



常用渔药及水体 pH 对生物质炭填料系统硝化作用和微生物群落结构的影响

江昊飞¹, 李 慷^{1,2,3*}, 石文智¹, 车 轩⁴, 刘兴国⁴,
鲁 强¹, 巴旭冰¹, 刘利平^{1,2,3*}

(1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

2. 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;

3. 上海海洋大学, 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;

4. 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092)

摘要: 生物质炭膜架作为一种新型填料, 具有较高的单位比表面积, 利于硝化微生物群落的附着, 污水净化能力较强, 在未来人工湿地的应用中具有广阔前景。水产养殖过程中的环境变化和渔药的使用, 是否会妨碍人工湿地中填料作用的充分发挥尚未明确。为研究外界因素对生物质炭膜架除污能力的影响, 实验设置了不同 pH (E1: 6.5、E2: 7.5 和 E3: 8.5) 和常用渔药 (F1: 氟苯尼考, 6 mg/L; F2: 土霉素, 20 mg/L) 处理组, 研究生物质炭填料系统降氨氮效率及其附着生物膜微生物群落结构的变化。结果显示: ①实验组与对照组中, 硝化螺旋菌门相对丰度均为最高。② E1、E2、E3 组降氨氮速率分别为 0.247、0.249、0.305 mg/(L·h), 均低于对照组 (pH=8.2) [0.323 mg/(L·h)]; 低 pH 条件下硝化螺旋菌的相对含量略有降低, 而脱硫杆菌相对含量无显著差异。③ F1、F2 组降氨氮速率一致, 均为 0.172 mg/(L·h), 低于对照组 [0.323 mg/(L·h)]; 与对照组相比, 实验组硝化螺旋菌与脱硫杆菌相对含量无显著变化, 推测氟苯尼考和土霉素抑制了菌的活性, 致使氨氮降解速率下降。研究表明, 弱碱性水体有助于提高生物质炭填料净化水质的能力, 而氟苯尼考或土霉素的使用会影响生物膜上脱氮微生物的群落丰度和活力, 并抑制降氨氮能力。因此, 使用抗生素类渔药治疗时, 应配合其他水质调节措施来控制养殖水体的氨氮含量, 保证养殖对象安全, 最大化发挥生物质填料的养殖尾水净化效果。

关键词: 生物质炭填料; pH 值; 渔药; 微生物群落结构; 人工湿地

中图分类号: S 917.1

文献标志码: A

随着我国高密度水产养殖方式的快速发展, 传统养殖模式中由高氮磷养殖尾水引起的水污染问题日益受到关注^[1-3]。人工湿地作为典型的自然环境友好型系统^[4-5], 是人为构建、监管和控制的类似沼泽的地面, 利用物理、化学和生物三者协

同作用净化污水^[6], 主要包括填料、植物、微生物、动物、湿地中的水体 5 部分^[7]。人工湿地作为一种绿色处理技术, 大大降低了系统的运行成本^[8-9]。

填料作为人工湿地的重要组成模块, 对人工湿地的运行效率起到至关重要的作用。目前, 人

收稿日期: 2021-03-09 修回日期: 2021-11-15

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项 (2019YFD0900303); 上海市农委科技兴农项目 [沪农科创字 (2021) 第 3-1 号, 沪农科创字 (2018) 第 2-12 号]

第一作者: 江昊飞 (照片), 从事池塘生态养殖学研究, E-mail: o8o80000@163.com

通信作者: 李慷, 从事池塘生态养殖和鱼类繁殖生物学研究, E-mail: kli@shou.edu.cn;

刘利平, 从事池塘生态养殖和鱼类繁殖生物学研究, E-mail: lp-liu@shou.edu.cn



工湿地填料主要分为天然矿物(砾石、石英砂等)、工业副产物(炉渣等)和人造产物(活性炭等)^[10-11], 其中生物质炭是在无氧或缺氧条件下通过热解产生的一种富含碳素的多孔颗粒的人造多功能材料。生物质炭相较于天然矿物, 有孔隙丰富、比表面积大的优点^[12], 因此不易堵塞、去污能力强^[13-14], 且单位体积附着的微生物群落数量更多。养殖尾水净化过程(沉淀、分解、吸附和植物吸收)与微生物的活性密切相关^[15-16], 且微生物数量与氮以及 COD_{Cr} 的去除率存在显著相关性^[17]。细菌作为微生物的重要组成部分, 不仅参与碳、氮等基本元素的循环, 对降解底泥中的污染物、维持良好水质也具有显著作用^[18], 例如硝化螺旋菌属(*Nitospira*)、脱氮硫杆菌属(*Desulfobacter*)、亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)均在水体硝化过程中起到了重要作用^[19-20]。

渔用抗生素在水产动植物疾病的预防控制和治疗方面有广泛应用^[21]。氟苯尼考又名氟甲砜霉素, 对许多水产养殖常见病原菌具有高度抗菌活性, 被广泛应用于水产养殖业中^[22]。土霉素又称地霉素或氧四环素, 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均有较好的抑制效果, 常用于有鳍鱼类的细菌感染病^[23]。研究抗生素类渔药对人工湿地的微生物群落的影响, 对指导使用抗生素类药物、以及最大限度发挥生物质炭填料的降氮能力具有积极意义。

在露天池塘养殖模式下, 藻类光合作用、水体通气量、天气条件等均会导致养殖水体的 pH 值变化^[24], 直接影响生物质炭填料生物膜上微生物的种类、数量、代谢方式和代谢产物的类型表面特征, 而且与生物质炭填料降氮能力密切相关^[25], 间接影响了尾水处理效果。

以往研究多关注尾水处理的方法探究^[26], 对于养殖操作(渔药施用、换水)对尾水处理效果的影响关注较少, 而这些养殖操作也会对水质环境产生影响, 进而影响微生物群落结构。目前, 研究人员常利用高通量测序技术检测大量可识别的 OTU (operational taxonomic units) 分析环境样品的微生物多样性^[27], 例如, 操家顺等^[28]和 Chen 等^[29]利用高通量测序技术对不同条件下尾水处理效能的微生物群落结构的研究, 为尾水处理后水质的稳定达标提供了技术参考。蔡张杰等^[30]、丁海静等^[31]和范海清等^[32]对不同情况下人工湿地微生物群落结构的分析, 姚美辰等^[33]和 Cao 等^[18]采用高

通量测序技术对保护区、河口等大水域人工湿地微生物群落结构进行了分析比较, 对微生物群落结构研究以及生态保护具有积极意义。

本实验研究了不同 pH 与抗生素类渔药对生物质炭生物膜除污能力、氨氮转化效率以及微生物群落结构的影响, 以期对尾水处理及人工湿地填料的应用提供资料, 同时为养殖过程中实际管理操作提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

生物质炭填料 (biochar filler) 是由生物质炭、木屑、秸秆和水泥等原料按配方混合制成的人造产品 (图 1)。新型填料为苏州智全水处理技术有限公司生产的生物质炭膜架, 膜架中的生物质炭来自于发电厂废料。实验使用的循环式水箱分为上下两层, 水箱主体使用聚乙烯材料, 上下两层使用聚氯乙烯材料的管道连接, 利用小型水泵驱动水体循环, 上下两层水箱尺寸分别为 40 cm×30 cm×16 cm 和 60 cm×40 cm×33 cm, 填料用量为 20 g/L (图 2)。

