

基于高通量测序的不同填料生物滤池细菌群落结构分析

陈小红, 郑惠东, 仇登高, 林永青, 许贻斌, 陈财珍

(福建省水产研究所, 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室, 海洋生物种业技术国家地方联合工程研究中心, 福建 厦门 361013)

摘要:为探究不同填料的挂膜特性, 分别构建 4 组填料生物滤池(珊瑚石、悬浮球填料、弹性填料、组合填料), 比较其自然挂膜成熟时间, 并利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析其细菌群落结构。结果表明, 珊瑚石、悬浮球填料、弹性填料、组合填料的挂膜成熟时间分别为 15 d、18 d、21 d、21 d。不同生物滤池中填料生物膜上的细菌丰度和多样性均高于对应的生物滤池水体, 悬浮球填料生物滤池的多样性指数最高。在门分类水平上, 不同生物滤池的优势菌群主要以变形菌门(Proteobacteria)为主。在属分类水平上, 不同生物滤池的脱氮功能菌有所不同, 亚硝酸菌属(Nitrosomonas)、硝化刺菌属(Nitrospina)在弹性填料生物滤池中的相对丰度大于其他生物滤池; 芽孢杆菌属(Bacillus)是珊瑚石生物滤池的优势菌属; 亚硫酸杆菌属(Sulfitobacter)、栖海杆菌属(Maribacter)、Phaeodactylibacter 是悬浮球填料生物滤池特有的具有反硝化作用的优势菌属。总体上, 不同填料生物滤池均有较完整的硝化-反硝化脱氮微生物体系, 这些微生物在海水养殖尾水脱氮处理中具有重要作用。

关键词:海水养殖尾水; 生物滤池; 填料; 细菌群落结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2023)04-0550-08

Analysis of bacterial community structure in biofilters with different fillers using high-throughput sequencing

CHEN Xiaohong, ZHENG Huidong, QIU Denggao, LIN Yongqing,
XU Yibin, CHEN Caizhen

(Fujian Fishery Research Institute, Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, National and Local Joint Engineering Research Center of Marine Biological Seed Industry Technology, Xiamen 361013, China)

Abstract: In order to investigate the biofilm characteristics of different fillers, four different fillers, including coral stone, suspended ball filler, elastic filler and combined filler, were used to build biofilters. The mature time of biofilms was compared, and the bacterial community structure of filler-biofilms and seawater in biofilters were analyzed using Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology. Our results show that the mature time of biofilms using coral stone, suspended ball, elastic, or combined filler were 15 d, 18 d, 21 d and 21 d, respectively. The bacterial abundance and diversity on biofilms of the filler were higher than the seawater of their corresponding biofilter. The diversity index of the suspended ball biofilter was the highest among different biofilters. At the taxonomic level, Proteobacteria was the dominant bacteria in all biofilters. At

收稿日期: 2022-08-23, 修订日期: 2022-11-09

基金项目: 福建省海洋与渔业结构调整专项(2021HYJG12、2021HYJG08); 福建省海洋经济发展专项资金项目(FJHJF-L-2021-9)

作者简介: 陈小红(1987-), 女, 福建泉州人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为海洋微生物, E-mail: cxh870319@163.com

the genus classification level, different biofilters showed different characteristics of denitrifying functional bacteria. The relative abundance of *Nitrosomonas* and *Nitrospina* in elastic filler biofilter was the highest among different biofilters. *Bacillus* was the dominant genus of coral stone biofilter. The dominant denitrifying bacteria of *sulfitobacter*, *maribacter* and *phaeodactylibacter* were the characteristic bacteria of the suspended ball biofilter. In general, biofilters using different fillers showed a relatively complete nitrification and denitrification microbial system, which played an important role in the denitrification treatment of mariculture wastewater.

Key words: mariculture wastewater; biofilters; fillers; bacterial community

随着我国海水养殖业向集约化、高密度、高产出模式的转变,养殖中产生的大量残饵、排泄物导致水体中的含氮污染物浓度增高,污染周边的水体环境。因此,海水养殖尾水的脱氮问题受到学者的广泛关注^[1-2]。生物脱氮主要靠微生物的硝化作用与反硝化作用,其基本原理是氨氧化菌先将含氮有机物(如蛋白质、氨基酸、尿素、脂类等)氧化分解,转化为氨氮,然后由自养型硝化菌将其转化为硝态氮,最后由反硝化菌将硝态氮还原转化为氮气,从而达到脱氮的目的^[3]。

