

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

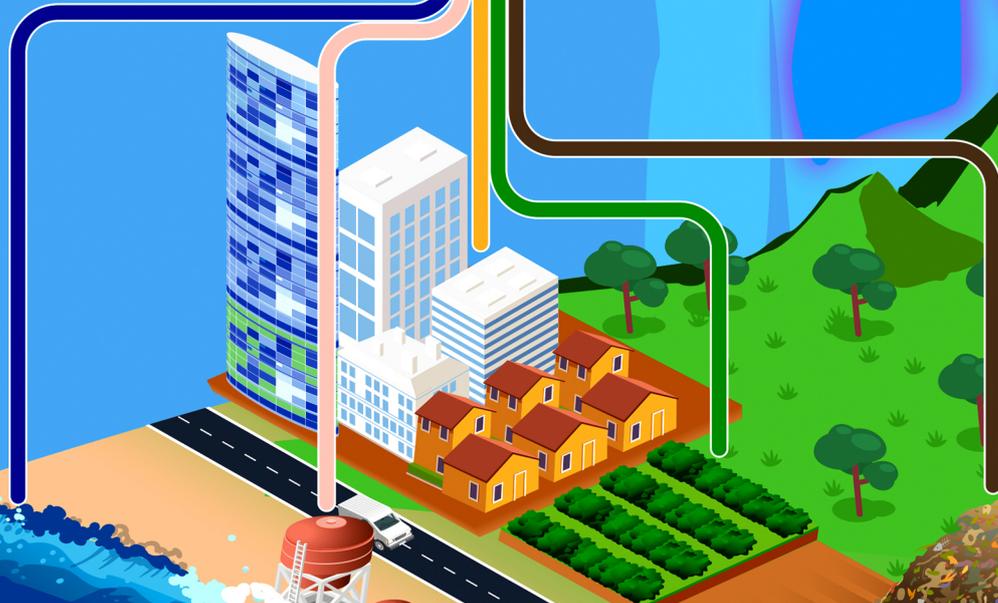
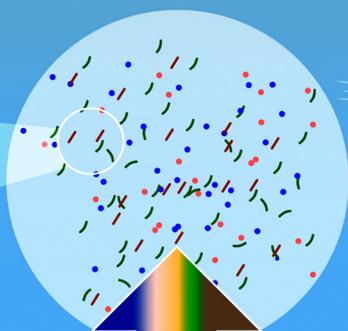
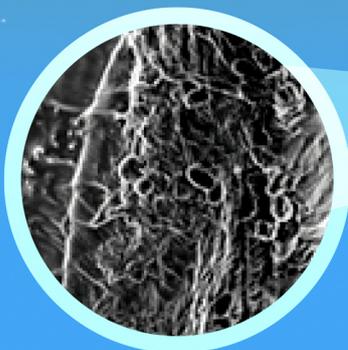
ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

大连海岸带夏、秋季大气沉降(微)塑料的赋存特征及其表面生物膜特性

涂晨, 田媛, 刘颖, 张馨宁, 骆永明



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社

2022年4月

第43卷 第4期

Vol.43 No.4



目次

2015~2019年河南省PM_{2.5}时空特征与驱动因素分析 葛岂序, 刘岩, 杨洪, 郭恒亮 (1697)

郑州市大气PM_{2.5}中重金属的污染特征、来源及健康风险评估: 基于高分辨数据 曲光辉, 孙俊苹, 王申博, 姜楠, 李利萍, 刘洋, 陈红阳, 马双良 (1706)

宁波市春节期间水溶性离子污染来源和特征分析 杨梦蓉, 潘勇, 黄仲文, 张晶晶, 黄显军, 何萌萌, 肖航 (1716)

上海城区PM_{2.5}中有机组分及硝基芳香化合物分布特征 庄旻, 马英歌, 程玉璜, 周敏, 戴海夏, 黄成, 郁建珍, 朱书慧, 乔利平, 童张法 (1725)

南京北郊大气细粒子硝基苯酚类化合物污染特征与来源 陈美娟, 钱姿合, 顾陈娟, 张书萌, 刘智艺, 王新锋, 盖鑫磊 (1738)

春节与疫情管控期间珠三角VOCs的组成和来源变化 江明, 袁鸾, 温丽容, 张莹, 方洪波, 杨满芽, 李成柳 (1747)

重庆市主要工业源VOCs组分排放清单及其臭氧生成潜势 李陵, 李振亮, 方维凯, 王晓宸, 蒲茜, 汪凌韬, 袁睿, 张卫东, 翟崇治 (1756)

珠三角石化园区VOCs排放特征及影响评价 张雪驰, 沙青娥, 陆梦华, 王毓铮, 饶思杰, 明桂英, 李勤勤, 吴淑珠, 郑君瑜 (1766)

基于隧道测试的机动车VOCs排放特征及源解析 刘鑫会, 朱仁成, 金博强, 梅慧, 祖雷, 尹沙沙, 张瑞芹, 胡京南 (1777)

基于多通道分布式VOCs在线监测质谱系统精准识别企业污染源 韦啸, 张永杰, 王沛涛, 洪燕, 夏瑞, 高伟 (1788)

基于SOA和O₃生成潜势的杭州市PM_{2.5}和O₃协同控制 林旭, 严仁婧, 金嘉佳, 许凯儿 (1799)

超低排放燃煤电厂中湿式电除尘器对可凝结颗粒物排放特性的影响 王鹏程, 袁勃, 梁胜文, 蒋鹭翔, 成海容, 许睿光, 虞晓晗, 王祖武 (1808)

西安市住宅室内空气污染物实测分析与叠加效应 王秀茹, 樊灏, 范洁, 沈振兴 (1814)

大连海岸带夏、秋季大气沉降(微)塑料的赋存特征及其表面生物膜特性 涂晨, 田媛, 刘颖, 张馨宁, 骆永明 (1821)

基于在线观测本地因子的长三角家禽养殖氨排放时空分布特征 高宗源, 徐祀, 倪远之, 沈根祥, 苗文亮, 王振旗, 付侃, 钱晓雍, 曹国民 (1829)

西宁市农牧源氨排放清单及其分布特征 杨益, 姬亚芹, 高玉宗, 林孜, 林宇, 马妍 (1844)

“三水”统筹视角下京津冀地区城市水生态环境保护策略分析 廖雅, 侯晓姝, 任晓红 (1853)

中国居民饮用水镉暴露非致癌风险的年龄分层权重 秦宁, 阿依博塔·吐尔逊别克, 刘运炜, 侯荣, 徐翔宇, 官家丞, 段小丽 (1863)

新疆博尔塔拉河流域平原区地表水与地下水水化学特征及转化关系 雷米, 周金龙, 张杰, 陈亚鹏, 滕杰, 吴彤, 徐东升, 孙英, 纪媛媛 (1873)

珠江源区小黄泥河流域地表水水化学组成特征及控制因素 涂春霖, 尹林虎, 和成忠, 寸得欣, 马一奇, 令狐昌卫 (1885)

河套灌区浅层地下水NO₃⁻-N时空变化及驱动因素 袁宏颖, 杨树青, 张万锋, 王波, 韩天凯, 丁雪华 (1898)

盐城地区地下水溶质来源及其成因分析 王建, 张华兵, 许君利, 李永山 (1908)

白洋淀不同水体氢氧同位素特征及其指示意义 王雨山, 尹德超, 祁晓凡, 徐蓉桢 (1920)

东部地区大型湖库有色可溶性有机物来源组成及潜在驱动因素 陈丽丽, 肖启涛, 俞晓琴, 陈慧敏, 周蕾, 周永强, 韩龙飞 (1930)

松花湖沉积物溶解性有机质荧光光谱特性 程云轩, 赵可, 张越, 张渝婷, 焦立新 (1941)

区域土地利用类型对水源水中溶解性有机物丰度和荧光组分的影响 高静, 蒲晓, 张玉虎, 程红光, 张瑞宁, 刘训良, 董雪, 许新瑶 (1950)

南水北调东线枢纽湖泊表层水体甲烷释放特征及潜在影响因素 朱俊羽, 彭凯, 李宇阳, 俞晓琴, 陈慧敏, 周蕾, 周永强, 丁艳青 (1958)

千岛湖水体中邻苯二甲酸酯(PAEs)的分布特征及健康风险评价 弥启欣, 国晓春, 卢少勇, 邓义祥, 卢洪斌, 李响, 刘晓贺, 陈金明 (1966)

蓝藻越冬期湖湾沉积物磷吸附特征和释放风险 靳郑海, 涂成琪, 王书航, 陈俊伊, 卢昶雨, 黄威 (1976)

基于植物多样性的北京市湿地生态质量评价 李果, 孙光, 赵梓伊, 刘冬梅, 肖能文, 赵志平, 罗遵兰 (1988)

小清河专项治理对莱州湾环境和浮游植物的影响 张晶晶, 王玉珏, 李凡, 刘珂, 王英, 于洋, 高彦洁, 肖晓彤, 吕振波 (1997)

不同曝气方式对人工湿地细菌多样性、代谢活性及功能的影响 王飞鹏, 黄亚玲, 张瑞瑞, 岳琛, 李飞翔, 张超月, 穆景利 (2007)

南宁市老城区降雨径流溯源及污染特征分析 岳桢钰, 李一平, 周玉璇, 郑可, 于珊, 伍彬 (2018)

老化作用对微塑料吸附镉的影响及其机制 王俊杰, 陈晓晨, 李权达, 金成俊, 黄艺佳, 范露健, 张剑宇, 刘宪华, 徐开钦 (2030)

碳化泡沫负载Co₃O₄活化过硫酸盐降解罗丹明B 王渊源, 阎鑫, 艾涛, 李卓, 牛艳辉 (2039)

低总氮浓度下Fe²⁺促进ANAMMOX生物膜反应器脱氮 郑旭文, 秦嘉富, 汪晓军, 陈浩川, 朱梓静, 陈振国 (2047)

污水管道增强通风作用下氧气的传质特性 杨洲, 张志强, 杨静, 卢金锁 (2055)

长江经济带工业区土壤重金属污染特征与评价 张义, 周心劝, 曾晓辉, 冯娇, 刘玉荣 (2062)

中国北方典型设施菜地土壤稀土元素分布特征及环境意义 王祖伟, 刘雅明, 王子璐, 苗钰婷 (2071)

贵州省典型铅锌矿区潜在有毒元素(PTEs)物源甄别、生态风险评估及控制因素 张富贵, 彭敏, 贺灵, 马宏宏 (2081)

地质高背景与污染叠加区不同土地利用方式下土壤重金属分布特征 王雪雯, 刘鸿雁, 顾小凤, 涂宇, 于恩江, 吴攀 (2094)

