

复合潜流人工湿地对农村生活污水的净化效果 及其微生物群落结构特征

王 皓¹, 钱琪卉¹, 丁瑞睿¹, 钟耀华², 周春晓³, 王 振¹, 巫厚长^{1*}

(1. 农田生态保育与污染防治安徽省重点实验室, 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036;
2. 金寨县茶谷和美好乡村建设服务中心, 金寨 237300; 3. 合肥市第三十二中学, 合肥 230051)

摘 要: 试验探究了复合潜流人工湿地对农村生活污水的净化效果及其微生物群落结构特征。结果表明, 当水力负荷为 $0.35 \text{ m}^3 \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ 时, 系统对 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、COD 和 TP 去除效率分别为 $(89.84 \pm 7.64) \%$ 、 $(98.67 \pm 1.31) \%$ 、 $(61.63 \pm 16.01) \%$ 和 $(70.21 \pm 8.00) \%$ 。湿地中一共发现 11 个主要菌门、18 个主要菌纲和 33 个主要菌属, 变形菌门 (*Proteobacteria*)、蓝藻门 (*Cyanobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 是其中的优势菌门, 它们在各级湿地中表层和底层的相对丰度分别是 57.26%、61.37%、91.60%、93.22%、88.78%、88.02%。蓝藻菌纲 (*Cyanobacteria*)、 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*)、芽孢杆菌纲 (*Bacilli*) 和 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)、 β -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*) 是其中优势菌纲, 约占主要菌纲的 70%。共有 17 个优势菌属, 在各级湿地中的分布情况不同, 其中芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 相对丰度最高, 集中分布于第三级湿地, 其次是 *Leptolyngbya*、席藻属 (*Phormidium*), 在第一、二级湿地中广泛分布。复合潜流人工湿地具有良好污水净化效果, 系统中有机物和氮素的去除主要依靠微生物作用, 磷素的去除主要依靠基质吸附沉淀作用。

关键词: 复合潜流人工湿地; 农村生活污水; 去除率; 微生物群落结构

中图分类号: X171

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)06-0962-09

Performances of a hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetland system treating on rural domestic sewage and its microbial community structure characteristics

WANG Hao¹, QIAN Qihui¹, DING Ruirui¹, ZHONG Yaohua², ZHOU Chunxiao³, WANG Zhen¹, WU Houzhang¹
(1. Anhui Province Key Laboratory of Farmland Ecological Conservation and Pollution Prevention, School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; 2. Tea Valley and Beautiful Rural Construction Service Center in Jinzhai County, Jinzhai 237300; 3. The Thirty-second High School of Hefei City, Hefei 230051)

Abstract: This study was conducted to explore the performances of a hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetland system treating rural domestic sewage and its microbial community structure characteristics. The results showed that when the hydraulic load was $0.35 \text{ m}^3 \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$, the removal efficiencies of the system for TN, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, COD and TP were $(89.84 \pm 7.64) \%$, $(98.67 \pm 1.31) \%$, $(61.63 \pm 16.01) \%$ and $(70.21 \pm 8.00) \%$, respectively. A total of 11 major phylum, 18 main class, and 33 main genus were found in the wetland. *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, and *Actinobacteria* were the dominant phylum. The relative abundances of them in combined surface and bottom layers of wetland were 57.26%, 61.37%, 91.60%, 93.22%, 88.78%, 88.02%, respectively. *Cyanobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Bacilli*, *Gammaproteobacteria*, and *Betaproteobacteria* were the dominant class, which account for approximately 70% of the main class. There were 17 dominant genera and the distribution in wetland system was different. Among them, *Bacillus* was the most abundant, and it was concentrated in the tertiary wetlands, followed by *Leptolyngbya* and *Phormidium*, which were widely distributed in the first and second wetlands. The composite submarine constructed wetland has a good sewage purification

收稿日期: 2020-01-20

基金项目: 安徽省高等学校省级质量工程教学研究项目 (2018jyxm0938), 安徽农业大学-金寨县人民政府现代农业产学研联盟专项基金(金政秘[2014]47号)共同资助。

作者简介: 王 皓, 硕士研究生。E-mail: ge_wanghao@126.com

* 通信作者: 巫厚长, 教授。E-mail: houzhangw@ahau.edu.cn

effect. The removal of organic matter and nitrogen in the system mainly depended on the action of microorganisms, and the removal of phosphorus mainly depended on the adsorption and precipitation of the substrate.

Key words: hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetlands; rural domestic sewage; the removal rate; microbial community structure

近年来,随着安徽省农村地区经济的不断发展,农民生活水平不断提高,农村生活污水排放量亦随之增大。由于当前很多农村地区缺乏适宜的污水处理设施,该类污水成为了主要的农村面源污染源,对周边水环境造成了严重威胁^[1]。鉴于此,强化农村生活污水的处理已成为农村生态环境整治进程中亟需解决的问题。其中,人工湿地(CWs)因其低耗高效、易操作维护以及景观价值高等优势^[2],被认为是农村生活污水处理技术的首选^[3]。

CWs 种类繁多,包括表面流人工湿地(SFCW)、水平潜流人工湿地(HFCW)、垂直人工湿地(VFCW)和潮汐流人工湿地(TFCW)等类型^[4-6],不同类型的 Cws 分别具有不同优缺点。诸多研究表明,单级 Cws 系统对污水的净化能力有限,难以满足高效去除多种污染物的现实需求^[7-8]。因此依据每种系统的优势,出现了多种类型的 Cws 组合的复合潜流人工湿地,既能发挥各系统的优点,提高净化污染物的效率,增强抗冲击负荷能力,延长使用寿命,防止堵塞,又能拓宽 CW 的应用范围,降低运营费用^[9]。

