

DOI:10.3876/j.issn.1000-1980.2022.06.009

不同水体沉水植物叶面微生物群落特征

张松贺¹,王佳阳^{1,2},牟小颖¹,王富巍¹

(1. 河海大学环境学院,江苏 南京 210098; 2. 中国电建集团华东勘测设计研究院有限公司,浙江 杭州 311122)

摘要:以沉水植物黑藻(*Hydrilla verticillata*)、苦草(*Vallisneria natans*)、伊乐藻(*Elodea nuttallii*)和菹草(*Potamogeton crispus* L)为研究对象,利用扫描电镜、荧光显微镜和 16S rRNA 基因高通量测序技术,探究不同生境中沉水植物叶面附着微生物群落结构及影响因素。结果表明:沉水植物叶面附着藻类组成与环境水体的藻类组成具有明显差异;不同沉水植物叶面附着微生物密度不同,且河流样品中高于湖泊样品; α -变形菌、 β -变形菌和 γ -变形菌纲是沉水植物叶面附着生物膜上的主要细菌纲,这些纲具有降解污染物质、净化水体的功能;水体营养盐浓度对沉水植物叶面附着微生物群落结构有很大影响。

关键词:沉水植物;附生藻类;微生物群落;黑藻;苦草;伊乐藻;菹草

中图分类号:X17 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1980(2022)06-0066-09

Characteristics of microbial community on leaf surface of submerged plants in different water bodies

ZHANG Songhe¹, WANG Jiayang^{1,2}, MU Xiaoying¹, WANG Fuwei¹

(1. College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China;

2. Power China Huadong Engineering Corporation Limited, Hangzhou 311122, China)

Abstract: Submerged plants, such as the *Hydrilla verticillata*, *Vallisneria natans*, *Elodea nuttallii* and *Potamogeton crispus* L, were selected as the research objects. This study used the scanning electron microscopy, fluorescence microscopy and 16S rRNA high-throughput sequencing technology to explore the bacterial community structure and influencing factors attached to the leaf surface of submerged plants in different habitats. The results show that the composition of algae attached to the leaf surface of submerged plants is significantly different from that in the environmental water body. Different submerged plants have different density of microorganisms on the leaf surface, and the density of microorganisms attached to the surface of lake samples are lower than the river samples. α -Proteobacteria, β -Proteobacteria and γ -Proteobacteria are the main bacterial classes in the biofilm on the leaves of submerged plants. These classes have the function of degrading pollutants and purifying water bodies. Redundant analysis shows that the concentration of nutrients in the water body has a great influence on the microbial community structure on the leaf surface of submerged plants.

Key words: submerged plants; epiphytic algae; microbial community; *Hydrilla verticillata*; *Vallisneria natans*; *Elodea nuttallii*; *Potamogeton crispus* L

生物膜通常生长在各种气、固、液相接界面上,由各种微生物,包括细菌、真菌、原生动物和后生动物组成。在水生态系统中,生物膜上的微生物群落对污染物的分解、转化和吸收起着至关重要的作用^[1],是连通生物地球化学、微生物动力学与生态系统功能的重要媒介^[2]。与此同时,生物膜作为淡水生态系统中代谢活跃、结构复杂的一部分,也能够为微生物生存提供稳定的环境^[3-4]。

沉水植物是微生物的天然基质,其特殊的生长环境十分有利于附生物膜的形成,在水生态系统中具有重要的生态作用^[4]。沉水植物可以为水生态系统中的消费者提供养分和氧气,也有利于附着生物膜中需氧细菌转化营养物质^[5]。不同的沉水植物可以向附生物膜上的微生物释放特定的化感物质,形成特定的附生微生物群落^[6-7]。然而,过度生长的附生物膜也会削弱沉水植物营养和光照的获取,从而对沉水植物的

基金项目: 国家自然科学基金(518036711);江苏省研究生科研与实践创新计划(KYCX21_0545)
作者简介: 张松贺(1977—),男,教授,博士,主要从事水生态修复与水资源保护研究。E-mail:shzhang@hhu.edu.cn
引用本文: 张松贺,王佳阳,牟小颖,等. 不同水体沉水植物叶面微生物群落特征[J]. 河海大学学报(自然科学版),2022,50(6):66-74.
ZHANG Songhe, WANG Jiayang, MU Xiaoying, et al. Characteristics of microbial community on leaf surface of submerged plants in different water bodies[J]. Journal of Hohai University(Natural Sciences), 2022, 50(6): 66-74.

生长造成影响^[8]。此外,附生生物膜在沉水植物腐败分解过程中也发挥了重要作用^[9-10],植物残体可以为水生生物提供丰富的营养物质(如碳、氮和磷),促进了水生态系统的生物量和能量循环^[11]。目前来说,关于沉水植物叶面附着生物膜中的微生物结构的研究尚不深入。

本文以太湖、花神湖、茶楼河和解桥河的 4 种典型沉水植物(黑藻、苦草、菹草和伊乐藻)叶面的附着生物膜为研究对象,利用荧光显微镜和电子显微镜观测水生植物叶面附着微生物的分布特征,并对藻类组成进行分析;利用 16S rRNA 基因高通量测序技术,比较分析不同区域典型沉水植物叶面附着生物膜群落结构组成的差异性,旨在为河湖生态修复治理工程提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