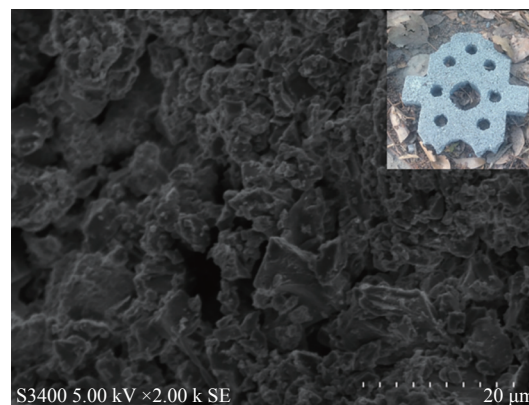


图 1 生物质炭填料外观及微观结构图

Fig. 1 Appearance and microstructure diagram of biochar filler

1.2 常用渔药对生物质炭填料净水能力的影响

将 9 个循环式水箱分为 3 组, 每组设置 3 个平行。C 组为对照组, F1、F2 为实验组, 待 3 组水箱生物膜培养成熟后, 分别在 F1、F2 组添加氟苯尼考 (6 mg/L) 和土霉素 (20 mg/L)^[34-35], 对三组水箱进行连续监测实验, 记录实验过程中水质指标的变化情况, 并在连续监测 34 h 之后, 分别取各组新型填料上附着的生物膜样本, 保存于 -80 °C,

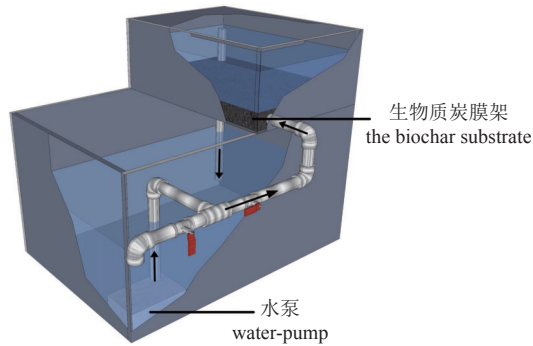


图 2 实验用水箱结构示意图

Fig. 2 Schematic diagram of experimental water tank structure

以备后续生物膜微生物群落结构分析。微生物多样性分析时, 每组 3 个平行样本混合为一个检测样本进行检测分析。

1.3 水体 pH 对生物质炭填料净水能力影响的比较

实验共分 4 组, 每组 3 个平行。C 组为对照组, E1、E2、E3 组为实验组。初始阶段每个水箱中注入 30 L 人工污水(由氯化铵、磷酸二氢钾、碳酸氢钠和自来水按文献^[36]中的比例配制而成),

各水箱中的氨氮浓度为 10 mg/L, 碱度为 100 以上^[37]。每天进行氨氮、亚硝氮、硝氮、活性磷酸盐、碱度等水质指标的检测, 同时通过药品的添加维持水质指标相对稳定, 记录每天水质指标的变化情况, 直至生物膜培养成熟。

进行连续监测实验时, 先将各组水箱用 10% HCl、10% NaOH 和 20% NaHCO₃ 溶液分别调整实验组 E1、E2、E3 的 pH 值为 6.5、7.5、8.5^[25, 38-39]。每组水箱的初始氨氮浓度调整为 4 mg/L, 在连续监测实验期间, 检测各组水箱的氨氮、总氮、硝态氮和亚硝态氮浓度。并在连续监测 48 h 之后, 分别取各组新型填料上附着的生物膜样本妥善保存(-80 °C), 以备后续生物膜微生物群落结构分析。

1.4 水质检测

检测方法^[40]见表 1, 记录连续监测实验初始和结束阶段的碱度、温度、溶解氧等指标, 连续监测结束后, 分别取各组新型填料上附着的生物膜样本, 放入-80 °C 超低温冰箱中冷冻保存, 以备后续生物膜微生物群落结构分析。

表 1 水质指标测定方法

Tab. 1 Determination methods of water quality index

水质指标 water quality index	测定方法 determination method
T、pH、σ	用水质测定仪 YSI 直接测定 direct measurement with water quality analyzer YSI
PO ₄ ³⁻	钼锑抗分光光度法 molybdenum antimony spectrophotometry
TP	钼锑抗分光光度法 molybdenum antimony spectrophotometry
NO ₃ ⁻ -N	紫外分光光度法 UV spectrophotometry
NO ₂ ⁻ -N	萘乙二胺分光光度法 naphthalene ethylenediamine spectrophotometry
TN	过硫酸钾氧化-紫外分光光度法 potassium persulfate oxidation-ultraviolet spectrophotometry
TAN	纳氏试剂光度法 Nessler reagent photometry
ALK	酸碱滴定指示法 acid-base titration indicator
COD	高锰酸钾法 potassium permanganate method

1.5 微生物多样性检测分析

DNA 抽提和 PCR 扩增 根据 FastDNA[®] Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国) 说明书进行微生物群落总 DNA 抽提, 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, 使用 NanoDrop2000 测定 DNA 浓度和纯度。使用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增, 扩增程序: 95 °C

预变性 3 min, 27 个循环 (95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s), 然后 72 °C 稳定延伸 10 min, 最后在 4 °C 进行保存。PCR 反应体系: 5×TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 上游引物 (5 μmol/L) 0.8 μL, 下游引物 (5 μmol/L) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 补足至 20 μL, 每个样本 3 个重复。

Illumina Miseq 测序 将同一样本的 PCR 产物混合后, 使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,

利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, 美国) 进行回收产物纯化, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus™ Fluorometer (Promega, 美国) 对回收产物进行检测定量。使用 NEXT-FLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库: ①接头链接; ②使用磁珠筛选去除接头自连片段; ③利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; ④磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.6 数据分析

实验数据采用 Excel 软件进行统计, 实验数值用平均值±标准差 (mean±SD) 的形式表示, 由 Origin 2017 软件进行点线图绘制, 用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行 ANOVA 单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著。使用 fastp^[41] (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0) 软件对原始测序序列进行质控, 使用 FLASH^[42] (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7) 软件进行拼接, 使用 UPARSE^[43] 软件 (<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1), 根据 97%^[43-44] 的相似度对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体。利用 RDP classifier 程序^[45] (<http://rdp.cme.msu.edu/>, version 2.2) 对每条序列进行物种分类注释, 通过 OTU 的计算得到 Shannon、Chao、Ace、Simpson 和 Coverage 指数, 不同水平分类柱状图是各分类水平上的物种组成比例情况, 了解不同分类学水平上的群落结构, 柱形图通过 QIIME (v1.8.0) 软件绘制, 群落分布柱形图根据 QIIME (v1.8.0) 软件计算的结果用 R (v3.1.1) 软件绘制。

2 结果

2.1 两种常用渔药对生物质炭净水能力的影响

连续监测过程中, F1、F2 组之间降氨氮速率差异不显著 ($P > 0.05$), 实验组降氨氮速率均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 3 组在浓度降至极低水平后都保持稳定。可以看出, 在前 14 h, 对照组的氨氮去除速率为 (0.323±0.013) mg/h, F1 组的氨氮去除速率为 (0.200±0.019) mg/h, F2 组的氨氮去除速率为 (0.176±0.002) mg/h (图 3-a)。

对照组亚硝氮浓度变化明显, 随着氨氮浓度的降低, 对应的亚硝氮浓度先升至峰值再降低。实验组亚硝氮浓度均为先升至峰值再降低, 但 F1、F2 两组峰值显著低于对照组 ($P < 0.05$), 其中 F1、

