

文章编号: 1674-5566(2025)06-1320-15

DOI: 10.12024/jso.20250104758

## 不同人工湿地基质中细菌群落结构特征及其与抗生素去除关系

吴骏驰<sup>1</sup>, 李世豪<sup>1</sup>, 张 玮<sup>1,2</sup>, 徐后涛<sup>3</sup>, 刘 婉<sup>1</sup>, 王丽卿<sup>1,2</sup>, 张瑞雷<sup>1,2</sup>

(1. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 环境DNA技术与水生态健康评估工程中心, 上海 201306; 3. 上海水生科技股份有限公司, 上海 200090)

**摘要:** 为比较人工湿地中不同基质对养殖尾水中抗生素和营养型污染物的协同处理效果, 本实验选用生物陶粒、沸石和火山岩等3种人工湿地基质, 分析不同基质中细菌群落结构特征及其对不同污染物的去除效果。结果显示, 生物陶粒组中  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{COD}_{\text{Mn}}$  和磺胺嘧啶的去除率显著( $P < 0.05$ )高于另外2组, 但  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  去除率显著较低, 3种基质人工湿地中诺氟沙星的去除率都高于98%。人工湿地基质表面的细菌丰富度较高, 以变形菌门、放线菌门和绿弯菌门为主, 湿地植物根系表面和根系内的细菌则分别以变形菌门和蓝细菌门为主。不同人工湿地基质表面的细菌群落结构差异较大。影响磺胺嘧啶去除率的可能不是湿地中整个微生物群落的多样性, 而是少数关键细菌的丰度。与磺胺嘧啶去除率相关性最高的属为 *Cyanothece*, 其次是 *Craurococcus-Caldovatus*, 这两属细菌在生物陶粒表面的丰度都显著高于沸石表面和火山岩表面; *Acidibacter* 属和2种抗生素去除率呈显著正相关, 和  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  的去除率呈显著负相关。研究结果表明, 以生物陶粒为基质的人工湿地对含有磺胺嘧啶抗生素的水产养殖尾水处理综合去除效果最佳, 可以广泛推广应用。

**关键词:** 人工湿地; 生物陶粒; 抗生素; 磺胺嘧啶; 细菌群落

中图分类号: X 172; S 912 文献标志码: A

随着水产品需求增加和渔业资源的减少, 水产养殖业在全球范围内呈增长趋势<sup>[1]</sup>。在养殖过程中, 大量抗生素被添加进饲料和药物以增强机体抗病性<sup>[2]</sup>, 其中30%~90%<sup>[3]</sup>的抗生素无法被有效代谢吸收, 最后通过排泄进入自然环境<sup>[4]</sup>。暴露在自然水体中的抗生素会影响水体微生物群落组成和功能, 并引起一系列水环境生态问题, 甚至威胁人类健康<sup>[5]</sup>。在全世界范围内, 磺胺类抗生素(Sulfonamides, SAs)广泛用于水产养殖<sup>[6-7]</sup>。我国长江流域最常见的抗生素为磺胺类和喹诺酮类(Fluoroquinolones, FQs)<sup>[8]</sup>。通过对上海沙田湖水产养殖区的养殖尾水调查发现, 磺胺类和喹诺酮类也是养殖尾水中浓度最高的两类抗生素<sup>[9]</sup>。

人工湿地(Constructed wetlands, CWs)是一种经济高效的污水处理技术, 具备物理吸附、化学分解、生物降解去除污染物的功能<sup>[10]</sup>, 主要用

于处理氮、磷等营养型污染物<sup>[11]</sup>。后来发现, 人工湿地对抗生素同样具有很好的去除效果<sup>[12]</sup>, 因此大量推广应用于养殖尾水中抗生素去除<sup>[13-14]</sup>。人工湿地对抗生素的去除效果受人工湿地结构设计和运行方式、基质填料的选择<sup>[13]</sup>及污水中营养型污染物的浓度<sup>[15]</sup>等多方面影响。在一定范围内, 抗生素的去除率随着氮、磷、 $\text{COD}_{\text{Mn}}$ 浓度增加而增加<sup>[15]</sup>, 但  $\text{COD}_{\text{Mn}}$ 浓度高于200 mg/L时抗生素去除率降低<sup>[15]</sup>。同时也观察到, 一些人工湿地中营养型污染物的去除率与抗生素的浓度呈负相关关系。WANG等<sup>[16]</sup>的研究表明, 青霉素、土霉素等抗生素的存在不利于  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  和  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  的去除。但是磺胺类抗生素不影响总氮的去除, 甚至稍微增强  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  的去除<sup>[17]</sup>。KASSOTAKI等<sup>[18]</sup>的研究结果显示, 磺胺甲恶唑(Sulfamethoxazole)不影响湿地中的硝化反应的进行。目前在选择基质时普遍主要关注其物理

收稿日期: 2025-01-10 修回日期: 2025-05-10

基金项目: 上海市科委项目(D8003190330); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07207002)

作者简介: 吴骏驰(1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为沉水植物恢复与水环境生态。E-mail: 18164147663@163.com

通信作者: 王丽卿, E-mail: lqwang@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydxxb.com>

吸附性质,对其作为微生物载体的能力不够重视<sup>[19]</sup>。基质在不同抗生素的去除过程中所发挥的作用仍未得到充分研究,同时去除抗生素和营养型污染物的最佳条件也尚不明确。

人工湿地中抗生素的去除途径主要包括植物的吸附降解、基质填料的吸附及微生物降解<sup>[20]</sup>。不同抗生素由于其自身理化性质差异,去除的主要途径也不同。磺胺类抗生素在pH 6.5~7.5条件下与基质排斥,难以吸附,主要通过生物降解去除<sup>[21]</sup>。喹诺酮类抗生素中的基团易与湿地中的多价阳离子或天然有机物中的氢键结合,使其主要通过基质吸附的方式去除<sup>[22]</sup>。为进一步增加人工湿地中抗生素去除率,常采用种植湿地植物的方式<sup>[23]</sup>。挺水植物是人工湿地的重要组成部分,由于其凋落物具有较高C/N值<sup>[24]</sup>,可以通过增加湿地微生物活性的方式提高湿地抗生素去除率。黄菖蒲(*Iris pseudacorus*)、宽叶香蒲(*Typha latifolia*)和芦苇(*Phragmites australis*)等挺水植物也因此常用于人工湿地的构建中<sup>[25-26]</sup>。研究<sup>[27]</sup>发现,种植黄菖蒲的人工湿地相比于种植芦苇的人工湿地具有更高的微生物多样性,以及对含氮污染物和磺胺类抗生素具有更好的去除效果。大量研究<sup>[15,28]</sup>表明,湿地微生物对抗生素去除至关重要,尤其是对磺胺类这种主要通过生物降解去除的抗生素<sup>[21]</sup>。湿地中基质填料可以为微生物提供附着位点,为形成复杂的微生物群落创造条件,这对人工湿地中微生物对抗生素的去除至关重要<sup>[29]</sup>。火山岩(Volcanic rock)、沸石(Zeolite)、生物陶粒(Bio-ceramics)因其对多种污染物的综合去除效果较好,在人工湿地领域有着广泛的应用<sup>[30]</sup>。其中生物陶粒作为一种新兴材料,由优质黏土和煤灰混合烧制而成,兼具陶瓷材料多孔径和生物炭材料多官能团<sup>[31]</sup>、高吸附性<sup>[32]</sup>的优点。

在火山岩、沸石和生物陶粒中,哪一种基质填料可以协同高效去除养殖尾水中抗生素和营养型污染物?使用这3种基质分别构建的人工湿地中的细菌群落结构有哪些不同?哪些细菌与抗生素去除相关性更大?为回答上述问题,本文

构建了3种不同基质(火山岩、沸石、生物陶粒)的小型人工湿地系统,比较其对于抗生素及常规营养污染物去除率的差异,聚焦探究基质中细菌群落在污染物去除过程中的潜在作用。以筛选适合处理含有磺胺嘧啶和诺氟沙星污水的基质,为人工湿地净化养殖尾水的结构设计提供科学的理论依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