生物滤池技术是实现生物脱氮的一种重要处理技术。生物滤池技术的主要作用是把生物氧化与过滤悬浮固体相结合,具有操作简单、占地面积少、抗冲击负荷强、处理效果稳定等特点,在养殖尾水处理方面具有较强的优势。为满足后续出台的海水养殖尾水排放标准要求,近年来已有一些水产养殖企业利用原有的沉淀池,通过投放毛刷或其他填料,改造生物滤池,以实现养殖尾水的脱氮处理。由此可见,填料是生物滤池的重要组成部分,作为微生物附着的载体,影响着生物膜的生长、繁殖、形态及群落结构。因此,开展不同填料生物滤池的研究对其推广、应用具有重要的现实意义。

填料生物膜是一个组成成分复杂,具有三维结构和信息传递系统的复杂微生物群体,其细菌群落结构与养殖尾水的脱氮效果具有直接的关系^[4]。虽然关于填料生物膜的研究已有报道^[5-6],但是不同处理系统或不同运行参数都会造成细菌群落结构的显著差异。基于此,本研究选择珊瑚石、悬浮球填料、弹性填料、组合填料4种生物填料构建海水养殖尾水的生物滤池,以自然挂膜方式培养生物膜,应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,分析挂膜成熟后不同填料生物滤池的细菌群落结构及多样性,以期为海水养殖生物滤池填料的筛选及填料生物膜的作用机理提供理论参考和科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

填料:珊瑚石、悬浮球填料(球体直径为8 cm,外壳聚丙烯材质,中空渔网状球体,里面填充聚氨酯海绵)、弹性填料(单元直径为15 cm,中心一根尼龙绳,周围呈毛刷状)、组合填料(单元直径为15 cm,塑料环片上负载维纶丝,中心用尼龙绳和套管串起)。填料的形、貌如图1所示。

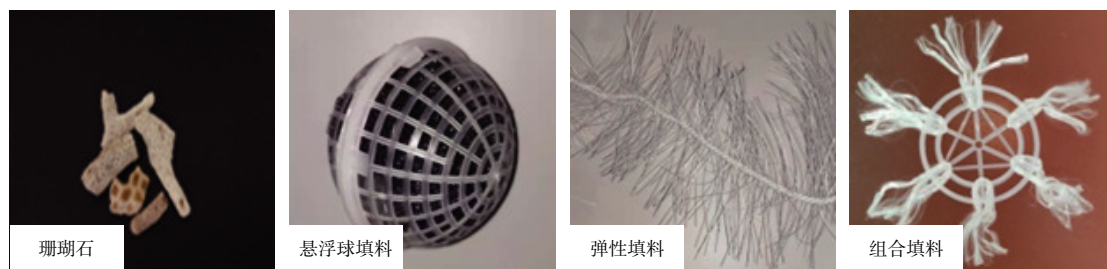


图1 不同填料的图片

Fig. 1 Pictures of different fillers

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

本试验在福建省水产研究所生态实验室进行。采用8个350 L的圆形养殖桶构建生物滤池,先将养殖桶用50 mg/L碘液浸泡48 h,进行消毒,再用自来水浸泡24 h,冲洗后每桶注入300 L海水养殖尾水。本试验养殖尾水为福建省水产研究所大径养殖基地的石斑鱼养殖尾水,水质指标如下: pH=8.1,亚硝态氮($\text{NO}_2\text{-N}$)为0.56 mg/L,氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$)为4.42 mg/L,硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)为3.32 mg/L,总磷(TP)为1.36 mg/L。

4组生物滤池按30%体积比分别添加珊瑚石(S)、悬浮球填料(F)、弹性填料(T)、组合填料(Z),每组2个平行样。试验期间生物滤池水温16~21 °C, $\text{DO}>5$ mg/L,盐度为32~34, pH为7.1~8.1。挂膜期间水体循环缓慢流动,每隔5 d添加三水合乙酸钠(终浓度为50 mg/L),每3 d测定生物滤池中氨氮和亚硝态氮的浓度,直到生物滤池中氨氮和亚硝态氮检测不出,即为自然挂膜成熟。