F2 两组之间无显著差异 ($P > 0.05$) (图 3-b)。说明对照组氨氮转化效率相较于 F1、F2 组更高。硝氮浓度的变化显示, 实验组与对照组均呈上升趋势 (图 3-c)。各组总氮浓度略有起伏, 但起始浓度没有发生太大变化 (图 3-d)。综上所述, 外界添加的氟苯尼考与土霉素均会使填料降氨氮能力明显降低。

2.2 不同 pH 对生物质炭填料净水能力的影响

连续监测过程中, 实验组之间降氨氮效率差异不显著 ($P > 0.05$), 对照组与 E1、E2 组之间降氨氮效率差异显著 ($P < 0.05$), 且各组氨氮浓度在降至极低水平后都保持稳定。在实验前 12 h, C 组的氨氮去除速率为 (0.354±0.013) mg/h, E3 组的氨氮去除速率为 (0.305±0.027) mg/h, E2 组的氨氮去除速率为 (0.286±0.039) mg/h, E1 组的氨氮去除速率为 (0.278±0.006) mg/h (图 4-a)。对照组亚硝氮浓度变化明显, 随着氨氮浓度的降低, 对应的亚硝氮浓度先升至峰值再降低。E1、E2、E3 三组亚硝氮浓度变化趋势与 C 组类似, 均为先升至峰值再降低, 但是其中 E1、E2 两组峰值显著低于 E3 组与 C 组, 其中 E1、E2 两组之间无显著差异 ($P > 0.05$), 其余各组间均有显著差异 ($P < 0.05$) (图 4-b)。说明 E3 组与 C 组的氨氮转化为亚硝氮、亚硝氮转化为硝氮的速率相较于 E1、E2 组更高。硝氮浓度的变化显示, 实验组与对照组均呈上升趋势, 之后趋于稳定, 各组总氮浓度则各自保持相对稳定状态 (图 4-c)。

综上所述, 外界水质 pH 的变化会对填料降氨氮能力造成影响, 其中 pH=6.5 与 pH=7.5 时显著降低了去除氨氮的速率, pH=8.5 条件下虽然也降低了去除氨氮的速率, 但其降氨氮速率与 C 组相差不显著。

2.3 不同条件下生物质炭附着微生物群落结构与组成的变化

微生物群落结构多样性 在本实验所有样本中共测得有效序列 262 716 个, 分析得到 OTU 数为 1 120。不同组间的 PCoA (principal co-ordinates analysis) 分析显示, E3 组与 C 组的群落结构差异相较于 E1、E2 组更小, pH 控制组与添加抗生素组之间的群落结构差异显著, 抗生素组与对照组之间的群落结构差异显著 (图 5)。

在物种多样性方面, E2 组最高, 其次是 E1、E3 和 C 组, 添加抗生素的两组物种多样性显著低于 C 组 (表 2)。

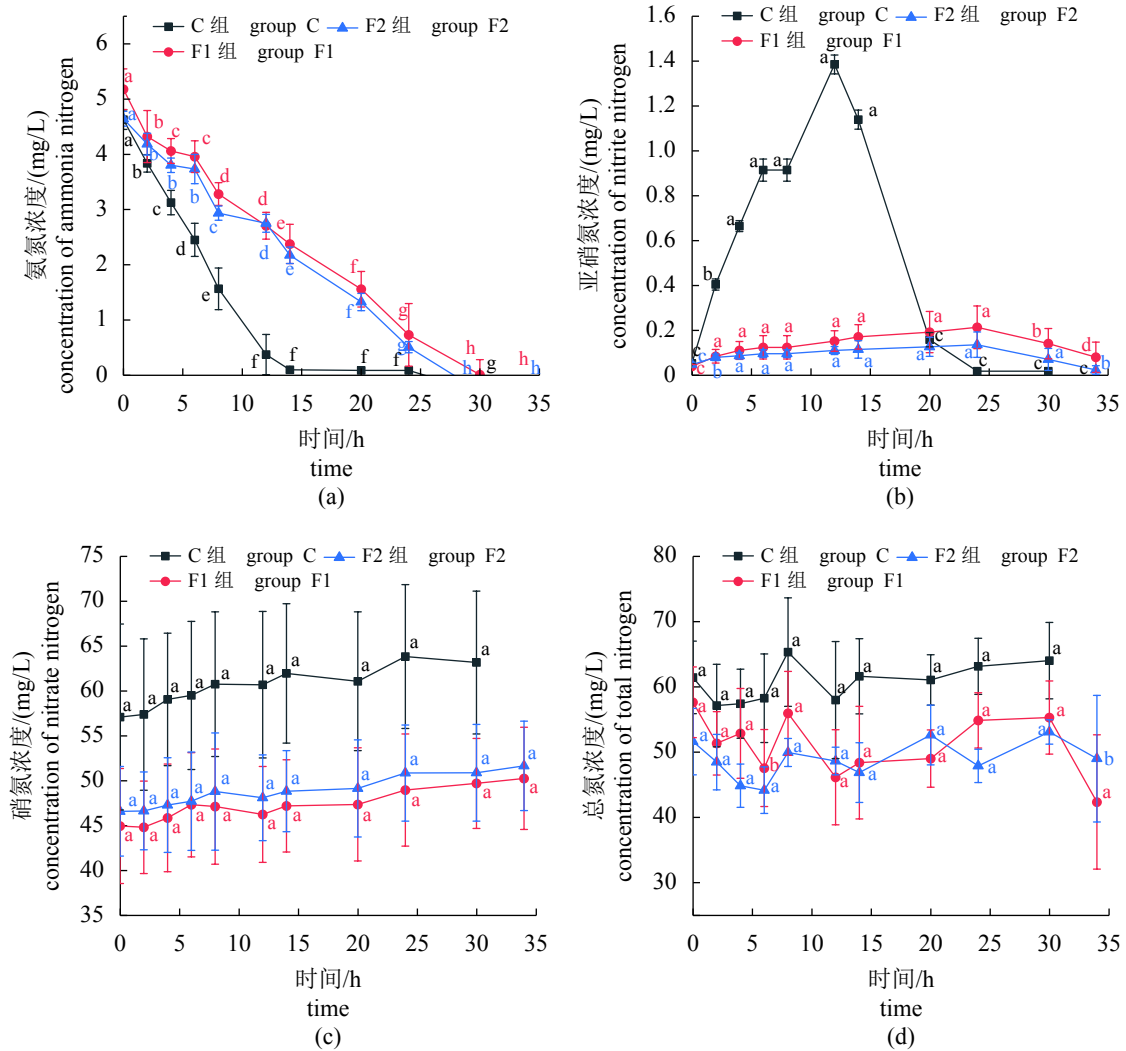


图3 两种常用渔药作用下生物质炭填料降氮实验中氨氮(a)、亚硝氮(b)、硝氮(c)和总氮(d)的动态变化

图内同一折线上的不同小写字母表示数据间差异显著 ($P < 0.05$); C组为对照组, 实验组F1、F2组添加氟苯尼考(6 mg/L)和土霉素(20 mg/L), 下同

Fig. 3 Dynamic changes of ammonia nitrogen (a), nitrite nitrogen (b), nitrate nitrogen (c) and total nitrogen (d) in biochar filler nitrogen oxidizing experiments under two common antibiotics

Different lowercase letters on the same line indicate significant differences between data ($P < 0.05$); group C was the control group, and the experimental groups F1 and F2 were supplemented with florfenicol (6 mg/L) and oxytetracycline (20 mg/L), the same below

