



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201909029

中图分类号 X52

文献标识码 A

王芬, 段洪利, 刘亚飞, 等. 人工湿地处理含盐富营养化水的植物根际与非根际菌群分析[J]. 环境工程学报, 2020, 14(7): 1844-1851.

WANG Fen, DUAN Hongli, LIU Yafei, et al. Analysis of bacterial community at the rhizosphere and non-rhizosphere of plants in constructed wetland treating brackish eutrophic water[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(7): 1844-1851.

# 人工湿地处理含盐富营养化水的植物根际与非根际菌群分析

王芬<sup>1,\*</sup>, 段洪利<sup>1</sup>, 刘亚飞<sup>2</sup>, 王天弋<sup>1</sup>

1. 天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072

2. 河北工业大学资产与实验室管理处, 天津 300401

第一作者: 王芬(1979—), 女, 博士, 副教授。研究方向: 人工湿地处理技术。E-mail: wangfen@tju.edu.cn

\*通信作者

**摘要** 为了探究盐胁迫对于人工湿地植物根际与非根际微生态环境的影响, 将垂直流人工湿地应用于含盐富营养化水体处理, 考察了 0.05%、0.50% 和 1.00% 盐度水平下的脱氮效果, 并采用高通量测序方法分析湿地植物千屈菜根际与非根际的菌群变化。结果表明: 在 0.50% 和 1.00% 盐胁迫下, 系统的硝化作用受到抑制; 然而在各盐度水平下, NO<sub>3</sub>-N 的去除率均大于 95%, 盐度胁迫下反硝化菌更能适应环境。对人工湿地系统在 0.05%、0.50% 和 1.00% 盐度水平下千屈菜根际与非根际基质样品的 OTU 聚类情况分析可知, 在盐胁迫下, 千屈菜根系丰富了土壤中微生物的多样性, 根际环境中的微生物多样性明显高于非根际环境。盐度胁迫抑制了硝化菌的生长, 仅在 0.05% 盐度的非根际组和 0.50% 盐度的根际组检测到有硝化作用菌群的存在。与硝化菌相比, 反硝化菌更耐盐冲击, 0.05%、0.50% 与 1.00% 盐度水平下, 均检测到反硝化菌, 在 1.00% 盐度水平下检测出耐盐反硝化菌黄杆菌属 *Flavobacterium*。

**关键词** 垂直流人工湿地; 根际与非根际; 盐胁迫; 高通量测序

近年来, 水体咸化富营养化问题日益严重, 水资源短缺问题日益突出。人工湿地作为一种水体生态修复技术, 可应用于咸化富营养化水体的治理<sup>[1-3]</sup>。有研究<sup>[4-5]</sup>表明, 人工湿地系统处理含盐废水的脱氮除磷效果较好。

植物是构成人工湿地的重要组成部分, 湿地植物根系存在根际效应, 根际中微生物数量和活性高于非根际环境, 可以促进湿地处理系统的硝化和反硝化作用, 强化湿地生物脱氮能力<sup>[6]</sup>。有研究<sup>[7]</sup>表明, 根际周围的微生物通常是非根际的几十到几千倍, 很多有机物高效降解菌株是由植物根际分离获得的。然而盐度胁迫会抑制微生物的生长, 高锋等<sup>[8]</sup>将人工湿地应用于含盐生活污水处理, 当进水盐度达到 2.00% 时, 人工湿地基质中细菌、真菌、放线菌和硝化细菌的数量明显减少, 基质脲酶、纤维素酶活性也相应下降, 湿地基质微生物数量及活性受到抑制。

目前人工湿地处理含盐富营养化水的微生物学机理研究较少, 尤其对不同盐度水平下的湿地

收稿日期: 2019-09-05; 录用日期: 2020-02-28

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07106)

植物根际与非根际的微生物菌群变化尚未探究。因此，本研究构建了模拟千屈菜垂直流人工湿地系统，处理盐度为0.05%、0.50%、1.00%的富营养化水，并通过高通量测序分析了不同盐度下千屈菜根际与非根际微生物菌群变化，研究结果对揭示垂直流人工湿地处理含盐富营养化水微生态学机理具有参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置

模拟垂直流人工湿地系统实验装置为3根内径150 mm、高700 mm的有机玻璃圆柱，分别记为A(进水盐度0.05%)、B(进水盐度0.50%)、C(进水盐度1.00%)，示意图见图1。