参考DU等<sup>[30]</sup>和ZHENG等<sup>[33]</sup>的设计,使用玻璃缸构建实验室规模的人工湿地。每个玻璃缸长1.2 m、宽1.0 m、高0.5 m,外围覆盖黑色遮光布,避免光线从侧面射入(模拟真实场景中基质微生物不受侧面光照)。优化基质填料厚度比例可以提高水力效率,进而提高污染物去除率<sup>[34]</sup>。本实验参照ZHAO等<sup>[35]</sup>设计的基质厚度比例并根据实际缸体尺寸进行调整。最后确定玻璃缸内填料高度共45 cm,从上到下依次为10 cm土壤、5 cm石英砂(用以隔绝土壤和底层基质)、15 cm沸石、15 cm实验设置的基质填料(生物陶粒或沸石或火山岩),运行模式如图1所示。共设置9个缸,每种基质设置3个缸,分别命名为生物陶粒组(B)、沸石组(Z)、火山岩组(V)。基质材料购自水处理材料公司,物理性质见表1。挑选株高接近35 cm的黄菖蒲幼苗种植在各组人工湿地表面土壤中作为湿地的植物部分,参考GU等<sup>[36]</sup>人工湿地研究中挺水植物的常规种植密度,设置种植密度为16株/m<sup>2</sup>,种植后驯化1个月,确保根系附着了足够的微生物<sup>[15]</sup>,然后以降流的方式泵入人工污水。同时设置低、中、高3个浓度梯度的人工污水,每种浓度污水分别向3个基质装置供水。人工污水的营养盐和抗生素浓度配置参考上海青浦区沙田湖(主要养殖螃蟹、鲤鱼、鲫鱼、甲鱼和对虾)水产养殖场的养殖尾水的实测浓度<sup>[37]</sup>,具体浓度见表2(其中高浓度组的COD<sub>Mn</sub>浓度偏高,但不会抑制湿地中细菌活性<sup>[38-39]</sup>)。不同浓度人工污水事先调配好,分别储存在聚乙烯桶中。

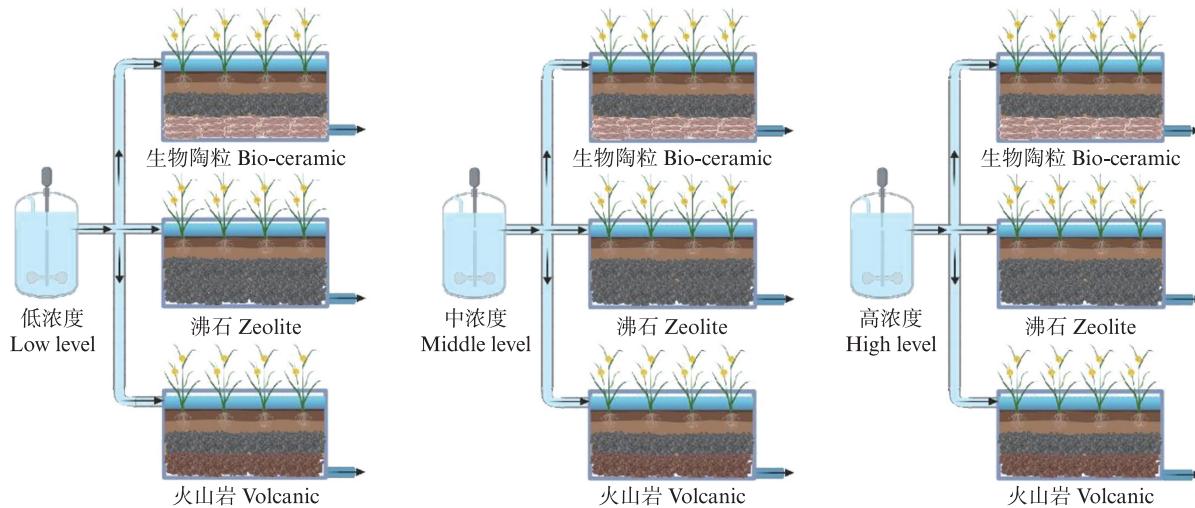


图1 人工湿地运行模式图

Fig. 1 Diagram illustrating the operational mode of constructed wetlands

表1 人工湿地基质物理性质

Tab. 1 Physical properties of the substrate used in constructed wetlands

| 基质<br>Substrate  | 主要物质组成<br>Main composition  | 孔隙率<br>Porosity/% | 直径<br>Diameter/<br>mm | 平均微孔尺寸<br>Average<br>micropore size/<br>nm | 比表面积<br>Specific<br>surface area/<br>(m <sup>2</sup> /g) |
|------------------|---|-------------------|-----------------------|--|--|
| 沸石 Zeolite       | 94% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 、5% SiO <sub>2</sub>   | 36                | 4~8                   | 14.8                                       | 6.6  |
| 生物陶粒 Bio-ceramic | 65% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 、19% SiO <sub>2</sub> 、6% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 、4% CaO   | 49                | 5~10                  | 6.9  | 2.2  |
| 火山岩 Volcanic     | 43% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 、15% SiO <sub>2</sub> 、12% Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 、10% CaO | 73                | 5~10                  | 90.9                                       | 1.3  |

表2 调配污水浓度

Tab. 2 Artificial wastewater concentrations

| 营养盐浓度<br>Nutrition<br>level | TN/(mg/L) | TP/(mg/L) | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/<br>(mg/L) | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/<br>(mg/L) | COD <sub>Mn</sub> /<br>(mg/L) | SDZ/<br>(μg/L) | NFX/<br>(μg/L) | DO/<br>(mg/L) | pH      |
|-----------------------------|-----------|-----------|--|--|-------------------------------|----------------|----------------|---------------|---------|
| 低 Low                       | 3.0±0.2   | 0.6±0     | 1.5±0.1                                    | 0.2±0.1                                    | 23.0±3.0                      | 100.0±2.0      | 100.0±2.0      | 5.0±1.0       | 7.7±0.2 |
| 中 Middle                    | 10.0±0.5  | 3.0±0.1   | 7.6±0.2                                    | 0.6±0.2                                    | 99.0±6.0                      | 100.0±2.0      | 100.0±2.0      | 5.0±1.0       | 7.9±0.2 |
| 高 High                      | 20.0±0.7  | 6.0±0.1   | 15.0±0.5                                   | 1.2±0.3                                    | 206.0±20.0                    | 100.0±2.0      | 100.0±2.0      | 5.0±1.0       | 8.0±0.3 |

前期预实验结果表明,水力停留时间(Hydraulic retention time, HRT)设置为72 h的人工湿地中,抗生素去除效果优于24和48 h。因此本实验人工湿地运行设置水力停留时间为72 h,即每个系统运行72 h后排空污水,然后补充新的人工污水,形成水力负荷为0.16 m<sup>3</sup>/(m<sup>2</sup>·d)的运行模式(图1)。本实验人工湿地运行时间为2021年7月2日—2021年8月24日。实验期间,将人工湿地玻璃缸安置于通风、采光良好的半开放实验棚中,光照、气温接近当时自然情况。调整9个人工湿地玻璃缸在实验棚内的位置,确保其所受自然光的光质、光照周期一致。

## 1.2 样品采集和检测

### 1.2.1 水质指标和抗生素

在人工湿地正式运行实验期间,使用便携式多功能水质测定仪(美国YSI Pro Plus)原位测定温度、pH、溶解氧(DO)、氧化还原电位(ORP)等水体理化参数;每次更换人工污水时采集1 L水样,4 °C低温保存运输至实验室后测量水质指标:总氮(TN)、总磷(TP)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)、高锰酸钾盐指数(COD<sub>Mn</sub>)及磺胺嘧啶(SDZ)和诺氟沙星(NFX)浓度。

抗生素浓度测定:使用孔径为0.45 μm的玻璃纤维滤膜过滤1 L水样,以去除水中悬浮物,然后4 °C条件下保存于棕色采样瓶中。取300 mL

水样进行预处理<sup>[40]</sup>后,使用高效液相色谱仪(HPLC,美国Agielnt1100 system)对水样进行测定。磺胺嘧啶测定参数:C18色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈:磷酸=60:40(0.017 mol/L),流速1.0 mL/min,紫外检测波长287 nm,柱温40 °C,自动进样量10  $\mu$ L。诺氟沙星测定参数:流动相0.1 mol/L柠檬酸乙酸铵(三乙胺pH=4.5):乙腈=75:25,流速1.5 mL/min,荧光检测器的激发和发射波长分别为280和450 nm,柱温40 °C,进样量10  $\mu$ L。该方法检测磺胺嘧啶和诺氟沙星的加标回收率分别为78.9%~82.3%和84.3%~113.2%,说明该方法灵敏准确、可重复性较高。其他水质指标的测定参照国家标准<sup>[41]</sup>。

通过相邻两次营养型污染物和抗生素含量计算去除率。整个实验期间,每一轮更换尾水时测定1次营养型污染物浓度和其他环境因子数值,共取样测定13次;每两轮更换尾水时测定1次抗生素含量,共取样测定7次。

### 1.2.2 细菌采集及序列测定

实验结束后,在每个实验湿地缸内分别采集基质表面、湿地植物根系表面、湿地植物根系内部的细菌样品进行测定和分析。采集湿地底层基质20 g作为基质样本,选择3株长势相同的黄菖蒲(根系质量总计不低于20 g),连根拔起,抖动表层附着不紧密的土壤后,将根部置于密封袋内,作为根内细菌和根系表面细菌采集样本。同时所有样本在冰上约4 °C条件下运输至实验室进行处理。

基质表面细菌:选取20 g基质样本经过磷酸钾缓冲液充分振荡洗涤,剥离生物膜,将磷酸钾缓冲液和生物膜混合液经过离心获取生物膜0.3~0.5 g,放入冻存管中作为基质细菌样本。