细菌群落结构分析 高通量测序分析结果显示, 各组脱氮微生物相对丰度均有差异, 但硝化螺旋菌门(Nitrospirae)在本组中相对丰度均为最高(图6), 其中C组(19.43%)与E3组(19.32%)相对丰度相近, 且大于E1组(16.84%)和E2组(13.68%), 脱氮微生物相对丰度与水质数据结果一致, 但C组相对丰度小于F1组(24.49%)和F2组(26.93%)。脱硫杆菌门(Desulfobacterota)在各实验组中的相对丰度与硝化螺旋菌门情况类似, 其中C组(2.72%)与E3组(2.71%)相对丰度相近, 且大于E1组(2.21%)和E2组(1.2%), C组相对丰度小于

F1组(3.08%)和F2组(3.5%)。

在属类水平上, 硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)占比相对最高, 亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)和脱硫杆菌属(*Desulfobacter*)相对丰度均较低(图7)。C组(19.43%)与E3组(19.32%)硝化螺旋菌属相对丰度相近, 均大于E1组(16.84%)和E2组(13.68%), 低于F1组(24.49%)和F2组(26.93%)。E1组(5.78%)亚硝化单胞菌属相对丰度最高, F2组(3.54%)最低。与此相反, F2组(3.43%)的脱硫杆菌属相对丰度最高, E2组(1.07%)最低。综上所述, pH 8.5条件下, 实验组与对照组的硝化螺

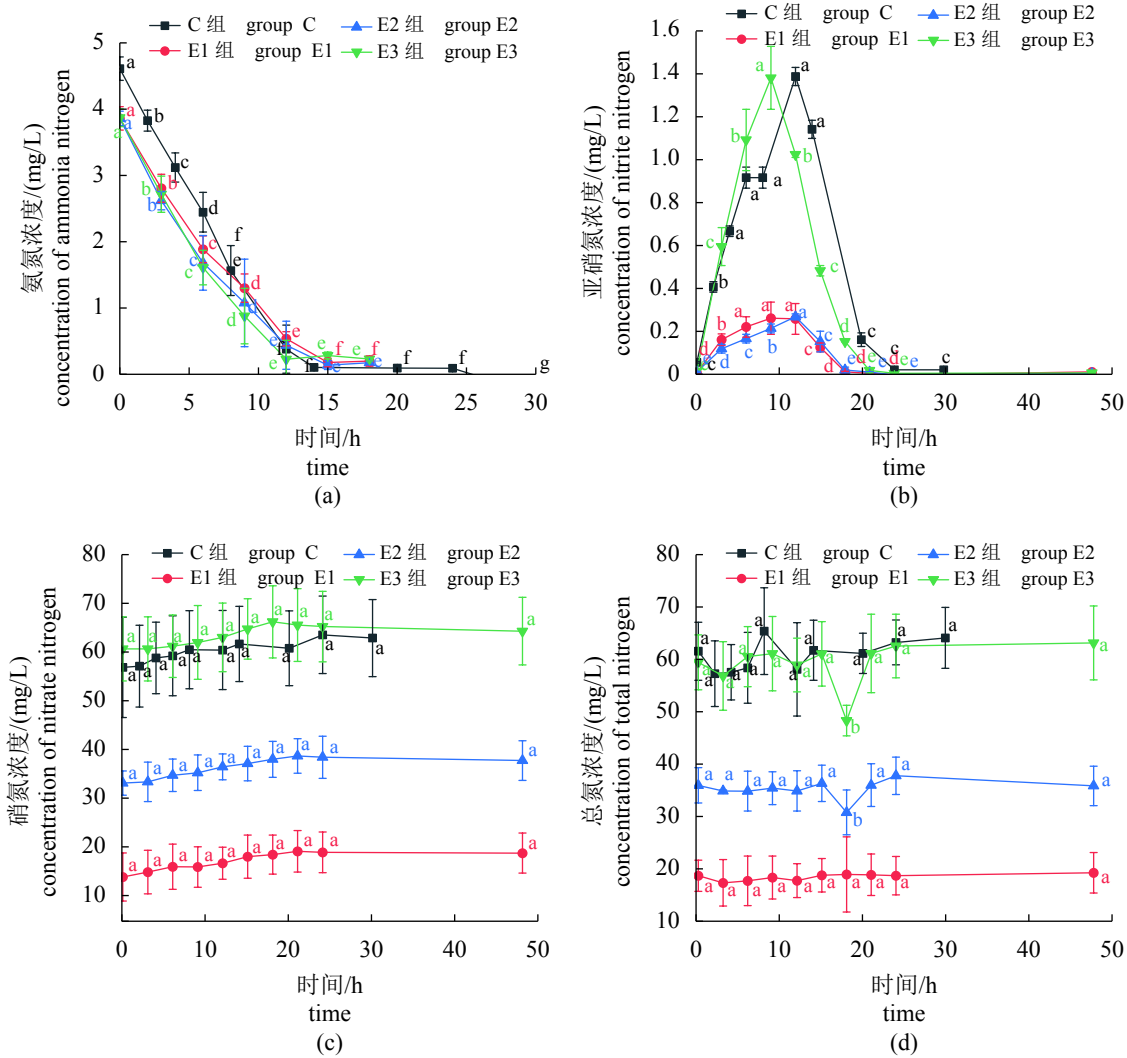


图 4 不同 pH 值条件下生物质炭填料降氮实验中氨氮 (a)、亚硝氮 (b)、硝氮 (c) 和总氮 (d) 的动态变化
实验组 E1、E2、E3 的 pH 值分别为 6.5、7.5、8.5, 下同

Fig. 4 Dynamic changes of ammonia nitrogen (a), nitrite nitrogen (b), nitrate nitrogen (c) and total nitrogen (d) in biochar filler nitrogen reduction experiments at different pH values

The pH values of E1, E2 and E3 in the experimental groups were 6.5, 7.5 and 8.5, the same below

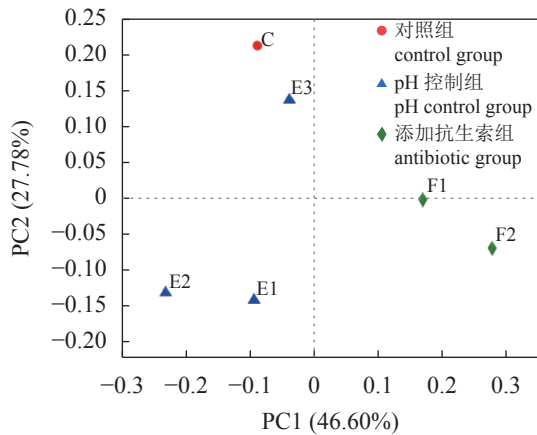


图 5 不同组间的 PCoA 分析图

Fig. 5 PCoA analysis diagram between different groups

旋菌属和脱硫杆菌属相对丰度近似, 但实验组中亚硝化单胞菌属相对含量略有降低。pH 7.5 条件下, 硝化螺旋菌属、脱硫杆菌属和亚硝化单胞菌属相对丰度比对照组有所降低。pH 6.5 条件下, 实验组中硝化螺旋菌属和脱硫杆菌属相对含量都低于对照组, 但是亚硝化单胞菌属相对丰度有所上升。而添加抗生素的两组硝化螺旋菌属、脱硫杆菌属和亚硝化单胞菌属相对丰度都高于实验组。