柱内从下到上依次填充不同填料：最下层(100 mm)为平均粒径为30~40 mm的碎石；中层(300 mm)为平均粒径为10~20 mm的陶粒；最上层(200 mm)为土壤层。所用土壤取自天津大学北洋园校区绿化带。为区分根际(rhizosphere, RS)与非根际(non-rhizosphere, NRS)环境，在A、B、C柱中位置分别放置高250 mm、直径45 mm的根袋<sup>[9]</sup>。根袋为透水500目白色尼龙膜，根袋位于柱中央，其口部与土壤表面平齐，植物根系全部埋入土壤，构成完整的模拟垂直流湿地系统。

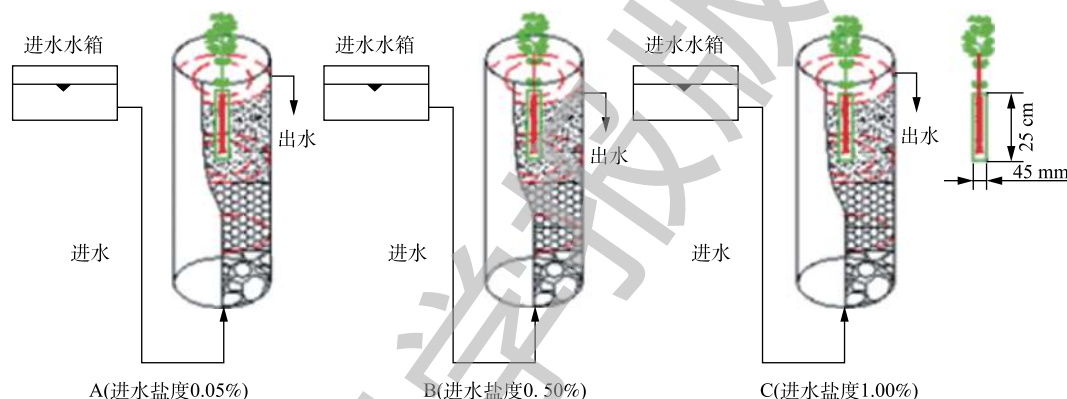


图1 模拟垂直流人工湿地示意图

Fig. 1 Schematic diagram of simulated vertical flow constructed wetland

### 1.2 植物来源与培养

根据前期研究成果，选择耐盐阈值为1.00%的挺水植物千屈菜为受试植物<sup>[9]</sup>。植物购于江苏宿迁水生植物中心，选择长势相当的3株千屈菜分别种植于柱A、B、C的根袋中，保证千屈菜根系全部位于根袋中。

### 1.3 进水配水与运行参数

进水为模拟含盐富营养化水，在自来水中添加各种试剂配制而成，配水中添加葡萄糖作为微生物生长所需碳源，以硝酸钾作为氮源，以二水合磷酸二氢钠和十二水合磷酸氢二钠作为磷源，水质指标平均值见表1。模拟垂直流湿地反应器为连续上向流，采用高位水箱自底部进水，柱顶部出水。运行期间，水力负荷为 $0.12 \text{ m}^3 \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ ，实际水力停留时间(HRT)为24 h，名义HRT为141.6 h。

表1 咸化富营养化自配水水质指标平均值

Table 1 Average values of synthetic brackish eutrophic water quality

盐度/%	COD/(mg·L <sup>-1</sup> )	TN/(mg·L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	TP/(mg·L <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	pH
0.05	60.19	13.03	9.19	3.03	6.56	0.81	7.06
0.50	61.28	12.73	9.08	2.94	6.67	0.71	7.04
1.00	63.30	12.35	8.95	2.90	6.65	0.50	7.08

模拟垂直流湿地运行前 25 d, 进水中均不加 NaCl; 运行的第 26~60 天, B、C 柱进水中添加 NaCl, 分别调整进水盐度为 0.50% 与 1.00%, A 柱为不添加 NaCl 的自来水, 测定其盐度为 0.05%。

#### 1.4 分析测试方法

每天取进出水水样后, 在 2 h 内测定水中的 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、硝态氮 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ), 参照国家环境保护局发布的标准方法<sup>[10]</sup>测定。氨氮 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ): 纳氏试剂分光光度比色法; 亚硝酸盐氮 ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ): N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法; 硝酸盐氮 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ): 紫外分光光度法; 总氮 (TN): 碱性过硫酸钾氧化紫外分光光度法; 含盐量使用便携式电导率仪 (DDBJ-350) 测定; pH 采用 JENCO 便携式酸度计测定; DO 用哈希便携式溶氧仪测定。