根系表面(Rhizoplane)细菌:采集20 g植物根系放入无菌管后加入0.1 mol pH为8.0的磷酸钾缓冲液,振荡洗涤2次后,将要洗涤完的根部放入磷酸钾缓冲液中再次进行超声洗涤,将3次洗涤液混匀后过0.22  $\mu$ m滤膜,取滤膜上的沉淀作为根系表面细菌样品。

根系内部(Endophytes)细菌:将采集完根部表面细菌的植物样品经过无菌处理后作为根内细菌样品。

所有细菌样本放入无菌冻存管中,放置在-80 °C条件下保存用于DNA提取。每组设置3

个实验重复。参照ZENG等<sup>[42]</sup>的方法,使用FastDNA® Spin Kit for Soil试剂盒(MP Biomedicals, USA)提取0.5 g混合均匀的样品。使用NanoDrop ND-1000分光光度计(NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA)评估DNA提取物的质量和浓度。使用通用引物进行PCR扩增,引物对应区域为16S V3~V4区<sup>[43]</sup>,上游为338F(5'-ACTCCTACGGGGAGGCAGCA-3'),下游为806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。使用DNA凝胶回收纯化试剂盒(PCR Clean-Up Kit,中国逾华)对PCR产物进行纯化。然后将PCR产物使用Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA)进行定量检测,按照每个样本测序量的要求,按等摩尔量进行混合。使用NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit构建PE文库。在上述DNA提取和PCR扩增过程中,进行了3次阴性对照以监测是否被污染。使用IlluminaMiSeq平台对细菌16S rRNA基因扩增子进行测序。序列数据保存在NCBI中,登录号为PRJNA1071004。利用双末端测序(Paired-End)的方法,对原始测序序列进行过滤、双端拼接,得到优化序列。基于16S rRNA基因V3~V4高变区进行识别;将优化后的序列进行聚类,以97%相似性划分OTU,并在门、纲、目、科、属、种水平上进行分类学注释。

### 1.3 统计分析

应用SPSS 25、Origin 2023对营养污染物和抗生素去除率进行单因素方差分析和可视化分析。基于R,使用“vegan”包计算细菌的群落组成,选择相对丰度前15的门进行展示。使用“ggtree”包计算各处理组之间的Bray-Curtis距离,用聚类树表示门水平上的组间相似程度。应用主坐标分析(Principal co-ordinates analysis, PCoA),基于Bray-Curtis相异度估计每个处理组细菌群落的 $\beta$ 多样性,进行相似性分析(ANOSIM),以计算不同组间细菌群落是否存在显著差异,相似性分析的 $r$ 值为-1~1,当 $r$ 为1时,表明组间差异最大。

将所有OTU进行相关分析得到相关矩阵,设置阈值Spearman  $|r|>0.95$ 和 $P<0.05$ ( $P$ 经过Benjamini-Hochberg校正)进行筛选,得到显著强相关的细菌网络,结果用Gephi(v 0.10.0)进行可视化。设置Spearman  $r\geq 0.8$ 和 $P\leq 0.05$ 为阈值,筛

选与抗生素去除率显著强相关的细菌。结果用CytoScape(v3.10.1)<sup>[44]</sup>进行可视化。

## 2 结果

### 2.1 不同基质人工湿地中污染物的去除率

在7月2日—8月24日整个实验期间,各污染物去除率无降低趋势,人工湿地均处于稳定运行状态。结果表明,营养型污染物和抗生素的平均去除率在不同基质的人工湿地中存在显著差异(图2a)。TN在火山岩组中的去除率(88.18%)显著( $P<0.05$ )高于沸石组(83.55%),TN在生物陶粒组中的去除率(86.75%)与另外2组无显著差异。TP在生物陶粒组(70.07%)中和火山岩组(69.34%)中的去除率显著( $P<0.05$ )高于沸石组(50.11%)中的去除率。 $\text{NH}_4^+$ -N在生物陶粒组中的去除率为93.53%,显著( $P<0.05$ )高于在沸石组(88.30%)和火山岩组(88.96%)中的去除率。而 $\text{NO}_3^-$ -N在生物陶粒组中的去除率仅为9.37%,这一数值显著( $P<0.05$ )低于火山岩组中的去除率(56.25%)和沸石组中的去除率(48.23%)。 $\text{COD}_{\text{Mn}}$ 在生物陶粒组中的去除率(87.82%)显著( $P<0.05$ )高于在沸石组中的去除率(79.19%),火山岩组中 $\text{COD}_{\text{Mn}}$ 的去除率为82.89%,与另外2组差异不显著。SDZ在生物陶粒组中的去除率为92.02%,显著( $P<0.05$ )高于火山岩组(59.87%),同时火山岩组中SDZ的去除率显著( $P<0.05$ )高于沸石组(52.59%)。NFX的去除率在生物陶粒组中达到99.32%,显著( $P<0.05$ )高于火山岩组(98.85%)和沸石组(98.70%)。人工污水经过湿地处理后,水体中溶氧百分比、pH、氧化还原电位等在不同人工湿地组存在显著差异(图2b)。生物陶粒组(40.1%)和火山岩组(38.2%)的溶氧百分比显著( $P<0.05$ )高于沸石组(29.0%)。生物陶粒组的pH(7.5)显著高于火山岩组(7.2)。生物陶粒组ORP最高(73.1),显著高于沸石(58.5)和火山岩组(64.1)。

### 2.2 细菌群落结构

不同基质人工湿地采集的基质、植物根系表面和根系内部的细菌经过Illumina测序后,共得到5 939个OTU,属于51个门、158个纲、376个目、612个科和1 146个属。

门水平上分类信息堆叠图结果(图3a)显示,

人工湿地基质表面细菌优势门类为变形菌门(Proteobacteria),占21%~42%,其次为放线菌门(Actinobacteriota),占18%;绿弯菌门(Chloroflexi)和帕腐菌门(Patescibacteria)为亚优势菌门,此4门细菌的相对丰度占整个群落的65%以上。湿地植物根系表面的细菌群落中,变形菌门占据绝对优势,其相对丰度为60.5%~92.1%。而植物根系内细菌群落中,蓝藻门(Cyanobacteria)和变形菌门几乎主导了整个细菌群落,且优势菌为蓝细菌,占76.3%~92.1%。在生物陶粒组的基质表面,变形菌门的相对丰度为37.0%~41.9%,高于沸石组的20.4%~34.8%和火山岩组的26.7%~32.5%。在生物陶粒组的根系内部,变形菌门的相对丰度为20.5%~60.1%,分别高于沸石组和火山岩组的7.1%~19.1%和10.5%~22.1%。湿地植物根系表面的细菌群落未观察到类似现象。

聚类结果(图3a)显示,基质表面的细菌群落Bray-Cruits距离较远,而根系表面和根系内的细菌群落距离较近。PCoA分析结果(图3b)显示,基质表面、根系内部和根系表面的细菌群落均未表现出显著的组间差异。

### 2.3 细菌共现模式

为了进一步探究不同湿地基质对含抗生素污水的去除机理,选择基质表面的细菌群落进行群落稳定性研究。经过强相关性筛选后的共现网络中,生物陶粒组存在1 167个节点、73 646个连接;沸石组存在1 148个节点、82 744个连接;火山岩组存在1 275个节点、104 440个连接(图4),其中负向联系占大多数(表3)。从节点和连接的数量上来看,生物陶粒表面细菌群落并没有表现出更复杂的网络,其细菌间正向联系占比最高,为42.14%(表4)。在分类学组成方面,生物陶粒组的OTU主要属于变形菌门(24.16%)、绿弯菌门(10.03%)、放线菌门(9.43%)(图4),沸石和火山岩组的OTU分布情况和生物陶粒组较为一致。在拓扑属性方面,生物陶粒表面细菌网络的平均度、平均密度和模块性都低于沸石组和火山岩组(表3)。网络分析的结果表明,生物陶粒表面细菌群落的复杂性和结构稳定性都略低于沸石和火山岩表面细菌群落。