3 讨论

氟苯尼考和土霉素会对硝化作用细菌造成影响, 显著抑制生物质炭填料的净水能力。添加氟

表 2 各组样品的物种的丰度和多样性

Tab. 2 Abundance and diversity of species in each sample group

样本/估计量 sample/estimators	Shannon	Simpson	Ace	Chao	覆盖范围 coverage
C	4.579	0.041	787.560	776.734	0.997
E1	4.754	0.033	791.722	794.513	0.997
E2	4.835	0.025	851.763	864.000	0.997
E3	4.644	0.035	813.102	838.045	0.997
F1	4.300	0.059	796.921	817.544	0.997
F2	3.877	0.083	643.566	639.379	0.997

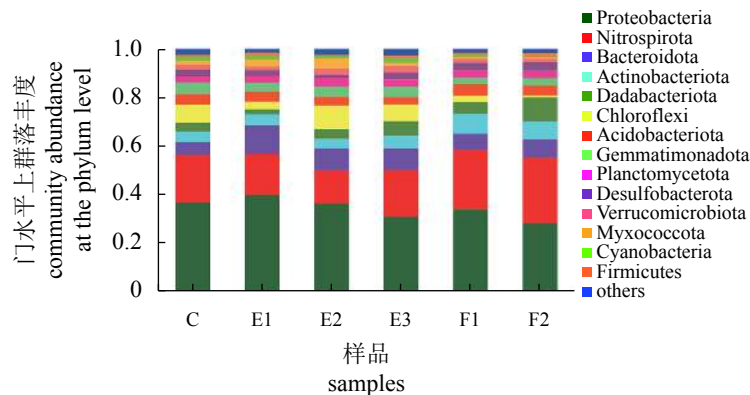


图 6 各组样品中微生物群落在门类水平上的分布 (按物种丰度升序)

Fig. 6 Distribution of microbial communities in each sample group at the phylum level (in ascending order of species abundance)

苯尼考与土霉素的两组细菌群落结构与对照组相比,在硝化螺旋菌和脱氮硫杆菌方面,相对含量均无显著差异,但是添加抗生素的两组降氨氮速率均显著低于对照组,可能是由于抗生素的添加对硝化螺旋菌和脱氮硫杆菌的活性产生了抑制作用,从而降低了氨氮转化速率。闫超等^[46]在消毒剂和抗生素对硝化细菌活性的影响研究中,发现抗生素对硝化细菌活性具有抑制作用。与对照组相比,添加抗生素的两组中 α -变形杆菌纲(Alphaproteobacteria)的相对含量明显降低,说明抗生素可能对 α -变形杆菌纲的菌群的生长产生了抑制作用,进而对降氨氮速率产生了影响。张敏^[47]研究了3种抗生素对淡水池塘底泥硝化作用及氨氧化微生物生长和群落结构的影响,发现抗生素对氨氧化过程和硝化作用过程均有不用程度的抑制作用。齐巨龙等^[35]对11种常用渔药对淡水硝化细菌硝化作用的影响进行了研究,发现土霉素对硝化作用中的亚硝酸盐氧化有一定的抑制作用,说明抗生素对硝化作用细菌会产生一定影响,这与本研究结果近似。

水体环境的pH值会对生物质炭填料的微生物群落结构造成影响。实验各组优势菌群包括硝化螺旋菌门和变形菌门,另外菌群中相对含量不大、但在脱氮过程中具有重要作用的脱氮硫杆菌在各组中也有检出^[27]。在不同pH实验组中,对照组硝化螺旋菌相对含量高于pH 7.5与6.5组,且与pH 8.5组接近,这与随着pH的降低降氨氮速率逐渐下降的实验结果相符。可能是由于外部水质pH的降低使得硝化螺旋菌被杀死,相对含量降低导致了降氨氮效率的降低。这一结果与于雪^[48]开展的温度、pH值和游离亚硝酸对亚硝酸盐氧化菌活性动力学及微生物种群结构影响的研究中,发现中性条件(pH=7.0)下硝化菌属活性最好,碱性条件、酸性条件均会对其活性产生影响的实验结果相似。脱氮硫杆菌相对含量方面,各组之间相差不大,对照组与pH 8.5组接近,略大于pH 7.5与6.5组。变形菌相对含量方面,各组间也无明显差异。在微生物群落多样性及菌群丰度分析中可以看到,pH 8.5、7.5组和对照组的菌群多样性与菌群丰度均高于pH 6.5与添加氟苯尼考和土

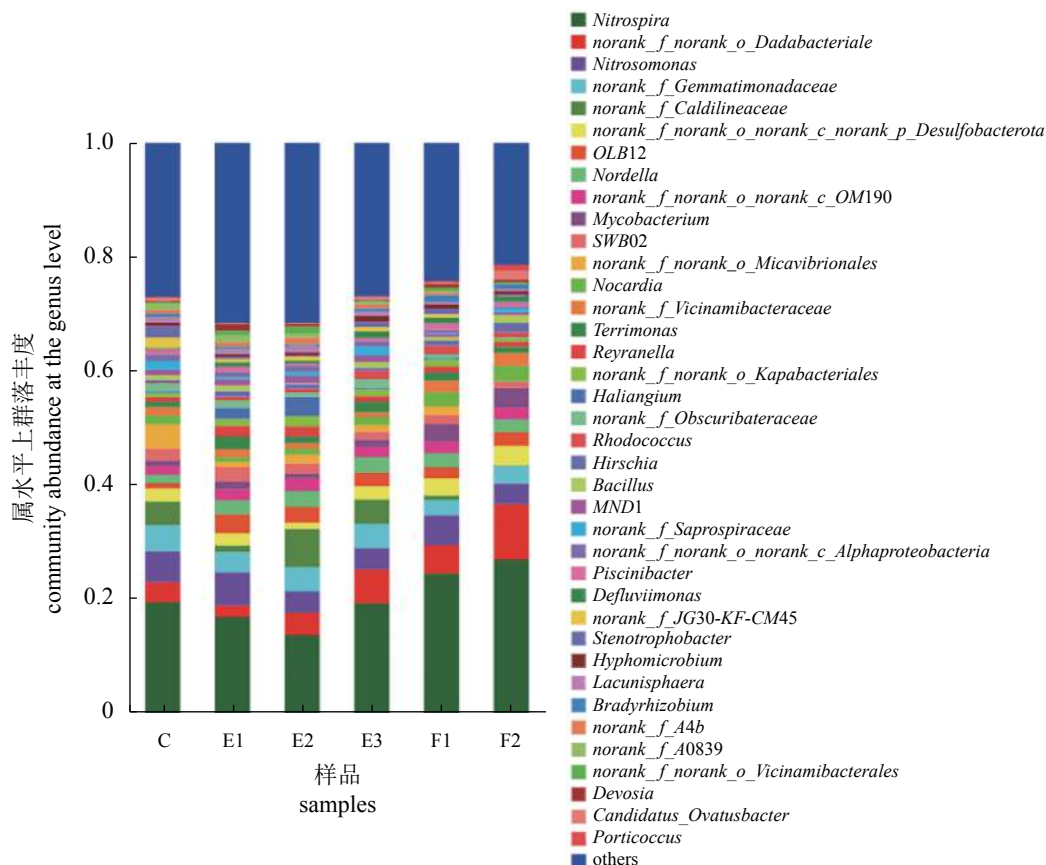


图 7 各组样品中微生物群落在属类水平上的分布 (按物种丰度升序)

Fig. 7 Distribution of microbial communities at genus level in each sample group (in ascending order of species abundance)

霉素的两组, 说明低 pH 条件与抗生素的添加对微生物群落结构产生了较为明显的影响, 如 Fierer 等^[49] 在研究中发现, 细菌群落结构随 pH 变动而变动。Kim 等^[50] 研究发现, 密集栽培的温室土壤的细菌群落也易受土壤 pH 值的影响。