#### 1.5 样品采集与高通量测序

在样品采集时, 使用 75% 酒精擦洗的无菌取样器分别在柱 A、B、C 千屈菜根际与非根际取泥样, 依据千屈菜根系深度, 取样深度为距土壤层表面 10~15 cm 处, 每组根际、非根际各取 5 个采样点, 将这 5 个采样点的泥样混匀后, 作为一个待测样品冻存于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  中。A、B、C 柱内千屈菜根际与非根际环境共取得 6 个样品, 分别记为 NRS0.05(非根际, 盐度 0.05%)、RS0.05(根际, 盐度 0.05%)、NRS0.50(非根际, 盐度 0.50%)、RS0.50(根际, 盐度 0.50%)、NRS1.00(非根际, 盐度 1.00%)、RS1.00(根际, 盐度 1.00%)。

样品均采用土壤 DNA 提取试剂盒 (Omega Bio-Tek, Inc., Norcross, GA, USA), 提取微生物基因组 DNA。之后, 以 16S V4 区引物 (515F 和 806R) 进行 PCR 扩增, 对所扩增的 16S rRNA 中的 V3~V4 区域, 进行小片段基因文库的构建, 并基于 Illumina HiSeq 测序平台对该文库进行双末端测序。经过 Reads 拼接过滤, 对所有样本的有效数据以 97% 的一致性进行 OTUs 聚类, 然后对 OTUs 的序列进行物种注释丰度分析, 揭示样品物种构成并对测序结果进行分析。使用数据统计软件 SPSS 26.0 对数据进行独立样本 *t* 检验,  $P < 0.05$  认为差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 模拟湿地运行效果

运行结果显示, 盐度增加抑制了人工湿地系统的脱氮效果。由表 2 可知, 在不同盐浓度 (0.05%、0.50%、1.00%) 下, A、B、C 组出水 TN 的平均去除率分别为 64.1%、55.2%、28.1%,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的平均去除率分别为 88.2%、71.9%、59.8%,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的平均去除率分别为 93.8%、100% 和 95.8%。随着盐浓度的提高, TN 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率明显降低, TN 去除率低的主要原因是硝化过程受到抑制,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  无法转化为  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 这可能是因为盐浓度的提高抑制了系统中硝化菌的活性<sup>[11]</sup>。在各盐度水平下,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的去除率均大于 95%。这表明, 湿地系统内的反硝化细菌在盐胁迫下仍能完成对系统内  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的转化, 盐度胁迫下反硝化菌更能适应环境。郭姿璇等<sup>[12]</sup>在探究盐度对微生物活性的影响实验中同样发现反硝化菌比硝化菌的盐耐受性更强。

表 2 不同盐度水平下的脱氮效果  
Table 2 Nitrogen removal efficiency at different salinity levels %

盐度	TN 去除率	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率	$\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率
0.05	64.1	88.2	93.8
0.50	55.2	71.9	100
1.00	28.1	59.8	95.8

### 2.2 基于 OTU 聚类的千屈菜根际与非根际样品中 Venn 图和花瓣图分析

分析 NRS0.05(非根际, 盐度 0.05%)、RS0.05(根际, 盐度 0.05%)、NRS0.50(非根际, 盐度 0.50%)、RS0.50(根际, 盐度 0.50%)、NRS1.00(非根际, 盐度 1.00%)、RS1.00(根际, 盐度 1.00%) 6 个样品之间共有、特有的 OTUs, 得出盐度水平分别为 0.05%、0.50% 与 1.00% 下, 千屈菜根际与非根际环境共有、特有的 OTUs 比较结果如图 2 所示。6 个样品中千屈菜根际与非根际环境共有、特有