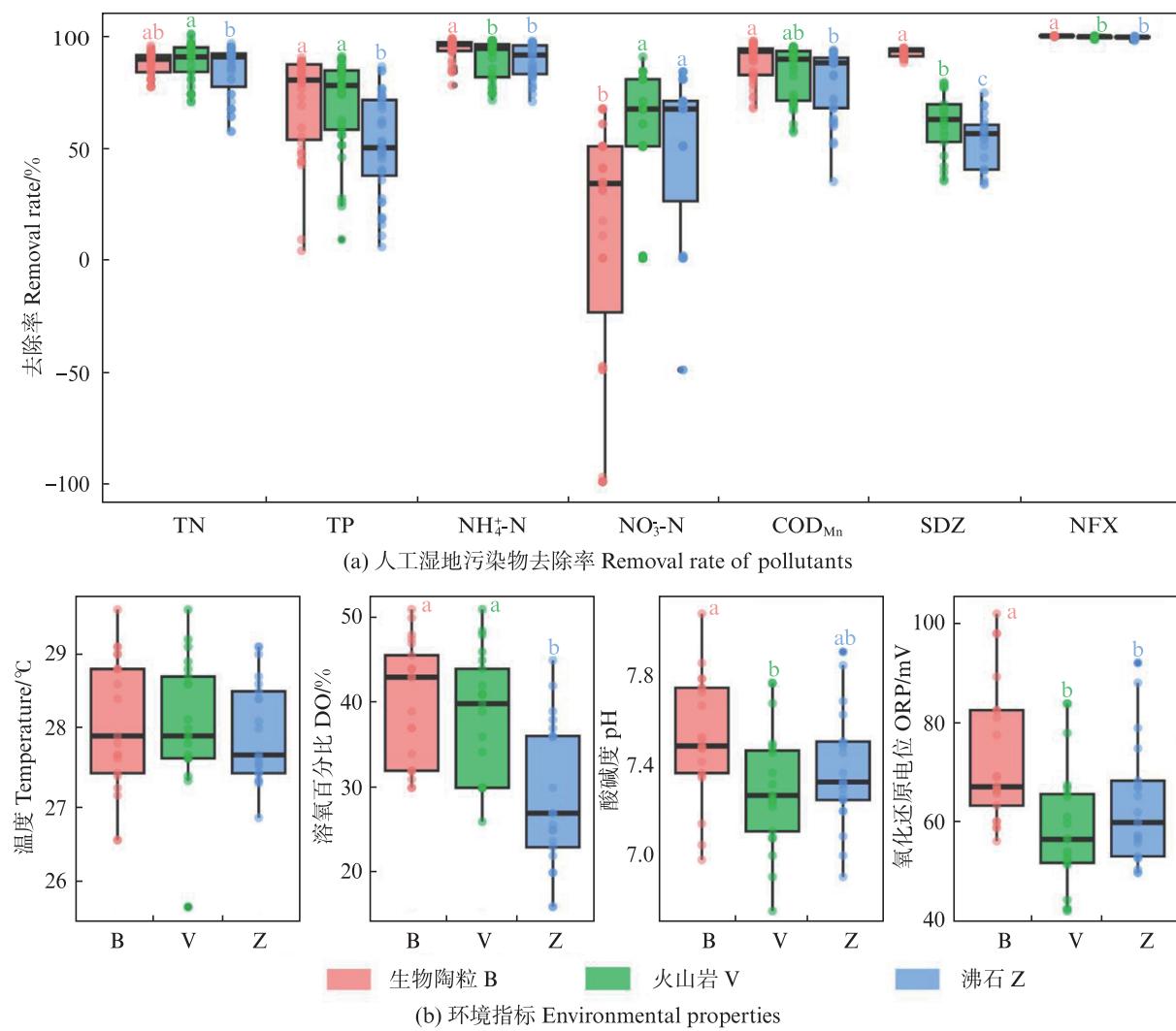


图2 不同基质人工湿地中污染物去除率及处理后水体中理化指标

Fig. 2 Removal rate of pollutants and environmental properties in CWs with different types of substrates

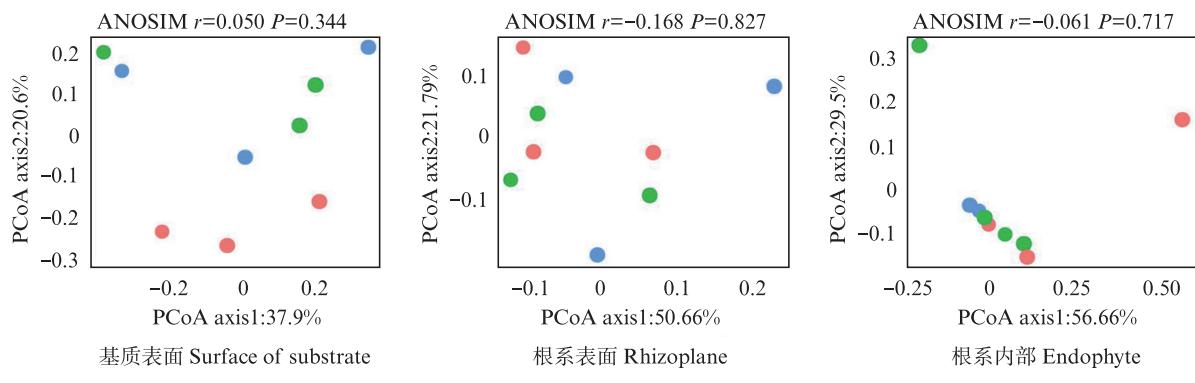
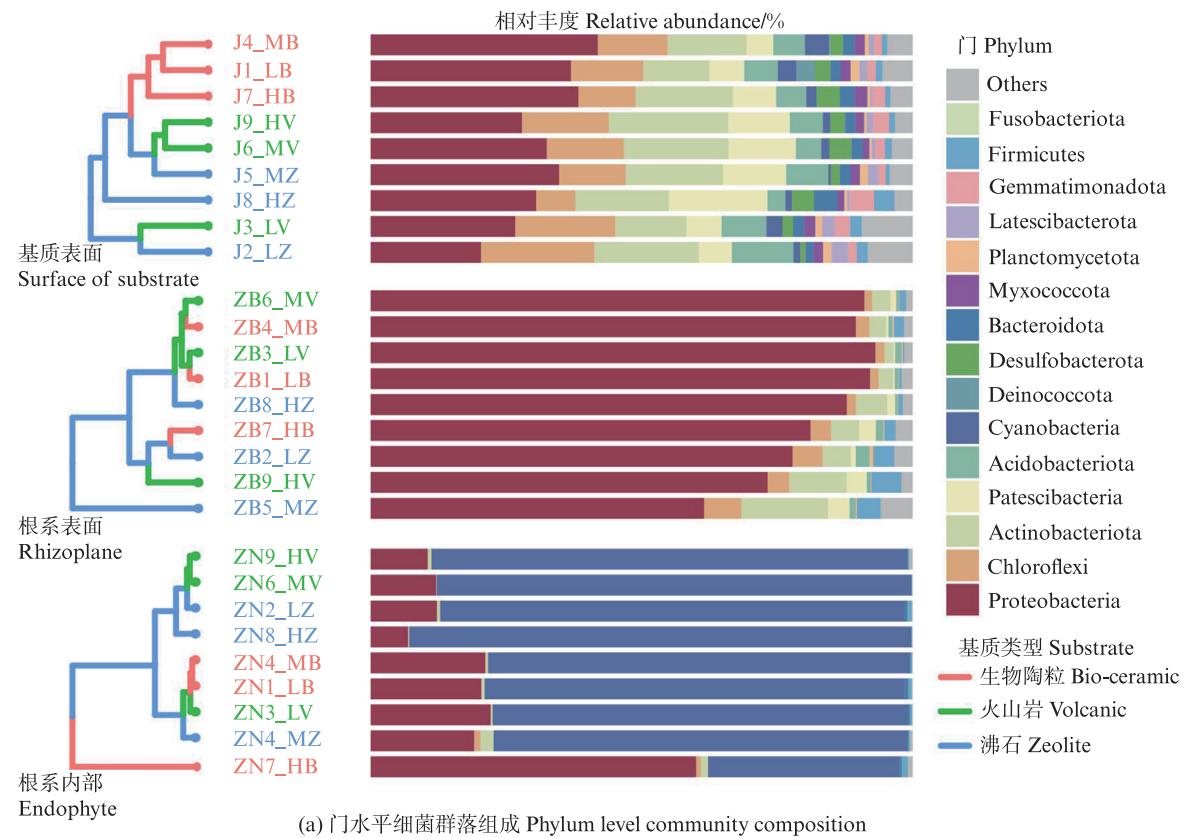


图3 不同区域细菌群落结构

Fig. 3 Bacterial community structure on different substrates

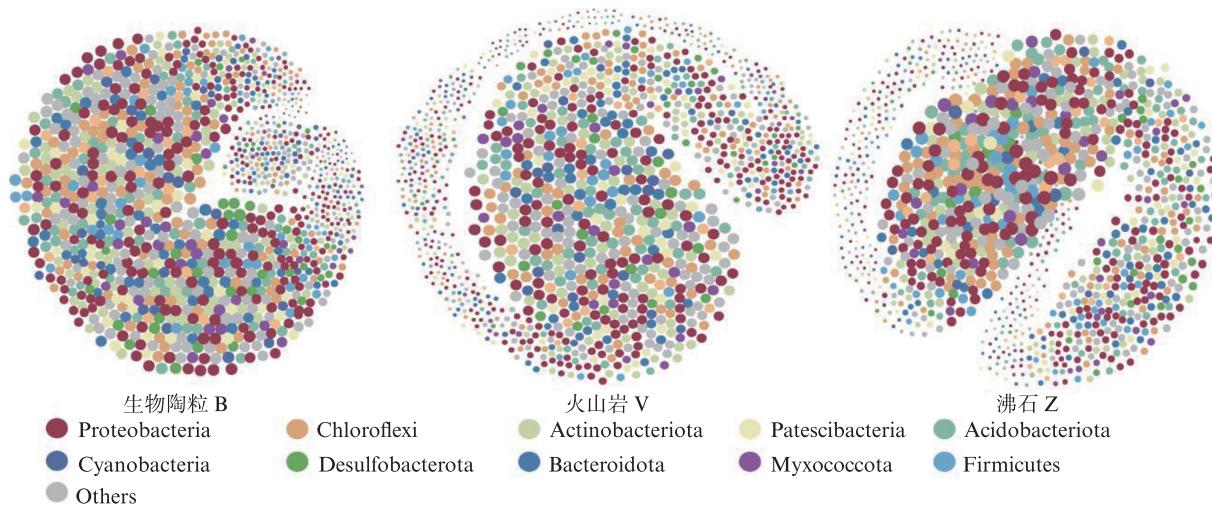


图4 不同基质中细菌共现网络

Fig. 4 Bacterial co-occurrence network on different substrates

表3 不同基质共现分析的拓扑属性

Tab. 3 Topological properties of the co-occurrence analysis for different substrates