水样和植物样品于 2014 和 2015 年的 7 月采集于太湖、花神湖、茶楼河、解桥河。太湖位于长江三角洲的南缘,是中国第三大淡水湖,样品采集于太湖贡湖湾人工湿地中;花神湖是南京市城市湖泊,由人工挖掘而成,最深处达 7 m 多,与自然形成的湖泊从边缘往中间逐渐变深不同,花神湖湖床具有特殊性,离岸不到 1 m 水深就可能达到数米;解桥河和茶楼河位于江苏省沭阳县新河镇(图 1)。

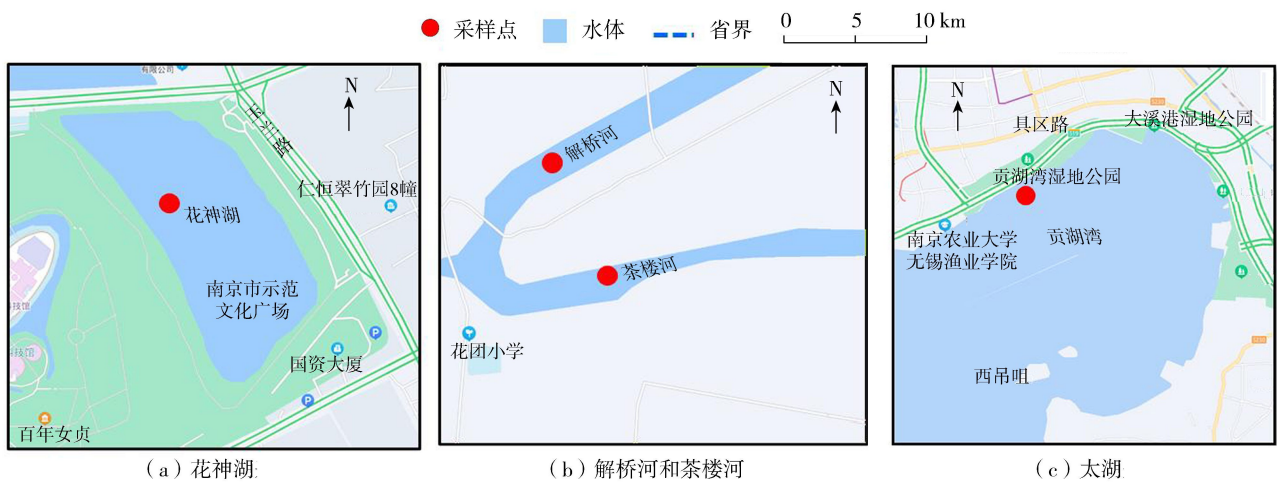


图 1 采样点分布
Fig.1 Sampling site distribution

使用采水器在水下 50 cm 处采集 2 L 水体样品带回实验室于 4℃ 冷藏保存,并于 24 h 内完成分析。沉水植物样品用手套或不锈钢钩手动采集代表性植物样本,从每种植物的每个采样点附近 200 m 均匀选取 3 个样品。

1.2 样品测定

1.2.1 水质测定

水体总氮(TN)采用国家环境保护标准 HJ636—2012 中的碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法进行测定。总磷(TP)采用 GB11893—1989 中的钼酸铵分光光度法测定。

1.2.2 植物叶面微生物数量和附着藻类密度的测定

将大约 50 g 新鲜植物样品转移到一个无菌的 500 mL 聚乙烯瓶中,该瓶含有 400 mL 的磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 为 7.4)溶液。超声处理 3 min、振荡 30 min (225 r/min),最后超声处理 3 min,附生微生物被分离。叶片的表面积使用图像软件 Adobe Photoshop CS3 计算。将大约 5 mL 分离的样品固定在终浓度为 2% 的甲醛溶液中,用于附生细菌计数。将大约 5 滴鲁戈试剂添加到 5 mL 分离的样品溶液中,用于附生藻类分析。

将 100 μ L 洗脱液或水样与 700 μ LDAPI (10 μ g/mL) 进一步混合,并在黑暗中染色 30 min。样品通过 0.22 μ m 滤膜过滤之后在荧光显微镜(ZEISS,德国)下对黑色膜上的细菌数量进行计数,对于每张载玻片,随机计数 30 个窗口。将 100 μ L 洗脱液或水样滴在浮游生物计数室的中间,然后在荧光显微镜下观察。每个样品随机计数 50 个窗口。基于形态学参数在属水平上鉴定藻类(3 次重复)。

1.2.3 扫描电镜分析

将植物叶片样品切成大约0.5 cm×0.5 cm的正方形,并在2.5%戊二醛溶液中培养12 h,在1% OsO₄ 溶液中培养3 h。用0.1 M 磷酸钠缓冲溶液冲洗3次(每次15 min)后,将叶片样品在一系列浓度的乙醇中脱水(依次为30%、50%、70%、80%和90%的乙醇,每个浓度15 min),然后是100%乙醇脱水3次,每次15 min。脱水后的样品在冷冻干燥机中干燥12 h。使用扫描电子显微镜(S-4800,Hitachi,Japan)观察喷金叶片样品。