水体环境的 pH 值会对生物质炭填料的净水能力造成影响。pH 8.5 与对照组的降氨氮速率相差不大, 但是 pH 7.5 和 6.5 两组的降氨氮速率显著降低, 可能是由于在生物膜培养阶段所使用的自来水 pH 值为 8.2~8.4, 变动幅度不大, 因此对微生物群落造成的影响较小。璩绍雷等^[51] 研究发现污泥活性微生物群落结构受到 pH 的影响, 在偏酸性条件下适于丝状菌的生长, 在 pH 值为中性和碱性 (7.0~10.0) 条件下有利于菌胶团生长, 有利于对污染物的去除。因此, pH 值较高的水质条件更有利于去污相关微生物群落的生长, 具体机制仍有待研究。pH 8.5 组中的总氮数据在第 18 小时有明显下降, 可能是由于测量过程中的操作出现失误, 导致出现误差。适宜鱼类生长的 pH 值

为 6.5~8.5, 最适宜的范围为 7.5~8.5^[52], 但是由于地区差异以及环境差异, 各地养殖池塘的水体 pH 并不统一, 且遇到天气变化、换水以及浮游植物群落结构变化等因素影响的情况下, 养殖水体 pH 也会发生变化^[53]。据本实验结果, pH 变化会影响填料的降氨氮速率, 因此在养殖过程中应该根据不同情况做好预防措施, 防止突然发生的水质情况变化而影响生产。

生物质炭具有孔隙多、比表面积大的特点, 相较于传统的人工湿地填料如砾石、煤渣等, 具有更强的吸附能力, 同时也为微生物群落提供了更大的生存空间, 去污能力更强。而且生物质炭的主要成分为二氧化硅 (39.3%) 和碳酸钙 (31.1%), 含碳率较高, 可以改善微生物生长环境, 提升微生物活性, 提高去污效果^[54]。例如徐德福等^[55] 对不同人工湿地基质的微生物活性研究发现, 填料中微生物的活性随填料中的碳含量增加而上升。为了使填料能够在人工湿地中发挥最大作用, 在设计和管理阶段都需要注意, 比如采用潜流湿地

系统设计来最大程度发挥填料的作用,管理运用间歇进水或者湿地轮休的方式来缓解填料堵塞问题^[7]。还可以通过合理搭配植物、填料与微生物的组合系统,使得处理效果达到最佳。目前水产养殖及人工湿地的尾水净化处理方面,多是对处理模块的材料、养殖系统的结构方面进行研究,对实际运行过程中遇到的水质 pH 变动以及渔药的使用对填料的运行效率影响尚有不足。因此,结合本实验的研究结果,在使用生物质炭填料的人工湿地养殖系统中,使用抗生素鱼药时应及时利用其他措施调控养殖水体的水质,避免氨氮含量升高,给养殖对象造成伤害。

4 结论

低 pH 条件对脱硫杆菌的活性产生抑制作用。正常剂量的氟苯尼考和土霉素对硝化螺旋菌与脱硫杆菌的活性产生抑制作用。在生物质炭填料的应用过程中应注意系统水质情况变化,控制抗生素使用频率,使净化养殖尾水效果最大化。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 韩士群,周庆,姚东瑞,等. 水产养殖模式对池塘水环境和环境负荷量的影响[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(3): 578-584.
Han S Q, Zhou Q, Yao D R, *et al.* Effects of aquaculture patterns on water environment of fish pond and environmental load[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 34(3): 578-584 (in Chinese).
- [2] 雷建军,王大鹏,肖俊军,等. 广西岩滩水库不同养殖类型区域沉积物磷分布特征分析[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(12): 2288-2294.
Lei J J, Wang D P, Xiao J J, *et al.* Distribution characteristics of phosphorus in sediments from different aquaculture areas in Yantan Reservoir, Guangxi[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2017, 48(12): 2288-2294 (in Chinese).
- [3] 李倩,胡廷尖,王雨辰,等. 淡水养殖尾水处理研究现状及进展[J]. *中国水产*, 2011(7): 43-45.
Li Q, Hu T J, Wang Y C, *et al.* Research status and progress of wastewater treatment in freshwater aquaculture[J]. *China Fisheries*, 2011(7): 43-45 (in Chinese).
- [4] Cooper P. What can we learn from old wetlands? Lessons that have been learned and some that may have been forgotten over the past 20 years[J]. *Desalination*, 2009, 246(1-3): 11-26.
- [5] Dan T H, Quang L N, Chiem N H, *et al.* Treatment of high-strength wastewater in tropical constructed wetlands planted with *Sesbania sesban*: horizontal subsurface flow versus vertical downflow[J]. *Ecological Engineering*, 2011, 37(5): 711-720.
- [6] Chen Y Q, Zuo Z, Guo X. Application of a stereo constructed wetland mode to the treatment of slightly polluted source water[J]. *Meteorological and Environmental Research*, 2012, 3(12): 63-67.
- [7] 冀泽华,冯冲凌,吴晓芙,等. 人工湿地污水处理系统填料及其净化机理研究进展[J]. *生态学杂志*, 2016, 35(8): 2234-2243.
Ji Z H, Feng C L, Wu X F, *et al.* Research progress on filler application and purification mechanisms in constructed wetland wastewater treatment system[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(8): 2234-2243 (in Chinese).
- [8] 吴薇,陈树磊,刘建华,等. 太阳能曝气强化人工湿地对养猪废水的净化效果[J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(12): 67-69.
Wu W, Chen S L, Liu J H, *et al.* Purification effects of pig wastewater by solar aerated vertical subsurface flow constructed wetlands[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(12): 67-69 (in Chinese).
- [9] 钟非,魏静静,赵永超,等. 基于人工湿地的海水池塘循环水养殖系统构建与运行效果研究[J]. *渔业现代化*, 2019, 46(2): 48-53.
Zhong F, Wei J J, Zhao Y C, *et al.* Study on construction and operation effect of the recirculating mariculture system based on constructed wetland[J]. *Fishery Modernization*, 2019, 46(2): 48-53 (in Chinese).
- [10] Kasak K, Truu J, Ostonen I, *et al.* Biochar enhances plant growth and nutrient removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 639: 67-74.
- [11] Bruch I, Fritsche J, Bänninger D, *et al.* Improving the treatment efficiency of constructed wetlands with zeolite-containing filter sands[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 937-941.
- [12] 李丽,杨柳燕. 生物黑炭在水体生态修复中的应用研究进展 [C]//环境安全与生态学基准/标准国际研讨会、中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- 中国毒理学会环境与生态毒理学专业委员会第三届学术研讨会、中国环境科学学会环境标准与基准专业委员会 2013 年学术研讨会论文集. 南京: 中国毒理学会, 2013.
- Li L, Yang L Y. Research progress of biochar application in water ecological restoration [C]// International Symposium on Environmental Safety and Ecological Standards/Standards, the Third Symposium of Environmental and Ecotoxicology Committee of Chinese Toxicology Society, and the Proceedings of 2013 Symposium of Environmental Standards and Standards Committee of Chinese Society for Environmental Sciences. Nanjing: Chinese Society of Toxicology. 2013.
- [13] 贺映全, 曹红军, 胡武林, 等. 垂直流人工湿地基质堵塞分析与处理措施[J]. *山西建筑*, 2019, 45(10): 175-176.
- He Y Q, Cao H J, Hu W L, *et al.* Analysis and treatment of matrix blockage in vertical flow constructed wetlands[J]. *Shanxi Architecture*, 2019, 45(10): 175-176 (in Chinese).
- [14] Yang Y, Zhao Y Q, Liu R B, *et al.* Global development of various emerged substrates utilized in constructed wetlands[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 261: 441-452.
- [15] 蒋旭瑶, 吉喜燕, 黄德英, 等. 不同植物类型复合垂直流人工湿地根系微生物群落结构的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(1): 176-183.
- Jiang X Y, Ji X Y, Huang D Y, *et al.* Microbial community structure in the roots of three kinds of plants in integrated vertical flow constructed wetlands[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(1): 176-183 (in Chinese).
- [16] Lima M X, Carvalho K Q, Passig F H, *et al.* Performance of different substrates in constructed wetlands planted with *E. crassipes* treating low-strength sewage under subtropical conditions[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 630: 1365-1373.
- [17] 梁威, 吴振斌, 周巧红, 等. 构建湿地基质微生物与净化效果及相关分析[J]. *中国环境科学*, 2002, 22(3): 282-285.
- Liang W, Wu Z B, Zhou Q H, *et al.* Analysis of substrate microorganisms in the constructed wetland and their correlation with wastewater purification effects[J]. *China Environmental Science*, 2002, 22(3): 282-285 (in Chinese).
- [18] Cao Q Q, Wang H, Chen X C, *et al.* Composition and distribution of microbial communities in natural river wetlands and corresponding constructed wetlands[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 98: 40-48.
- [19] 房昀昊, 彭剑峰, 宋永会, 等. 高通量测序法表征潜流人工湿地中不同植物根际细菌群落特征[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(3): 911-918.
- Fang Y H, Peng J F, Song Y H, *et al.* High throughput sequencing analysis of microbial communities in different plant rhizosphere in subsurface-flow constructed wetland[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(3): 911-918 (in Chinese).
- [20] 王鑫毅, 谢骁, 金珊, 等. 基于高通量测序的缢蛭及其养殖池塘菌群结构的季节变化[J]. *应用生态学报*, 2019, 30(12): 4267-4276.
- Wang X Y, Xie X, Jin S, *et al.* Seasonal variation of microflora in *Sinonovacula constricta* and its aquacultural pond based on high-throughput sequencing[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(12): 4267-4276 (in Chinese).
- [21] Cabello F C. Heavy use of preventive antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment[J]. *Environmental microbiology*, 2006, 8(7): 1137-1144.
- [22] 杨倩, 吴志新, 陈孝焯, 等. 氟苯尼考的药效学及其在水产动物中的代谢动力学研究进展[J]. *水生态学杂志*, 2010, 31(5): 116-121.
- Yang Q, Wu Z X, Chen X X, *et al.* Research advances of pharmacodynamics and pharmacokinetics of florfenicol in aquaculture animals[J]. *Journal of Hydroecology*, 2010, 31(5): 116-121 (in Chinese).
- [23] 袁娟. 盐酸土霉素在黄颡鱼体内药物动力学及残留的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- Yuan J. Studies on pharmacokinetics and residue of oxytetracycline hydrochloride in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [24] 高延亮, 周凯, 韦艳, 等. 不同增氧方式对盐碱养殖池塘pH的影响[J]. *海洋渔业*, 2019, 41(4): 453-462.
- Gao Y L, Zhou K, Wei Y, *et al.* Effects of compound aeration on pH of saline-alkaline aquaculture[J]. *Marine Fisheries*, 2019, 41(4): 453-462 (in Chinese).
- [25] 李莉, 李文清, 谭洪新, 等. pH对微生物絮团氨氮转化效率及细菌活性的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2019, 28(5): 671-679.