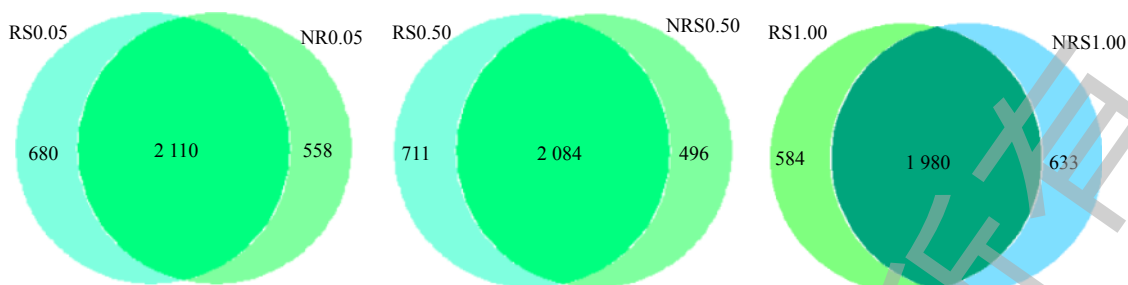


图 2 千屈菜根际与非根际 DNA 样本的 OTU 聚类 Venn 图

Fig. 2 Venn diagrams of OTU clustering of DNA samples at rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L.

的 OTUs 比较结果如图 3 所示。

如图 2 所示，在 0.05% 盐浓度下，千屈菜根际与非根际组中特有的 OTU 数目分别为 680 个和 558 个；在 0.50% 盐浓度下，千屈菜根际与非根际组中特有的 OTU 数目分别为 711 个和 496 个，可见在 0.05% 和 0.50% 盐浓度下，千屈菜根际组 OTU 数目高于非根际组且差异显著 ( $P < 0.05$ )，这说明千屈菜根系在丰富基质微生物多样性上发挥了一定的作用。

由图 3 可知，盐度水平为 0.05%、0.50% 与 1.00% 时，千屈菜根际环境中特有的 OTU 数目分别为 128、117、78 个，非根际环境中特有的 OTU 数目分别为 111、99、73 个。可见随着盐度的升高，根际组样品特有的 OTU 数目从 128 个降到 78 个，非根际组样品特有的 OTU 数目从 111 个降到 73 个，千屈菜根际组特有的 OTU 数目高于非根际组且差异显著 ( $P < 0.05$ )，这也说明千屈菜根系丰富了土壤中微生物的多样性。

蔺中等<sup>[13]</sup>采用盆栽根袋培养法，研究了根际效应在狼尾草降解土壤污染物阿特拉津中的作用，结果表明，盆栽培养 28 d 后，狼尾草根际效应提高了土壤细菌、真菌和放线菌的数量和活性，这说明植物根系在丰富微生物多样性方面发挥了重要作用。

### 2.3 千屈菜根际与非根际 DNA 样品复杂度分析

不同盐度水平下千屈菜根际与非根际 DNA 样本中 Shannon 指数计算结果如表 3 所示。可以看出，盐度水平为 0.05%、0.50% 与 1.00% 时，千屈菜根际样品中 Shannon 指数分别为 9.535、9.642、9.519，非根际组的 Shannon 指数分别为 9.478、9.173、9.394。根际样品中的 Shannon 指数均大于非根际样品且差异显著 ( $P < 0.05$ )，说明千屈菜根系在丰富微生物多样性方面发挥了一定的作用。陈悦等<sup>[14]</sup>研究了独山子区 3 种优势草本植物的根际与非根际土壤微生物功能多样性，结果表明，不同植物根际土壤微生物各多样性指数均大于自身非根际土，猜测可能是

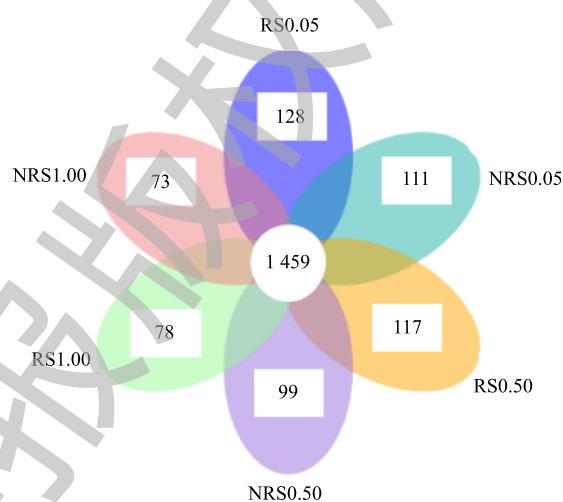


图 3 千屈菜根际与非根际 DNA 样本的 OTU 聚类花瓣图

Fig. 3 Petal diagram of OTU clustering of DNA samples at rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L.

表 3 千屈菜根际与非根际 DNA 样本的 Shannon 指数  
Table 3 Shannon index of DNA samples at rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L.