矿区周边农田土壤重金属分布特征及污染评价 王海洋, 韩玲, 谢丹妮, 胡慧娟, 刘志恒, 王祯 (2104)

农田-泥炭藓系统重金属富集特征与生态风险评价 朱迪, 张朝晖, 王智慧 (2115)

安顺市土壤pH空间变异及影响因素分析 陈清霞, 陆晓辉, 涂成龙 (2124)

方解石基组配钝化剂与低积累玉米协同修复效果 任超, 任或仲, 李竞天, 王浩, 朱利文, 肖建辉, 赵瑞, 杜倩倩 (2133)

伯克氏菌Y4对水稻幼苗损伤和镉吸收的影响 张雅荟, 刘月敏, 王常荣, 刘雅萍, 庞杰, 黄永春, 刘仲齐, 张长波 (2142)

我国长江中下游平原典型稻田含碳温室气体通量变化特性 刘硕, 甄晓杰, 刘钢, 冯兆忠 (2151)

地膜覆盖和生物炭添加对菜地N₂O排放的影响 胡剑, 江长胜, 陈鑫童, 熊艳芳, 郝庆菊 (2163)

化肥运筹对稻田CH₄和N₂O排放的影响 郑梅群, 刘娟, 姜培坤, 吴家森, 李永夫, 李松果 (2171)

松花江下游滨岸带典型植被根际土壤细菌群落结构与功能多样性 王露莹, 孙慧珍, 杨雪 (2182)

棉秆还田对咸水滴灌棉田土壤酶活性和细菌群落结构多样性的影响 周永学, 陈静, 李远, 侯振安, 阎伟 (2192)

pH对水稻土全程氨氧化细菌丰度和群落结构组成影响 马瑞, 赵永鹏, 王智慧, 蒋先军 (2204)

生物炭对紫色土坡耕地侵蚀性耕层土壤有机碳的影响 张健乐, 曾小英, 史东梅, 倪书辉, 夏蕊, 王荣浩 (2209)

有机肥替代化肥对旱地黄壤有机碳矿化及活性有机碳的影响 林仕芳, 王小利, 段建军, 皮义均, 郭琴波, 龙大勇, 徐彬, 杨宏伟 (2219)

九龙江河口潮滩湿地土壤有机碳储量、活性组分及稳定性沿淹水梯度的分布特征 黄小清, 全川, 罗敏, 杨洋, 谭凤凤, 潘哲妍, 刘娜, 陈欣, 黄佳芳 (2226)

碳中和战略下煤矿区生态碳汇体系构建及功能提升展望 刘祥宏, 阎永军, 刘伟, 黄占斌 (2237)

《环境科学》征订启事(1929) 《环境科学》征稿简则(1975) 信息(1996, 2029, 2080)

不同曝气方式对人工湿地细菌多样性、代谢活性及功能的影响

王飞鹏¹, 黄亚玲¹, 张瑞瑞¹, 岳琛^{1,2}, 李飞翔^{1,3}, 张超月^{1,2}, 穆景利^{1*}

(1. 闽江学院海洋研究院, 福州 350108; 2. 福建农林大学资源与环境学院, 福州 350002; 3. 福州大学环境与安全工程学院, 福州 350116)

摘要: 细菌在人工湿地去除污染物过程中起着非常关键的作用. 基于 DNA 和 RNA 高通量测序技术探讨了不同曝气强化方式影响下的人工湿地单元内细菌多样性、代谢活性和功能. 结果发现: ① 养殖废水和人工湿地处理组共检测到细菌 4 042 个操作分类单元 (OTUs), 其中 α -变形菌、 γ -变形菌和拟杆菌为多样性最高的类群, 且人工湿地曝气强化方式会在一定程度上增加细菌的多样性; ② 基于 DNA 和 RNA 测序结果均发现细菌优势类群主要为: α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌, 且这 4 种类群代谢活性主要受到总氮 (TN) 和硝态氮 (NO_3^- -N) 浓度的调控; ③ 基于 FAPROTAX 数据库功能注释, 共检测到 56 个细菌功能群组, 主要为: 化能异养、好氧化能异养、发酵、胞内寄生、暗氢氧化、光合自养、光合异养和硝酸盐还原. 氮循环相关功能的发现表明细菌在人工湿地去除氮营养盐过程中起着非常关键的作用. 该结果有助于加强对曝气处理下人工湿地去除污染物过程中细菌群落结构及功能的认识.

关键词: 人工湿地 (CW); 高通量测序; 细菌群落结构; 代谢活性; FAPROTAX 功能预测

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)04-2007-11 DOI: 10.13227/j.hjxx.202107135

Effects of Different Aeration Treatments on Bacterial Diversity, Metabolic Activity, and Function in Constructed Wetlands

WANG Fei-peng¹, HUANG Ya-ling¹, ZHANG Rui-rui¹, YUE Chen^{1,2}, LI Fei-xiang^{1,3}, ZHANG Chao-yue^{1,2}, MU Jing-li^{1*}

(1. Institute of Oceanography, Minjiang University, Fuzhou 350108, China; 2. College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. College of Environment and Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China)

Abstract: Bacteria play a key role in the removal of pollutants and nutrients in constructed wetlands. DNA and RNA high-throughput sequencing was used to investigate the diversity, metabolic activity, and function of bacteria in aquaculture wastewater and in constructed wetlands treated by different aeration levels. The results revealed that: ① a total of 4 042 operational taxonomic units (OTUs) were detected in aquaculture wastewater and constructed wetland treatment groups. α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, and Bacteroidia were the most diverse groups, and the constructed wetlands aeration treatment increased the bacterial diversity to a variable extent; ② α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, Bacteroidia, and Actinobacteria were the dominant groups both in the DNA and RNA sequencing results, and the metabolic activities of these four groups were significantly affected by the concentration of total nitrogen (TN) and nitrate nitrogen (NO_3^- -N) in our study. ③ According to the FAPROTAX database, 56 bacterial functional groups were detected in our study, mainly including: chemoheterotrophy, aerobic chemoheterotrophy, fermentation, intracellular parasites, dark hydrogen oxidation, phototrophy, photoheterotrophy, and nitrate reduction. Functions related to the nitrogen cycle were observed in the results of function annotation, suggesting the important role of bacterial communities in the removal of nitrogen nutrients in constructed wetlands. These results will improve the understanding of bacterial community structures and functions during nutrient removal in aerated constructed wetlands.

Key words: constructed wetland (CW); high-throughput sequencing; bacterial community structure; metabolic activity; FAPROTAX function prediction

人工湿地 (constructed wetland, CW) 由植物-微生物-基质三者组成, 是通过模拟自然湿地系统, 人为构建和控制的一种废水处理工艺, 具有操作简单, 投资成本低、易管理、低能耗和生态效果显著等优点^[1-3]. 该系统通过沉淀、截留、吸附、氧化还原和生物转化等物理、化学和生物多重协同作用最终实现对污染物的高效去除^[4-6]. 其中, 微生物是人工湿地污染物降解的主要驱动者和执行者, 如: 厌氧细菌可将有机物分解为二氧化碳和甲烷; 好氧细菌则通过呼吸作用将有机物分解为水和二氧化碳; 亚硝化细菌可将总氮氮氧化为亚硝酸盐氮, 亚硝酸盐氮被硝化细菌的亚硝化作用进一步氧化为硝酸盐氮, 反硝化细菌可将硝酸盐氮转化为氮气等^[7,8]. 此外, 曝气

处理可有效提高人工湿地细菌硝化作用的强度^[9-12]. 目前, 人工湿地已经被成功运用于农村生活污水、畜禽养殖废水、富营养化水体、工业废水和食品废水等污染物控制领域^[13-15].

Illumina 高通量测序由于其通量高、准确率高和成本低等优点, 目前已经被广泛应用于环境样本中微生物的检测^[16]. rDNA 测序技术 (DNA 测序)

收稿日期: 2021-07-16; 修订日期: 2021-09-22

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC1404803); 福建省自然科学基金项目 (2020J01866); 福建省教育厅中青年教育科研项目 (JAT190628); 福建省海洋经济专项 (ZHHY-2019-1); 自然资源部东海局青年科学基金项目 (202012)

作者简介: 王飞鹏 (1987~), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为环境微生物分子生态学, E-mail: fpwang@mju.edu.cn

* 通信作者, E-mail: jlmj@mju.edu.cn

的发展帮助微生物学家可以更好地认识环境样本中微生物的多样性及其群落结构^[17,18]。然而,由于 DNA 在胞外环境及死亡的细胞中仍可存活一段时间,因此基于 DNA 测序容易受到胞外溶解态 DNA、死亡细胞和碎屑等的影响,其测序结果反映的是样本中存在的类群^[19]。相比于 DNA, RNA 在胞外的环境中更容易被降解,同时 rRNA 序列信息可代表细胞中核糖体的活跃性或蛋白合成的潜能,因此 rRNA 测序技术(RNA 测序)可反映环境样本中活跃的类群^[20]。但 RNA 测序同样存在一定的局限性,如:其序列信息并不是细胞活跃性的直接指标^[21]。基于两种测序方案的优势及局限性,可以将其结合起来作为一种互补的方案,更好地反映环境样本中存在的类群及活跃的类群^[22~24]。此外, RNA:DNA 可作为表征微生物类群/物种的代谢活性^[25]。

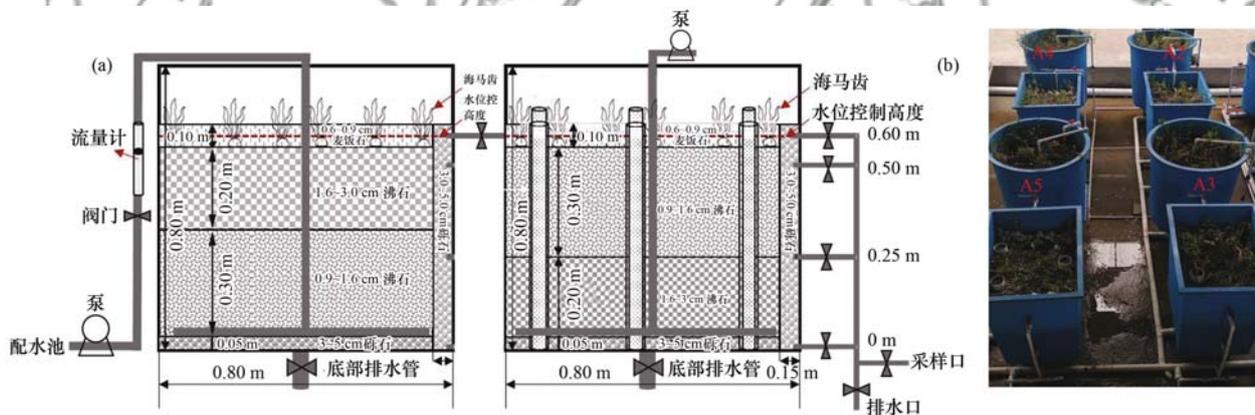
基于 DNA 和 RNA 高通量测序技术,分析养殖污水和不同曝气处理人工湿地单元水体中细菌多样性、群落结构、代谢活性和细菌群落功能的变化。阐明养殖污水在进入不同曝气处理人工湿地后细菌群落结构的变化,代谢活性的变化及其主要调控因子。此外,本研究还通过对细菌功能的预测揭示人工湿地在处理污染物及营养盐过程中细菌群落的