- Li L, Li W Q, Tan H X, *et al.* Effects of pH on ammonium nitrogen conversion efficiency and bacteria activity of microbial flocs[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2019, 28(5): 671-679 (in Chinese).
- [26] 唐菠, 钟高辉. 水产养殖尾水处理技术研究进展[J]. *云南化工*, 2020, 47(11): 17-19.
- Tang B, Zhong G H. Research progress of aquaculture tail water treatment technology[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2020, 47(11): 17-19 (in Chinese).
- [27] 齐雨. 复合型人工湿地菌群结构及其对氮循环的影响研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2016.
- Qi Y. Diversity of bacterial groups in a hybrid constructed wetland and its impact on the nitrogen cycle[D]. Chongqing: Chongqing University, 2016 (in Chinese).
- [28] 操家顺, 费罗兰, 罗景阳, 等. 新型轻质陶粒生物滤池在启动阶段对模拟尾水的处理效能及微生物群落特征[J]. *净水技术*, 2019, 38(1): 74-82.
- Cao J S, Fei L L, Luo J Y, *et al.* Characteristics of microbial community and treatment efficiency for simulated wastewater during startup phase of new lightweight ceramsite biofilter[J]. *Water Purification Technology*, 2019, 38(1): 74-82 (in Chinese).
- [29] Chen Y, Wen Y, Tang Z R, *et al.* Effects of plant biomass on bacterial community structure in constructed wetlands used for tertiary wastewater treatment[J]. *Ecological Engineering*, 2015, 84: 38-45.
- [30] 蔡张杰, 崔丽娟, 李晶, 等. 低温条件下人工湿地氨氧化微生物的群落结构特征[J]. *江苏农业学报*, 2020, 36(2): 373-383.
- Cai Z J, Cui L J, Li J, *et al.* Community structure characteristics of ammonia-oxidizing microorganisms in constructed wetland at low temperature[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 36(2): 373-383 (in Chinese).
- [31] 丁海静, 游俊杰, 王敦球, 等. 水力负荷与有机负荷协同作用对人工湿地微生物群落结构的影响[J]. *环境污染与防治*, 2020, 42(1): 61-65, 70.
- Ding H J, You J J, Wang D Q, *et al.* Synergistic effects of hydraulic loading and organic loading on microbial community structure in constructed wetlands[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2020, 42(1): 61-65, 70 (in Chinese).
- [32] 范海青, 王凌文, 王丹, 等. 基于高通量测序的人工湿地微生物群落分析[J]. *科技通报*, 2019, 35(2): 213-219.
- Fan H Q, Wang L W, Wang D, *et al.* High-throughput sequencing analysis of the bacterial communities in constructed wetland[J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2019, 35(2): 213-219 (in Chinese).
- [33] 姚美辰, 段亮, 张恒亮, 等. 辽河保护区人工湿地微生物群落结构及分布规律[J]. *环境工程技术学报*, 2019, 9(3): 233-238.
- Yao M C, Duan L, Zhang H L, *et al.* Microbial community structure and distribution of constructed wetlands in Liaohe Conservation Area[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2019, 9(3): 233-238 (in Chinese).
- [34] 罗国芝, 朱学宝, 施正峰. 7种常用渔药对海水闭合循环系统生物滤器硝化作用的影响[J]. *中国水产科学*, 2002, 9(2): 167-171.
- Luo G Z, Zhu X B, Shi Z F. Effects of seven chemotherapeutic agents on nitrification of closed seawater culture system[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2002, 9(2): 167-171 (in Chinese).
- [35] 齐巨龙, 赖铭勇, 王茂元, 等. 11种常用渔药对淡水硝化细菌硝化作用的影响[J]. *福建水产*, 2011, 33(1): 63-66.
- Qi J L, Lai M Y, Wang M Y, *et al.* Effects of eleven fishery drugs on nitrification of the biofilters[J]. *Journal of Fujian Fisheries*, 2011, 33(1): 63-66 (in Chinese).
- [36] 董明来, 罗国芝, 刘倩, 等. 聚丁二酸丁二醇酯反硝化反应器的脱氮效果及微生物群落变化研究[J]. *环境污染与防治*, 2011, 33(10): 48-54.
- Dong M L, Luo G Z, Liu Q, *et al.* Study on the denitrogenate effect and microbial community dynamic change of PBS-filled denitrification reactor[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2011, 33(10): 48-54 (in Chinese).
- [37] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. *Aquaculture*, 1999, 176(3-4): 227-235.
- [38] 雷宁. pH值、碱度对化工污水脱氮工艺的影响[J]. *甘肃科技*, 2011, 27(1): 27-31, 142.
- Lei N. Effect of pH and alkalinity on denitrification process of chemical wastewater[J]. *Gansu Science and Technology*, 2011, 27(1): 27-31, 142 (in Chinese).
- [39] 王振华, 谷坚, 管崇武, 等. 几种碱性试剂对循环水养殖系统中pH调节的研究[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(1): 308-311.
- Wang Z H, Gu J, Guan C W, *et al.* Study of pH value adjustment using alkaline reagents in the recirculating aquaculture system[J]. *Chinese Agricultural Science*