| 拓扑属性 Top properties        | 生物陶粒 B  | 沸石 Z    | 火山岩 V   |
|----------------------------|---------|---------|---------|
| 正向边 Positive edges         | 127 284 | 134 680 | 174 619 |
| 负向边 Negative edges         | 53 638  | 51 936  | 72 179  |
| 正向关系占比 Positive Proportion | 42.14%  | 38.56%  | 41.33%  |
| 平均度 Average degree         | 126.21  | 144.15  | 160.69  |
| 图密度 Graph density          | 0.10    | 0.12    | 0.12    |
| 模块性 Modularity             | 0.78    | 0.81    | 0.80    |

## 2.4 关键细菌

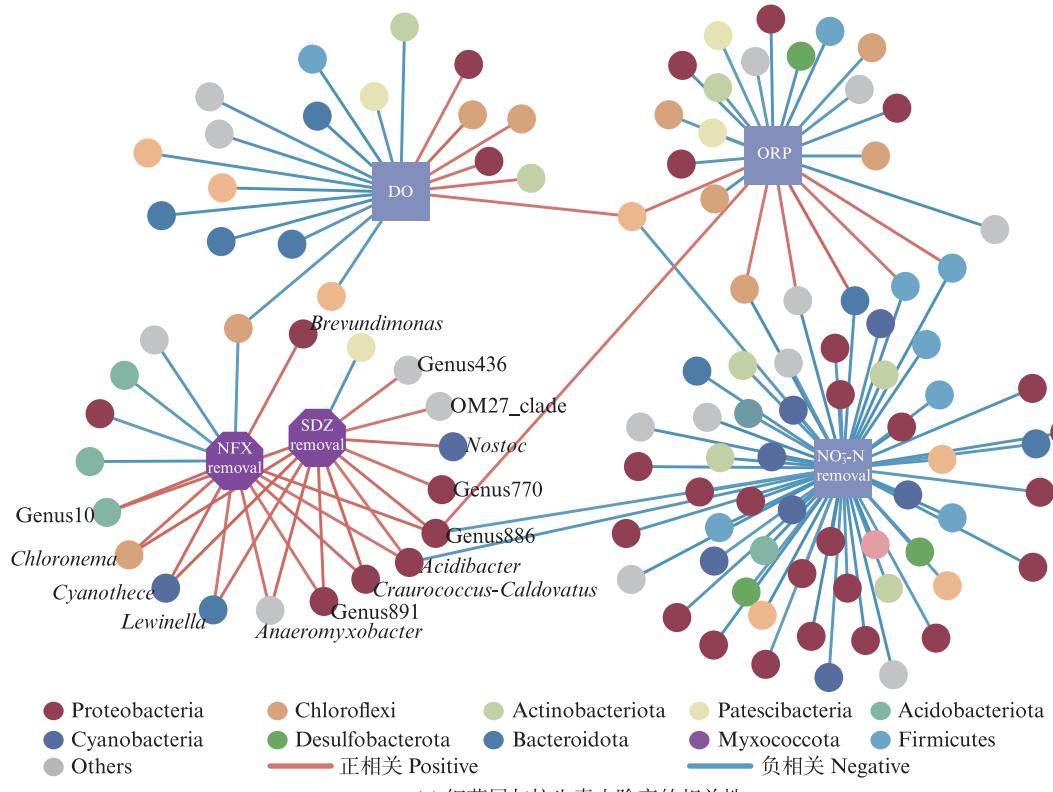
为了进一步探究以生物陶粒为基质的人工湿地对磺胺嘧啶去除率较高的原因,以 Spearman 相关系数  $r \geq 0.8$  和  $P \leq 0.05$  作为筛选条件绘制细菌属和环境因子的相关网络图,得到 14 个和抗生素去除率呈显著正相关的细菌属,这些属主要来自变形菌门和蓝细菌门(图 5a)。其中 12 个属在生物陶粒基质的表面的丰度显著高于另外 2 种基质,其中 8 个细菌属可被明确鉴定,分别为 *Chloronema*、*Cyanothece*、*Lewinella*、*Anaeromyxobacter*、*Craurococcus*、*Caldovatus*、*Acidibacter*、*Nostoc* 和 *Brevundimonas*。这 8 个属中,大部分同时和 NFX、SDZ 的去除率呈正相关,其中和 SDZ 去除率相关性最高的属为 *Cyanothece* ( $r = 0.946$ ),其次是 *Craurococcus*

*Caldovatus* ( $r = 0.934$ ),而这 2 个属在生物陶粒表面的丰度都显著高于沸石表面和火山岩表面, *Acidibacter* 属和 2 种抗生素去除率呈显著正相关 (SDZ  $r = 0.821 P = 0.007$ , NFX  $r = 0.806 P = 0.008$ ), 和  $\text{NO}_3^-$ -N 的去除率呈显著负相关 ( $r = -0.852 P = 0.003$ ),见图 5b。而和  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率呈现显著相关的细菌属,与抗生素的去除率均为负相关。

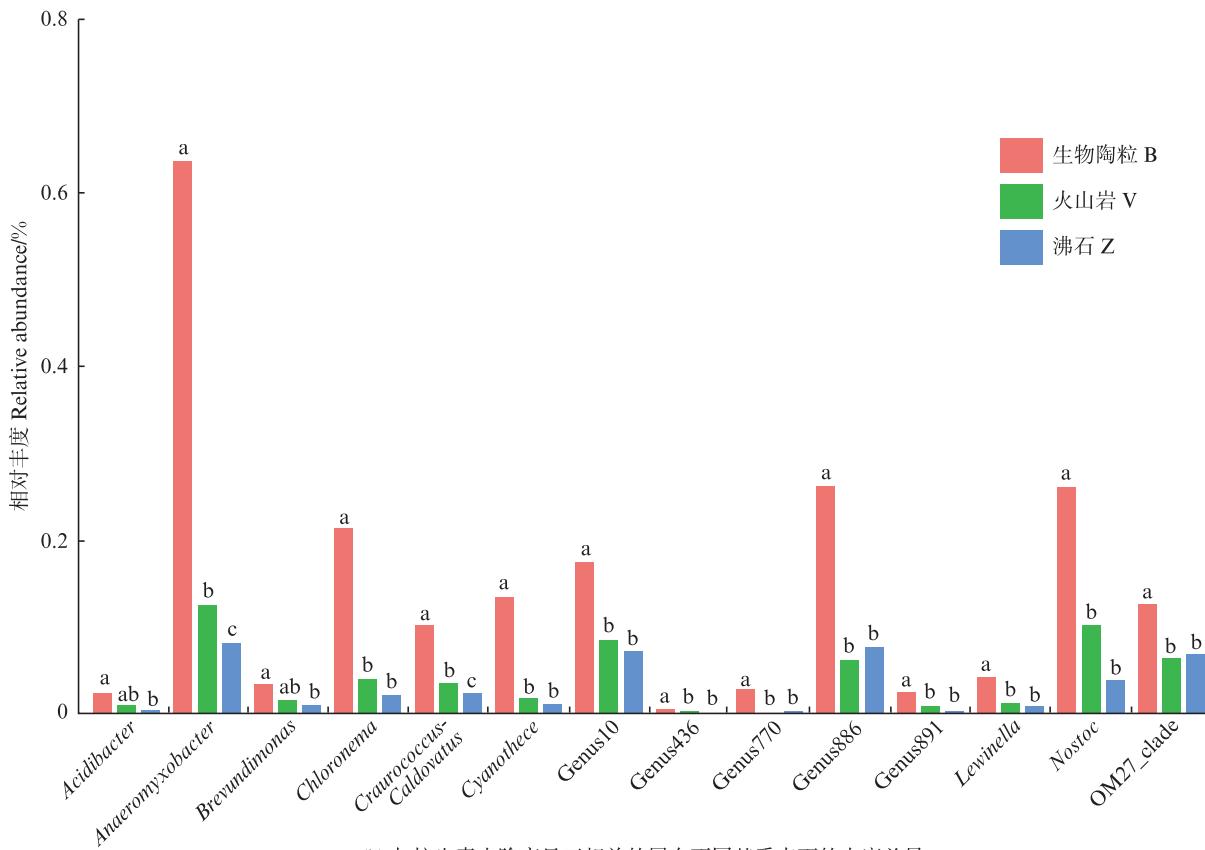
## 3 讨论

### 3.1 人工湿地中营养型污染物的去除

生物陶粒组  $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{COD}_{\text{Mn}}$  去除率显著高于火山岩组和沸石组,但  $\text{NO}_3^-$ -N 的去除率低于另外 2 组。这可能是因为细菌优先降解 SDZ,导致反硝化作用受到抑制<sup>[23]</sup>。