作用。

1 材料与方法

1.1 人工湿地构建

本研究人工湿地由垂直潜流和水平潜流串联而成[图 1(a)],依据不同的曝气方式可分为:垂直潜流和水平潜流湿地均不曝气组(A2);垂直潜流和水平潜流湿地均曝气组(A3);仅上行垂直流湿地曝气组(A4);仅水平潜流湿地曝气组(A5)[图 1(b)]。4 组人工湿地进水均为福建省淡水养殖良种繁育基地养殖污水 A1(对照组)。本研究人工湿地建立在福建省淡水养殖良种繁育科研中试基地,水平潜流人工湿地为长方体结构,面积为 0.48 m²(长 0.8 m,宽 0.6 m),垂直潜流人工湿地为圆柱形结构,面积为 0.5 m²,半径为 0.4 m,两种类型人工湿地池体深度均为 0.8 m。人工湿地填料为大沸石、小沸石、砾石和麦饭石,各基质间的孔隙率分别为 48%、45%、48% 和 45%。水平潜流和垂直潜流人工湿地填料深度均为 0.65 m,且各人工湿地中均种植海马齿。本研究人工湿地采用间歇式运行方式,总的反应时间为 4 d,其中进水时间 30 min,反应时间为 3 d 17 h,排水时间为 30 min,排空闲置 6 h。



A2:无曝气; A3:曝气; A4:上行垂直流曝气; A5:水平潜流曝气; 长方体容器:水平潜流人工湿地; 圆柱形容器:垂直潜流人工湿地

图 1 人工湿地构建示意和实验装置

Fig. 1 Schematic diagram and picture of CWs

1.2 营养盐样品采集及实验室分析

采集进水(福建省淡水养殖良种繁育基地养殖污水)作为对照组,同时采集不同处理组人工湿地停留 3 d 的水样 0.5~1 L,水样带回实验室后立即用 0.45 μm 玻璃纤维滤膜过滤,收集的滤膜保存至 -20℃ 冰箱。测定的营养盐指标包括:总氮(TN)、硝态氮(NO₃⁻-N)、氨氮(NH₄⁺-N)、总磷(TP)、总溶解态磷(TDP)和正磷酸盐(SRP)。营养盐分析方法参照文献^[26]。

1.3 人工湿地细菌样本收集

采集进水养殖污水 1~2 L 作为对照组,在各串

联组人工湿地单元出水口处(水平潜流湿地单元出水口)采集水样 1~2 L。水样采集完成之后立即带回实验室,首先经过 200 μm 筛绢预过滤,去除杂质及大粒径生物干扰。预过滤的水样通过蠕动泵富集到 0.2 μm 的核酸纤维膜上(直径 142 mm, Milipore, USA)。为减少样本中 RNA 样本的丢失,本实验中通过调节蠕动泵控制水样过滤速度为 0.5 L·min⁻¹。收集的膜样立即放置 -80℃ 冰箱中保存。

1.4 细菌 DNA/RNA 共提取、PCR 扩增及 Illumina 高通量测序

本研究采用 AllPrep DNA/RNA Min Kit

(Qiagen, #80204, Germany) 试剂盒对样本中细菌 DNA/RNA 进行共提取. 在实际操作中本研究对试剂盒操作步骤进行了适当优化, 确保每个样品可获得高质量的 DNA 及 RNA. 获得的 RNA 样本首先经过 gDNA wipeout buffer (Qiagen, #205311, Germany) 处理去除可能存在的基因组 DNA, 纯化的 RNA 样本通过 QuantiTect Reverse Transcription Kit (Qiagen, #205311, Germany) 试剂盒反转录为 cDNA. 获得 DNA 及 cDNA 进行进一步的 PCR 扩增. 本研究扩增的片段为 16S V3 ~ V4 区, 引物片段为: 上游引物 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'), 下游引物 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')^[27]. PCR 体系 (25 μ L) 包含: 12.5 μ L 2 \times Taq PCR mix (Takara, China), ≤ 1 μ g DNA 或 cDNA 模板, 0.1 μ mol \cdot L⁻¹ 上游引物, 0.1 μ mol \cdot L⁻¹ 下游引物及 ddH₂O. PCR 扩增步骤如表 1 所示. PCR 扩增产物通过 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检验, 对合格的产物进行磁珠纯化并采用酶标定量, 依据 PCR 产物浓度进行等量混样, 混匀后继续通过 2% 浓度的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳检验. 获得的条带通过 QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, #28704, Germany) 试剂盒进行回收. 回收的 PCR 产物干冰保存并送至北京诺禾致源科技股份有限公司 (Novogene) 通过 NovaSeq6000 进行上机测序.

表 1 16S PCR 反应步骤¹⁾

Table 1 16S polymerase chain reaction

反应步骤	温度/°C	时间/min
预变性	95	2
25 循环		
变性	95	0.5
退火	55	0.5
延伸	72	0.5
延伸	72	5

1) PCR 反应的总体积为 25 μ L

1.5 序列处理及数据分析方法

依据 Barcode 和引物序列从下机序列中拆分出各个样本数据, 各样本序列截取 Barcode 和引物序列后使用 FLASH^[28] (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) 进行拼接. 拼接后得到的原始序列参照 QIIME^[29] (V1.9.1 <http://qiime.org/scripts/>

split_libraries_fastq.html) 进行严格的质控. 质控后得到的序列通过 GitHub^[30] (<https://github.com/torognes/vsearch/>) 检测嵌合体序列并移除. 最终获得的高质量序列通过 Uparse^[31] (v7.01001, <http://www.drive5.com/uparse/>) 以 97% 的相似度聚类形成操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs). OTUs 中出现频数最高的序列作为其代表序列, 代表序列通过 Mothur 方法比对 SILVA138^[31] (<http://www.arb-silva.de/>) 中的 SSUrRNA 数据库^[32] 进行物种分类注释 (阈值为 0.8 ~ 1). 进一步分析中, 去除了只在一个样本中出现的 OTUs、只含有一条序列的 OTUs 以及物种注释为非细菌的 OTUs. 为避免样本间因测序深度不同带来的误差, 本研究所有 DNA/RNA 测序结果均以样本中最小序列数进行均一化处理, 均一化处理完成后各样本序列均为 33 210 条.

本研究中所有统计分析均基于 R 语言软件完成 (V. 4.0.5)^[33]. 主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 用来检测样本间细菌群落结构的差异. 热图 (Heatmap) 用来展示细菌代谢活性在各样本间的差异. 细菌代谢活性 (RNA:DNA) 基于 OTUs 在 RNA/DNA 测序结果中的相对丰度计算获得. 典型关联分析 (canonical correlation analysis, CCA) 用来检测细菌代谢活性与环境因子间的相关性. FAPROTAX (functional annotation of prokaryotic taxa) 用于预测细菌群落的功能.

2 结果与分析

2.1 人工湿地不同处理组营养盐浓度

本研究中获得的营养盐参数: TN、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N、TP、TDP 和 SRP 在对照组及各处理组间的浓度见表 2. TN 在各处理组间去除率为 31.58% ~ 50.31%, 其中无曝气组去除率最高; NO₃⁻-N 在各处理组间的去除率为: 10.00% ~ 32.56%, 其中水平潜流曝气组去除率最高; NH₄⁺-N 在各处理组间的去除率为: 53.85% ~ 76.92%, 其中水平潜流曝气组去除率最高; TP 在各处理组间的去除率为: 32.64% ~ 58.33%, 其中水平潜流曝气组去除率最高; TDP 在

表 2 不同人工湿地处理组营养盐浓度/mg \cdot L⁻¹

Table 2 Nutrient concentration of different constructed wetland treatment groups/mg \cdot L⁻¹

项目	对照组	无曝气	曝气	上行垂直流曝气	水平潜流曝气
ρ (TN)	6.46	3.21	3.36	3.51	4.42
ρ (NO ₃ ⁻ -N)	3.90	2.80	3.189	2.63	3.51
ρ (NH ₄ ⁺ -N)	0.26	0.11	0.12	0.11	0.06
ρ (TP)	1.44	0.79	0.80	0.97	0.60
ρ (TDP)	0.77	0.78	0.83	0.85	0.85
ρ (SRP)	1.11	0.73	0.78	0.64	0.80

各处理组间浓度均高于对照组,去除率为:101.00%~110.00%;SRP在各处理组间去除率为:27.93%~42.34%,其中上行垂直流曝气组去除率最高。

2.2 对照组和不同处理组间的细菌多样性

本研究共获得细菌序列917 604条,经拼接、质控和去除嵌合体后共获得高质量序列528 454条.所获序列以97%的相似度聚类后共获得4 042个操作分类单元(OTUs).基于RNA测序方案表征的各样本细菌多样性高于基于DNA的测序结果(图2),多样性指数也表现出相似的趋势(表3).基于DNA测序表征的细菌在各样本间的多样性为:曝气(1 770, OTUs数目,下同) > 水平潜流曝气(1 533) > 上行垂直流曝气(1 151) > 无曝气(968) > 对照组(887).而基于RNA测序表征的细菌在各样本间的多样性

为:水平潜流曝气(2 076) > 曝气(1 992) > 无曝气(1 817) > 对照组(1 587) > 上行垂直流曝气(1 351).基于DNA测序表征的细菌在各样本间多样性最高的类群主要为: α -变形菌(α -Proteobacteria)、 γ -变形菌(γ -Proteobacteria)和拟杆菌(Bacteroidia). γ -变形菌多样性在各样本间变化范围为:130(对照组)~273(曝气组), α -变形菌多样性在各样本间变化范围为:112(对照组)~214(曝气组),拟杆菌多样性在各样本间变化范围为:61(无曝气组)~136(曝气组)(图2).基于RNA测序表征的细菌多样性最高的类群同样为: α -变形菌、 γ -变形菌和拟杆菌,且这3种细菌类群多样性在不同处理组间的变化均为上行垂直流曝气组最低,水平潜流曝气组最高(图2).