1.2.2 样品采集

实验开始前,用无菌方式取1000 mL初始养殖尾水(编号S0)过0.22 μm 无菌滤膜,于-40 °C冰箱中保存,用于DNA提取和高通量测序。自然挂膜成熟后,用无菌方式从每个生物滤池中分别取填料和水样,每组的2个平行样混合为1个样品,共获得8个样品,即珊瑚石、悬浮球填料、弹性填料、组合填料的填料生物膜样品(编号分别为S-T、F-T、T-T、Z-T),以及对应的水体样品(编号分别为S-S、F-S、T-S、Z-S)。其中,填料样品加入200 mL含1%吐温的无菌磷酸盐缓冲液(PBS),在漩涡振荡仪上以最大速度振荡5 min得到悬浮液,过0.22 μm 无菌滤膜,将滤膜放入无菌离心管,于-40 °C冰箱中保存;水体样品和初始养殖尾水以相同的处理方式进行。干冰运送样品到生工生物工程(上海)股份有限公司,进行DNA提取和高通量测序。

1.2.3 水质分析方法

水质指标的检测依照《海洋监测规范》(GB 17378.4-2007): $\text{NH}_4\text{-N}$ 采用次溴酸盐氧化法, $\text{NO}_2\text{-N}$ 采用盐酸-萘乙二胺分光光度法, $\text{NO}_3\text{-N}$

采用锌镉还原法, pH、盐度、水温、溶解氧利用WTW Multi 3430多参数分析仪测定。

1.2.4 高通量分析

用OMEGA试剂盒提取滤膜样品微生物总DNA。对样品进行细菌16S rRNA V3-V4区域的PCR扩增,细菌引物为341F(5'-CCTACGGG NGGCWGCAG-3')、805R(5'-GACTACHVGGG TATCTAATCC-3')。利用Illumina MiSeq平台进行高通量测序。所得序列进行过滤处理后,得到有效序列。根据97%的序列相似性,将有效序列分为不同的OTU,基于OTU聚类 and 注释分析结果,对样品的菌群结构及多样性进行分析。

2 结果与讨论

2.1 不同填料挂膜成熟时间的比较

自然挂膜法是生物膜法处理养殖尾水中最常用的一种方法,其特点是生成的生物膜比较稳定,有较强的环境适应性和抗负荷冲击能力^[6]。本试验通过构建不同填料生物滤池,利用海水养殖尾水中的土著微生物,在不同填料上自然挂膜形成稳定而多样的微生物群落,以实现养殖尾水的生物脱氮处理。

本试验以生物滤池中氨氮和亚硝态氮低于检测限时,作为生物滤池挂膜成熟的标志。4组生物滤池挂膜阶段水体中氨氮、亚硝态氮、硝态氮的质量浓度变化趋势如图2、图3所示。4组生物滤池挂膜前期 $\text{NH}_4\text{-N}$ 质量浓度不断下降, $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度持续上升,说明此时主要在氨化细菌作用下,养殖尾水中的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2\text{-N}$;后期 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度累积到最大值后开始下降,当 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度降至最低时, $\text{NO}_3\text{-N}$ 质量浓度达到最大,说明后期主要是亚硝酸盐氧化菌发挥作用将 $\text{NO}_2\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_3\text{-N}$ 。此外,从 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的质量浓度变化曲线可以发现,挂膜期间 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的累积时间较长,说明 $\text{NH}_4\text{-N}$ 到 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的转化过程是影响挂膜时间长短的关键。另外,珊瑚石生物滤池挂膜期间 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的最大质量浓度低于其他3组,说明珊瑚石对水体中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的浓度具有良好的调控能力。

本试验采用每3 d监测一次水体的方法,考虑到后期 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度变化太快,可能影响

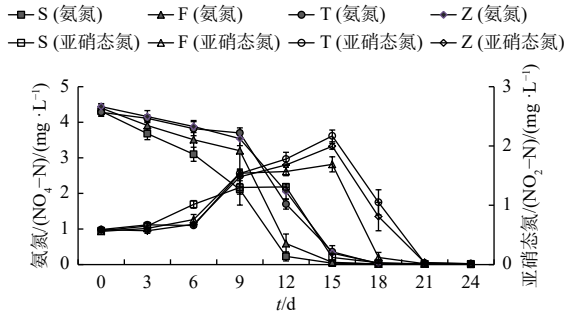


图 2 不同填料生物滤池挂膜期间氨氮和亚硝态氮浓度的变化

Fig. 2 Changes of $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ concentration during biofilm cultivation of different filler-biofilters

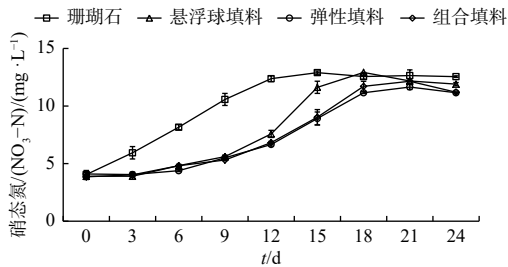


图 3 不同填料生物滤池挂膜期间硝态氮浓度的变化

Fig. 3 Changes of $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration during biofilm cultivation of different filler-biofilters