本研究采用调节池与三级串联潜流人工湿地的组合,构建了复合潜流人工湿地系统,用于高效处理农村生活污水。主要考察的内容:(1)复合系统的运行效能,即其去除有机物和脱 N 除 P 的效能;(2)运行稳定期间,系统中各级湿地中表层和底层的微生物群落结构特征。

1 材料与方法

1.1 试验装置

复合潜流人工湿地试验装置如图 1 所示。装置

主体(L×W×H=1 996 mm×540 mm×348 mm)由厚度为 8 mm 的钢化玻璃构建而成,系统包含调节池(L×W×H=495 mm×540 mm×348 mm)、3 个串联的 HFCWs 单元(L×W×H=1 264 mm×540 mm×348 mm)和出水池组成(L×W×H=237 mm×310 mm×150 mm)。上述 3 个湿地单元,之间均使用管径为 35 mm 的 PVC 管进行连接。第一级湿地(H₁)基质主要为沸石(粒径 3~8 mm,厚度 220 mm),第二(H₂)、三(H₃)两级湿地基质主要为废砖块(粒径 10~50 mm,厚度 220 mm),表层均用河砂(粒径 2 mm 以下,厚度 30 mm)覆盖,基质层总厚度 250 mm。湿地植物选用生长正常、株型大小基本一致的芦苇和美人蕉,在各级湿地中混合种植,种植密度为 76 株·m⁻²。系统由蠕动泵、定时开关和液体流量计共同定时定量连续从调节池进水,以推流方式从另一端排出。植物移栽后,加入自来水至基质饱和。待植物成活、系统稳定后开始试验。

1.2 试验条件和模拟废水

试验期为 2017 年 3 月至 2017 年 9 月,装置运行 15 d 后开始测定。试验装置接种的污泥来自合肥市望塘城市污水处理厂二沉池。本试验进水为安徽农业大学园区内生活污水。其 COD、TN、NH₄⁺-N 和 TP 的浓度范围分别为 225.23~310.37 mg·L⁻¹、42.84~68.54 mg·L⁻¹、42.54~67.04 mg·L⁻¹ 和 3.99~5.80 mg·L⁻¹。进水 pH 值和 DO 含量分别为 6.81~7.51 mg·L⁻¹ 和 6.47~8.31 mg·L⁻¹。其水质指标接近皖西山区农村生活污水。装置的 HLR(水力负荷)为 0.35 m³·(m²·d)⁻¹,HRT(水力停留时间)=3 d,系统处理污水量为 40 L·d⁻¹。

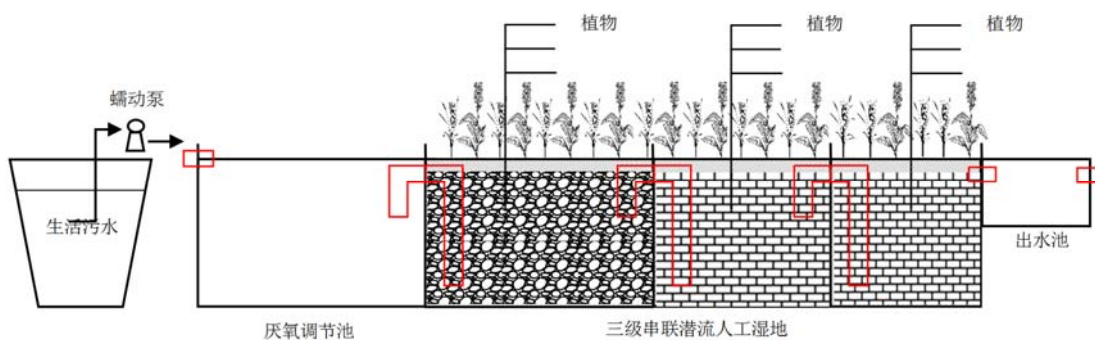


图 1 复合潜流人工湿地装置示意图

Figure 1 Chart of hybrid horizontal subsurface-flow constructed wetlands

1.3 方法

1.3.1 采样点设置 试验装置每个单元中各设置 1 个固定的取水口, 每周固定时间取深层水样并进行测定, 测定时进行 3 次重复。水质指标采样点为进水、调节池、H₁、H₂、H₃ 中水样及湿地出水。

1.3.2 水质测定与分析方法 测定指标包括: pH、温度、DO、COD、TN、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、TP 和 PO₄³⁻-P。水质指标测定时均参照《水与废水水质测定方法》(第四版)^[10]。pH、温度采用 pH 电极测定, DO 采用便携式溶氧仪测定。试验结束后, 对湿地植物进行收割, 测定其湿重。植株样品在 105 °C 下杀青 10 min, 然后在 60 °C 下烘干至恒重, 测定干重。将植物粉碎过 100 目筛, 参照《土壤农化分析》(第三版)测定采用硫酸过氧化氢消煮, 钼锑抗比色法测定植物全磷, 用硫酸过氧化氢消煮, 奈氏比色法测定植物全氮^[11]。

1.4 微生物群落分析

1.4.1 样品采集 基质微生物取样于 2017 年 10 月进行。移除湿地表层凋落物和腐殖质后, 各级湿地均分为两层(表层 0~20 cm, 底层 20 cm 以下), 采用梅花法在各层取 5 个平行样品, 经充分混合后放入无菌袋中编号。各级湿地表层和底层各样品编号分别为 H₁₁、H₁₂、H₂₁、H₂₂、H₃₁ 和 H₃₂。