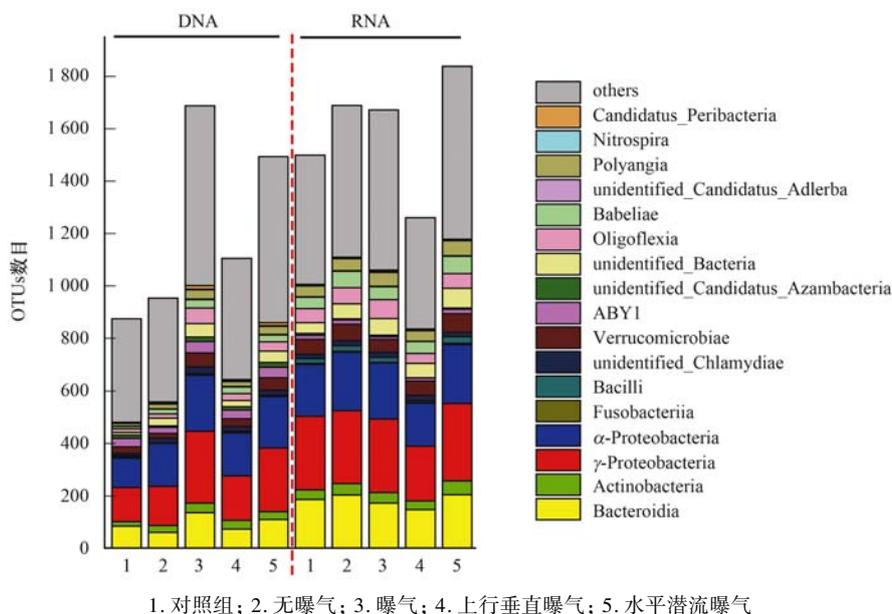


图2 基于DNA/RNA测序方案表征的各样本细菌在纲水平的多样性

Fig. 2 Diversity of bacteria (class level) at each sample based on DNA/RNA high-throughput sequencing

表3 对照组及不同人工湿地处理组间的细菌多样性指数

Table 3 Bacterial diversity index between control group and different constructed wetland treatment groups

项目	指数	对照组	无曝气	曝气	上行垂直流曝气	水平潜流曝气
DNA	ACE	1 046.78	1 114.51	2 128.83	1 342.57	1 953.96
	Shannon	3.53	4.09	5.43	4.21	4.82
	Chao1	1 015.54	1 058.62	2 084.04	1 279.70	1 982.07
RNA	ACE	1 972.40	2 115.11	2 621.33	1 792.90	2 630.14
	Shannon	4.66	4.88	5.08	4.11	5.09
	Chao1	1 823.71	1 996.10	3 403.27	1 780.89	2 587.07

基于DNA测序表征的细菌在各样本间共有的OTUs为342个,各样本独有的OTUs为曝气组(338, OTUs数目,下同) > 水平潜流曝气组(202) > 上行垂直流曝气(156) > 对照组(106) > 无曝气组(90)[图3(a)].基于RNA测序表征的细菌在样本间共有的OTUs为519个,各样本独有的OTUs为水平潜流曝气(358) > 曝气组(280) > 无曝气组(226)

> 上行垂直流曝气(206) > 对照组(173)[图3(b)].

2.3 对照组和不同处理组间细菌群落组成

基于DNA测序结果, γ -变形菌在各样本间均有着较高的相对丰度,其在对照组相对丰度高达38.3%,在水平潜流曝气组、无曝气组、曝气组和上行垂直流曝气组的相对丰度分别为:30.15%、

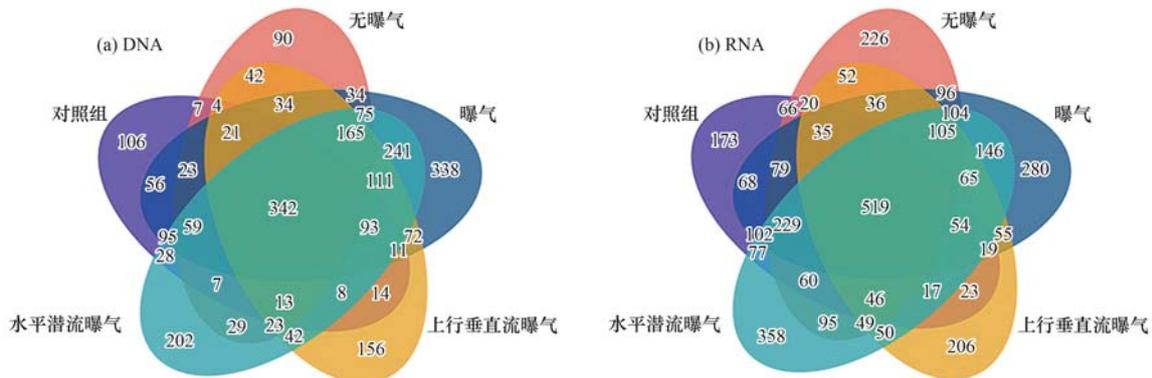


图 3 韦恩图展示了基于 DNA 和 RNA 测序方案表征的细菌在各样本间共有的及独有的 OTUs

Fig. 3 Venn diagram showing the numbers of unique and shared OTUs of bacteria among samples based on DNA and RNA sequencing

26.16%、22.13% 和 16.96% (图 4)。放线菌门 (Actinobacteria) 在对照组相对丰度仅为 1.04%, 但其相对丰度在其他处理组却有着极大地提升, 在水平潜流曝气组、曝气组、无曝气组和上行垂直流曝气组的相对丰度分别为: 9.33%、10.34%、21.54% 和 35.69%。α-变形菌 (5.99% ~ 21.34%) 和拟杆菌 (5.29% ~ 13.58%) 在各样本间也有着较高的相对丰度。梭杆菌纲 (Fusobacteriia) 在对照组的相对丰度为 20.95%, 然而其相对丰度在处理组间均明显下降, 在上行垂直潜流曝气组、无曝气组、水平潜流曝气组及曝气组的相对丰度分别为: 0.07%、0.12%、0.92% 和 1.62% (图 4)。其他细菌类群相对丰度仅占 DNA 测序结果的很小一部分。

基于 RNA 测序结果, γ-变形菌同样为各样本中相对丰度最高的类群, 其在对照组相对丰度为 36.22%, 在其他处理组相对丰度略有下降, 在无曝

气组、曝气组、水平潜流曝气组和上行垂直流曝气组的相对丰度分别为: 23.94%、26.47%、27.17% 和 28.77% (图 4)。α-变形菌在对照组的相对丰度为 27.06%, 在其他处理组其相对丰度略有下降, 在上行垂直流曝气组、水平潜流曝气组、曝气组和无曝气组的相对丰度分别为: 13.74%、19.32%、22.64% 和 26.12%。拟杆菌在各样本间有着较高的相对丰度: 11.38% (曝气组) ~ 34.88% (上行垂直流曝气)。放线菌纲在对照组相对丰度为 5.04%, 在其他处理组其相对丰度明显上升, 在上行垂直流曝气组、无曝气组、曝气组和水平潜流曝气组的相对丰度分别为 6.23%、8.97%、9.98% 和 19.68%。芽孢杆菌纲 (Bacilli) 在样本间相对丰度较低, 但其在曝气组相对丰度达 12.97% (图 4)。其他细菌类群在 RNA 测序结果中仅占很小一部分。

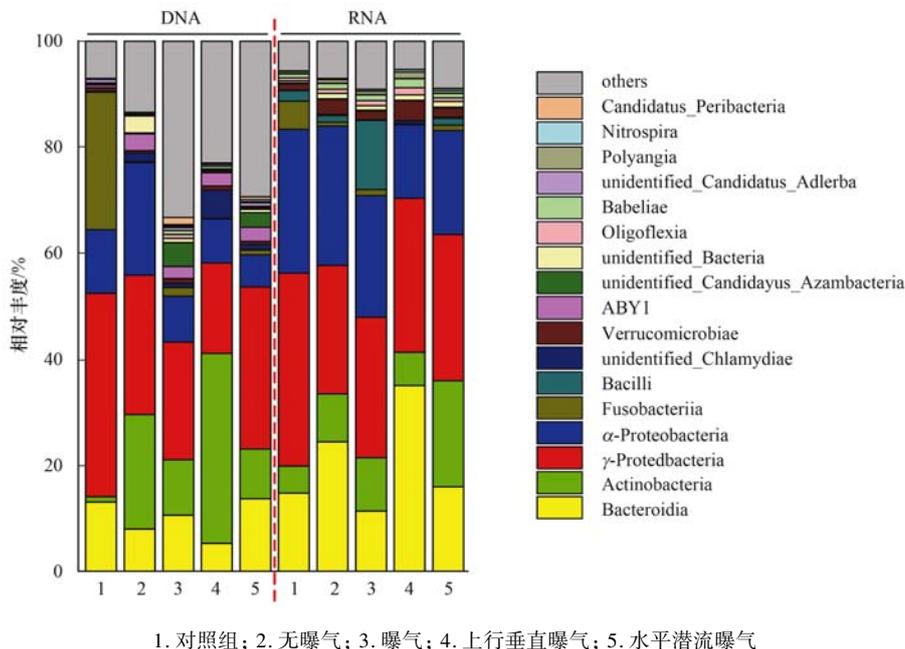
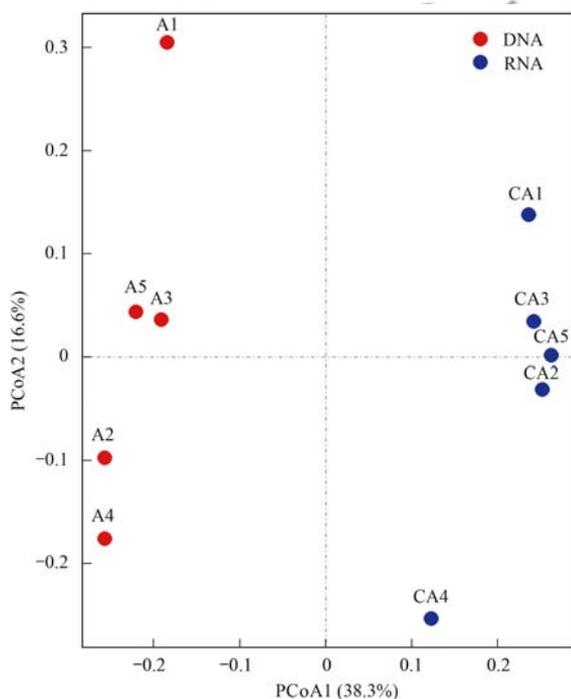


图 4 基于 DNA/RNA 测序表征的细菌群落 (纲水平) 在各样本间的相对丰度分布

Fig. 4 Relative abundance of bacterial groups (class level) based on DNA-derived and RNA-derived approaches for each sample

2.4 对照组和不同处理组间细菌群落代谢活性

主坐标分析(PCoA)发现对照组和人工湿地不同处理组间各样本基于 DNA 测序表征的细菌群落与基于 RNA 测序的结果在 X 轴分开,表明两种测序方法表征的细菌群落结构存在差异;人工湿地各处理组细菌群落结构在 Y 轴与对照组分开(图 5). 为便于比较细菌代谢活性在样本间的差异,本研究筛选了在 DNA 和 RNA 测序结果中同时出现且在所有样本中均检测到的 OTUs,并计算其 RNA/DNA 比例. 本研究中共筛选出 168 个 OTUs,主要为: α -变形菌(46, OTUs 数目,下同)、 γ -变形菌(52)、拟杆菌(21)和放线菌(13). α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌在各样本中的代谢活性如图 6 所示. 结果发现,细菌在 OTU 水平的代谢活性在样本间存在差异,深红色表明其代谢活性较高,深蓝色则代表其代谢活性较低. 基于 CCA 进一步分析发现,人工湿地单元细菌代谢活性主要受总氮(TN)和硝态氮(NO_3^- -N)浓度的调控(图 7).



