)循环过程中的中间代谢产物,后期分泌速率加快可能意味着植物根系营养物质代谢速率增加^[49]。梭鱼草CA、SA和MA的分泌能力均较好,这可能是其根际氮循环功能基因丰度较高的原因之一。

3.4 根系分泌物与根际微生物相互作用关系

根系DOC分泌速率与试验中5种氮循环功能基因丰度均呈正相关,这可能是因为根系分泌DOC组分较为复杂^[50],可满足不同类型氮循环微生物对碳源的需求。TOA与AOA、AOB相关性较强,表明TOA可以促进硝化菌在根际的活性,这可能是因为湿地系统为缺氧环境,相比于反硝化菌而言,硝化菌的生长受限,而根系分泌TOA可以为硝化菌的生长提供一个更适宜的环境^[44],也可以为其代谢和繁殖提供能量。CA和SA与5种氮循环功能基因丰度呈正相关,可能是因为其作为TCA循环的中间产物,分泌速率越快表明根系生理代谢越强烈,进而植物根系对根际氮循环微生物的影响也越强烈;再者,CA可提高其他营养物质的

生物可利用性^[51],间接促进氮循环微生物的生长。

4 结论

(1)3种挺水植物在处理养猪废水(沼液)过程中具有不同的脱氮特征,其中梭鱼草对氮的脱除能力最好,根际反硝化菌和厌氧氨氧化菌丰度最高;黄菖蒲脱氮能力次之,根际硝化菌丰度最高。

(2)湿地系统中微生物介导的脱氮过程以硝化-反硝化为主,同时伴随着明显的厌氧氨氧化作用。硝化过程AOB-amoA占主导地位,反硝化过程nirK占主导地位。

(3)黄菖蒲根系溶解性有机碳和总有机酸分泌能力最强,梭鱼草根系分泌有机酸种类较多。根系分泌物可以促进根际氮循环微生物的生长繁殖,进而提高人工湿地系统的脱氮效率。

参考文献:

- [1] ZHANG T, YANG Y H, NI J P, et al. Construction of an integrated technology system for control agricultural non-point source pollution in the Three Gorges Reservoir Areas[J]. *Agriculture Ecosystems & Environ-*