(a) 细菌属与抗生素去除率的相关性  
Correlation between bacterial genera and antibiotic removal rates



(b) 与抗生素去除率呈正相关的属在不同基质表面的丰度差异  
Differences in abundance of genera on different substrate surfaces that are positively correlated with antibiotic removal rates

图5 与抗生素去除率呈显著相关的细菌属

Fig. 5 Bacterial genera significantly correlated with antibiotic removal rates

在人工湿地去除  $\text{NO}_3^-$ -N 的过程中,细菌主导的反硝化作用贡献最大,该过程受抗生素影响较大<sup>[45]</sup>。包括本实验基质在内,常见基质的吸附对  $\text{NO}_3^-$ -N 去除的贡献很低<sup>[46]</sup>,只有 1%~6%<sup>[47]</sup>。植物吸收对  $\text{NO}_3^-$ -N 去除的直接贡献同样很低,约占 7.5%~14.3%<sup>[47]</sup>。但基质作为微生物的生长载体,不可或缺<sup>[48]</sup>。植物可以通过调节湿地有机碳含量促进细菌进行反硝化<sup>[49]</sup>。CHEN 等<sup>[47]</sup>的研究表明,移除人工湿地中的植物会导致  $\text{NO}_3^-$ -N 的去除率降低 29.5%~38.7%,这一数值远高于植物的直接吸附量。

在大部分人工湿地中,反硝化强度远强于硝化<sup>[36]</sup>,即经过人工湿地处理后  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度会更低。本实验中生物陶粒组人工湿地却得到相反的结果,可能是因为其 ORP 和 DO 更高,使得除氮反应向硝化方向进行。同属于磺胺抗生素的磺胺甲恶唑不影响湿地中的硝化过程<sup>[18]</sup>,但是磺胺嘧啶的去除可能会影响反硝化反应。此外,进行反硝化的细菌多是兼性厌氧菌,DO 可能通过抑制亚硝酸盐和一氧化二氮还原酶的合成来影响反硝化菌的活性<sup>[50]</sup>,进而导致主导  $\text{NO}_3^-$ -N 去除的异养反硝化菌活性降低<sup>[51]</sup>。生物陶粒组湿地中  $\text{COD}_{\text{Mn}}$  去除率高表明剩余有机物含量低,这会导致湿地中 C/N 降低,进而导致与  $\text{NO}_3^-$ -N 去除相关的异养反硝化菌活性降低<sup>[30]</sup>。可能正是上述原因共同导致使用生物陶粒组湿地中 N 向硝化反应进行,最终  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率低甚至出现负值。

### 3.2 人工湿地中抗生素的去除

2 种抗生素的去除率在不同组人工湿地中表现出不同规律。NFX 的去除率在 3 种人工湿地均高于 98%。而 SDZ 在生物陶粒组湿地中的去除率达到 92.03% 显著高于另外 2 组人工湿地,在沸石组湿地中去除率仅有 52.59%,这与之前的研究<sup>[52-54]</sup>相近。SDZ 在火山岩组人工湿地中的去除率为 59.87%,低于 LIU 等<sup>[43]</sup>研究中磺胺类 68% 的去除率。造成 2 种抗生素去除率差异的原因可能是 SDZ 和 NFX 属于不同类型的抗生素。NFX 属于氟喹诺酮类(FQs),在人工湿地中主要通过吸附的方式去除<sup>[55]</sup>。NFX 含有大量羧基,整体呈负电性<sup>[52]</sup>,生物陶粒、沸石、火山岩等常规基质富含  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  等金属阳离子,可以通过与 NFX 形成配体复合物的方式将其吸附<sup>[56]</sup>。SDZ 属于磺胺类(SAs),吸附性较弱,其去除主要通过生物降

解,基质吸附和植物吸附占比极低<sup>[57]</sup>。SDZ 中的磺胺氮(Sulfonamidic N)在  $\text{pH} < 7$  的条件下作为氢离子供体,带正电荷;  $\text{pH} > 7$  的条件下作为氢离子受体,带负电荷<sup>[58]</sup>。在本实验  $\text{pH} = 6.7 \sim 8.0$ (图 2b)条件下,SDZ 中磺胺氮带少量负电荷,整体呈弱负电性,可少量吸附于基质上<sup>[21]</sup>。另外,由于 SDZ 对数  $K_{\text{ow}}$  仅为 0.09<sup>[59]</sup>,其极易溶于水,吸附于基质上的量较少<sup>[21]</sup>。通过细菌等微生物作用破坏 SDZ 结构,将其转化为小分子产物,进而消除其毒性才是 SDZ 去除的主要途径<sup>[60]</sup>。生物陶粒表面丰度显著较高的特殊菌属 *Anaeromyxobacter*、*Cyanothece* 和 *Craurococcus-Caldovatus* 等可能是促进 SDZ 的生物降解的关键微生物。值得注意的是,人工湿地中 SDZ 的去除率随着 SDZ 浓度升高而降低<sup>[57]</sup>,而本研究中生物陶粒基质的人工湿地对浓度为 100  $\mu\text{g/L}$  的 SDZ 去除率高达 92.11%,在相同浓度下属于较高水平<sup>[57,61]</sup>。

### 3.3 微生物与抗生素的去除

本实验中,人工湿地基质表面的微生物以变形菌门为主,该门细菌是污水处理中的常见菌<sup>[62]</sup>。以生物陶粒为基质的人工湿地虽对 SDZ 表现出更高的去除率,但采集自 3 种基质表面的细菌群落在门水平及共现网络的规模、拓扑结构参数上均未表现出差异。因此,驱动 SDZ 去除的潜在细菌只是极少数,无法影响整个细菌的群落结构。INGERSLEV 等<sup>[63]</sup>的研究表明,磺胺类抗生素会对细菌群落进行压力诱导,使其表现出降解磺胺类抗生素的能力。当磺胺类抗生素浓度达到 100  $\mu\text{g/L}$  时,一些敏感种会消失<sup>[64]</sup>。而本实验则是筛选出一些与 SDZ 去除呈显著正相关并且丰度显著更高的属,其中大部分来自帕腐菌门,这与 ZHANG 等<sup>[32]</sup>的研究结果一致。

SDZ 的去除大致可以分为 3 个生物途径中的 6 个反应:磺胺键水解、羟基化、硫脱氧、脱氨、 $\text{SO}_2$  脱除、氨基氧化<sup>[60]</sup>。WANG 等<sup>[65]</sup>在对 SMX(另一种磺胺类抗生素)降解的研究中,同样发现 *Chloronema* 属细菌具有较高丰度。ZHAO 等<sup>[66]</sup>则发现 *Chloronema* 属细菌可以参与异养硝化或硫基自养反硝化反应。*Lewinella* 属可以产生类胡萝卜素<sup>[67]</sup>,有助于硫脱氧反应的进行,进而促进 SDZ 的去除。*Anaeromyxobacter* 属具有固氮能力,是水稻土壤中常见的优势种<sup>[68]</sup>,且部分种具

有通过电子传递链将硝酸盐还原成铵和脱硫的能力<sup>[69]</sup>，这与SDZ去除过程十分相符。*Cyanothece\_PCC\_7425*属是大体积单细胞细菌，具备在厌氧条件下固氮的能力，可以将硝酸和尿素作为氮源生长<sup>[70]</sup>。*OM27\_clade*属可能具有参与有机氮循环的能力<sup>[71]</sup>，并且具有捕食其他细菌的功能<sup>[72]</sup>，可能对群落结构造成影响。

此外，生物陶粒的成本和使用寿命与沸石、火山岩相近，但由于其生物亲和性更好，表面生物膜的生物量可能增长更快，导致堵塞风险升高<sup>[73]</sup>。

#### 4 结论

使用生物陶粒作为基质的人工湿地在NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、COD<sub>Mn</sub>和SDZ的去除率上显著优于另外2组，尤其是对SDZ的去除，但是对NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N的去除表现不佳。生物陶粒高效去除能力可能与其具有一定空隙的物理结构，及其表面附生的少量特殊细菌有关。不同抗生素的化学特性和去除机理不同，本文只选取了磺胺类的SDZ和氟喹诺酮类的NFX，其他类型抗生素的去除效果是否与基质有关，还有待进一步研究。如何平衡好生物陶粒基质高效去除磺胺嘧啶这类抗生素的能力和其相对较高的堵塞风险，是推广应用中值得重点关注的问题。