A1 (CA1):对照组; A2(CA2):无曝气; A3(CA3):曝气;
A4(CA4):上行垂直曝气; A5(CA5):水平潜流曝气

图 5 基于 Bray-Curtis 距离矩阵的各样本细菌群落的主坐标分析

Fig. 5 Principal coordinate analysis (PCoA) of bacteria in all samples based on the Bray-Curtis distance matrix

2.5 人工湿地细菌功能预测

基于 DNA 测序表征的细菌分类结果,采用 FAPROTAX 数据库对人工湿地中细菌功能注释发现,本研究中细菌功能主要为:化能异养(平均丰度为 13.31%)、好氧化能异养(8.78%)、发酵(5.07%)、胞内寄生(2.98%)、暗氢氧化

(2.68%)、光合自养(2.36%)、光合异养(2.29%)和硝酸盐还原(1.49%),其中前 35 种功能热图如图 8 所示. 化能异养和发酵在对照组的占比分别高达 27.79% 和 21.86%,而其相对丰度在各处理组间均明显下降. 此外,在对照组还包含丰度较高的氮循环功能:硝酸盐还原、固氮、氮呼吸及硝酸盐呼吸作用(图 8). 曝气组中存在丰度较高的碳氢化合物降解、光自养、产氧光自养、蓝藻、亚硝酸盐呼吸、氧化亚氮反硝化和硝酸盐反硝化功能. 此外,该处理组细菌存在丰度较高的致病功能,如:人类肠道疾病、哺乳动物肠道疾病、动物寄生虫或共生体、人类病原体等. 无曝气组存在丰度较高的好氧化能异养功能. 上行垂直流曝气组存在丰度较高的胞内寄生、芳香化合物降解、亚硝酸盐呼吸、反硝化、氧化亚氮反硝化和硝酸盐反硝化功能. 水平潜流曝气组存在丰度较高的暗氢氧化、捕食性或寄生性、反硝化相关功能和致病功能(图 8).

3 讨论

3.1 人工湿地曝气处理对养殖污水中氮和磷的去除

人工湿地处理养殖污水具有成本低、二次污染小和操作维护简单等优点. 曝气处理是一种提高人工湿地溶解氧的有效手段,常被用于提高湿地系统的处理性能^[34]. 持续的曝气有利于硝化细菌和亚硝化细菌的生长繁殖,从而有助于加强人工湿地的硝化作用,然而高浓度的溶解氧会抑制反硝化细菌^[35,36]. 本研究中人工湿地对氮的去除效果比较好,曝气处理不利于反硝化作用,这可能是有些曝气处理组 TN 和 NO_3^- -N 浓度高于无曝气组的原因. 人工湿地对磷的去除途径主要包括:离子交换、沉积和基质吸附等^[37]. 相比于无曝气组,曝气处理对 TP、TDP 和 SRP 的去除效果并不明显,这也与前人的研究结果相似^[38]. 综合来看,在本研究中针对该类养殖废水,水平潜流曝气组为最优选择,营养盐去除效果最好(表 2).

3.2 对照组和人工湿地不同处理组间的细菌多样性

曝气处理会不同程度地增加人工湿地细菌的多样性. 基于高通量测序技术,本研究在对照组和人工湿地不同处理组中共检测到细菌 4 042 OTUs. 基于 DNA 测序技术表征的细菌多样性结果表明:曝气组细菌多样性最高,且不同曝气处理人工湿地细菌多样性均高于对照组(图 2). 基于 RNA 测序发现细菌在对照组及不同人工湿地处理组均有着很高的多样性,上行垂直流曝气处理人工湿地细菌多样性略低于对照组,其他处理组细菌多样性均高于对照组(图 2). 基于 16S rDNA 测序技术来表征环境样本中

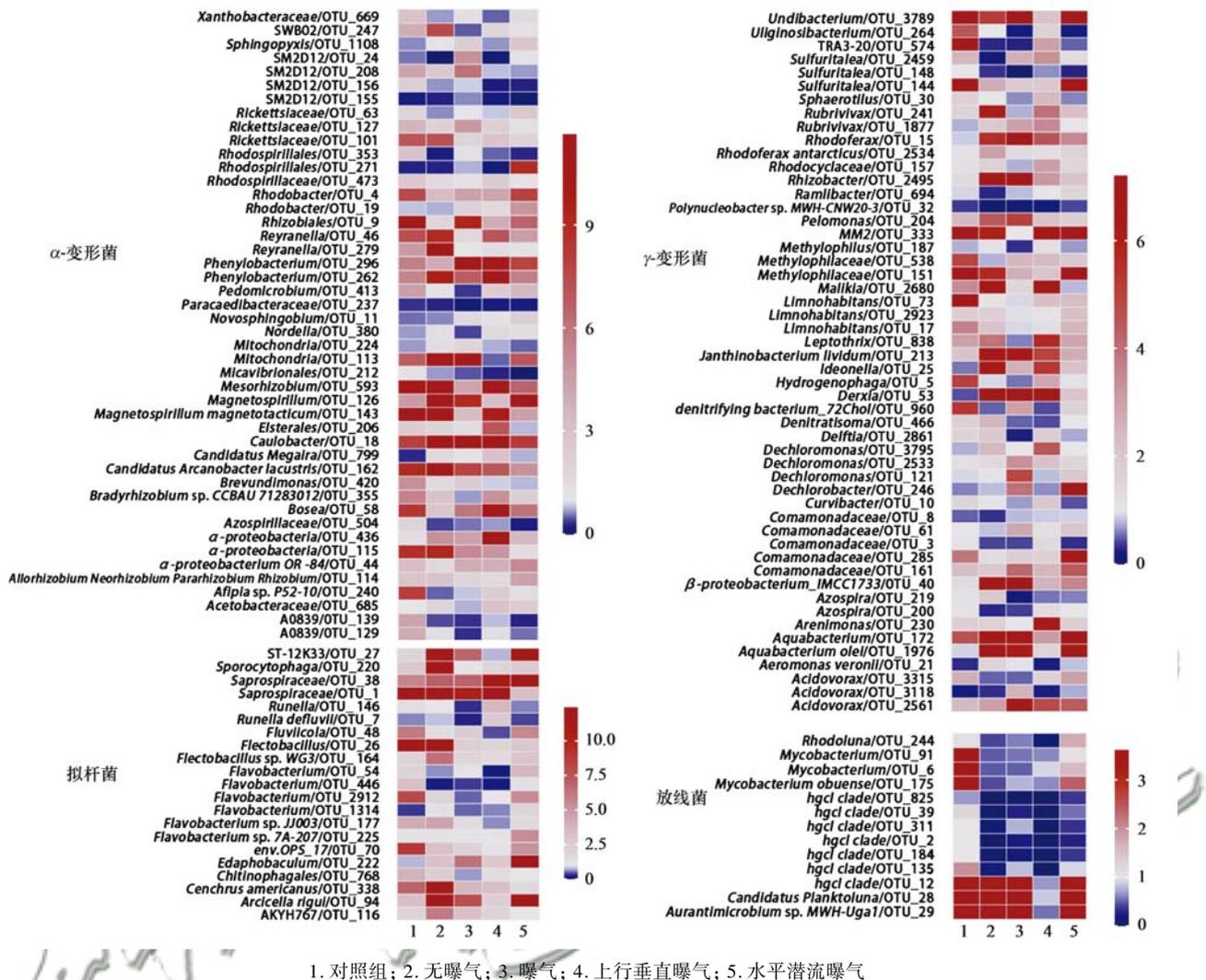


图 6 α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌 OTUs 代谢活性 (RNA:DNA) 热图

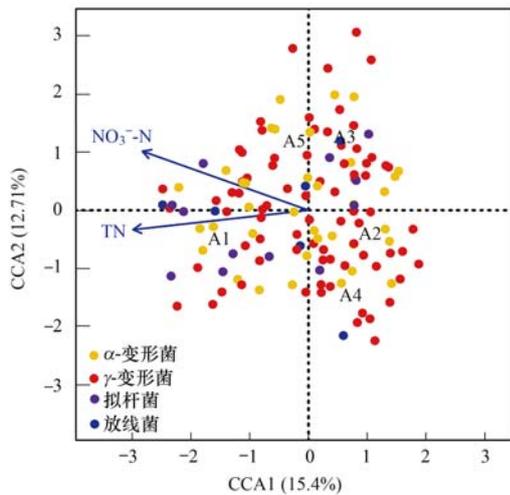
Fig. 6 Heatmap of the OTU activities (RNA:DNA) of α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, Bacteroidia and Actinobacteria

细菌的多样性及群落结构已经被应用于海洋、沉积物、活性污泥^[39, 40]和废水处理系统^[23]等环境样本中。但基于 rDNA 测序存在一定的局限性,如:DNA 在胞外的环境中可存活一段时间,因此基于 rDNA 测序技术表征的细菌类群不仅包含活跃类群,同时也包含休眠细胞、最新死亡的细胞和裂解的细胞,因此基于 rDNA 测序反映的是环境样本中总的类群^[20]。相比于 DNA, RNA 在胞外的环境中更容易被降解,且 rRNA 序列信息可代表细菌细胞中核糖体的活跃性或蛋白合成的潜能,因此基于 rRNA 的测序结果可反映环境样本中活跃的类群^[20]。然而,本研究中基于 RNA 测序反映的细菌多样性均高于基于 DNA 的测序结果(图 2)。类似的现象在土壤环境中也有发现^[41]。可能原因是基于 RNA 测序技术表征的高细菌多样性是由稀有类群所导致的,已有研究证实部分细菌稀有类群虽然在 DNA 测序结果中占极低的丰度,但其却有着相对较高的代谢活性,因此可以在 RNA 测序结果中检出^[42]。本研究检