1.2.4 附着生物膜细菌群落结构的测定

将生物膜样品与乙醇以1:2的比例(体积比)混合,然后离心10 min(8 000 r/min)。收集所有浓缩样品,并将其储存在-80℃的超低温冰箱中。使用PowerBiofilm DNA分离试剂盒提取生物膜DNA(每个样本3次重复)。用引物342F(5'-CTACGGGGGCAGAG-3')和806R(5'-GGACTACCGGGGTATCT-3')扩增细菌的16S rRNA基因^[12]。扩增程序包括95℃的初始变性步骤(25次循环,每次持续2 min),接着是95℃的变性步骤(30 s),30℃的退火步骤(55 s)和72℃的延长步骤(30 s)。最后进行72℃的延长步骤,持续5 min。焦磷酸测序在上海美吉生物有限公司的Roche 454 GS FLX+Titanium 测序平台(Roche 454 Life Sciences, Branford, CT, U.S.)上进行。

1.3 数据分析

利用Oringin 2017处理数据并作图,利用美吉云平台进行弦图和热图绘制,并进行聚类分析。利用CANOCO(Version 4.5, Microcomputer Power, USA)进行冗余分析。

2 结果与分析

2.1 沉水植物叶面附着微生物密度

如表1所示,黑藻(茶楼河)的单位质量附着总菌数最大,其次为伊乐藻(解桥河)、苦草(解桥河)、菹草(花神湖)、苦草(太湖)和伊乐藻(花神湖)。黑藻(茶楼河)单位叶面积附着总菌数最大,其次为苦草(解桥河)、伊乐藻(解桥河)、菹草(花神湖)、苦草(太湖)和伊乐藻(花神湖)。

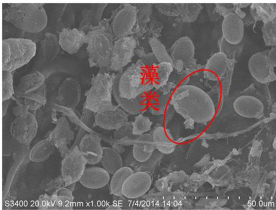
2.2 沉水植物叶面附着生物膜结构特征

由图2可知,夏季苦草(太湖)叶面颗粒物较多,生物膜结构明显,观察到大量藻类和少许杆菌;黑藻(茶楼河)叶面颗粒物较少,生物膜结构明显,观察到少许藻类和大量球菌;苦草(解桥河)叶面颗粒物较少,生物膜结构明显,观察到少许藻类和大量杆菌;伊乐藻(解桥河)叶面颗粒物较少,生物膜结构不明显,观察到少许藻类和杆菌。

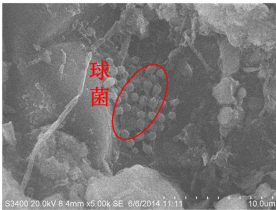
表1 沉水植物单位叶质量表面和单位叶面积总菌数

Table 1 Total number of microorganisms per leaf mass and per leaf area on the leaf surface of submerged plants

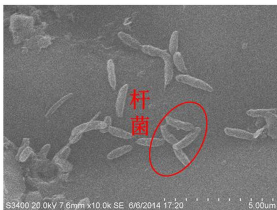
样品名	单位质量密度/ (个·g ⁻¹)	单位叶面积密度/ (个·cm ⁻²)	误差/%
苦草(太湖)	1.24×10 ⁷	4.33×10 ⁵	3.54
菹草(花神湖)	4.04×10 ⁷	7.20×10 ⁵	4.52
伊乐藻(花神湖)	3.24×10 ⁶	2.78×10 ⁴	3.35
黑藻(茶楼河)	2.24×10 ⁹	2.05×10 ⁷	5.08
苦草(解桥河)	4.26×10 ⁷	1.30×10 ⁶	4.22
伊乐藻(解桥河)	1.49×10 ⁸	1.13×10 ⁶	4.41



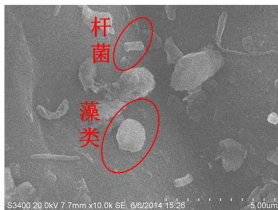
(a) 苦草(太湖)



(b) 黑藻(茶楼河)



(c) 苦草(解桥河)



(d) 伊乐藻(解桥河)

图2 叶面扫描电镜照片

Fig. 2 Scanning electron microscope images of leaf surface

2.3 水体中浮游藻类和沉水植物叶面附着藻类密度及组成

由表2可知,沉水植物叶片单位质量附着藻类密度范围为2.91×10⁶~6.87×10³个/g,单位质量密度从大到小顺序为:伊乐藻(解桥河)、菹草(花神湖)、苦草(解桥河)、伊乐藻(花神湖)、苦草(太湖)和黑藻(茶楼河)。沉水植物叶片单位面积附着藻类密度范围为6.46×10³~6.27×10⁴个/cm²,单位叶面积密度从大到小顺序为:黑藻(茶楼河)、伊乐藻(解桥河)、苦草(解桥河)、菹草(花神湖)、苦草(太湖)和伊乐藻(花神湖)。