样品名称	表观物种数量	Shannon指数
RS0.05	2 790	9.535
NRS0.05	2 668	9.478
RS0.50	2 795	9.642
NRS0.50	2 580	9.173
RS1.00	2 564	9.519
NRS1.00	2 613	9.394

因为植物根系和植物残体给根际土壤微生物提供了适宜生长的场所与物质来源,进而丰富了微生物群落多样性。潘福霞等<sup>[15]</sup>在研究水平潜流型人工湿地不同植物脱氮效果及对土壤微生物的影响实验中,同样发现种植植物可以丰富根际土壤微生物群落功能多样性。

#### 2.4 千屈菜根际与非根际样品中门水平上细菌的物种丰度

盐度水平为0.05%、0.50%与1.00%时,千屈菜根际与非根际环境中门水平上的物种丰度如图4所示。由图4可知,盐度水平为0.05%、0.50%与1.00%时,千屈菜根际与非根际样品中变形菌门(*Proteobacteria*)丰度最高,其次为厚壁菌门(*Firmicutes*)放线菌(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、芽单胞菌门(*Bacteroidetes*)。在不同盐度水平下,千屈菜根际与非根际样品在门水平上的物种差别不大,盐度与根际或非根际环境对门水平的物种相对丰度影响较小。

#### 2.5 千屈菜根际与非根际样品中属水平上的物种丰度

在不同盐度水平下,千屈菜根际与非根际样品中属水平上的物种丰度聚类热图如图5所示。由图5可知,盐度水平为0.05%、0.50%与1.00%时,千屈菜根际与非根际样品中的优势菌群各不相同,即使是相同盐度水平下,千屈菜根际与非根际组的菌群组成也有很大差异。

前期实验结果表明,当盐度自0.05%上升到1.00%时, $\text{NO}_3^-$ -N的去除率均大于95%。高通量分析发现,不同盐度条件下均存在反硝化功能菌,0.05%盐浓度下千屈菜非根际优势菌群中的反硝化菌种类最多。假单胞菌属*Pseudomonas*是典型的好氧反硝化细菌<sup>[16]</sup>;红杆菌*Rhodanobacter*是一种兼性厌氧的革兰氏阴性杆状细菌,具有完全反硝化的能力<sup>[17]</sup>;脱氮杆菌*Denitrobacter*是反硝化过程中的典型菌株,是一种厌氧异养反硝化菌<sup>[18]</sup>。0.05%盐浓度下千屈菜根际环境中起反硝化作用的细菌主要是真杆菌属*Eubacterium*,是一种严格厌氧的异养菌,可以促进反硝化,加强反硝化菌的功能<sup>[19]</sup>。

在0.50%盐浓度下,千屈菜非根际中的梭菌属*Clostridium*是芽孢杆菌科的一属,可将硝酸盐异化还原为氨<sup>[20]</sup>。在0.50%盐浓度下,千屈菜根际中的优势菌群主要包括2种:芽孢杆菌*Bacillus*是一种好氧或兼性厌氧的革兰氏阳性菌,普遍存在于土壤、河道底泥中,具有丰富的酶系统和较强的代谢能力,并且能够高效脱氮,已证实其具有好氧反硝化的特性<sup>[21]</sup>;地杆菌属*Geobacter*为专性厌氧的革兰氏阴性细菌,其可以与反硝化菌共生并促进反硝化作用<sup>[22]</sup>。

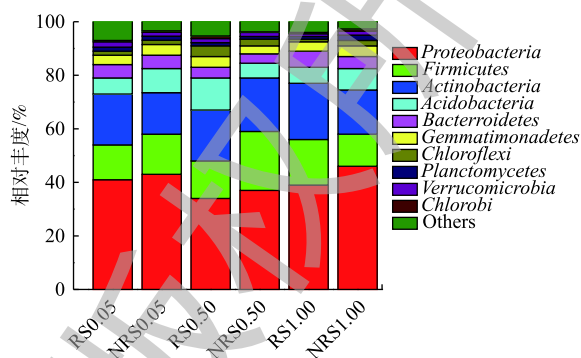


图4 千屈菜根际与非根际DNA样本门水平上的物种相对丰度

Fig. 4 Relative abundance at the phylum level of DNA samples at rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L.