挂膜成熟时间的准确评估,但结合总体变化趋势,挂膜速度从快到慢为珊瑚石(15 d)>悬浮球填料(18 d)>弹性填料/组合填料(21 d),这和其他研究结果相似。王威等^[6]研究表明,珊瑚石滤料的挂膜成熟时间明显短于 PE 和 PP 材质的滤料。宋协法等^[7]研究发现,悬浮球形滤料处理污水的效果明显优于其他滤料。据分析,上述结果的原因为珊瑚石表面粗糙且孔隙率高,悬浮球填料里面填充的海绵比表面积大且孔隙度高,两者均对水体中的有机物和细菌有较强的吸附能力,因此,珊瑚石和悬浮球填料挂膜速度较快^[8-9]。

2.2 不同填料生物滤池的高通量分析

2.2.1 细菌群落结构 Alpha 多样性分析

初始养殖尾水(S0)、不同生物滤池填料生物膜(S-T、F-T、T-T、Z-T)及水体(S-S、F-S、T-S、Z-S)中细菌的丰度指数及多样性指数见表 1。本试验结果的样本序列数为 36583~59991,有效 OTUs 为 455~1062。本次测序覆盖度指数均大于 0.99,表明样本 OTU 可以有效表征样本

中的细菌种群。

表 1 4 组生物滤池中细菌的丰度指数和多样性指数

Tab.1 Richness and diversity indexes in 4 groups of filler-biofilters

类别	样本	序列数	OTU数	多样性指数	Chao指数	覆盖度指数
水体	S0	46630	455	2.16	558.5	0.997
	S-S	58488	1001	3.99	1191.2	0.996
	F-S	59991	836	4.37	980.2	0.997
	T-S	36583	658	3.65	916.4	0.995
填料	Z-S	38132	700	3.83	917.4	0.995
	S-T	37612	1062	4.64	1228.7	0.994
	F-T	46079	955	4.97	1071.6	0.996
	T-T	52172	903	4.64	1016.6	0.997
	Z-T	37186	852	4.53	996.9	0.995

Chao 指数与细菌群落丰度呈正相关,Shannon 指数与细菌群落的多样性呈正相关。由表 1 可见,S0 的 Chao 指数和 Shannon 指数均最小,S-T 的 Chao 指数、F-T 的 Shannon 指数分别为最大,即初始养殖尾水的细菌丰度和多样性均最低,珊瑚石生物膜的细菌群落丰度、悬浮球填料生物膜的物种多样性分别最高。

Alpha 多样性分析表明,细菌丰度和多样性从高到低为:填料生物膜>生物滤池水体>初始养殖尾水。这说明生物填料有富集水体细菌的能力,投加填料后可以不同程度地提高细菌群落的丰富度,该结果和其他研究结论^[5,10]一致。

2.2.2 细菌群落结构组成分析

(1)门水平下 4 组填料生物滤池的群落结构分析

在门的分类水平上共测出 10 个已知菌门,具体如图 4 所示。初始养殖尾水中相对丰度 >1% 的菌门有 4 个;4 组生物滤池水体中相对丰度 >1% 的菌门有 6~7 个;4 组填料生物膜上相对丰度 >1% 的菌门有 6~8 个。

和挂膜成熟后的生物滤池相比,初始养殖尾水的群落组成相对简单,主要以变形菌门(Proteobacteria, 82.0%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 11.7%)为主。不同生物滤池之间的细菌群落组成大致相同,差异较大的是相对丰度。其中,不同生物滤池水体的微生物菌群主要以变形菌门(53.25%~62.09%)、拟杆菌门(7.81%~20.70%)、