从采样水体及沉水植物叶面上共检测出绿藻门、蓝藻门、硅藻门、黄藻门、隐藻门和裸藻门共6个门以及46个属(图3)。不同沉水植物叶面附着藻类优势门存在一定差异,菹草(花神湖)和伊乐藻(花神湖)的叶面最优势藻类为绿藻门,其次为蓝藻门和硅藻门。而苦草(太湖)、黑藻(茶楼河)、苦草(解桥河)和伊乐藻(解桥河)则以硅藻门相对丰度最高。水体中,太湖以蓝藻门为主,而茶楼河、解桥河、花神湖则以绿藻门为主。苦草(太湖)、菹草(花神湖)、伊乐藻(花神湖)、黑藻(茶楼河)、苦草(解桥河)、伊乐藻(解桥河)表面分别检测出25种、18种、17种、22种、22种和20种藻属,而湖泊水体中太湖、茶楼河、解桥河和花神湖分别检测出21种、15种、2种和19种藻属。其中,小球藻属、鼓藻属、新月藻属及微囊藻属4种藻属在每种沉水植物叶面和水体中均有出现。管链藻属、鞘丝藻属、螺旋藻属和菱形藻属等17种藻属只存在于沉水植物叶片上,而丝藻属、团藻属、韦丝藻属、月牙藻属和十字藻属等10个属只出现在水体中。太湖和茶楼河水体中相对丰度最高的藻属为微囊藻属,而解桥河和花神湖水体中丰度最高的藻属为小球藻属。其中微囊藻属在沉水植物叶片上和水体中均有较高比例,且水体中高于植物叶片。

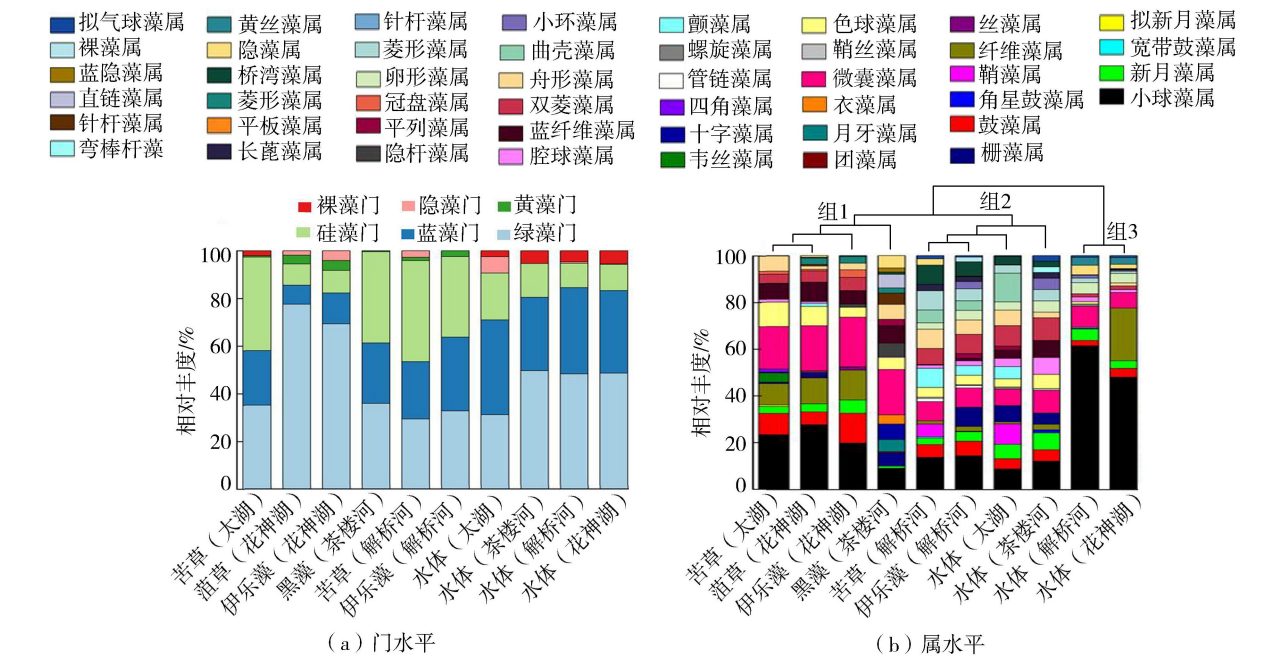


图3 沉水植物叶片表面附着藻类和水体里浮游藻类在各个样品中相对丰度

Fig.3 Relative abundance of algae attached on leaves of submerged plants and in environmental water

2.4 沉水植物叶面附着细菌群落结构与功能

根据高通量测序结果,本文对样品的多样性指数进行了分析,结果见表3。Ace 指数和Chao1 指数表明,不同地区同一种植物附着细菌丰度显著不同,如太湖和解桥河的苦草的 Ace 指数分别为 1747.46 和 2 680.54, Chao1 指数分别为 1575.62 和 2238.40,花神湖和解桥河的伊乐藻 Ace 指数分别为 466.13 和 2041.98, Chao1 指数分别为 370.92 和1 713.30)。其中菹草(花神湖)的

表2 沉水植物单位叶质量表面和单位叶面积附着藻类密度

Table 2 Density of algae per leaf mass and per leaf area on the leaf surface of submerged plants

样品名	单位质量密度/ (个·g ⁻¹)	单位叶面积密度/ (个·cm ⁻²)	误差/%
苦草(太湖)	3.07×10 ⁵	1.07×10 ⁴	2.89
菹草(花神湖)	5.61×10 ⁵	1.42×10 ⁴	3.95
伊乐藻(花神湖)	4.18×10 ⁵	6.46×10 ³	3.10
黑藻(茶楼河)	6.87×10 ³	6.27×10 ⁴	3.82
苦草(解桥河)	5.07×10 ⁵	1.55×10 ⁴	4.01
伊乐藻(解桥河)	2.91×10 ⁶	2.21×10 ⁴	2.35