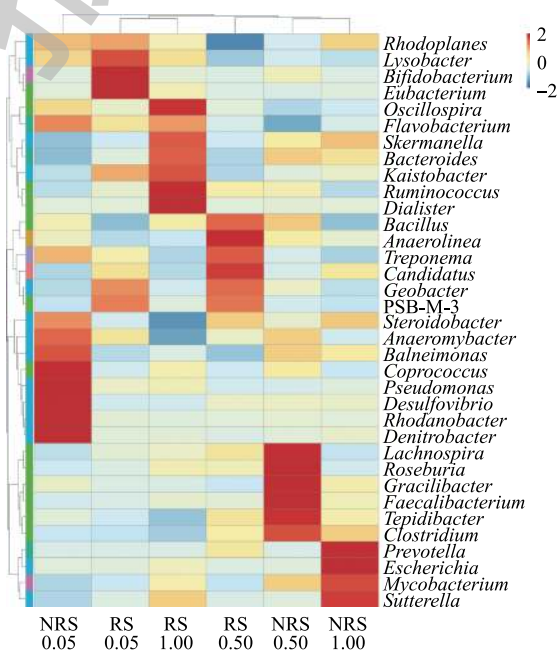


图5 千屈菜根际与非根际属水平上物种丰度聚类热图

Fig. 5 Clustering heat map of species abundance at rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L.

在 1.00% 盐浓度下, 千屈菜非根际中的优势菌群种类明显减少, 只检测到 4 种优势菌属。其中具有反硝化能力的是分支杆菌属 *Mycobacterium*, 分支杆菌属中的某些菌种有反硝化作用并有一定的耐盐性, 如耻垢分枝杆菌 *Mycobacterium smegmatis*<sup>[23]</sup>。在 1.00% 盐浓度下, 千屈菜根际中的优势菌群种类相比非根际有明显提高且反硝化菌属种类增多, 黄杆菌属 *Flavobacterium* 是一种好氧反硝化菌<sup>[24]</sup>, 具有一定的高盐耐受性<sup>[25-26]</sup>; 拟杆菌属 *Bacteroides* 为专性厌氧菌, 具有反硝化作用<sup>[27]</sup>。

除了反硝化作用, 前期实验结果表明: 在盐胁迫下, 硝化作用受到抑制, 在 0.50% 盐度下, 氨氮的平均去除率加盐后下降 9%; 在 1.00% 盐度下, 氨氮去除率降低至 59.8%。通过优势菌群分析, 仅在 0.05% 盐度下的非根际组和 0.50% 盐度下的根际组发现有硝化作用菌群的存在。在 0.05% 盐浓度下, 千屈菜非根际组的假单胞菌属 *Pseudomonas* 除了具有反硝化除磷功能外, 某些菌种具有硝化功能, 如恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida*<sup>[28]</sup> 和产碱假单胞菌 *Pseudomonas alcaligenes*<sup>[29]</sup>。在 0.50% 盐浓度千屈菜根际组的优势菌群中, 芽孢杆菌 *Bacillus* 已被证实具有异氧硝化-好氧反硝化特性, 如蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus*<sup>[30-31]</sup>。候选硝化古菌 *Candidatus Nitrososphaera* 是一种氨氧化古菌 (AOA), 可以将氨氮氧化成亚硝酸盐<sup>[32]</sup>。在 0.50% 盐浓度条件下, 2 种硝化功能菌的存在说明千屈菜根际环境促进了硝化菌的生长。

可见, 在盐度水平为 0.05%、0.50% 与 1.00% 时, 千屈菜根际与非根际环境中的优势菌群皆不相同, 这说明盐浓度和根际环境对微生物的群落结构产生了较大影响。仅在 0.05% 盐度的非根际组和 0.50% 盐度的根际组检测到硝化菌群的存在, 可见, 盐度胁迫抑制了硝化菌的生长, 同时, 硝化过程受到抑制, 导致  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率明显降低。相比硝化菌, 反硝化菌更耐盐冲击, 在 0.05%、0.50% 与 1.00% 盐度水平下, 均检测到反硝化菌; 在 1.0% 盐度水平下, 检测出耐盐反硝化菌黄杆菌属 *Flavobacterium*。同时, 在盐胁迫下, 反硝化细菌仍能完成对系统内  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的转化,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的去除率保持在 95% 以上。

### 3 结论

1) 模拟人工湿地系统对于含盐富营养水体的处理结果显示, 盐度的增加抑制了人工湿地系统脱氮效果, 尤其是 TN 和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除均受到了明显的抑制; 然而在各盐度水平下,  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的去除率均大于 95%, 盐度胁迫下反硝化菌更能适应环境。