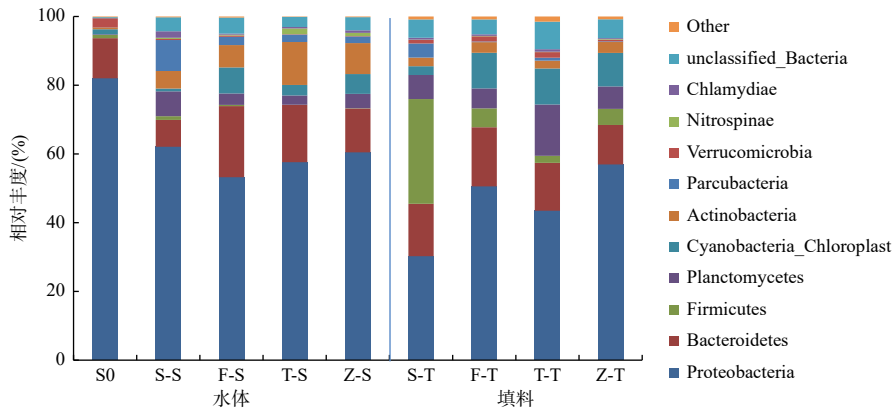


图 4 门水平下 4 组填料生物滤池的细菌群落对比

Fig. 4 Comparison of bacterial communities of four groups of biofilters at phylum level

放线菌门(Actinobacteria, 5.09%~12.52%)为主;不同生物滤池填料生物膜的微生物菌群主要以变形菌门(30.27%~56.94%)、拟杆菌门(11.50%~17.21%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 5.81%~14.95%)为主。

浮霉菌门、硝化刺菌门(Nitrospinae)在初始养殖尾水中的相对丰度占比极小,挂膜成熟后,两者在生物滤池中的相对丰度显著提高。厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门、Cyanobacteria_Chloroplast、疣微菌门(Verrucomicrobia)在填料生物膜上的相对丰度均分别大于对应水体;而硝化刺菌门在填料生物膜(0.05%~0.13%)的相对丰度小于水体(0.24%~1.65%)。此外,弹性填料生物滤池中硝化刺菌门的相对丰度大于其他生物滤池。

(2)属水平下 4 组填料生物滤池的群落结构分析

在属分类水平上,初始养殖尾水有 54 个分类单元被注释,已知属为 38 个,占全部序列数的 90.9%;不同生物滤池水体样品有 52~57 个分类单元被注释,已知属为 37~41 个,占全部序列数的 37.8%~50.1%;填料生物膜样品有 57~59 个分类单元被注释,已知属为 40~43 个,分别占全部序列数的 37.4%~52.3%。大量序列不能归入已知属(数据库分别以科或属的名称加 unclassified_来表示,图 5)。

初始养殖尾水的优势菌群(相对丰度>1%)有 9 个,占总序列的 93.5%,相对丰度>5%的主要优势菌属有嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*, 67.5%)、

Mesonia(7.06%)、亚硫酸杆菌属(*Sulfitobacter*, 4.28%)。不同生物滤池水体的优势菌群(相对丰度>1%)有 15~22 个,占总序列的 91.99%~96.95%,按照相对丰度排列前 5 的优势菌属为 unclassified_Rhodobacteraceae(15.09%~29.83%)、*Candidatus_Pelagibacter*(3.3%~16.98%)、unclassified_Betaproteobacteria(0.97%~9.74%)、*Chlorophyta*(0.53%~7.23%)、*Parcubacteria_genera_incertae_sedis*(1.96%~9.02%)。不同生物滤池填料生物膜的优势菌群(相对丰度>1%)有 17~20 个,占总序列的 89.08%~93.10%,按照相对丰度排列前 5 的优势菌属为 unclassified_Flavobacteriaceae(5.21%~11.37%)、unclassified_Betaproteobacteria(0.06%~14.40%)、unclassified_Rhodobacteraceae(3.38%~9.20%)、*Gimesia*(2.35%~11.38%)、*Chlorophyta*(2.06%~9.98%)。

本试验初始养殖尾水的优势菌群主要为嗜冷杆菌属,这可能和实验开展时当地气温较低有关。挂膜成熟后生物滤池的细菌群落更加丰富,填料生物膜和水体的主要优势菌群较为相似。此外,初始养殖尾水中亚硝酸菌属(*Nitrosomonas*)和硝化刺菌属(*Nitrospina*)的相对丰度极低,挂膜成熟后有所提高,其中亚硝酸菌属在填料生物膜(0.50%~3.24%)的相对丰度较大,硝化刺菌属在水体(0.24%~1.65%)的相对丰度较大。产生该结果的原因可能是:本试验用水为海水养殖尾水,含有多种具有不同生理功能的细菌,而生物填料为生物膜的培养提供了可附着的栖息条件,水体中一部分细菌会逐渐附着其