表3 植物样品细菌测序数据和多样性指数

Table 3 Summary of sequences and alpha-diversity index of bacteria attached to plant samples

样品名	高质量序列	OTUs	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数
苦草(太湖)	10646	974	1 747.46	1 575.62	5.03
菹草(花神湖)	5684	212	351.75	305.67	3.41
伊乐藻(花神湖)	7292	244	466.13	370.92	2.85
黑藻(茶楼河)	7927	1271	1 849.27	1 817.06	5.84
苦草(解桥河)	6301	1413	2 680.54	2 238.40	6.08
伊乐藻(解桥河)	6122	1 170	2 041.98	1 713.30	5.76

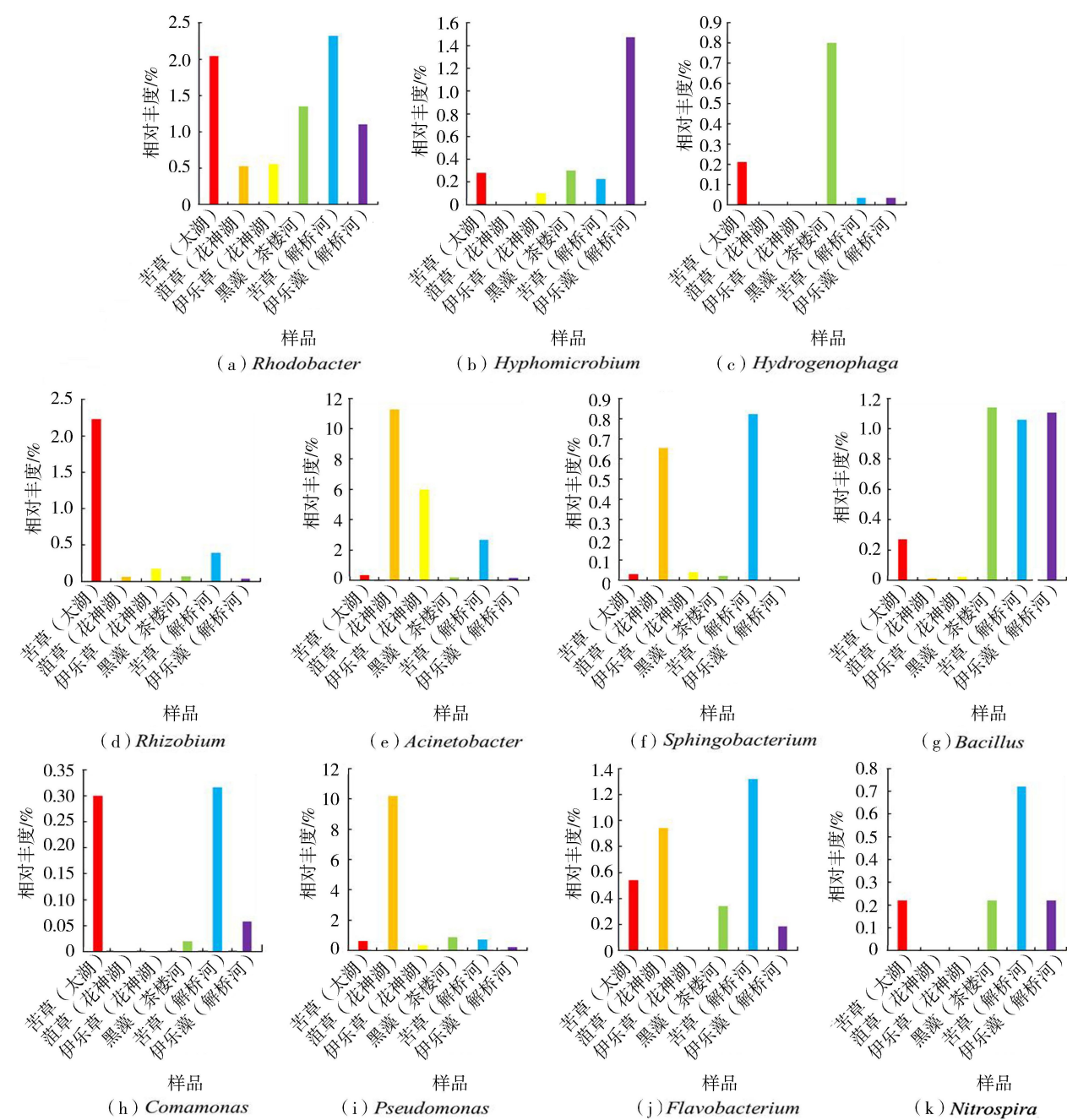


图 5 优势属中的氮循环相关功能菌属

Fig. 5 Nitrogen cycle-related functional bacteria in the dominant genera

以为藻类提供更大的固着面积,因此叶片上附着藻类密度更高。

湖泊水体中采集的样品(太湖、花神湖)叶面总菌数和附着藻类密度显著低于河流水体中采集的样品(解桥河、茶楼河)。在河流样品采集过程中,测定了水流流速为 0.3 m/s,而湖泊水体流速较慢。Han 等^[16]研究发现,高速水流不仅会抑制沉水植物的生长,还会影响微生物的附着,减少生物膜厚度。此外,河流样品(高流速)附着生物膜上的细菌群落多样性(Shannon 指数)高于湖泊水体(低流速)($P<0.05$),这与之前的研究不同^[17],这可能与生境中温度、人类活动强度和光照条件等因素有关,需要进一步研究。