作者声明本文无利益冲突。

#### 参考文献：

- [1] GONZÁLEZ-GAYA B, GARCÍA-BUENO N, BUELOW E, et al. Effects of aquaculture waste feeds and antibiotics on marine benthic ecosystems in the Mediterranean Sea[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 151190.
- [2] CHEN Y, ZHANG Y, LYU T T, et al. A facile strategy for the synthesis of water-soluble fluorescent nonconjugated polymer dots and their application in tetracycline detection[J]. *Journal of Materials Chemistry C*, 2019, 7(30): 9241-9247.
- [3] LIU X H, LU S Y, GUO W, et al. Antibiotics in the aquatic environments: a review of lakes, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 1195-1208.
- [4] TI M R, LI Y S, LI Z Q, et al. A ratiometric nanoprobe based on carboxylated graphitic carbon nitride nanosheets and Eu<sup>3+</sup> for the detection of tetracyclines [J]. *Analyst*, 2021, 146(3): 1065-1073.
- [5] YANG K R, JIA P, HOU J J, et al. Innovative dual-emitting ratiometric fluorescence sensor for tetracyclines detection based on boron nitride quantum dots and europium ions [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8(46): 17185-17193.
- [6] DENG Y Y, ZOU M Y, LIU W, et al. Antibiotic removal and microbial response mechanism in constructed wetlands treating aquaculture wastewater containing veterinary drugs [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 394: 136271.
- [7] GAO P P, MAO D Q, LUO Y, et al. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment [J]. *Water Research*, 2012, 46(7): 2355-2364.
- [8] WANG G G, ZHOU S H, HAN X K, et al. Occurrence, distribution, and source track of antibiotics and antibiotic resistance genes in the main rivers of Chongqing city, southwest China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 389: 122110.
- [9] 徐慕, 李世豪, 马巾, 等. 上海沙田湖养殖区及周边水体中氟喹诺酮类抗性基因的分布特征及其与环境因子关系[J]. *环境科学*, 2021, 42(12): 5848-5856.
- [10] XU M, LI S H, MA J, et al. Investigation on fluoroquinolone resistance genes in the intensive aquaculture area of Shatianhu intensive aquiculture farm and surrounding waterbodies in Shanghai, China [J]. *Environmental Science*, 2021, 42(12): 5848-5856.
- [11] HAZRA M, DURSO L M. Performance efficiency of conventional treatment plants and constructed wetlands towards reduction of antibiotic resistance[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(1): 114.
- [12] AHMAD A, SHEIKH ABDULLAH S R, HASAN H A, et al. Aquaculture industry: supply and demand, best practices, effluent and its current issues and treatment technology [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 287: 112271.
- [13] HUANG X F, LUO Y, LIU Z L, et al. Influence of two-stage combinations of constructed wetlands on the removal of antibiotics, antibiotic resistance genes and nutrients from goose wastewater[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(20): 4030.
- [14] BAI S Y, WANG X, ZHANG Y, et al. Constructed wetlands as nature-based solutions for the removal of antibiotics: performance, microbial response, and emergence of antimicrobial resistance (AMR) [J]. *Sustainability*, 2022, 14(22): 14989.
- [15] HUANG A R, YAN M T, LIN J J, et al. A review of processes for removing antibiotics from breeding wastewater [J]. *International Journal of Environmental*

- Research and Public Health, 2021, 18(9): 4909.
- [15] LIU X H, GUO X C, LIU Y, et al. A review on removing antibiotics and antibiotic resistance genes from wastewater by constructed wetlands: performance and microbial response [J]. Environmental Pollution, 2019, 254: 112996.
- [16] WANG Q S, LI J G, WANG C J, et al. Treatment of mariculture wastewater using constructed wetlands under antibiotic interference [J]. Applied Mechanics and Materials, 2014, 522-524: 849-853.
- [17] CHEN J F, TONG T L, JIANG X S, et al. Biodegradation of sulfonamides in both oxic and anoxic zones of vertical flow constructed wetland and the potential degraders [J]. Environmental Pollution, 2020, 265: 115040.
- [18] KASSOTAKI E, BUTTIGLIERI G, FERRANDO-CLIMENT L, et al. Enhanced sulfamethoxazole degradation through ammonia oxidizing bacteria co-metabolism and fate of transformation products [J]. Water Research, 2016, 94: 111-119.
- [19] LV M Y, ZHANG D Q, NIU X J, et al. Insights into the fate of antibiotics in constructed wetland systems: removal performance and mechanisms [J]. Journal of Environmental Management, 2022, 321: 116028.
- [20] QU M W, LIU Y, HAO M Q, et al. Microbial community and carbon-nitrogen metabolism pathways in integrated vertical flow constructed wetlands treating wastewater containing antibiotics [J]. Bioresource Technology, 2022, 354: 127217.
- [21] OBEROI A S, JIA Y Y, ZHANG H Q, et al. Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(13): 7234-7264.
- [22] CONKLE J L, LATTAO C, WHITE J R, et al. Competitive sorption and desorption behavior for three fluoroquinolone antibiotics in a wastewater treatment wetland soil [J]. Chemosphere, 2010, 80(11): 1353-1359.
- [23] ZHANG L, YAN C Z, WEN C, et al. Influencing factors of antibiotic resistance genes removal in constructed wetlands: a meta-analysis assisted by multivariate statistical methods [J]. Chemosphere, 2023, 315: 137755.
- [24] WANG Y K, CHANG S X, FANG S Z, et al. Contrasting decomposition rates and nutrient release patterns in mixed vs singular species litter in agroforestry systems [J]. Journal of Soils and Sediments, 2014, 14(6): 1071-1081.
- [25] WU S Q, HE S B, HUANG J, et al. Decomposition of emergent aquatic plant (Cattail) litter under different conditions and the influence on water quality [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2017, 228(2): 70.
- [26] GU X S, HE S B, HUANG J. Efficient utilization of *Iris pseudacorus* biomass for nitrogen removal in constructed wetlands: combining alkali treatment [J]. Environmental Pollution, 2021, 291: 118170.
- [27] LIU J, YI N K, WANG S, et al. Impact of plant species on spatial distribution of metabolic potential and functional diversity of microbial communities in a constructed wetland treating aquaculture wastewater [J]. Ecological Engineering, 2016, 94: 564-573.
- [28] BANERJEE S, SCHLAEPPPI K, VAN DER HEIJDEN M G A. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning [J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(9): 567-576.
- [29] CHOI Y J, KIM L H, ZOH K D. Removal characteristics and mechanism of antibiotics using constructed wetlands [J]. Ecological Engineering, 2016, 91: 85-92.
- [30] DU L, ZHAO Y Q, WANG C, et al. Removal performance of antibiotics and antibiotic resistance genes in swine wastewater by integrated vertical-flow constructed wetlands with zeolite substrate [J]. Science of the Total Environment, 2020, 721: 137765.
- [31] SHA N Q, WANG G H, LI Y H, et al. Removal of abamectin and conventional pollutants in vertical flow constructed wetlands with Fe-modified biochar [J]. RSC Advances, 2020, 10(72): 44171-44182.
- [32] ZHANG L, YAN C Z, QI R, et al. Quantifying the contribution rates of sulfonamide antibiotics removal mechanisms in constructed wetlands using multivariate statistical analysis [J]. Environmental Pollution, 2022, 292: 118463.
- [33] ZHENG Y C, LIU Y, QU M W, et al. Fate of an antibiotic and its effects on nitrogen transformation functional bacteria in integrated vertical flow constructed wetlands [J]. Chemical Engineering Journal, 2021, 417: 129272.
- [34] SILVA V F D, WOLFF D B. Removal of antibiotics in constructed wetlands: a review and bibliometric analysis [J]. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2024, 96(4): e20240275.
- [35] ZHAO P Z, WANG R D, LI B S, et al. Study on the optimization of hydrodynamic characteristics and pollutant removal efficiency in integrated vertical flow constructed wetlands [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 6017.
- [36] GU X S, CHEN D Y, WU F, et al. Recycled utilization of *Iris pseudacorus* in constructed wetlands: litters self-consumption and nitrogen removal improvement [J]. Chemosphere, 2021, 262: 127863.
- [37] 徐后涛, 郑小燕, 王丽卿, 等. 水产养殖场抗生素类新