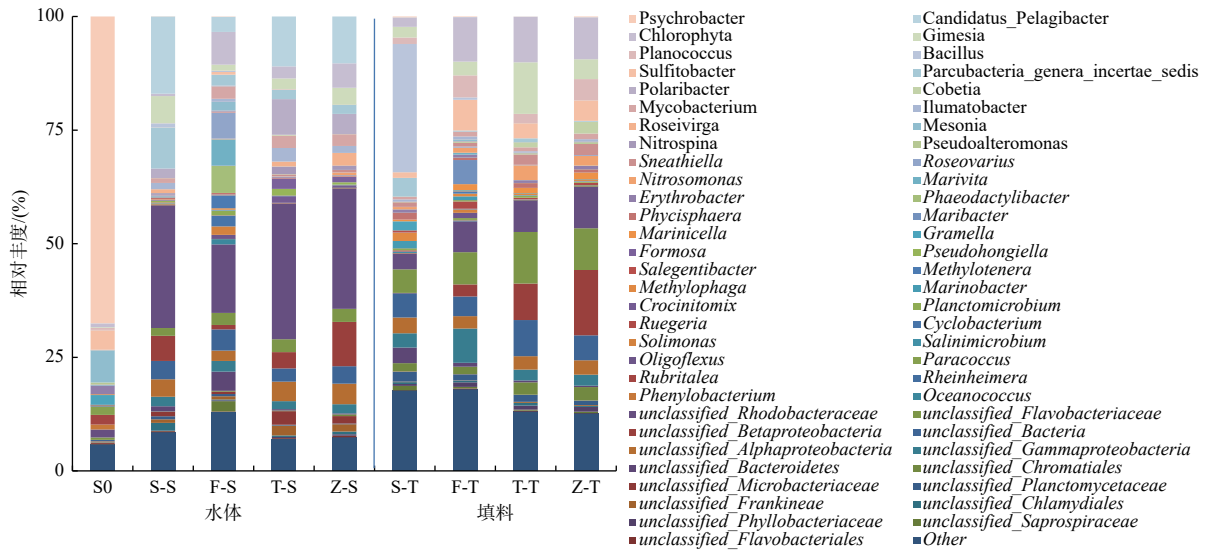


图 5 属水平下 4 组填料生物滤池的细菌群落对比

Fig. 5 Comparison of bacterial communities of four groups of biofilters at genus level

上,形成生物膜上的优势菌,故水体中的优势菌不一定能成为生物膜上的优势菌^[11]。

结合部分优势菌种及其作用(表 2)分析发现,不同生物滤池中功能菌群的种类和相对丰度差异较大。悬浮球填料生物滤池中 *Phaeodactylibacter*(5.92%)、亚硫酸杆菌属(6.76%)、栖海杆菌属(*Maribacter*, 5.32%)相对

丰度较高;弹性填料生物滤池中亚硝酸菌属(3.24%)、硝化刺菌属(1.65%)的相对丰度高于其他生物滤池;珊瑚石生物膜上的芽孢杆菌属(*Bacillus*, 28.25%)相对丰度最高。说明不同类型生物填料由于其内部结构及物理性质不同,为微生物生长富集创造的环境条件也不同,因此,不同填料生物膜上的优势功能菌群差异较大。

表 2 部分优势菌种及作用

Tab.2 Some superiority strains and their functions

菌种	作用	菌种	作用
<i>Nitrosomonas</i>	硝化	<i>Nitrospina</i>	硝化
<i>Phaeodactylibacter</i>	硝化 ^[10]	Planctomycetaceae	氨氧化、代谢有机碳、硝化 ^[12]
<i>Pseudoalteromonas</i>	好氧反硝化 ^[12]	Rhodobacteraceae	反硝化 ^[12]
<i>Maribacter</i>	反硝化 ^[13]	Flavobacteriaceae	反硝化 ^[14]
<i>Sulfitobacter</i>	反硝化 ^[15]	<i>Bacillus</i>	异养硝化、好氧反硝化 ^[16]
Saprospiraceae	脱氮除磷 ^[12]		

2.3 不同填料生物滤池的脱氮功能菌分析

AOB(氨氧化细菌)和 NOB(亚硝酸盐氧化菌)是养殖尾水生物脱氮过程中关键的功能性细菌,协同发挥硝化作用。其中, AOB 包括亚硝酸菌属、亚硝化叶菌属(*Nitrosolobus*)、亚硝化弧菌属(*Nitrosovibrio*)、亚硝化球菌属(*Nitrosococcus*)和亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)等; NOB 包括硝酸杆菌属(*Nitrobacter*)、硝化球菌属