1.4.2 PCR 扩增和测序 采用 Illumina MiSeq 技术平台进行测序, 将湿地填料样品放至 -80 °C 低温环境下, 送至美因基因生物科技有限公司进行高通量测序。结果数据经过预处理和质量控制后, 进行 OTU 聚类 and 注释, 从而获得特定环境样品的细菌或古菌的物种组成及丰度信息; 再通过多样性分析, 从而寻找样品间的差异信息。分析湿地单元表层和底层的微生物群落结构和功能群的变化特征, 以及其对污水的处理效果的影响。

1.5 数据处理

数据计算使用 Excel 2018, 用 Pearson 检验方法进行相关性分析, 检验数据间相关水平的统计分

析通过 SPSS 20.0 进行。利用 GraphPad Prism 8 软件作图, 图中相关数据均为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 水质指标与污水处理效果

复合潜流人工湿地的运行效果如表 1 所示。系统进水的温度在 18.1~32.0 °C 之间, 出水 pH 值较进水有明显升高, 而 DO 含量明显下降。系统中 COD、TN、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、TP 和 PO₄³⁻-P 的平均去除率分别为 (70.21±8.00)%、(89.84±7.64)%、(98.67±1.31)%、(61.63±16.01)% 和 (66.06±16.41)%。对 COD 的处理效果来说, 传统的 SFCW、HFCW、VFCW 和 TFCW 去除率分别为 40.0%、58.7%、59.8%、62.82%^[12-15]; 对 TN 和 NH₄⁺-N 的去除率为 41.2%、55.1%、42.3%、48.3%、44.6%、66.2%、65%、75%^[13]; 对 TP 和 PO₄³⁻-P 的去除为 22.8%、35.0%、41.1%、45.7%、49.1%、34.8%、54.1%、41.4%^[15-16]。复合潜流人工湿地对主要污染物的去除效果要优于这四个传统的 CWs 类型。其中对 N 的净化效果尤其明显, 出水含量达到了《城镇污水处理厂污染物排放标准 (GB18918-2002)》^[17]一级 A 标准, 其次是对 COD 和 P 的处理效果, 均达到了《城镇污水处理厂污染物排放标准 (GB18918-2002)》^[17]二级标准。进出水中的 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 含量相对较少, 但由于硝化和反硝化作用, 在各级湿地中有不同程度的积累。

2.2 装置各部分对主要污染物的去除贡献率

小试试验中装置各个单元的主要污染物浓度和去除率如图 2 所示。调节池对和 COD、TN、NH₄⁺-N、TP、PO₄³⁻-P 的平均去除贡献率分别是 2.50%、14.26%、14.22%、6.04%、8.65%, 而湿地单元则是 67.66%、75.62%、84.07%、55.59%、56.77%, 因此 CWs 是系统中污染物去除的主要场所。其中 COD 和 N 的去除主要发生在 H₁, 而 P 的去除主要发生在后 H₂ 和 H₃。

表 1 进出水水质指标及其去除率

Table 1 Quality of influent and effluent water and removing rate of pollutant

项目 Item	COD/mg·L ⁻¹	TP/mg·L ⁻¹	PO ₄ ³⁻ -P/mg·L ⁻¹	TN/mg·L ⁻¹	
进水 Inflow	266.14±23.02	4.88±0.51	4.78±0.50	56.22±7.70	
出水 Effluent	79.20±21.94	1.89±0.89	1.67±0.69	5.75±4.49	
去除率 Removal rate	70.21±8.00	61.63±16.01	66.06±16.41	89.84±7.64	
NH ₄ ⁺ -N/mg·L ⁻¹	NO ₂ -N/mg·L ⁻¹	NO ₃ -N/mg·L ⁻¹	温度/°C	DO/mg·L ⁻¹	pH
54.85±7.26	0.04±0.04	1.17±1.63	26.23±3.41	7.90±0.52	7.23±0.14
0.91±1.07	0.03±0.03	3.16±2.76	26.63±3.45	0.52±0.13	7.91±0.17
98.67±1.31	—	—	—	—	—

各级湿地中 COD 的去除率分别是 44.13%、-3.46%和 27.04% (如图 2 (a))。湿地中有机物的去除主要通过生物膜的吸附作用、微生物好氧和厌氧降解、植物吸收和基质的沉淀、过滤作用^[8]。其中微生物的作用是有有机污染物降解的主要途径^[3]。湿地填料层的表面和植物的根际部分属于好氧区, 污水中大部分的有机物在这一区域被好氧微生物分解为 CO_2 和 H_2O 。离根区较远的区域处于厌氧状态, 有机物经过厌氧细菌的发酵作用, 分解成 CO_2 和

CH_4 释放到大气中。相较于废砖块, 沸石具有丰富的晶穴和孔道^[15], 易于吸附富集极性分子和细菌, 在填料表层形成生物膜, 为微生物活动提供场所, 因而 H_1 对 COD 的去除率较高。 H_2 和 H_3 的基质和植物条件都相同, 但是前者的平均去除率为负值且与 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率成极显著负相关 ($n=20$, $P<0.01$)。这可能与该级湿地中的微生物群落结构和较低的 DO 条件有关。