- ment, 2020, 295:106919.
- [2] 张燕, 伏春燕, 阎佩佩, 等. 人工湿地去除畜禽养殖废水污染物研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(4):192–200. ZHANG Y, FU C Y, YAN P P, et al. Research progress on pollutant removal from live stock and poultry breeding wastewater by constructed wetlands[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2021, 26(4):192–200.
 - [3] VYMAZAL J. Constructed wetlands for wastewater treatment[J]. *Water*, 2010, 2(3):530–549.
 - [4] YI X S, LIN D X, LI J H, et al. Ecological treatment technology for agricultural non-point source pollution in remote rural areas of China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(30):40075–40087.
 - [5] 郭士林, 叶春, 李春华, 等. 水位波动对水平潜流人工湿地脱氮效果的影响[J]. 中国环境科学, 2017, 37(3):932–940. GUO S L, YE C, LI C H, et al. Impact of water level fluctuation on nitrogen removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands[J]. *China Environmental Science*, 2017, 37(3):932–940.
 - [6] LI J H, YANG X Y, WANG Z F, et al. Comparison of four aquatic plant treatment systems for nutrient removal from eutrophied water[J]. *Biore-source Technology*, 2015, 179:1–7.
 - [7] LI X, LI Y Y, LI Y, et al. Enhanced nitrogen removal and quantitative analysis of removal mechanism in multistage surface flow constructed wetlands for the large-scale treatment of swine wastewater[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246:575–582.
 - [8] PELISSARI C, SEZERINO P H, DECEZARO S T, et al. Nitrogen transformation in horizontal and vertical flow constructed wetlands applied for dairy cattle wastewater treatment in southern Brazil[J]. *Ecological Engineering*, 2014, 73:307–310.
 - [9] WEN Y, XU C, LIU G, et al. Enhanced nitrogen removal reliability and efficiency in integrated constructed wetland microcosms using zeolite [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2012, 6(1):140–147.
 - [10] CHEN L, LIU F, JIA F, et al. Anaerobic ammonium oxidation in sediments of surface flow constructed wetlands treating swine wastewater [J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2017, 101(3):1301–1311.
 - [11] WU H L, WANG X Z, HE X J, et al. Effects of root exudates on denitrifier gene abundance, community structure and activity in a micro-polluted constructed wetland[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 598:697–703.
 - [12] LIU Y P, CHEN L, ZHANG N, et al. Plant-microbe communication enhances auxin biosynthesis by a root-associated bacterium, *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2016, 29(4):324–330.
 - [13] SANDOVAL L, ZAMORA-CASTRO S A, VIDAL-ALVAREZ M, et al. Role of wetland plants and use of ornamental flowering plants in constructed wetlands for wastewater treatment: a review[J]. *Applied Sciences*, 2019, 9(4):685.
 - [14] LIU F D, MO X, KONG W J, et al. Soil bacterial diversity, structure, and function of *Suaeda salsa* in rhizosphere and non-rhizosphere soils in various habitats in the Yellow River Delta, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740:140144.
 - [15] ZHAI X, PIWPUAN N, ARIAS C A, et al. Can root exudates from emergent wetland plants fuel denitrification in subsurface flow constructed wetland systems[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 61:555–563.
 - [16] SALVATO M, BORIN M, DONI S, et al. Wetland plants, micro-organisms and enzymatic activities interrelations in treating N polluted water[J]. *Ecological Engineering*, 2012, 47:36–43.
 - [17] WU H L, WANG X Z, HE X J. Effects of selected root exudate components on nitrogen removal and development of denitrifying bacteria in constructed wetlands[J]. *Water*, 2017, 9(6):430.
 - [18] GU X S, CHEN D Y, WU F, et al. Function of aquatic plants on nitrogen removal and greenhouse gas emission in enhanced denitrification constructed wetlands: *Iris pseudacorus* for example[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 330:129842.
 - [19] LI X, LI Y Y, LI Y, et al. *Myriophyllum elatinoide*s growth and rhizosphere bacterial community structure under different nitrogen concentrations in swine wastewater[J]. *Biore-source Technology*, 2020, 301:122776.
 - [20] 张志勇, 严少华, 徐寸发, 等. 水葫芦修复污染水体的功能及其在工程应用中面临的挑战[J]. 生态环境学报, 2017, 26(9):1612–1618. ZHANG Z Y, YAN S H, XU C F, et al. The functions of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart) Solms) in remediation of polluted waters and challenges in engineering application[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2017, 26(9):1612–1618.
 - [21] 高春芳, 刘超翔, 王振, 等. 人工湿地组合生态工艺对规模化猪场养殖废水的净化效果研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(1):154–159. GAO C F, LIU C X, WANG Z, et al. Purification performance of a constructed three-stage wetland system for ecological treatment of piggery wastewater[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(1):154–159.
 - [22] 焦军霞, 杨文, 李裕元, 等. 有机肥化肥配施对红壤丘陵区稻田土壤氮淋失特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6):1159–1166. JIAO J X, YANG W, LI Y Y, et al. Impact of combined manure and chemical fertilization on nitrogen leaching from paddy field in red earth hilly area of China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(6):1159–1166.
 - [23] 李明月, 米铁柱, 甄毓, 等. 辽河口芦苇湿地细菌和古菌群落周期日变化特征[J]. 中国环境科学, 2019, 39(2):849–858. LI M Y, MI T Z, ZHEN Y, et al. Diurnal variations of bacterial and archaeal communities in the reed wetland of Liaohe estuary[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(2):849–858.
 - [24] YIN X J, LIU G L, PENG L, et al. Microbial community of nitrogen cycle-related genes in aquatic plant rhizospheres of Lake Liangzi in winter[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2018, 28(11):998–1006.
 - [25] 卿叶, 李红芳, 张苗苗, 等. 养猪废水中磺胺嘧啶对湿地底泥中氮转化微生物及过程影[J]. 环境科学研究, 2021, 34(9):2191–2199. QING Y, LI H F, ZHANG M M, et al. Effects of sulfadiazine in swine wastewater on microorganisms and nitrogen transformation processes in wetland sediment[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2021, 34(9):2191–2199.
 - [26] WU L N, LIANG D W, XU Y Y, et al. A robust and cost-effective integrated process for nitrogen and bio-refractory organics removal from landfill leachate via short-cut nitrification, anaerobic ammonium oxidation in tandem with electrochemical oxidation[J]. *Biore-source Technology*, 2016, 212:296–301.