2) 由不同盐胁迫下 OTU 聚类情况分析可知, 根际效应千屈菜根系丰富了土壤中微生物的多样性, 根际环境中的微生物多样性明显高于非根际环境。

3) 盐度的增加抑制了硝化菌的生长, 仅在 0.05% 盐度的非根际组和 0.50% 盐度的根际组检测到有硝化作用菌群的存在。与硝化菌相比, 反硝化菌更耐盐冲击, 在 0.05%、0.50% 与 1.00% 盐度水平下, 均检测到反硝化菌; 在 1.00% 盐度水平下, 检测出耐盐反硝化菌黄杆菌属 *Flavobacterium*。

### 参考文献

- [1] 褚润, 陈年来, 王巧芳. 西北干旱、半干旱地区高盐人工湿地适宜植物筛选[J]. 湿地科学, 2018, 16(2): 204-212.
- [2] FU G P, ZHAO L, HUANG S, et al. Isolation and identification of a salt-tolerant aerobic denitrifying bacterial strain and its application to saline wastewater treatment in constructed wetlands[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 290: 121725.
- [3] 李芊芊, 罗柳青, 陈洋芳, 等. 高盐污水处理人工湿地中耐盐植物的筛选[J]. 应用与环境生物学报, 2017, 23(5): 873-878.
- [4] 史鹏博, 朱洪涛, 孙德智. 人工湿地不同填料组合去除典型污染物的研究[J]. 环境科学学报, 2014, 34(3): 704-711.
- [5] 向衡, 韩芸, 潘瑞玲, 等. 潜流-垂直流改进型人工湿地处理河道水的研究[J]. 环境工程, 2015, 33(3): 60-64.
- [6] 裘湛. 人工湿地植物根际效应对根部微生物影响的研究进展[J]. 净水技术, 2018, 37(7): 26-30.

- [7] TOYAMA T, FURUKAWA T, MAEDA N, et al. Accelerated biodegradation of pyrene and benzo[a]pyrene in the phragmites australis rhizosphere by bacteria-root exudate interactions[J]. *Water Research*, 2011, 45(4): 1629-1638.
- [8] 高锋, 杨朝晖, 李晨, 等. 人工湿地处理含盐生活污水的特性研究[J]. *环境科学*, 2012, 33(11): 3820-3825.
- [9] 赵卉琳. 耐盐挺水植物去除氮磷的机制及根际氨氧化菌群特征分析[D]. 天津: 天津大学, 2014.
- [10] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [11] 叶芳凝, 石先阳. 盐度对MBR处理高氨氮废水的运行及微生物群落影响研究[J]. *膜科学与技术*, 2018, 8(5): 77-83.
- [12] 郭姿璇, 王群, 余宗莲. 盐度对未驯化微生物活性的影响[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(1): 181-187.
- [13] 蔺中, 杨杰文, 蔡彬, 等. 根际效应对狼尾草降解土壤中阿特拉津的强化作用[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(3): 531-538.
- [14] 陈悦, 吕光辉, 李岩, 等. 独山子区优势草本植物根际与非根际土壤微生物功能多样性[J]. *生态学报*, 2018, 38(9): 3110-3117.
- [15] 潘福霞, 来晓双, 李欣, 等. 不同湿地植物脱氮效果与根际土壤微生物群落功能多样性特征分析[J/OL]. [2019-11-02]. <http://1kns.cnki.net/kcms/detail/11.1827.X.20191104.1049.002.html>.
- [16] 李文甫, 杜柳冰, 刘思莹, 等. 一株高效好氧反硝化细菌的分离鉴定及脱氮性能研究[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(9): 202-209.
- [17] OM P, GREEN S J, PUJA J, et al. *Rhodanobacter denitrificans* sp. nov., isolated from nitrate-rich zones of a contaminated aquifer[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2012, 62(10): 2457-2462.
- [18] RODRIGUEZ-SANCHEZ A, MUNOZ-PALAZON B, MAZA-MARQUEZ P, et al. Process performance and bacterial community dynamics of partial-nitritation biofilters subjected to different concentrations of cysteine amino acid[J]. *Biotechnology Progress*, 2016, 32(5): 1254-1263.
- [19] ELLEN K, KATHRIN D, DAGMAR T, et al. Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 5957-5962.
- [20] LI S J, LUO Z X, JI G D. Seasonal function succession and biogeographic zonation of assimilatory and dissimilatory nitrate-reducing bacterioplankton[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 637: 1518-1525.
- [21] 王思宇, 李军, 王秀杰, 等. 添加芽孢杆菌污泥反硝化特性及菌群结构分析[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(12): 4649-4656.
- [22] WAN Y X, ZHOU L A, WANG S, et al. Syntrophic growth of *Geobacter sulfurreducens* accelerates anaerobic denitrification[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1572.
- [23] NAOMI O, MARINA W, MICHAEL M, et al. ectoine biosynthesis in *Mycobacterium smegmatis*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(20): 7483-7486.
- [24] 芦燕, 曾静, 赵吉, 等. 典型草原区不同生境反硝化菌群的空间特征[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(4): 707-720.
- [25] GUO X C, MIAO Y, WU B, et al. Correlation between microbial community structure and biofouling as determined by analysis of microbial community dynamics[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 197: 99-105.
- [26] ZHANG L, GAO G, TANG X M, et al. Impacts of different salinities on bacterial biofilm communities in fresh water[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2014, 60(5): 319-326.
- [27] YI X H, WAN J Q, MA Y W, et al. Structure and succession of bacterial communities of the granular sludge during the initial stage of the simultaneous denitrification and methanogenesis process[J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 2017, 228(3): 121.