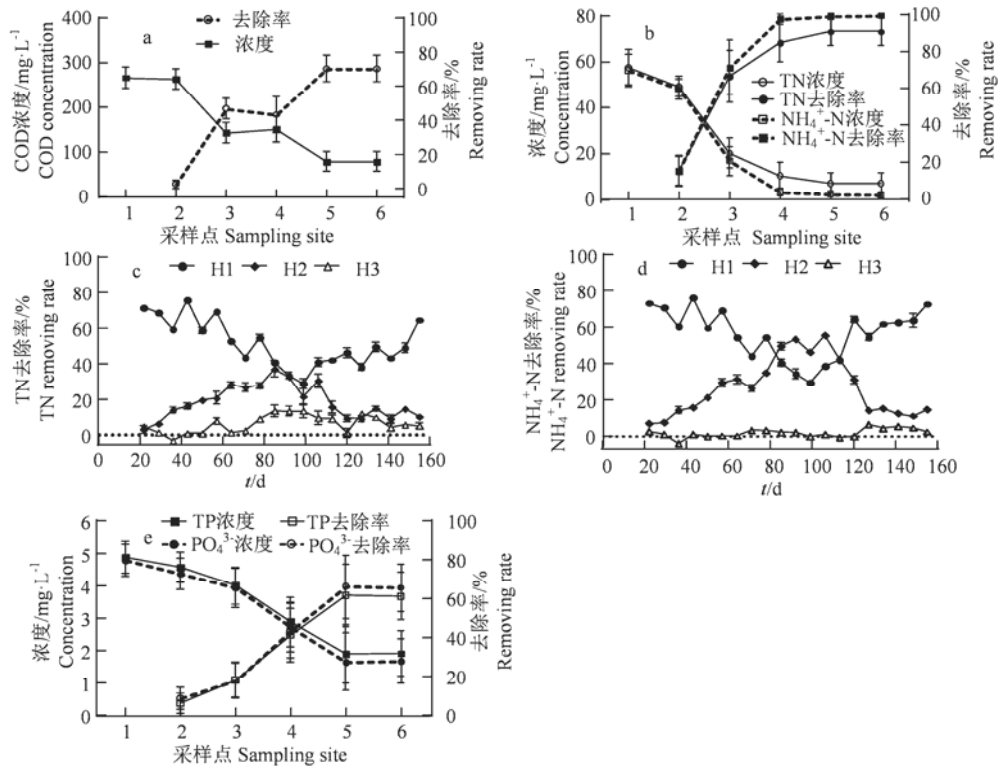


图 2 湿地对主要污染物的去除情况; COD 浓度及去除率 (a); TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度及去除率 (b); 湿地中 TN 浓度及去除率变化 (c); 湿地中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度及去除率变化 (d); TP 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度及去除率 (e)

Figure 2 The Removal of major pollutants in wetlands; The amount and removing rate of COD (a); The amount and removing rate of TN and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (b); Change of TN removing rate in wetlands (c); Change of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removing rate in wetlands (d); The amount and removing rate of TP and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ (e)

表 2 α 多样性分析结果

Table 2 The result of Alpha diversity analysis

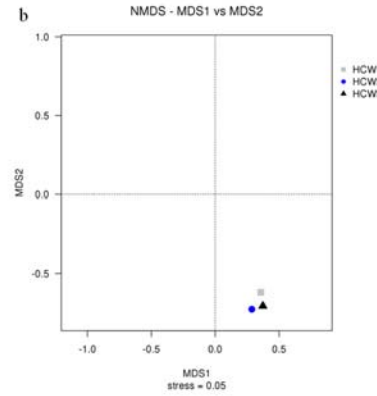
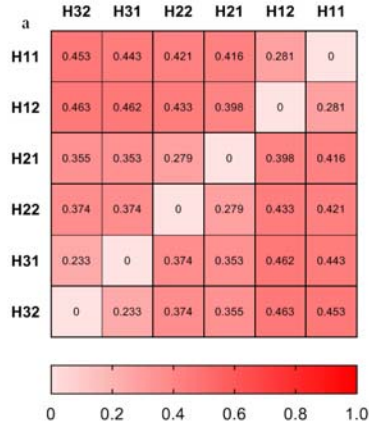
样品 Sample	OTU	Chao1	Good's coverage	Observed species	Shannon	Simpson
H ₁₁	5 001	5 985	0.975	4 543	7.201	0.927
H ₁₂	4 779	5 860	0.975	4 577	6.965	0.915
H ₂₁	4 342	5 941	0.976	4 151	8.244	0.980
H ₂₂	4 303	5 791	0.977	4 071	7.940	0.971
H ₃₁	4 772	6 072	0.977	4 537	8.466	0.976
H ₃₂	4 927	6 116	0.977	4 589	8.699	0.983

如图 2b 所示, 各级 CWs 的 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除贡献率依次为 51.32%和 56.07%, 18.18%和 26.42%, 6.12%和 1.58%。 H_1 中 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率呈现出“V”形走向 (如图 2 (c)、(d)), 在第

99 天下降至最低值 28.60%和 28.97%, 然后在第 155 天上升至 64.31%和 72.52%。这与湿地的基质和微生物作用有关。 H_1 的填料以沸石为主, 对 N 具有良好的吸附能力, 可以吸附和交换水体中污染物, 但

是吸附作用并不能将污染物从湿地中去除。因此当填料饱和后，去除率就会迅速下降。然而湿地中引种的微生物以沸石为载体逐渐富集，通过硝化和反硝化作用，在去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 同时，恢复了沸石的吸附能力。因此 N 的去除率在填料饱和后仍然在波动上升。 H_2 对 N 的去除情况与 H_1 完全相反，去除率先上升后下降，在第 85 天 TN 去除率达到最大值