通过藻类属层面的聚类分析发现,水体样品聚集在组 1,而植物叶片样品聚集在另外两组(图 3(b)),表明沉水植物叶面附着藻类组成与环境水体有明显差异。Zuo 等^[18]研究发现,沉水植物分泌的化学物质可以抑制同一环境中藻类的生长,植物叶片附着藻类直接接触植物,因此更易受到植物分泌物的抑制。在富营养化湖泊中,沉水植物与藻类竞争营养物质及光热等条件,影响藻类正常的生理代谢功能,使藻类死亡^[19]。花神湖常年处于富营养化状态(TN:9.91 mg/L、TP:0.9 mg/L),营养物质含量远高于太湖(TN:2.81 mg/L、

TP:0.29 mg/L),但却未曾发生藻类暴发事件,这可能与占据湖区40%面积的沉水植物有关。

高通量测序结果表明,各样品中变形菌门都是相对丰度最高的门,这与 Zhang 等^[20]研究结果一致。在不同地区,沉水植物叶面附着细菌群落主要在变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和绿弯菌门的比例上存在差异。且同一水体不同沉水植物类型附生生物膜上的细菌群落结构均不相同,这与新开河内沉水植物附着生物膜的结果一致^[12]。在富营养化程度最高的花神湖中(TN:9.91 mg/L、TP:0.9 mg/L),沉水植物叶片附着生物膜中变形菌门占比均高于50%。Cai 等^[21]研究发现,随着水体受污染程度的增加,变形菌门中的 α -变形菌纲、 β -变形菌纲和 γ -变形菌纲的相对丰度也会随之升高,变形菌门的相对丰度也因此升高。此外,已有研究^[22]表明,化感活性物质和植物分泌物(如多酚)可能是微生物群落结构差异的一个重要原因^[12],而化感作用又受周围环境影响。不同地区的沉水植物光照条件、营养物质获取方式等方面的不同,也会导致沉水植物叶面附着生物膜群落结构的不同。

总的来说,沉水植物叶片上有较多附着微生物,水体中沉水植物的修复可以增加生物膜的多样性和丰富度,这些微生物在水生态系统的能量传递和营养物质的吸收或保留中起着关键作用。而植物类型和水体流速等外界因素可能会影响微生物的附着,从而对修复效果产生影响。

3.2 氮循环中的细菌群落

硝化和反硝化细菌在氮循环过程中发挥了重要作用^[23]。尽管之前的研究已经在沉水植物叶面发现了硝化和反硝化细菌,但是关于这些细菌详细信息仍不完备^[24]。在本研究中,经过对细菌属分类筛选,共检测到1种硝化菌和10种反硝化菌(图5)。硝化细菌偏向在高溶解氧浓度的区域生存,如通气良好的土壤、堆肥和活性污泥^[25]。硝化螺旋菌(*Nitrospira*,0.00%~0.72%) 在苦草(解桥河)叶片上相对丰度最高,虽然丰度不到总菌数的1%,但是硝化细菌仍然是脱氮过程中及其重要的微生物。

反硝化作用是一个复杂的过程,反硝化细菌将硝酸盐还原为分子氮或气态氮。10个反硝化属之中,*Rhodobacter*、*Rhizobium*、*Pseudomonas*、*Bacillus* 和 *Acinetobacter* 在每个样品中都有发现。红杆菌属(*Rhodobacter*,0.53%~2.32%) 在花神湖样品中相对丰度较低。红杆菌属不仅是一种优秀的氮循环促进细菌,目前研究发现红杆菌属也可以用于生物修复被Cd和Zn污染的废水^[26]。在菹草(花神湖)叶片上假单胞菌属 *Pseudomonas*(10.19%) 和不动杆菌属 *Acinetobacter*(11.27%) 都占相对较高的丰度,假单胞菌属和不动杆菌属都属于 γ -proteobacteria纲。假单胞菌属在自然环境中普遍存在,但在原始环境中通常很少,频繁的人类活动会增高假单胞菌属的相对丰度^[27],花神湖属于南京城市湖泊,人类活动比较频繁。沉水植物叶片可以通过为微生物提供附着面和营养物质直接提高反硝化速率,也通过形成有利于反硝化菌的生存环境间接提高反硝化速率^[28]。

3.3 优势属与营养盐之间的关系

冗余分析结果表明,TN和TP与微生物群落结构密切相关,不同分组表明了与TN、TP不同的相关性关系。组I和组II中的反硝化菌*Rhizobium*、*Bacillus* 和 *Flavobacterium* 与TN、TP呈现显著负相关关系,这与Yan 等^[29]的研究结果一致。*Flavobacterium* 在解桥河沉水植物生物膜上相对丰度最高,Verma 等^[30]研究表明,水体的pH过低会抑制其相对丰度增长。反硝化菌*Pseudomonas* 和 *Acinetobacter* 属于组III,与营养盐浓度呈正相关关系,在沉水植物轮叶黑藻叶片附着生物膜上也发现了*Pseudomonas*。最近,*Acinetobacter* 被发现就算在极端低温条件下也具有较高且稳定的氨氮代谢能力^[31-32]。此外,研究者们也发现*Pseudomonas* 和 *Acinetobacter* 参与到铁锰氧化过程中^[33]。这些结果表明,微生物群落与营养盐浓度密切相关,可在污染物去