测到细菌 4 042 OTUs,其中序列丰度大于 1% 的高丰度 OTUs 仅为 15 个,而序列丰度小于 0.1% 的稀有类群却高达 3 935 OTUs。此外,不能排除转录后其他过程的影响,如:选择性剪切,该过程可能导致表达的转录产物比其基因组模板更加多样化^[43]。

3.3 对照组和不同处理间组细菌群落组成及代谢活性

α -变形菌、 γ -变形菌和拟杆菌均为 DNA 和 RNA 测序结果中丰度较高的类群(图 4)。 α -变形菌和 γ -变形菌为污水和人工湿地中的常见菌群, γ -变形菌可利用水体中的甲烷和有机物。硝化-反硝化和氨氧化作用是人工湿地去除氮的主要机制。拟杆菌是常见的反硝化细菌,该类群在氮的去除中起着非常重要的作用^[44]。基于 RNA 测序,拟杆菌在对照及不同处理组间相对丰度均高于基于 DNA 的测序结果,表明该反硝化类群处于代谢活跃的状态。硝化菌属 *Nitrospiraceae* 和 *Nitrosomonadaceae* 虽然相对丰度不高,但其在 RNA 测序结果中的丰度均高于基于



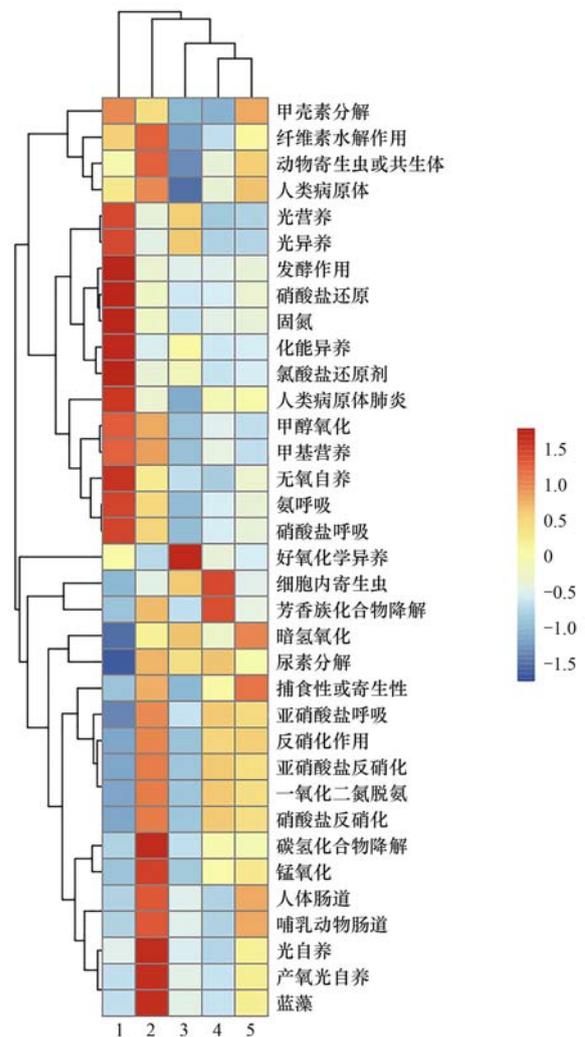
TN:总氮; NO_3^- -N: 硝态氮; 图中仅展示了具有显著相关的环境因子($P < 0.05$); A1:对照组; A2:无曝气; A3:曝气; A4:上行垂直曝气; A5:水平潜流曝气

图 7 基于典型相关分析的 α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌代谢活性与环境因子间的相关性

Fig. 7 Plot of the canonical correlation analysis (CCA) integrating environmental factors and the metabolic activities of the bacterial groups, including Actinobacteria, α -Proteobacteria, Bacteroidia, and γ -Proteobacteria

DNA 的测序结果,表明其处于代谢活跃状态.基于 DNA 测序,放线菌在对照组仅检测到极低的丰度,然而其在无曝气组和上行垂直曝气组间却检测到较高的丰度.放线菌是一类革兰氏阳性细菌,在厌氧硝化反应器中有着重要的功能,本研究无曝气组和上行垂直曝气组提供的厌氧环境有利于该类群的生长繁殖.放线菌在 RNA 测序结果的相对丰度均低于基于 DNA 的测序结果,表明该类群处于代谢不活跃的状态.芽孢杆菌及疣微菌 (*Verrucomicrobiae*) 则表现出相反的趋势. PCoA 分析发现对照组及不同处理组间细菌群落结构存在差异,其中上行垂直曝气组与对照组差异最大,且基于 DNA 及 RNA 测序方案表征的群落结构存在明显差异(图 5).

目前,微生物学家普遍认为:基于 DNA 测序可反映环境样本中存在的类群,而基于 RNA 测序可以反映环境样本中活跃的类群^[16],RNA:DNA 可作为类群或物种的代谢活性^[21,24].已有的研究发现微生物群落或物种的代谢活性受到环境因子的调控.如 Romanowicz 等^[45]的研究揭示了森林土壤中微生物活跃类群的组成主要受到 pH 和土壤中水分的调控;Wang 等^[23]的研究揭示了西太平洋微微型真核生物的代谢活性主要受到营养盐浓度的调控.本研究中发现 α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌代谢活性在对照组和不同人工湿地处理组间的变化(图 6),且其代谢活性主要受总氮和硝态氮浓度的



1. 对照组; 2. 无曝气; 3. 曝气; 4. 上行垂直曝气; 5. 水平潜流曝气

图 8 人工湿地细菌 FAPROTAX 功能预测(前 35)

Fig. 8 FAPROTAX metabolic predictions (top 35) of the bacterial communities in our constructed wetland

调控(图 7).

3.4 人工湿地不同处理组细菌群落功能

细菌有着快速地繁殖速度,在污水处理系统中起着非常关键的作用^[46].揭示对照组及人工湿地处理组细菌群落的生态功能,有助于加深对人工湿地处理养殖废水中细菌群落生化过程的认识. FAPROTAX 数据库是基于可培养菌的文献证据整理的原核生物功能注释数据库,其包含了超过 4 600 个不同原核生物种类,收录了氮、碳和硫等元素循环、甲烷生成、发酵和动植物病原等 80 多种功能分类,可较好地预测环境样本中的原核生物的生物化学循环过程^[47].基于 FAPROTAX 数据库功能注释,本研究在对照组和不同人工湿地曝气处理组的细菌群落中共检测到 56 个功能群组.其中对照组细菌群落功能预测率可达到 76.8%,主要为化学异养类群(27.79%).化学异养菌可消化分解养殖废水中的有机物,消化产物可成为细菌发酵的底物,其次发酵

作用也是对照组中一个丰度较高的功能(21.86%)。然而,人工湿地不同曝气处理组间细菌功能的预测率均较低(无曝气组:44.46%;曝气组:30.02%;上行垂直流曝气组:29.25%;水平潜流曝气组:28.33%),这可能与处理组环境改变产生的新的细菌类群有关(图3)。氮循环相关功能,如:硝酸盐还原、固氮、氨呼吸和硝酸盐呼吸作用,亚硝酸盐呼吸、氧化亚氮反硝化和硝酸盐反硝化功能,该功能的发现表明在污水处理系统中氮循环相关的细菌类群参与了总氮、氨氮和硝态氮的去除(表2)。对照组中硝酸盐还原、固氮、氨呼吸和硝酸盐呼吸功能的发现表明进水养殖污水中存在与氮循环相关的类群。上行垂直流曝气和水平潜流曝气组提供的好氧-缺氧环境有利于反硝化作用的进行,如:亚硝酸盐呼吸、亚硝酸盐反硝化、氧化亚氮反硝化和硝酸盐反硝化。曝气组发现较高的碳循环功能如:光自养、产氧光自养和蓝藻等。此外,在曝气和水平潜流曝气组还检测到人类肠道疾病、哺乳动物肠道疾病和人类病原体等功能类群。

4 结论

(1)本研究中在对照组及不同处理人工湿地组中共检测到细菌4 042 OTUs,其中多样性最高的类群为: α -变形菌、 γ -变形菌和拟杆菌。此外,曝气处理会不同程度地增加人工湿地细菌的多样性。

(2) α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌均为基于DNA和RNA测序表征的主要细菌群落,但基于DNA和RNA测序方案表征的细菌群落结构存在差异。

(3)在本研究中, α -变形菌、 γ -变形菌、拟杆菌和放线菌在对照组及不同人工湿地处理组代谢活性主要受到总氮和硝态氮浓度的调控。

(4)FAPROTAX数据库注释发现本研究样本间中存在与氮循环相关的功能类群,其可能在人工湿地中总氮、氨氮和硝态氮的去除过程中起到重要的作用。

参考文献:

[1] 孙茜,徐圣君,曾贤桂,等. 畜禽养殖废水人工湿地处理技术研究进展[J]. 煤炭与化工, 2019, 42(4): 155-160.
Sun Q, Xu S J, Zeng X G, et al. Research progress of treatment livestock and poultry wastewater technologies for using constructed wetlands[J]. Coal and Chemical Industry, 2019, 42(4): 155-160.

[2] 赵林丽,邵学新,吴明,等. 人工湿地不同基质和粒径对污水净化效果的比较[J]. 环境科学, 2018, 39(9): 4236-4241.
Zhao L L, Shao X X, Wu M, et al. Effects of different substrates and particle sizes on wastewater purification[J]. Environmental Science, 2018, 39(9): 4236-4241.

[3] 李慧贤,熊志鹏,王倩,等. 垂直流人工湿地强化地表径流脱氮的研究[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(12): 137-143.
Li H X, Xiong Z P, Wang Q, et al. Study on enhanced removal of nitrogen in vertical flow constructed wetland [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 42(12): 137-143.

[4] 王加鹏,崔正国,周强,等. 人工湿地净化海水养殖外排水效果与微生物群落分析[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 1-9.
Wang J P, Cui Z G, Zhou Q, et al. Removal effect of mariculture wastewater and analysis of microbial communities in constructed wetlands[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(6): 1-9.

[5] 王森,任伶,刘琳琳,等. 纳米氧化锌粒径对人工湿地性能及微生物群落的影响[J]. 环境科学, 2019, 40(11): 4971-4979.
Wang S, Ren L, Liu L L, et al. Size-dependent effects of zinc oxide nanoparticles on performance and microbial community structure of a constructed wetland[J]. Environmental Science, 2019, 40(11): 4971-4979.

[6] 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.

[7] 黄健,赵晓芬. 微生物在人工湿地污水处理中的研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2012, (2): 151-156.
Huang J, Zhao X F. Progress of study on microorganisms in the constructed wetland for wastewater treatment[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2012, (2): 151-156.