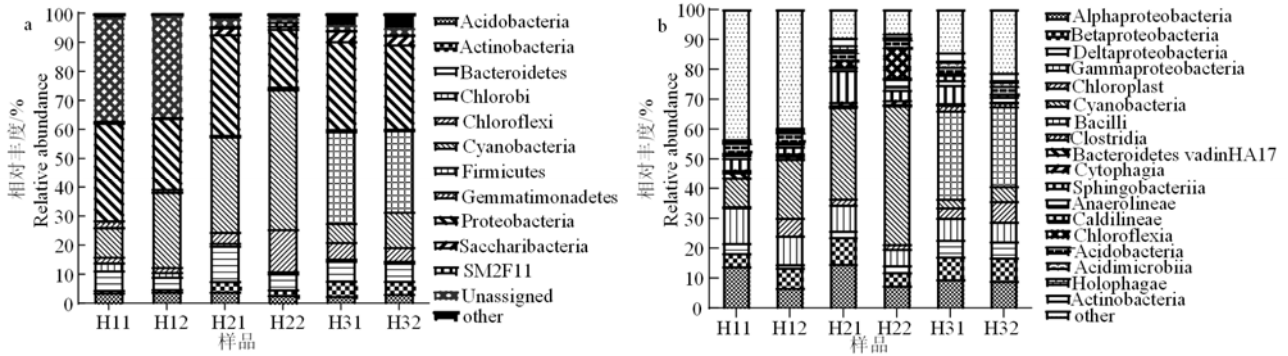
(36.86%)， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的最大去除率 (55.19%) 则出现在 106 天。然后随着 H_1 去除效率的增强， H_2 在第 120 天和第 127 天降低到至 15% 以下。 H_2 中平均 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量只有 $9.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，因此 H_3 的对 N 去除较低。 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 作为微生物硝化和反硝化作用的中间产物，会在湿地中积累。因此 TN 的去除率要低于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。



a. β 多样性指数; b. 微生物的 NMDS 分析。a. Beta diversity index; b. NMDS analysis of microbial.

图 3 β 多样性分析结果

Figure 3 The result of Beta diversity analysis



a. 微生物群落中优势菌门; b. 优势菌纲在湿地中的分布情况。
a. Dominant phylum in microbial communities; b. Distribution of dominant phylum in wetlands.

图 4 微生物群落相对丰度

Figure 4 Relative abundance of microbial communities

三级 CWs 对污水中 TP 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的平均去除率分别是 11.79% 和 9.19%，23.39% 和 25.58%，20.41% 和 22.64% (图 2e)。P 在湿地中的去除方式包括填料的吸附、微生物的转化与吸收、植物的吸收与同化^[4]。其中填料的吸附作用是最主要的去除方式。沸石和废砖块都具有较大的比表面积和良好的孔隙结构，含有较多的 Al 和 Fe 等金属元素。但是前者水溶性盐总量低^[18]，导致释放的 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 离子浓度较低，形成 Al-P、O-P 的沉淀较少。因此后两级湿地 P 的去除效率要高于 H_1 。

2.3 湿地单元的多样性分析

本项目共完成 6 个样品的扩增子测序分析,平均

每个样品产生 89 669 条 Clean Tags, 最少 83 429 条 Clean Tags。碱基质量值 Q30 比例大于 92.60%。为了研究样品的物种组成及多样性信息,使用 USEARCH 方法,对各样品的 Effective Tags 进行聚类,将序列相似性达到 97% 的序列聚类成一个 OUT, 各样品的 OTU 数量和 α 多样性指数统计结果如表 2 所示。 α 多样性指数主要反映环境样品内的物种多样性,多样性指数越高,代表物种多样性越高。除 H_3 外,其他各级湿地表层的 OTU、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均是表层大于底层,即 H_1 和 H_2 表层的物种数和多样性较高,而 H_3 则相反。这可能与进水方式和营养盐的含量有关。污水通过

PVC 管从湿地的下端流入, 而 H₃ 位于系统的末端, 营养盐含量较少, 尤其是 NH₄⁺-N, 其平均含量为 0.91 mg·L⁻¹。因而导致 H₃ 底层的物种数和多样性指数会高于表层。H₃ 的 Chao 1 和 Shannon 指数均高于前两级湿地, 说明 H₃ 的生物数多, 且生物多样性

更丰富。H₁ 的生物数高于 H₂, 但 H₂ 的生物多样性要明显高于前者。H₂ 和 H₃ 的 Simpson 指数差异不大, 但均明显高于 H₁, 说明 H₁ 中微生物的均匀程度较低。

表 3 微生物群落的优势菌属在各级湿地中的分布情况

菌属 Genus	H11	H12	H21	H22	H31	H32	%
<i>Bacillus</i>	0.03	0.04	0.20	0.12	28.03	23.30	
<i>Phormidium</i>	1.03	2.72	9.52	6.96	1.06	1.92	
<i>Leptolyngbya</i>	1.73	8.94	1.31	7.03	0.30	0.46	
<i>Nostoc</i>	1.02	0.53	2.06	5.51	0.45	0.71	
<i>Sediminibacterium</i>	0.39	0.65	3.56	0.23	0.01	0.01	
<i>Dyella</i>	0.07	0.34	3.39	0.39	0.01	0.15	
<i>Methylococcus</i>	3.11	1.70	0.03	0.02	0.03	0.04	
<i>Thiorhodococcus</i>	2.86	2.09	0.02	0.01	0.00	0.00	
<i>Blastochloris</i>	2.77	1.02	0.30	0.19	0.40	0.24	
<i>Rhodoplanes</i>	2.73	0.46	0.30	0.25	0.12	0.09	
<i>Thiocystis</i>	2.43	2.64	0.10	0.00	0.01	0.00	
<i>Chlorobaculum</i>	2.45	1.42	0.24	0.05	0.04	0.01	
<i>Candidatus Chloroploca</i>	0.02	0.00	0.54	2.27	0.04	0.01	
<i>Anaeromyxobacter</i>	2.25	0.64	0.47	0.25	0.53	0.49	
<i>Fictibacillus</i>	0.01	0.00	0.01	0.00	0.91	2.10	
<i>Variovorax</i>	1.07	2.05	0.17	0.15	0.09	0.12	
<i>Massilia</i>	0.00	0.00	2.00	0.10	0.05	0.15	