- [28] 刘志培, 刘双江. 硝化作用微生物的分子生物学研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2004, 10(4): 521-525.
- [29] SU J J, YE H K S, TSENG P W. A strain of *Pseudomonas* sp. isolated from piggery wastewater treatment systems with heterotrophic nitrification capability in taiwan[J]. *Current Microbiology*, 2006, 53(1): 77-81.
- [30] 廖小红, 汪苹, 刁惠芳, 等. 蜡状芽孢杆菌WXZ-8的异养硝化/好氧反硝化性能研究[J]. 环境污染与防治, 2009, 31(7): 17-20.
- [31] 王欢, 汪苹, 刘晶晶. 好氧反硝化菌的异养硝化性能研究[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(11): 45-47.
- [32] WANG J L, GONG B Z, HUANG W, et al. Bacterial community structure in simultaneous nitrification, denitrification and organic matter removal process treating saline mustard tuber wastewater as revealed by 16S rRNA sequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 228: 31-38.

(本文编辑: 郑晓梅, 张利田)

## Analysis of bacterial community at the rhizosphere and non-rhizosphere of plants in constructed wetland treating brackish eutrophic water

WANG Fen<sup>1,\*</sup>, DUAN Hongli<sup>1</sup>, LIU Yafei<sup>2</sup>, WANG Tianyi<sup>1</sup>

1. School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Department of Assets and Laboratory Management, Hebei University of Technology, Tianjin 300401, China

\*Corresponding author, E-mail: wangfen@tju.edu.cn

**Abstract** In order to explore the effect of salinity stress on the micro-ecological environment of the rhizosphere and non-rhizosphere of plants in constructed wetland, the vertical flow constructed wetland was applied to treat brackish eutrophic water, and its nitrogen removal performance at salinity levels of 0.05%, 0.50% and 1.00% was investigated. High-throughput sequencing was used to analyze the changes of bacterial community at the rhizosphere and non-rhizosphere of *Lythrum salicaria* L. The results showed that the nitrification was inhibited under 0.50% and 1.00% salinity stress, but the removal efficiency of  $\text{NO}_3^-$ -N was higher than 95% under each salinity level, denitrifying bacteria presented better adaption to the environment under salinity stress. Analysis of the OTU clustering in the medias of rhizosphere and non-rhizosphere under 0.05%, 0.50% and 1.00% salinity stress indicated that the roots of *Lythrum salicaria* L. enriched the microbial diversity under salt stress and the microbial diversity at rhizosphere environment was significantly higher than that at non-rhizosphere environment. Salinity stress inhibited the growth of nitrifying bacteria, which were only detected in the non-rhizosphere group under 0.05% salinity stress and in the rhizosphere group under 0.50% salinity stress. Compared with the nitrifying bacteria, denitrifying bacteria were more salt-tolerant. Denitrifying bacteria were detected at salinity levels of 0.05%, 0.50% and 1.00%, and salt-tolerant denitrifying bacteria such as *Flavobacterium* were detected at salinity level of 1.00%.

**Keywords** vertical flow constructed wetland; rhizosphere and non-rhizosphere; salinity stress; high-throughput sequencing