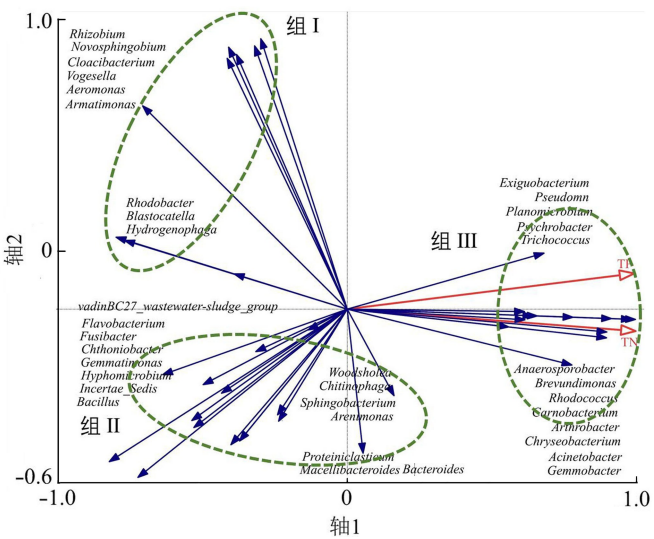


图6 优势属与营养盐浓度之间的冗余分析
Fig.6 Redundancy analysis between dominant genera and nutrient concentration

除中发挥重要作用。

4 结 论

- a. 沉水植物表面单位叶面积附着微生物总密度比附生藻类密度高,植物叶片形态会影响微生物附着。沉水植物叶面附着藻类组成与环境水体有明显区别,且河流水体中附着微生物总密度和附生藻类密度高于湖泊水体。
- b. 从附着藻类和生物膜群落结构上来看,不同地区沉水植物附生藻类和生物膜主要优势门相同。同一水体中植物附生生物膜细菌群落组成相似性较高,但不同植物附着生物膜中的细菌群落结构明显不同,附生细菌群落具有多样性,不同的沉水植物可以为水体中的微生物提供特殊的生态位。
- c. 营养盐浓度对沉水植物附生生物膜的细菌群落结构具有显著影响。

参考文献:

[1] 李轶,雷梦婷,杨楠,等. 河流微生物生态学的研究进展[J]. 水资源保护,2022,38(1):190-197. (LI Yi, LEI Mengting, YANG Nan, et al. Research and prospect on river microbial ecology[J]. Water Resources Protection,2022,38(1):190-197. (in Chinese))

[2] 马牧源,崔丽娟,张曼胤,等. 白洋淀养鸭废水对生物膜生物量和胞外酶活性的影响[J]. 水资源保护,2020,36(1):89-96. (MA Muyuan, CUI Lijuan, ZHANG Manyin, et al. Effects of duck wastewater from Baiyangdian Lake on biofilm biomass and extracellular enzyme activities[J]. Water Resources Protection,2020,36(1):89-96. (in Chinese))

[3] 张松贺,袁强,陈洁,等. 硝氮对狐尾藻附着生物膜细菌群落的影响[J]. 河海大学学报(自然科学版),2021,49(3):272-278. (ZHANG Songhe, YUAN Qiang, CHEN Jie, et al. Effects of nitrate on bacterial communities of biofilm attached on *Myriophyllum Verticillatum*[J]. Journal of Hohai University (Natural Sciences),2021,49(3):272-278. (in Chinese))

[4] WEISNER E. An experimental study on effects of submersed macrophytes on nitrification and denitrification in ammonium-rich aquatic systems[J]. Limnology & Oceanography, 1999, 44(8): 1993-1999.

[5] THORÉN A. Urea transformation of wetland microbial communities[J]. Microbial Ecology, 2007, 53(2): 221-232.

[6] WANG P, ZHANG H, JIE Z, et al. A hardy plant facilitates nitrogen removal via microbial communities in subsurface flow constructed wetlands in winter[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33600.

[7] HE D, REN L, WU Q. Epiphytic bacterial communities on two common submerged macrophytes in Taihu Lake: diversity and host-specificity[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 30(2): 237-247.

[8] SONG Y Z, WANG J Q, GAO Y X, et al. The physiological responses of *Vallisneria natans* to epiphytic algae with the increase of N and P concentrations in water bodies[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2015, 22(11): 8480-8487.

[9] HAN B, ADDO F G, MU X, et al. Epiphytic bacterial community shift drives the nutrient cycle during *Potamogeton malaianus* decomposition[J]. Chemosphere, 2019, 236: 124253.

[10] ZHANG L, ZHANG S, LYU X, et al. Dissolved organic matter release in overlying water and bacterial community shifts in biofilm during the decomposition of *Myriophyllum verticillatum*[J]. Science of the Total Environment, 2018, 633: 929-937.

[11] CHIBA W A, CUNHA-SANTINO M B, BIANCHINI J I. Anaerobic decomposition of a native and an exotic submersed macrophyte in two tropical reservoirs / Decomposicao anaerobica de uma macrofita submersa nativa e de uma exotica em dois reservatorios tropicais[J]. Brazilian Journal of Biology, 2013, 73(2): 299-307.