β 多样性研究中, 选用 Weighted Unifrac 距离和 Unweighted Unifrac 距离两个指标来衡量两个样品间的相异系数, β 多样性指数如图 3a 所示。H₁ 中的样品与 H₃ 中的样品相异系数最大, 为 0.464。H₂ 与 H₃ 样品的相异系数相对较少, 为 0.353。同一级湿地表层和底层的样品相异系数均较小, 其中 H₃ 中表层和底层差异最小, 为 0.233。同时, 本研究采用了 NMDS 分析, 通过降维处理简化数据结构, 在特定距离尺度下描述样本分布特征。其结果如图 3b 如所示, Stress=0.05, NMDS 可以准确反映样本间的差异程度。各样品均分布在坐标下侧, 且相距离较近。表明在试验期间, H₁、H₂ 和 H₃ 中样品的群落成员差异较小, 具有相似性。

2.4 湿地单元表层与底层基质微生物的群落结构

为了方便分析各级湿地中表层和底层的微生物群落, 将相对丰度 >1% 的门和纲作为主要的菌门和菌纲。共发现 11 个菌门, 分别是变形菌门 (*Proteobacteria*)、蓝藻门 (*Cyanobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、

放线菌门 (*Actinobacteria*)、绿菌门 (*Chlorobi*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*)、*Saccharibacteria*、*SM2F11* (如图 4a)。其中前七个菌门是系统中的优势菌门, 在各级湿地的相对丰度分别是 57.26%、61.37%、91.60%、93.22%、88.78%、88.02%。在纲水平上, 共发现 18 个主要菌纲, 在各级湿地的相对丰度分别是 56.56%、60.41%、90.50%、91.95%、85.59%、78.74%。其中蓝藻菌纲 (*Cyanobacteria*)、 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*)、芽孢杆菌纲 (*Bacilli*) 和 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)、 β -变形菌纲 (*Betaproteobacteria*) 的相对丰度较高, 占主要菌纲微生物的 70% 左右。鞘脂杆菌纲 (*Sphingobacteriia*)、叶绿体纲 (*Chloroplast*)、 δ -变形菌纲 (*Deltaproteobacteria*)、酸杆菌纲 (*Acidobacteria*)、绿弯菌纲 (*Chloroflexia*)、*Anaerolineae*、放线菌纲 (*Actinobacteria*) 的相对丰度占 26% 左右。而 *Cytophagia*、*Clostridia*、暖绳菌纲 (*Caldilineae*)、全噬菌纲 (*Holophagae*)、*Bacteroidetes vadinHA17* 的相对丰度所占比例较少, 在 4% 左右 (如图 4b)。

各级湿地中表层和底层基质微生物属水平相对丰度 $>0.5\%$ 的菌属共有47个,其中33个主要属相对丰度 $>1\%$ 。将相对丰度 $>2\%$ 的17个菌属作为优势菌属进行分析(如表3)。各级湿地表层和底层优势菌属的相对丰度分别为23.96%、25.26%、24.23%、23.55%、32.10%、29.82%。 H_1 中有10个优势菌属(18.59%、18.45%),分别是*Leptolyngbya*、甲基球菌属(*Methylococcus*)、硫红球菌属(*Thiorhodococcus*)、芽绿菌属(*Blastochloris*)、*Rhodoplanes*、席藻属(*Phormidium*)、硫囊菌属(*Thiocystis*)、绿棒菌属(*Chlorobaculum*)、*Anaeromyxobacter*、贪食菌属(*Variovorax*)。 H_2 中有7个优势菌属(20.53%、21.77%),分别是席藻属、*Leptolyngbya*、念珠藻属(*Nostoc*)、*Sediminibacterium*、*Dyella*、*Candidatus Chloroploca*和马赛菌属(*Massilia*)。而 H_3 中只有有1个优势菌属(28.03%、23.30%),为芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

3 讨论与结论

复合潜流人工湿地对农村生活污水具有良好的处理能力。系统可通过物理(沉积和挥发)、化学(基质吸附)和生物(植物吸收与微生物作用)等多种途径的协同作用去除水体中的污染物^[3]。本研究中湿地单元中种植了芦苇和美人蕉两种植物,均具有较好的氮磷去除能力。通过测定发现两种植物共固氮18 544.11 mg,固磷1 923.86 mg。而整个系统的氮磷去除量分别是312 030.95 mg和27 871.48 mg。植物对系统的N、P去除贡献率分别为6.90%和5.94%。因此植物的直接吸收作用并不是本湿地单元中N、P去除的主要方式,这与前人的研究结论相似^[19]。各级湿地中填料对营养盐都具有较好的吸附能力,可以将污染物吸附和沉淀在自身的孔隙和表面。但不能将污染物从系统中去除,因此当其达到饱和状态后,对营养盐的去除率会迅速下降,甚至变为负值^[15]。系统中N的高效去除主要依靠微生物的作用,可占总去除量的60%~90%^[20]。P的去除效果欠佳,很大程度上是由于过于依赖基质的吸附能力,且本试验中与除P的相关微生物相对丰度较低有关。

从微生物门水平来看,系统中变形菌门相对丰度最高且分布最广(平均相对丰度为28.51%),均是表层相对丰度大于底层,且在各级湿地中差异不大。其优势菌纲分别是 α -变形菌纲(平均相对丰度为10.25%)、 γ -变形菌纲(平均相对丰度为8.28%)、 β -变形菌纲(平均相对丰度为6.65%)和 δ -变形菌纲(平均相对丰度为3.33%)。这4个菌纲都属于革