- [27] PARANYCHIANAKIS N V, TSIKNIA M, KALOGERAKIS N, et al. Pathways regulating the removal of nitrogen in planted and unplanted subsurface flow constructed wetlands[J]. *Water Research*, 2016, 102: 321–329.
- [28] 李莹, 张洲, 杨高明, 等. 湿地植物根系泌氧能力和根表铁膜与根系吸收重金属的关系[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(8): 1657–1666.
- LI Y, ZHANG Z, YANG G M, et al. The relationship between the radial oxygen loss and the iron plaque on root surfaces to wetland plants absorb heavy metals[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2022, 31(8): 1657–1666.
- [29] 阳光, 李红芳, 谢陈, 等. 低温环境下人工湿地植物组配对养殖废水的处理效果研究[J]. *地球与环境*, 2022, 50(2): 252–260.
- YANG G, LI H F, XIE C, et al. Effect of plant configurations on performance of constructed wetlands for swine wastewater treatment at low temperatures[J]. *Earth and Environment*, 2022, 50(2): 252–260.
- [30] 任海燕, 田磊, 朱毅, 等. 氨水添加改变内蒙古典型草原两种优势植物的氮吸收偏好[J]. *科学通报*, 2022, 67(13): 1459–1468.
- REN H Y, TIAN L, ZHU Y, et al. Nitrogen and water addition alter nitrogen uptake preferences of two dominant plant species in a typical Inner Mongolian steppe[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2022, 67(13): 1459–1468.
- [31] LU B, XU Z S, LI J G, et al. Removal of water nutrients by different aquatic plant species: an alternative way to remediate polluted rural rivers[J]. *Ecological Engineering*, 2018, 110: 18–26.
- [32] 夏梦华, 刘铭羽, 郭宁宁, 等. 美人蕉、梭鱼草和黄菖蒲人工湿地系统对养猪废水的脱氮特征研究[J]. *生态与农村环境学报*, 2020, 36(8): 1080–1088.
- XIA M H, LIU M Y, GUO N N, et al. Study on nitrogen removal characteristics of swine wastewater in the constructed wetland systems of *Canna indica*, *Pontederia cordata* and *Iris pseudacorus*[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, 36(8): 1080–1088.
- [33] RUIZ-RUEDA O, HALLIN S, BANERAS L. Structure and function of denitrifying and nitrifying bacterial communities in relation to the plant species in a constructed wetland[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 67(2): 308–319.
- [34] SU Y, WANG W D, WU D, et al. Stimulating ammonia oxidizing bacteria (AOB) activity drives the ammonium oxidation rate in a constructed wetland (CW) [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 624: 87–95.
- [35] CHEN X, LUO P, LIU F, et al. Cold temperature increases nitrate accumulation in pilot-scale surface flow constructed wetlands with high rates of nitrogen removal[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2021, 308: 107250.
- [36] DI H J, CAMERON K C, SHEN J P, et al. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils[J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2(9): 621–624.
- [37] TANG S Y, LIAO Y H, XU Y C, et al. Microbial coupling mechanisms of nitrogen removal in constructed wetlands: a review[J]. *Biore-source Technology*, 2020, 314: 123759.
- [38] AJIBADE F O, WANG H C, GUADIE A, et al. Total nitrogen removal in biochar amended non-aerated vertical flow constructed wetlands for secondary wastewater effluent with low C/N ratio: microbial community structure and dissolved organic carbon release conditions[J]. *Biore-source Technology*, 2021, 322: 124430.
- [39] YAN L B, XIE C K, LIANG A Z, et al. Effects of revetments on soil denitrifying communities in the urban river-riparian interface[J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128077.
- [40] DANDIE C E, WERTZ S, LECLAIR C L, et al. Abundance, diversity and functional gene expression of denitrifier communities in adjacent riparian and agricultural zones[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 77(1): 69–82.
- [41] COSKUN D, BRITTO D T, SHI W M, et al. How plant root exudates shape the nitrogen cycle[J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(8): 661–673.
- [42] ZHANG M P, SUN S S, GU X S, et al. Efficient nitrogen removal pathways and corresponding microbial evidence in tidal flow constructed wetlands for saline water treatment[J]. *Environment Research*, 2023, 234: 116548.
- [43] CARVALHAIS L C, DENNIS P G, FEDOSEYENKO D, et al. Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174(1): 3–11.
- [44] XU J, HUANG X X, LUO P, et al. Root exudates release from *Myriophyllum aquaticum* and effects on nitrogen removal by constructed wetlands[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 375: 134095.
- [45] 张治宏, 杨诗卡, 韩超, 等. 环境胁迫对水生植物根系分泌小分子量有机酸(LMWOAs)的影响特征[J]. *湖泊科学*, 2020, 32(2): 462–471.
- ZHANG Z H, YANG S K, HAN C, et al. Effects of environmental stress on characteristics of low molecular weight organic acids secreted by macrophyte roots[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2020, 32(2): 462–471.
- [46] 马涛, 易能, 张振华, 等. 凤眼莲根系分泌氧和有机碳规律及其对水体氮转化影响的[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(10): 2003–2013.
- MA T, YI N, ZHANG Z H, et al. Oxygen and organic carbon releases from roots of *Eichhornia Crassipes* and their influence on transformation of nitrogen in water[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(10): 2003–2013.
- [47] HAICHAR F E, SANTAELLA C, HEULIN T, et al. Root exudates mediated interactions belowground[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 69–80.
- [48] CHAPARRO J M, BADRI D V, BAKKER M G, et al. R root exudation of phytochemicals in arabidopsis follows specific patterns that are developmentally programmed and correlate with soil microbial functions[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55731.
- [49] JONES D L. Organic acids in the rhizosphere—a critical review[J]. *Plant and Soil*, 1998, 205(1): 25–44.
- [50] ZHALNINA K, LOUIE K B, HAO Z, et al. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(4): 470–480.
- [51] WEI L L, CHEN C R, XU Z H. Citric acid enhances the mobilization of organic phosphorus in subtropical and tropical forest soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, 46(7): 765–769.

(责任编辑:叶飞)