[8] 李丽. 11种湿地植物在污染水体中的生长特性及对水质净化作用研究[D]. 广州:暨南大学, 2011.
Li L. Growth characteristics and roles of 11 species of wetland plants in polluted water purification [D]. Guangzhou: Jinan University, 2011.

[9] 方焰星,何池全,梁霞,等. 曝气对人工湿地氮去除效果的影响[J]. 湿地科学, 2011, 9(3): 270-276.
Fang Y X, He C Q, Liang X, et al. Influence of aeration on nitrogen removal of constructed wetlands[J]. Wetland Science, 2011, 9(3): 270-276.

[10] 王宁,黄磊,罗星,等. 生物炭添加对曝气人工湿地脱氮及氧化亚氮释放的影响[J]. 环境科学, 2018, 39(10): 4505-4511.
Wang N, Huang L, Luo X, et al. Impact of biochar on nitrogen removal and nitrous oxide emission in aerated vertical flow constructed wetland [J]. Environmental Science, 2018, 39(10): 4505-4511.

[11] 古腾,吴勇,王楠. 曝气生物滤池-模块化人工湿地组合工艺处理农村生活污水[J]. 环境工程, 2018, 36(1): 20-24.
Gu T, Wu Y, Wang X T. Treatment of rural domestic sewage by using biological aerated filter and modular constructed wetland combined process [J]. Environmental Engineering, 2018, 36(1): 20-24.

[12] 康晓荣,刘亚利,周友新,等. 间歇曝气强化人工湿地低温脱氮研究[J]. 森林工程, 2019, 35(3): 74-77, 106.
Kang X R, Liu Y L, Zhou Y X, et al. Studies on intermittent aeration enhancing nitrogen removal of constructed wetland at low temperature[J]. Forest Engineering, 2019, 35(3): 74-77, 106.

- 106.
- [13] 崔丽娟, 张曼胤, 李伟, 等. 人工湿地处理富营养化水体的效果研究[J]. 生态环境学报, 2010, **19**(9): 2142-2148.
Cui L J, Zhang M Y, Li W, *et al.* Research on the effects of constructed wetlands for eutrophication waterbodies[J]. Ecology and Environment, 2010, **19**(9): 2142-2148.
- [14] 张彩莹, 王岩, 王妍艳. 潜流人工湿地对畜禽养殖废水的净化效果[J]. 农业工程学报, 2013, **29**(17): 160-168.
Zhang C Y, Wang Y, Wang Y Y. Purification effect of subsurface flow constructed wetland on livestock wastewater[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2013, **29**(17): 160-168.
- [15] 陈靖. 农村生活污水大肠杆菌污染防治方法研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2018.
Chen J. Study on prevention and treatment of rural domestic wastewater E. coli pollution [D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2018.
- [16] Wang F P, Huang B Q, Xie Y Y, *et al.* Diversity, composition, and activities of nano- and pico-eukaryotes in the northern South China Sea with influences of Kuroshio intrusion[J]. Frontiers in Marine Science, 2021, **8**, doi: 10.3389/fmars.2021.658233.
- [17] Lozupone C A, Knight R. Global patterns in bacterial diversity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, **104**(27): 11436-11440.
- [18] de Vargas C, Audic S, Henry N, *et al.* Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean[J]. Science, 2015, **348**(6237), doi: 10.1126/science.1261605.
- [19] Kearns P J, Angell J H, Howard E M, *et al.* Nutrient enrichment induces dormancy and decreases diversity of active bacteria in salt marsh sediments[J]. Nature Communications, 2016, **7**, doi: 10.1038/ncomms12881.
- [20] Sundberg C, Al-Soud W A, Larsson M, *et al.* 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, **85**(3): 612-626.
- [21] Blazewicz S J, Barnard R L, Daly R A, *et al.* Evaluating rRNA as an indicator of microbial activity in environmental communities: limitations and uses [J]. The ISME Journal, 2013, **7**(11): 2061-2068.
- [22] Ye D D, Liang H B, Zhou W, *et al.* Total and active microbial communities in a full-scale system treating wastewater from soy sauce production [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, **123**: 206-215.
- [23] Wang F P, Xie Y Y, Wu W X, *et al.* Picoeukaryotic diversity and activity in the Northwestern Pacific Ocean based on rDNA and rRNA high-throughput sequencing [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, **9**, doi: 10.3389/fmicb.2018.03259.
- [24] Liang H B, Luo X T, Ye D D, *et al.* Seasonal succession of bacterial communities, metabolic potential and ecological functions in soy sauce wastewater treatment system [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2020, **154**, doi: 10.1016/j.ibiod.2020.105083.
- [25] Baldrian P, Kolařík, Štursová M, *et al.* Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition [J]. The ISME Journal, 2012, **6**(2): 248-258.
- [26] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [27] He S Q, Li D, Wang F P, *et al.* Parental exposure to sulfamethazine and nanoplastics alters the gut microbial communities in the offspring of marine madaka (*Oryzias melastigma*) [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, **423**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127003.
- [28] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. Bioinformatics, 2011, **27**(21): 2957-2963.
- [29] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, **7**(5): 335-336.
- [30] Rognes T, Flouri T, Nichols B, *et al.* VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics [J]. PeerJ, 2016, **4**, doi: 10.7717/peerj.2584.
- [31] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature Methods, 2013, **10**(10): 996-998.
- [32] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, **73**(16): 5261-5267.
- [33] 黄文, 王正林. 数据挖掘: R语言实战[M]. 北京: 电子工业出版社, 2014.
- [34] Fan J L, Wang W G, Zhang B, *et al.* Nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: impact of influent COD/N ratios [J]. Bioresource Technology, 2013, **143**: 461-466.
- [35] 刘国华, 陈燕, 范强, 等. 溶解氧对活性污泥系统的脱氮效果和硝化细菌群落结构的影响 [J]. 环境科学学报, 2016, **36**(6): 1971-1978.
Liu G H, Chen Y, Fan Q, *et al.* Effects of dissolved oxygen concentration on nitrogen removal and nitrifying bacterial community structure in an activated sludge system [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, **36**(6): 1971-1978.
- [36] 姜应和, 李瑶, 张莹, 等. NO₃⁻-N 负荷对树皮填料人工湿地早期反硝化及释碳速率的影响 [J]. 环境科学, 2017, **38**(5): 1898-1903.
Jiang Y H, Li Y, Zhang Y, *et al.* Effects of NO₃⁻-N loading on the early-period efficiency of denitrification and carbon releasing in constructed wetland filled with bark [J]. Environmental Science, 2017, **38**(5): 1898-1903.
- [37] 潘傲, 张智, 孙磊, 等. 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, *et al.* Purification effects and microbial community differences of the surface-flow constructed wetlands with different vegetation plantation [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, **13**(8): 1918-1929.
- [38] 高海鹰, 刘佳, 徐进. 湖滨带复合型人工湿地氮磷的去除效果 [J]. 生态环境, 2007, **16**(4): 1160-1165.
Gao H Y, Liu J, Xu J. Removal efficiency of nitrogen and phosphorus in integrated constructed Lake-side wetlands [J]. Ecology and Environment, 2007, **16**(4): 1160-1165.
- [39] Zhang J, Chen M, Huang J F, *et al.* Diversity of the microbial community and cultivable protease-producing bacteria in the sediments of the Bohai Sea, Yellow Sea and South China Sea [J]. PLoS One, 2019, **14**(4), doi: 10.1371/journal.pone.0215328.
- [40] Qin H, Ji B, Zhang S F, *et al.* Study on the bacterial and archaeal community structure and diversity of activated sludge from three wastewater treatment plants [J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, **135**: 801-807.
- [41] Mikkonen A, Santalahti M, Lappi K, *et al.* Bacterial and archaeal communities in long-term contaminated surface and

- subsurface soil evaluated through coextracted RNA and DNA[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, **90**(1): 103-114.
- [42] Jones S E, Lennon J T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, **107**(13): 5881-5886.
- [43] Helm M. Post-transcriptional nucleotide modification and alternative folding of RNA[J]. Nucleic Acids Research, 2006, **34**(2): 721-733.
- [44] 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.
- Lv C J, Gao H J, Song Y H, *et al.* Microbial community diversity in the combined tide flow-subsurface flow constructed wetland[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2018, **38**(6): 2140-2149.
- [45] Romanowicz K J, Freedman Z B, Upchurch R A, *et al.* Active microorganisms in forest soils differ from the total community yet are shaped by the same environmental factors: the influence of pH and soil moisture[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, **92**(10), doi: 10.1093/femsec/fiw149.
- [46] Wei Z Y, Liu Y Y, Feng K, *et al.* The divergence between fungal and bacterial communities in seasonal and spatial variations of wastewater treatment plants[J]. Science of the Total Environment, 2018, **628-629**: 969-978.
- [47] Louca S, Parfrey L W, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. Science, 2016, **353**(6305): 1272-1277.