兰氏阴性菌,而革兰氏阴性菌的富集有利于湿地中污染物的降解^[21]。在主要菌属中,*Dyella*、甲基球菌属、*Aquicella*、硫红球菌属、囊硫菌属、*Candidatus Competibacter*、甲基暖菌属(*Methylocaldum*)、*Lysobacter*属于 γ -变形菌纲;芽绿菌属、*Rhodoplanes*、新鞘脂菌属(*Novosphingobium*)、根瘤菌属(*Novosphingobium*)、*Defluviicoccus*、甲基孢囊菌属(*Methylocystis*)、*Rhizomicrobium*属于 α -变形菌纲,贪食菌属、马赛菌属、*Ideonella*、嗜甲基菌属(*Methylophilus*)、纤发菌属(*Leptothrix*)属于 β -变形菌纲;*Anaeromyxobacter*、*Haliangium*属于 δ -变形菌纲。 α -变形菌纲是常见的湿地微生物,能代谢低价硫的化合物和氨,对湿地中氨氮的去除起重要作用^[22]。 β -变形菌和 γ -变形菌中存在氨氧化细菌,可以实现氨态氮到亚硝酸盐的氨氧化过程,对去除硝酸盐和亚硝酸盐的生态功能方面发挥重要作用^[23]。除了上述主要菌属以外,湿地中还少量分布着不动杆菌(*Acinetobacter*)、产气单胞菌属(*Aeromonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)等反硝化细菌,已被证明对P具有良好的去除效果^[24]。

各级湿地中的蓝藻门细菌均是底层相对丰度大于表层,在 H_2 中大量富集(平均相对丰度 $>40\%$),而在 H_1 和 H_3 中,平均相对丰度为17.95%和9.34%。这可能与各级湿地水体中P的浓度有关。蓝藻纲中的席藻属和念珠藻属都具有固N能力,在N平衡中起到重要作用^[25]。 H_2 中的蓝藻在生长过程中,除了利用太阳光能将 CO_2 还原成有机碳化合物,释放出自由氧外,还从水体中吸收N^[26]。因而导致该区域COD平均去除率的下降,且与N的去除率呈极显著负相关($n=20, P<0.01$)。 H_3 中富集着厚壁菌门中的芽孢杆菌属,其具有反硝化的作用,对N和有机物具有良好的去除作用^[27]。拟杆菌门在 H_2 的表层相对丰度最高,优势菌纲为鞘脂杆菌纲,优势菌属为*Sediminibacterium*。绿弯菌门主要分布在后两级湿地,优势菌纲为厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*)、*Chloroflexia*和暖绳菌纲(*Caldilineae*),优势菌属是*Candidatus Chloroploca*和*Roseiflexus*,既能利用有机物进行光合作用,还可利用 NH_4^+-N 和有机N作为N源生长^[28]。酸杆菌门在各级湿地中分布差异不大,其优势菌纲为酸杆菌纲,优势菌属:*Candidatus Solibacter*和*Bryobacter*。放线菌门是一类在厌氧硝化反应器中具有重要功能的革兰氏阳性细菌类群,在很多污水处理活性污泥中广泛分布,其优势菌纲分别是酸杆菌纲和酸微菌纲^[29]。

除了上述优势菌门以外湿地中还检测到了疣微菌门 (*Verrucomicrobia*)、螺旋体门 (*Spirochaetae*)、浮霉菌门 (*Planctomycetes*)、硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*) 等。硝化螺旋菌门是一类革兰氏阴性菌, 其中的硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*) 作为硝化细菌 (*Nitrifier*), 在亚硝酸盐转化至硝酸盐的过程中发挥重要作用。浮霉菌门能将 NO_2^- 作为电子受体, 将氨转化为氮气, 对 NH_4^+-N 的去除有重要影响^[30]。疣微菌门能适应低溶解氧的环境^[31], 氧化 CH_4 , 抑制其排放^[32-33]。

当水力负荷为 $0.35 \text{ m}^3 \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ 时, 系统对 COD、TN、 NH_4^+-N 、TP 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的平均去除率分别为的平均去除率为 (70.21±8.00)%、(89.84±7.64)%、(98.67±1.31)%、(61.63±16.01)%和 (66.06±16.41)%。出水达到了《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB18918-2002)^[17]二级标准。污染物的去除主要发生在湿地单元, 其中 COD 和 N 的去除主要发生在 CWs 前端, 而 P 的去除主要发生在后端。这与填料的类型和微生物作用有关。

各级湿地中表层和底层基质微生物种群和相对丰度均具有差异。共发现 7 个优势菌门、5 个优势菌纲和 17 个优势菌属, 其中优势菌门是变形菌门、蓝藻门、厚壁菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门。优势菌纲为蓝藻菌纲、 α -变形菌纲、芽孢杆菌纲和 γ -变形菌纲、 β -变形菌纲。湿地的优势菌门中变形菌门相对丰度最高, 且在各级湿地差异不大, 对系统的主要污染物去除起重要作用。蓝藻菌门, 在 H_2 中大量富集, 具有固 N 的作用, 但影响有机物的去除效果。厚壁菌门中芽孢杆菌属, 在 H_3 中广泛分布, 对 N 和有机物有良好的净化效果。

参考文献:

- [1] 戚韩英, 金建, 蔡建华, 等. 中国农村生活污水处理技术现状分析及评价[J]. 环境与发展, 2019, 31(4): 82-84.
- [2] 高艳娇, 李姝杰, 陶陪. CWs 用于我国分散污水的处理[J]. 工业安全与环保, 2018, 44(6):46-49.
- [3] ACKERMAN J R, PETERSON E W, VAN DER HOVEN S, et al. Quantifying nutrient removal from groundwater seepage out of constructed wetlands receiving treated wastewater effluent[J]. Environ Earth Sci, 2015, 74(2): 1633-1645.
- [4] GAO Y, XIE Y W, ZHANG Q, et al. Intensified nitrate and phosphorus removal in an electrolysis-integrated horizontal subsurface-flow constructed wetland[J]. Water Res, 2017, 108: 39-45.
- [5] 祝志超, 缪恒锋, 崔健, 等. 组合人工湿地系统对污水

处理厂二级出水的深度处理效果[J]. 环境科学研究, 2018, 31(12): 2028-2036.