[12] 张松贺,周甜甜,刘远思. 新开河 4 种水生植物表面附着微生物群落特征[J]. 水资源保护,2020,36(3):83-88. (ZHANG Songhe, ZHOU Tiantian, LIU Yuansi. Characteristics of microbial communities in biofilm of four aquatic macrophytes in Xinkai River[J]. Water Resources Protection,2020,36(3):83-88. (in Chinese))

[13] 刘凯辉,张松贺,吕小央,等. 南京花神湖 3 种沉水植物表面附着微生物群落特征[J]. 湖泊科学, 2015, 27(1): 103-112. (LIU Kaihui, ZHANG Songhe, LYU Xiaoyang, et al. The characteristics of epiphytic microbes of three submerged macrophytes in Lake Huashen[J]. Journal of Lake Science,2015,27(1):103-112. (in Chinese))

[14] GNIAZDOWSKA A, BOGATEK R. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2005, 27(3B): 395-407.

[15] CATTANEO A, GALANTI G, GENTINETTA S. Epiphytic algae and macroinvertebrates on submerged and floating-leaved macrophytes in an Italian lake[J]. Freshwater Biology, 2010, 39(4): 725-740.

[16] HAN B, ZHANG S, WANG P, et al. Effects of water flow on submerged macrophyte-biofilm systems in constructed wetlands

- [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 2650.
- [17] LI Q, GU P, JI X, et al. Response of submerged macrophytes and periphyton biofilm to water flow in eutrophic environment: Plant structural, physicochemical and microbial properties[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 189: 109990.
- [18] ZUO Shengpeng, FANG Zhangshun, YANG Shanyun, et al. Effect of allelopathic potential from selected aquatic macrophytes on algal interaction in the polluted water[J]. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2015, 61: 133-138.
- [19] 王琦, 高晓奇, 肖能文, 等. 滇池沉水植物的分布格局及其水环境影响因子识别[J]. *湖泊科学*, 2018, 30(1): 157-170. (WANG Qi, GAO Xiaochi, XIAO Nengwen, et al. Distribution pattern of submerged macrophytes and its influencing factors of water environment in Lake Dianchi[J]. *Journal of Lake Science*, 2018, 30(1): 157-170. (in Chinese))
- [20] ZHANG Z, CHEN H, MU X, et al. Nitrate application decreased microbial biodiversity but stimulated denitrifiers in epiphytic biofilms on *Ceratophyllum demersum*[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 269: 110814.
- [21] CAI W, LI Y, WANG P, et al. Revealing the relationship between microbial community structure in natural biofilms and the pollution level in urban rivers: a case study in the Qinhuai River basin, Yangtze River Delta[J]. *Water Science & Technology*, 2016, 74(5): 1163.
- [22] SANTONJA M, LE ROUZIC B, THIÉBAUT G. Seasonal dependence and functional implications of macrophyte - phytoplankton allelopathic interactions[J]. *Freshwater Biology*, 2018, 63(9): 1161-1172.
- [23] HAYATSU M, TAGO K, SAITO M. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2008, 54(1): 33-45.
- [24] TRIAS R, GARCÍA-LLEDÓ A, SÁNCHEZ N, et al. Abundance and composition of epiphytic bacterial and archaeal ammonia oxidizers of marine red and brown macroalgae[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(2): 318-325.
- [25] YAN Lingling, MU Xiaoying, HAN Bing, et al. Ammonium loading disturbed the microbial food webs in biofilms attached to submersed macrophyte *Vallisneria spiralis*[J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 659: 691-698.
- [26] LI X, PENG W, JIA Y, et al. Removal of cadmium and zinc from contaminated wastewater using *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Water Science and Technology*, 2017, 75(11): 2489-2498.
- [27] CRONE S, VIVES-FLOREZ M, KVICI L, et al. The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Apmis*, 2020, 128(3): 220-231.
- [28] YAN Liying, ZHANG Songhe, LIN Da, et al. Nitrogen loading affects microbes, nitrifiers and denitrifiers attached to submerged macrophyte in constructed wetlands[J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 622/623: 121-126.
- [29] YAN, LIYING, ZHANG, et al. Nitrogen loading affects microbes, nitrifiers and denitrifiers attached to submerged macrophyte in constructed wetlands[J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 622/623: 121-126.
- [30] VERMA V, PRASAD Y, SINGH B R. Effect of pH and salinity on pathogenicity of *Flavobacterium columnare* and *Myxobacterium* sp. in Indian cat fish, *Clarias batrachus* (Linn.) and *Heteropneustes fossilis* (Bloch.) [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2011, 32(5): 573-577.
- [31] TZ A, PC A, LZ B, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. TAC-1 at low temperature and high ammonia nitrogen[J]. *Bioresource technology*, 2021, 339: 125620.
- [32] QIAN Z A, XUE C A, ZZ A, et al. Performance and microbial ecology of a novel moving bed biofilm reactor process inoculated with heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria for high ammonia nitrogen wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 315: 123813.
- [33] RUI Z, MPA C, JIAN L, et al. Biogeochemical transformation processes of iron, manganese, ammonium under coexisting conditions in groundwater based on experimental data[J]. *Journal of Hydrology*, 2021, 603: 127120.

(收稿日期:2022-01-04 编辑:刘晓艳)