- 型污染物减排示范工程研究成果[J]. 净水技术, 2020, 39(11): 59-62.
- XU H T, ZHENG X Y, WANG L Q, et al. Research achievements on demonstration project of emerging pollutants reduction for antibiotics in aquaculture tailwater [J]. Water Purification Technology, 2020, 39(11): 59-62.
- [38] RANI A, CHAUHAN M, KUMAR SHARMA P, et al. Microbiological dimensions and functions in constructed wetlands: a review [J]. Current Research in Microbial Sciences, 2024, 7: 100311.
- [39] ALI H, MIN Y E, YU X F, et al. Composition of the microbial community in surface flow-constructed wetlands for wastewater treatment [J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1421094.
- [40] 董晓. 渔业养殖环境中抗生素残留检测及消除技术 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2017
- DONG X. Residual of Antibiotics in aquaculture environment and its elimination technology [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.
- [41] 魏复盛, 国家环境保护总局, 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- WEI F S, State Environmental Protection Administration, Editorial Committee for Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods. Methods for monitoring and analysis of Water and wastewater [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [42] ZENG J, YANG L Y, LIANG Y, et al. Spatial distribution of bacterial communities in sediment of a eutrophic lake revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and multivariate analysis [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2008, 54(12): 1053-1063.
- [43] LIU C S, ZHAO D F, MA W J, et al. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp. [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [44] SHANNON P T, GRIMES M, KUTLU B, et al. RCytoscape: tools for exploratory network analysis [J]. BMC Bioinformatics, 2013, 14(1): 217.
- [45] WU Y H, HAN R, YANG X N, et al. Correlating microbial community with physicochemical indices and structures of a full-scale integrated constructed wetland system [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(15): 6917-6926.
- [46] SAEED T, SUN G Z. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media [J]. Journal of Environmental Management, 2012, 112: 429-448.
- [47] CHEN Y, WEN Y, ZHOU Q, et al. Effects of plant biomass on nitrogen transformation in subsurface-batch constructed wetlands: a stable isotope and mass balance assessment [J]. Water Research, 2014, 63: 158-167.
- [48] BURCHELL M R, SKAGGS R W, LEE C R, et al. Substrate organic matter to improve nitrate removal in surface-flow constructed wetlands [J]. Journal of Environmental Quality, 2007, 36(1): 194-207.
- [49] KADLEC R H, PRIES J, LEE K. The Brighton treatment wetlands [J]. Ecological Engineering, 2012, 47: 56-70.
- [50] PANG Y M, WANG J L. Various electron donors for biological nitrate removal: a review [J]. Science of the Total Environment, 2021, 794: 148699.
- [51] WANG J F, WANG Y H, BAI J H, et al. High efficiency of inorganic nitrogen removal by integrating biofilm-electrode with constructed wetland: autotrophic denitrifying bacteria analysis [J]. Bioresource Technology, 2017, 227: 7-14.
- [52] LIU L, LIU C X, ZHENG J Y, et al. Elimination of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical flow constructed wetlands [J]. Chemosphere, 2013, 91(8): 1088-1093.
- [53] WANG J L, CHEN X Y. Removal of antibiotic resistance genes (ARGs) in various wastewater treatment processes: an overview [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2022, 52(4): 571-630.
- [54] CHEN J, YING G G, WEI X D, et al. Removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from domestic sewage by constructed wetlands: effect of flow configuration and plant species [J]. Science of the Total Environment, 2016, 571: 974-982.
- [55] HUANG X F, YE G Y, YI N K, et al. Effect of plant physiological characteristics on the removal of conventional and emerging pollutants from aquaculture wastewater by constructed wetlands [J]. Ecological Engineering, 2019, 135: 45-53.
- [56] CUI E P, ZHOU Z C, GAO F, et al. Roles of substrates in removing antibiotics and antibiotic resistance genes in constructed wetlands: a review [J]. Science of the Total Environment, 2023, 859: 160257.
- [57] XU R H, WU Z Y, ZHOU Z B, et al. Removal of sulfadiazine and tetracycline in membrane bioreactors: linking pathway to microbial community shift [J]. Environmental Technology, 2019, 40(2): 134-143.
- [58] YANG W B, ZHENG F F, XUE X X, et al. Investigation into adsorption mechanisms of sulfonamides onto porous adsorbents [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2011, 362(2): 503-509.
- [59] LI B, ZHANG T. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44 (9) :

- 3468-3473.
- [60] ZHENG J R, WANG S F, ZHOU A J, et al. Efficient elimination of sulfadiazine in an anaerobic denitrifying circumstance: biodegradation characteristics, biotoxicity removal and microbial community analysis [J]. Chemosphere, 2020, 252: 126472.
- [61] ZHOU L J, YING G G, LIU S, et al. Occurrence and fate of eleven classes of antibiotics in two typical wastewater treatment plants in South China [J]. Science of the Total Environment, 2013, 452-453: 365-376.
- [62] 张筱, 程梦奇, 程梦雨, 等. 人工湿地中植物对低盐度养殖废水处理效果[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30 (6): 1024-1033.
- ZHANG X, CHENG M Q, CHENG M Y, et al. Effect of plants on the treatment efficiency of low-salinity aquaculture wastewater in constructed wetlands [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30 (6) : 1024-1033.
- [63] INGERSLEV F, HALLING - SØRENSEN B. Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2000, 19(10): 2467-2473.
- [64] ZHANG W, HUANG M H, QI F F, et al. Effect of trace tetracycline concentrations on the structure of a microbial community and the development of tetracycline resistance genes in sequencing batch reactors [J]. Bioresource Technology, 2013, 150: 9-14.
- [65] WANG Y, LI J H, LEI Y, et al. Bioremediation of sulfonamides by a microalgae-bacteria consortium - Analysis of pollutants removal efficiency, cellular composition, and bacterial community [J]. Bioresource Technology, 2022, 351: 126964.
- [66] ZHAO J, FENG L J, YANG G F, et al. Development of simultaneous nitrification-denitrification (SND) in biofilm reactors with partially coupled a novel biodegradable carrier for nitrogen-rich water purification [J]. Bioresource Technology, 2017, 243: 800-809.
- [67] JUNG Y T, LEE J S, YOON J H. *Lewinella aquimaris* sp. nov., isolated from seawater [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(10): 3989-3994.
- [68] MASUDA Y, YAMANAKA H, XU Z X, et al. Diazotrophic *Anaeromyxobacter* isolates from soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86 (16): e00956-20.
- [69] SANFORD R A, COLE J R, TIEDJE J M. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halorespiring facultative anaerobic myxobacterium [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(2): 893-900.
- [70] CHENEBAULT C, DIAZ-SANTOS E, KAMMERSCHEIT X, et al. A genetic toolbox for the new model cyanobacterium *cyanothecce* PCC 7425: a case study for the photosynthetic production of limonene [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 586601.
- [71] XIE G J, CAI C, HU S H, et al. Complete nitrogen removal from synthetic anaerobic sludge digestion liquor through integrating Anammox and denitrifying anaerobic methane oxidation in a membrane biofilm reactor [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51 (2) : 819-827.
- [72] ZHANG L, HUANG X Y, ZHOU J Z, et al. Active predation, phylogenetic diversity, and global prevalence of myxobacteria in wastewater treatment plants [J]. The ISME Journal, 2023, 17(5): 671-681.
- [73] FAN Y C, ZHUANG J, ESSINGTON M, et al. Global significance of substrates for nitrate removal in denitrifying bioreactors revealed by meta-analysis [J]. Engineering, 2023, 21: 214-226.

## Characteristics of microbial community structure in different constructed wetland substrates and its relationship with antibiotic removal

WU Junchi<sup>1</sup>, LI Shihao<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>1,2</sup>, XU Houtao<sup>3</sup>, LIU Wan<sup>1</sup>, WANG Liqing<sup>1,2</sup>, ZHANG Ruilei<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Engineering Research Center of Environment DNA and Ecological Water Health Assessment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Aquatic Technology Co. Ltd., Shanghai 200090, China)

**Abstract:** To compare the synergistic treatment effects of different substrates in constructed wetlands on antibiotics and nutrient pollutants in wastewater, this experiment utilized three types of substrates: bio-ceramic, zeolite, and volcanic rock. These substrates were used to build small constructed wetland, and the removal rates of different pollutants and the bacterial communities structures in different areas were analyzed. The results demonstrated that the removal rates of  $\text{NH}_4^+$ -N,  $\text{COD}_{\text{Mn}}$ , and the antibiotic sulfadiazine in the bio-ceramic group were significantly higher ( $P<0.05$ ) than those of the other two groups, but the removal rates of  $\text{NO}_3^-$ -N were significantly lower ( $P<0.05$ ). The removal rates of the antibiotic norfloxacin in different substrates are all higher than 98%. The abundance of bacteria collected on the surface of the substrate was relatively high, with Proteobacteria, Actinobacteria, and Chloroflexi being the dominant species. The bacterial communities on the rhizoplane and within root endophytes were dominated by Proteobacteria and Cyanobacteria, respectively. The microbial community structure collected on the substrate surface differed greatly among the different groups of constructed wetlands. The removal of sulfadiazine is primarily achieved through biodegradation. It may not be the diversity of the entire microbial community in the wetland that affects the removal rate of sulfadiazine, but the abundance of these key bacteria. The genus with the highest correlation to the sulfadiazine removal rate was *Cyanothece*, followed by *Craurococcus-Caldovatus*. The abundance of these two genera on the surface of bio-ceramic was significantly higher than those on the surfaces of zeolite and volcanic rock. Additionally, the genus *Acidibacter* showed a significantly positively correlation with the removal of both antibiotics. The removal rate was significantly negatively correlated with the removal of  $\text{NO}_3^-$ -N. Studies have revealed that constructed wetlands based on bioceramics exhibit the most comprehensive removal effect on artificial sewage containing sulfadiazine antibiotics and can be widely utilized for the treatment of such sewage.

**Key words:** constructed wetlands; bio-ceramic; antibiotic; sulfadiazine; microbial community