- [6] ZHAO Y Q, SUN G, ALLEN S J. Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal flow reed bed system with effluent recirculation[J]. Sci Total Environ, 2004, 330(1/2/3):1-8.
- [7] 王琳, 隋春晓, 展威. 潮汐流人工湿地处理高速公路服务区污水研究[J]. 环境科学与技术, 2016, 39(9): 136-139.
- [8] WU S B, KUSCHK P, BRIX H, et al. Development of constructed wetlands in performance intensifications for wastewater treatment: a nitrogen and organic matter targeted review[J]. Water Res, 2014, 57: 40-55.
- [9] VYMAZAL J, KRÖPFLOVÁ L. Multistage hybrid constructed wetland for enhanced removal of nitrogen[J]. Ecol Eng, 2015, 84: 202-208.
- [10] 国家环境保护总局, 《水和废水监测分析方法》委员会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版.北京:中国环境科学出版社,2009
- [11] 鲍士旦.土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社,2005: 44-107.
- [12] SASIKALA S, TANAKA N, WAH WAH H S Y, et al. Effects of water level fluctuation on radial oxygen loss, root porosity, and nitrogen removal in subsurface vertical flow wetland mesocosms[J]. Ecol Eng, 2009, 35(3): 410-417.
- [13] VYMAZAL J, KRÖPFLOVÁ L. Removal of nitrogen in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: a review[J]. Wetlands, 2009, 29(4): 1114-1124.
- [14] 吕纯剑, 高红杰, 宋永会, 等. 潮汐流-潜流组合人工湿地微生物群落多样性研究[J]. 环境科学学报, 2018, 38(6): 2140-2149.
- [15] 王万宾, 胡飞, 孔令瑜, 等. 人工湿地脱氮除磷基质的吸附能力及其影响因子[J]. 湿地科学, 2016, 14(1): 122-128.
- [16] 陈静雅, 王晓昌, 郑于聪, 等. 潮汐流人工湿地对高污染河水氮磷的去除特性[J]. 环境科学与技术, 2017, 40(12): 32-37.
- [17] 国家环境保护总局科技标准司. 城镇污水处理厂污染物排放标准:GB18918-2002[S].北京:中国标准出版社, 2002.
- [18] 陈亮, 刘锋, 肖润林, 等. 人工湿地氮去除关键功能微生物生态学研究进展[J]. 生态学报, 2017, 37(18): 6265-6274.
- [19] 陆爽君, 吴鹏, 陈重军, 等. 适宜处理分散性生活污水的人工湿地除磷填料的筛选及改性[J]. 环境工程学报, 2014, 8(9): 3807-3812.
- [20] 郑春雨, 王光华. 湿地生态系统中主要功能微生物研究进展[J]. 湿地科学, 2012, 10(2): 243-249.
- [21] 房昀昊, 彭剑峰, 宋永会, 等. 高通量测序法表征潜流人工湿地中不同植物根际细菌群落特征[J]. 环境科学学报, 2018, 38(3): 911-918.
- [22] 姚美辰, 段亮, 张恒亮, 等. 辽河保护区人工湿地微生物群落结构及分布规律[J]. 环境工程技术学报, 2019, 9(3): 233-238.

- [23] 刘正辉, 李德豪. 氨氧化古菌及其对氮循环贡献的研究进展[J]. 微生物学通报, 2015, 42(4): 774-782.
- [24] DU L, CHEN Q R, LIU P P, et al. Phosphorus removal performance and biological dephosphorization process in treating reclaimed water by Integrated Vertical-flow Constructed Wetlands (IVCWs)[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 243: 204-211.
- [25] 叶琳琳, 张民, 孔繁翔, 等. 水生生态系统蓝藻固氮作用研究进展与展望[J]. 湖泊科学, 2014, 26(1): 9-18.
- [26] ADRADOS B, SÁNCHEZ O, ARIAS C A, et al. Microbial communities from different types of natural wastewater treatment systems: Vertical and horizontal flow constructed wetlands and biofilters[J]. *Water Res*, 2014, 55: 304-312.
- [27] 仇天雷. 循环水养殖废水生物脱氮技术及其影响因素研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2016.
- [28] ARIESYADY H D, ITO T, YOSHIGUCHI K, et al. Phylogenetic and functional diversity of propionate-oxidizing bacteria in an anaerobic digester sludge[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 75(3): 673-683.
- [29] 雷旭, 李冰, 李晓, 等. 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.
- [30] PYNAERT K, SMETS B F, WYFFELS S, et al. Characterization of an autotrophic nitrogen-removing biofilm from a highly loaded lab-scale rotating biological contactor[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(6): 3626-3635.
- [31] 程庆锋. 高铁锰氨氮地下水净化工艺优化及菌群结构研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014.
- [32] LIESENS J, VANBRABANT J, DE VOS P, et al. Mixed culture hydrogenotrophic nitrate reduction in drinking water[J]. *Microb Ecol*, 1992, 24(3): 271-290.
- [33] 蔡仲石, 管卫兵, 苏孙国, 等. 鲢、鳙肠道微生物的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(1): 22-26.