CONTENTS

Analysis on Spatial-temporal Characteristics and Driving Factors of PM _{2.5} in Henan Province from 2015 to 2019	GE Qi-xu, LIU Yan, YANG Hong, <i>et al.</i>	(1697)
Pollution Characterization, Source Identification, and Health Risks of Atmospheric Particle-Bound Heavy Metals in PM _{2.5} in Zhengzhou City: Based on High-resolution Data	QU Guang-hui, SUN Jun-ping, WANG Shen-bo, <i>et al.</i>	(1706)
Source Analysis and Composition Characteristics of Water-soluble Ions During Spring Festival in Ningbo	YANG Meng-rong, PAN Yong, HUANG Zhong-wen, <i>et al.</i>	(1716)
Characteristics of Nitroaromatic Compounds in PM _{2.5} in Urban Area of Shanghai	ZHUANG Min, MA Ying-ge, CHENG Yu-huang, <i>et al.</i>	(1725)
Characteristics and Sources of Nitrated Phenols in Atmospheric Fine Particles of Northern Suburban Nanjing	CHEN Mei-juan, QIAN Zi-he, GU Chen-juan, <i>et al.</i>	(1738)
Variety of the Composition and Sources of VOCs During the Spring Festival and Epidemic Prevention in the Pearl River Delta	JIANG Ming, YUAN Luan, WEN Li-rong, <i>et al.</i>	(1747)
Speciated Emission Inventory of VOCs from Industrial Sources and Their Ozone Formation Potential in Chongqing	LI Ling, LI Zhen-liang, FANG Wei-kai, <i>et al.</i>	(1756)
Volatile Organic Compound Emission Characteristics and Influences Assessment of a Petrochemical Industrial Park in the Pearl River Delta Region	ZHANG Xue-chi, SHA Qing-e, LU Meng-hua, <i>et al.</i>	(1766)
Characteristics and Source Apportionment of Vehicular VOCs Emissions in a Tunnel Study	LIU Xin-hui, ZHU Ren-cheng, JIN Bo-qiang, <i>et al.</i>	(1777)
Accurate Identification of Pollution Sources in a Chemical Enterprise Based on a Distributed Multi-channel VOCs Online Monitoring Mass Spectrometry System	WEI Xiao, ZHANG Yong-jie, WANG Pei-tao, <i>et al.</i>	(1788)
Coordinated Control of PM _{2.5} and O ₃ in Hangzhou Based on SOA and O ₃ Formation Potential	LIN Xu, YAN Ren-chang, JIN Jia-jia, <i>et al.</i>	(1799)
Effect of WESP on Emission Characteristics of Condensable Particulate Matter from Ultra-low Emission Coal-fired Power Plants	WANG Peng-cheng, YUAN Chang, LIANG Sheng-wen, <i>et al.</i>	(1808)
Measurement Analysis and Superposed Effect of Residential Indoor Air Pollutants in Xi'an	WANG Xiu-ru, FAN Hao, FAN Jie, <i>et al.</i>	(1814)
Occurrence of Atmospheric (Micro)plastics and the Characteristics of the Plastic Associated Biofilms in the Coastal Zone of Dalian in Summer and Autumn	TU Chen, TIAN Yuan, LIU Ying, <i>et al.</i>	(1821)
Spatiotemporal Distribution of Ammonia Emissions from Poultry Farming in the Yangtze River Delta Based on Online Monitoring Derived Local Emission Factors	GAO Zong-yuan, XU Chang, NI Yuan-zhi, <i>et al.</i>	(1829)
Agricultural Ammonia Emission Inventory and Its Distribution in Xining City	YANG Yi, JI Ya-qin, GAO Yu-zong, <i>et al.</i>	(1844)
Analysis of the Urban Water Eco-environment Protection Strategy in the Beijing-Tianjin-Hebei Region from "Three Waters" Overall Planning	LIAO Ya, HOU Xiao-shu, REN Xiao-hong	(1853)
Non-carcinogenic Risk Assessment of Cadmium Exposure Through Drinking Water in Chinese Residents Based on Age-stratification Weight	QIN Ning, Ayibota Tuexunbieke, LIU Yun-wei, <i>et al.</i>	(1863)
Hydrochemical Characteristics and Transformation Relationship of Surface Water and Groundwater in the Plain Area of Bortala River Basin, Xinjiang	LEI Mi, ZHOU Jin-long, ZHANG Jie, <i>et al.</i>	(1873)
Hydrochemical Composition Characteristics and Control Factors of Xiaohuangni River Basin in the Upper Pearl River	TU Chun-lin, YIN Lin-hu, HE Cheng-zhong, <i>et al.</i>	(1885)
Temporal and Spatial Variation Characteristics and Driving Factors of Nitrogen of Shallow Groundwater in Hetao Irrigation District	YUAN Hong-ying, YANG Shu-qing, ZHANG Wan-feng, <i>et al.</i>	(1898)
Provenance of Groundwater Solute and Its Controlling Factors in Yancheng Area	WANG Jian, ZHANG Hua-bing, XU Jun-li, <i>et al.</i>	(1908)
Hydrogen and Oxygen Isotopic Characteristics of Different Water and Indicative Significance in Baiyangdian Lake	WANG Yu-shan, YIN De-chao, QI Xiao-fan, <i>et al.</i>	(1920)
Optical Composition and Potential Driving Factors of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Large Lakes and Reservoirs in the Eastern Region of China	CHEN Li-li, XIAO Qi-tao, YU Xiao-qin, <i>et al.</i>	(1930)
Fluorescence Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Songhua Lake Sediment	CHENG Yun-xuan, ZHAO Ke, ZHANG Yue, <i>et al.</i>	(1941)
Abundance and Fluorescent Components of Dissolved Organic Matter Affected by Land Use in a Drinking Water Source	GAO Jing, PU Xiao, ZHANG Yu-hu, <i>et al.</i>	(1950)
Emission of Methane from a Key Lake in the Eastern Route of the South-to-North Water Transfer Project and the Corresponding Driving Factors	ZHU Jun-yu, PENG Kai, LI Yu-yang, <i>et al.</i>	(1958)
Distribution Characteristics and Ecological and Health Risk Assessment of Phthalic Acid Esters in Surface Water of Qiandao Lake, China	MI Qi-xin, GUO Xiao-chun, LU Shao-yong, <i>et al.</i>	(1966)
Phosphorus Adsorption Characteristics and Loss Risk in Sediments of Lake Bay During the Overwinter Period of Cyanobacteria	JIN Zheng-hai, TU Cheng-qi, WANG Shu-hang, <i>et al.</i>	(1976)
Ecological Quality Assessment of the Wetlands in Beijing: Based on Plant Diversity	LI Guo, SUN Guang, ZHAO Zi-yi, <i>et al.</i>	(1988)
Effects of Pollution Control of Xiaqing River on Environment Factors and Phytoplankton Community in the Laizhou Bay	ZHANG Jing-jing, WANG Yu-jue, LI Fan, <i>et al.</i>	(1997)
Effects of Different Aeration Treatments on Bacterial Diversity, Metabolic Activity, and Function in Constructed Wetlands	WANG Fei-peng, HUANG Ya-ling, ZHANG Rui-ni, <i>et al.</i>	(2007)
Analysis on the Source Tracing and Pollution Characteristics of Rainfall Runoff in the Old Urban Area of Nanning City	YUE Zhen-wu, LI Yi-ping, ZHOU Yu-xuan, <i>et al.</i>	(2018)
Effects of Aging on the Cd Adsorption by Microplastics and the Relevant Mechanisms	WANG Jun-jie, CHEN Xiao-chen, LI Qian-da, <i>et al.</i>	(2030)
Carbonized Foam Supported Co ₃ O ₄ Activated Peroxymonosulfate Towards Rhodamine B Degradation	WANG Yuan-yuan, YAN Xin, AI Tao, <i>et al.</i>	(2039)
Promoting Nitrogen Removal in ANAMMOX Biofilm Reactor by Fe ²⁺ Under Low Nitrogen Concentration	ZHENG Xu-wen, QIN Jia-fu, WANG Xiao-jun, <i>et al.</i>	(2047)
Investigation on Oxygen Gas-liquid Mass Transfer in Sewage Pipelines Under Enhanced Ventilation	YANG Zhou, ZHANG Zhi-qiang, YANG Jing, <i>et al.</i>	(2055)
Characteristics and Assessment of Heavy Metal Contamination in Soils of Industrial Regions in the Yangtze River Economic Belt	ZHANG Yi, ZHOU Xin-quan, ZENG Xiao-min, <i>et al.</i>	(2062)
Distribution and Environmental Significance of Rare Earth Elements in Typical Protected Vegetable Soil, Northern China	WANG Zu-wei, LIU Ya-ming, WANG Zi-lu, <i>et al.</i>	(2071)
Sources Identification, Ecological Risk Assessment, and Controlling Factors of Potentially Toxic Elements in Typical Lead-Zinc Mine Area, Guizhou Province, Southwest China	ZHANG Fu-gui, PENG Min, HE Ling, <i>et al.</i>	(2081)
Distribution Characteristics of Heavy Metals in Soils Affected by Different Land Use Types in a Superimposed Pollution Area with High Geological Background	WANG Xue-wen, LIU Hong-yan, GU Xiao-feng, <i>et al.</i>	(2094)
Distribution Characteristics of Heavy Metals in Farmland Soils Around Mining Areas and Pollution Assessment	WANG Hai-yang, HAN Ling, XIE Dan-ni, <i>et al.</i>	(2104)
Concentration Characteristics of Heavy Metals in Farmland-Sphagnum System and Ecological Risk Assessment	ZHU Di, ZHANG Zhao-hui, WANG Zhi-hui	(2115)
Spatial Variation and Influencing Factors of Soil pH in Anshun City	CHEN Qing-xia, LU Xiao-hui, TU Cheng-long	(2124)
Synergistic Repair Effect of Calcite-Based Passivator and Low-Accumulation Maize	REN Chao, REN Yu-zhong, LI Jing-tian, <i>et al.</i>	(2133)
Effects of <i>Burkholderia</i> sp. Y4 on Cadmium Damage and Uptake in Rice Seedlings	ZHANG Ya-hui, LIU Yue-min, WANG Chang-rong, <i>et al.</i>	(2142)
Changing Characteristics of Carbon-Based Greenhouse Gas Fluxes in Paddy Field in the Middle-Lower Yangtze Plain in China	LIU Shuo, ZHEN Xiao-jie, LIU Gang, <i>et al.</i>	(2151)
Effects of Plastic Film Mulching and Biochar Application on N ₂ O Emission from a Vegetable Field	HU Jian, JIANG Chang-sheng, CHEN Xin-tong, <i>et al.</i>	(2163)
Effects of Nitrogen Fertilizer Management on CH ₄ and N ₂ O Emissions in Paddy Field	ZHENG Mei-qun, LIU Juan, JIANG Pei-kun, <i>et al.</i>	(2171)
Structure and Functional Diversity of Bacterial Community in Rhizosphere Soil of Typical Vegetation in the Riparian Zone Along the Downstream of Songhua River	WANG Lu-ying, SUN Hui-zhen, YANG Xue	(2182)
Effects of Cotton Stalk Returning on Soil Enzyme Activity and Bacterial Community Structure Diversity in Cotton Field with Long-term Saline Water Irrigation	ZHOU Yong-xue, CHEN Jing, LI Yuan, <i>et al.</i>	(2192)
Effect of pH on the Abundance and Community Structure of Comammox <i>Nitrospira</i> in Paddy Soils	MA Rui, ZHAO Yong-peng, WANG Zhi-hui, <i>et al.</i>	(2204)
Effects of Biochar on Soil Organic Carbon of Eroded Cultivated Layer of Slope Farmland in Purple Hilly Area	ZHANG Jian-le, ZENG Xiao-ying, SHI Dong-mei, <i>et al.</i>	(2209)
Effects of Organic Fertilizer Replacing Chemical Fertilizer on Organic Carbon Mineralization and Active Organic Carbon in Dryland Yellow Soil	LIN Shi-fang, WANG Xiao-li, DUAN Jian-jun, <i>et al.</i>	(2219)
Soil Organic Carbon Storage, Active Component Contents, and Stability Along a Flooding Gradient in the Tidal Wetland of the Julong River Estuary	HUANG Xiao-qing, TONG Chuan, LUO Min, <i>et al.</i>	(2226)
System Construction and the Function Improvement of Ecological Carbon Sink in Coal Mining Areas Under the Carbon Neutral Strategy	LIU Xiang-hong, YAN Yong-jun, LIU Wei, <i>et al.</i>	(2237)