(*Nitrococcus*)、硝化螺菌属(*Nitrosospira*)和硝化刺菌属^[17-18]。本试验生物滤池中检测到的 AOB 和 NOB 分别是亚硝酸菌属、硝化刺菌属,并且总体上相对丰度不高,这可能是由于挂膜成熟后水体中 NH₄-N 和 NO₂-N 底物浓度水平太低,在一定程度上影响了细菌的生长和繁殖。此外,这两个菌属在弹性填料生物滤池中的相对丰度最大,该结果和李青等^[19] 研究结果相似,据分析,是由于

弹性填料表面具有较多亲水性基团,更适合作为吸附生长缓慢、世代时间较长的硝化细菌的载体,以防止其流失。

在不同生物滤池中,变形菌门的物种丰度明显高于其他细菌丰度,这与大部分研究结论^[20-21]相似。变形菌门在很多养殖环境中占据优势地位,其中,负责反硝化作用的细菌主要分布于 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)和 β -变形菌纲(Betaproteobacteria), γ -变形菌和 δ -变形菌纲主要是兼性异养细菌,可以通过有氧和无氧呼吸对有机物进行分解代谢^[22]。本试验生物滤池中检测到大量 α -变形菌纲下的 unclassified_Rhodobacteraceae,其在水体和填料生物膜上均为主要优势菌群,有研究表明 Rhodobacteraceae 具有反硝化作用^[12],说明该菌属在养殖尾水脱氮过程中可能发挥主要作用。此外,生物滤池中还检测到少量 γ -变形菌下的具有反硝化作用的交替假单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)。

除了变形菌的反硝化作用外,有研究发现,生物膜中还存在其他菌群可以稳定硝酸盐浓度。如浮霉菌门的浮霉状科属于 AOB 的一种;厚壁菌门下的芽孢杆菌是益生菌,它们可以通过自身代谢显著降低水体中的亚硝酸盐浓度;拟杆菌门是溶解性有机物的主要消费者,其下的黄杆菌存在于生物膜内层,在缺氧条件下可以利用硝酸盐或者亚硝酸盐进行无氧呼吸,在去除氮的同时也可以氧化有机质^[14, 23-24]。本试验结果发现,浮霉菌科、黄杆菌科在弹性填料生物膜的相对丰度较大。芽孢杆菌属在生物滤池中均有分布但含量较低,其在珊瑚石生物膜的相对丰度最大,且大于对应生物滤池的水体,说明珊瑚石自身含有大量的芽孢杆菌属,其对控制养殖尾水亚硝酸盐浓度发挥着重要的作用。此外,具有反硝化或脱氮除磷作用的栖海杆菌属、亚硫酸杆菌属、*Phaeodactylibacter*、unclassified_Saprospiraceae,其在悬浮球填料生物滤池的相对丰度均大于其他生物滤池,这可能是由于悬浮球填料自身的内部结构形成了部分低氧或厌氧的环境,促使生物膜上存在多种代谢类型的微生物。

有研究指出,与水质净化相关的菌群中仍存在大量不能培养或未分类鉴定的物种,这些功能

性菌群的生长在维持水体氮平衡中起着至关重要的作用^[25]。本试验生物滤池中同样存在许多未分类的菌群,且相对丰度较大。从总体上看,4组填料生物滤池均形成较为完整的硝化-反硝化脱氮微生物体系,其对海水养殖尾水脱氮处理的效果是否理想仍需结合挂膜条件(水力停留时间、温度、曝气等)和运行效果进行深入探讨。

3 结论

(1)通过4种填料生物滤池的自然挂膜情况可知,其启动时间从快到慢分别为珊瑚石>悬浮球填料>弹性填料/组合填料。

(2)通过 Alpha 多样性分析可知,生物滤池填料生物膜上的细菌丰富度高于水体,悬浮球填料生物膜上的多样性最高。

(3)通过群落结构分析发现,4种填料生物滤池中优势菌群均以变形菌门为主,具有脱氮功能菌群的种类差距较小,相对丰度差别较大。亚硝酸菌属和硝化刺菌属在弹性填料生物膜上的相对丰度最大;芽孢杆菌属是珊瑚石生物滤池的优势菌属;亚硫酸杆菌属、栖海杆菌属、*Phaeodactylibacter* 是悬浮球填料生物滤池中特有的反硝化菌属。

上述分析说明,虽然不同生物滤池细菌群落结构有所差异,但均有较完整的硝化-反硝化脱氮微生物体系,这些微生物在海水养殖尾水脱氮处理中具有重要作用。

参考文献:

- [1] 段松青, 闫坤朋, 宋志文, 等. 基于不同填料的海水养殖系统的水质净化[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(8): 2210-2219.
- [2] 蔺凌云, 尹文林, 潘晓艺, 等. 自然微生物挂膜处理水产养殖废水的效果及微生物群落分析[J]. *水生生物学报*, 2017, 41(6): 1327-1335.
- [3] ZHOU X Y, LIU X H, HUANG S T, et al. Total inorganic nitrogen removal during the partial/complete nitrification for treating domestic wastewater: removal pathways and main influencing factors[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 256: 285-294.
- [4] STOODLEY P, SAUER K, DAVIES D G, et al. Biofilms as complex differentiated communities[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2002, 56: 187-209.
- [5] 李倩, 胡廷尖, 辛建美, 等. 应用16SrRNA基因文库技术分

- 析3种生物填料上生物膜的细菌群落组成[J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(4): 384-389.
- [6] 王 威, 曲克明, 王海增, 等. 水力负荷对3种滤料生物挂膜和溶解无机氮去除效果的初步研究[J]. 安全与环境学报, 2012, 12(1): 66-71.
- [7] 宋协法, 柳 瑶, 黄志涛. 不同滤料及挂膜方式对养殖污水处理效果的研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(8): 1687-1691.
- [8] 王 琳, 孔小蓉, 周 洋, 等. 4种填料构建海水养殖系统硝化动力学的比较研究[J]. 河北渔业, 2014 (9): 3-5,46.
- [9] 冯静娴, 吕锡武, 杨子萱. 跌水生物转盘不同填料的挂膜性能及特征比较[J]. 水处理技术, 2017, 43(10): 80-84,94.
- [10] 黄 崇, 袁林江, 牛晚霞, 等. 投加填料对微生物群落结构的影响及对水质的变化研究[J]. 中国环境科学, 2021, 41(1): 207-213.
- [11] AMATO K R, YEOMAN C J, KENT A, et al. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1344-1353.
- [12] 张 喆, 傅金祥, 朱京海. OPCR填料的SBMBBR处理低温污水脱氮细菌多样性试验[J]. 环境工程, 2020, 38(10): 108-113.
- [13] 张皓天, 宋协法, 刘兴震, 等. 斑石鲷循环水养殖系统生物滤池微生物群落对水质变化的动态响应[J]. 环境工程学报, 2020, 14(8): 2176-2185.
- [14] 胡高宇, 张 翔, 陈 琛, 等. 海水养殖尾水处理系统中微生物群落对水处理阶段的响应[J]. 水生生物学报, 2021, 45(1): 161-171.
- [15] 王 蕾, 王丽萍, 董纯明, 等. 南海深海氮循环微生物的原位培养与多样性分析[J]. 应用海洋学学报, 2019, 38(1): 1-13.
- [16] 王风芹, 侯淑芬, 谢 慧, 等. 新型脱氮微生物与水体脱氮新工艺研究进展[J]. 生物学杂志, 2011, 28(2): 69-72.
- [17] MERBT S N, AUGUET J C, BLES A, et al. Wastewater treatment plant effluents change abundance and composition of ammonia-oxidizing microorganisms in Mediterranean urban stream biofilms[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(1): 66-74.
- [18] RURANGWA E, VERDEGEM M C J. Microorganisms in recirculating aquaculture systems and their management[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2015, 7(2): 117-130.
- [19] 李 青, 成小英. 不同填料生物反应器中脱氮微生物群落比较分析[J]. 安全与环境学报, 2017, 17(6): 2360-2365.
- [20] 章 霞, 徐志进, 柳敏海, 等. 循环水养殖系统中不同滤料生物挂膜水处理效果及微生物群落分析[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(4): 528-535.
- [21] 黎 镛, 袁辉洲, 柯水洲, 等. 微生物载体对MBBR工艺性能及微生物群落结构的影响[J]. 环境工程, 2021, 39(12): 100-106.
- [22] HUANG L N, WEVER H D, DIELS L. Diverse and distinct bacterial communities induced biofilm fouling in membrane bioreactors operated under different conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(22): 8360-8366.
- [23] 王一亭, 李 波, 王厚红, 等. 基于Miseq测序技术分析黄颡鱼不同养殖模式下池塘微生物群落结构多样性[J]. 水生生物学报, 2020, 44(4): 781-789.
- [24] 韩晓旭, 和雪杰, 李 亮, 等. 基于天然椰丝纤维填料的低氨氮废水SNAP系统自然挂膜构建[J]. 环境工程学报, 2022, 16(1): 272-280.
- [25] MA Q, QU Y Y, SHEN W L, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2015 (179): 436-443.