- Bulletin, 2010, 26(1): 308-311 (in Chinese).
- [40] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 第 3 版. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- National Environmental Protection Bureau. Methods for monitoring and analysis of water and wastewater[M]. 3rd ed. Beijing: China Environmental Science Press, 1989 (in Chinese).
- [41] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, *et al.* Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): 884-890.
- [42] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [43] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [44] Stackebrandt E, Goebel B M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1994, 44(4): 846-849.
- [45] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267.
- [46] 闫超, 刘璇, 张瑞丽, 等. 消毒剂和抗生素对硝化细菌活性的影响[J]. *河北渔业*, 2011(12): 13-16, 23.
- Yan C, Liu X, Zhang R L, *et al.* Effects of different kinds of disinfectant and antibiotics on the activity of nitrifying bacteria preparation[J]. *Hebei Fisheries*, 2011(12): 13-16, 23 (in Chinese).
- [47] 张敏. 三种抗生素对淡水池塘底泥硝化作用及氨氧化微生物生长和群落结构的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- Zhang M. Effects of three antibiotics on nitrification and the growth and community structure of ammonia-oxidizing microorganism in freshwater aquaculture pond sediment[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [48] 于雪. 温度、pH 值和游离亚硝酸对亚硝酸盐氧化菌活性动力学及微生物种群结构影响研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学, 2019.
- Yu X. Effects of temperature, pH and free nitrous acid on kinetics of nitrite oxidizing bacteria and microbial population structure[D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2019 (in Chinese).
- [49] Fierer N, Morse J L, Berthrong S T, *et al.* Environmental controls on the landscape-scale biogeography of stream bacterial communities[J]. *Ecology*, 2007, 88(9): 2162-2173.
- [50] Kim J M, Roh A S, Choi S C, *et al.* Soil pH and electrical conductivity are key edaphic factors shaping bacterial communities of greenhouse soils in Korea[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 54(12): 838-845.
- [51] 璩绍雷, 孙宝盛, 赵双红, 等. pH对间歇进水序批式生物反应(SBR)工艺活性污泥沉降性能和微生物结构的影响[J]. *环境化学*, 2016, 35(3): 508-515.
- Qu S L, Sun B S, Zhao S H, *et al.* pH activated sludge sedimentation performance and the structure of the microbe of SBR technology[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(3): 508-515 (in Chinese).
- [52] 中华人民共和国国家标准-渔业水质标准 (GB11607-89)[J]. *环境保护*, 1989(12): 25-27.
- National Standard of the People's Republic of China-fishery water quality standard (GB11607-89)[J]. *Environmental Protection*, 1989(12): 25-27 (in Chinese).
- [53] 苏发文. 大丰盐碱养殖虾塘浮游植物群落结构组成及其对水环境 pH 值的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Su F W. Community characteristics of microalgae and effect of the water environment pH in Dafeng shrimp saline-alkalinity culture ponds[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [54] Shackle V J, Freeman C, Reynolds B. Carbon supply and the regulation of enzyme activity in constructed wetlands[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(13): 1935-1940.
- [55] 徐德福, 徐建明, 李映雪. 几种人工湿地基质微生物活性研究[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2): 753-757.
- Xu D F, Xu J M, Li Y X. The microbial activity of the substrates in constructed wetland and its effect on the removal of nitrogen from wastewater[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 753-757 (in Chinese).

Effects of common fishery drugs and water pH on nitrification performance and microbial community structure of biochar filler system

JIANG Haofei¹, LI Kang^{1,2,3*}, SHI Wenzhi¹, CHE Xuan⁴, LIU Xingguo⁴,
LU Qiang¹, BA Xubing¹, LIU Liping^{1,2,3*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Teaching of Aquatic Science,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploitation and Utilization of Aquatic Germplasm Resources, Ministry of Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Institute of Fishery Machinery and Instrument, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China)

Abstract: As a new type of filler, biochar membrane frame has a higher unit specific surface area, which is conducive to the attachment of denitrification microbial community and has a strong ability to purify sewage. Therefore, it has a broad prospect in the application of constructed wetlands in the future. However, it is not clear whether environmental changes in aquaculture and aquatic medicine will hinder the full use of fillers in constructed wetlands. In order to investigate the influence of external factors on the decontamination capacity of biochar membrane frame, different pH values (E1: 6.5, E2: 7.5 and E3: 8.5) and commonly used aquatic medicines (F1: florfenicol, 6 mg/L; F2: oxytetracycline, 20 mg/L) were applied in this study. The results showed that: ① Nitrospirae had the highest relative abundance among the nitrification bacteria; ② the ammonia-oxidizing rates of E1, E2 and E3 groups were 0.247, 0.249 and 0.305 mg/(L·h), respectively, which were lower than those of the control group (pH=8.2), 0.323 mg/(L·h). At low pH, the relative content of *Nitrospira* spp. was slightly decreased, but the relative content of *Athiobacillus* spp. nitrification had no significant difference; ③ the ammonia oxidizing rates in F1 and F2 groups were 0.172 mg/(L·h) and 0.172 mg/(L·h), respectively, which were lower than those in the control group (0.323 mg/(L·h)). Compared with the control group, the relative contents of *Helicobacter nitrificatus* and *Athiobacter denitrificatus* had no significant change. It was inferred that the florfenicol and oxytetracycline inhibited their activities and reduced the ammonia oxidizing rate. In conclusion, slightly alkaline water is beneficial to the purification of water quality by biochar filler, and florfenicol and oxytetracycline can affect the abundance and activity of denitrification microorganisms on the biofilm and inhibit the ability of ammonia oxidizing rate. Therefore, when antibiotics are used for treatment, other water quality regulation measures should be taken to control the ammonia nitrogen content of aquaculture water, to ensure the safety of aquaculture objects, and maximize the purification effect of biochar fillers for aquaculture effluent.

Key words: biochar filler; pH value; fishery drugs; microbial community structure; artificial wetland

Corresponding authors: LI Kang. E-mail: kli@shou.edu.cn;

LIU Liping. E-mail: lp-liu@shou.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Project (2019YFD0900303); Key Projects of Developing Agriculture by Science and Technology in Shanghai (2021: 3-1, 2018: 2-12)