

DOI:10.3880/j.issn.1004-6933.2020.03.014

新开河4种水生植物表面附着微生物群落特征

张松贺,周甜甜,刘远思

(河海大学环境学院,江苏南京 210098)

摘要:以水生植物金鱼藻、伊乐藻、萍蓬草和菱角为研究对象,利用扫描电镜、荧光显微镜和16S rRNA高通量测序技术,探究不同水生植物表面微生物群落特征。结果表明:沉水植物表面附生藻类密度比浮叶植物的高,且植物表面附生藻类组成与周围水体明显不同;浮叶植物萍蓬草和菱角根部的微生物群落结构与其叶表面的差异较大。4种水生植物表面附着细菌群落优势门类依次为变形菌门、厚壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和疣微菌门,具有水体污染物质净化功能;两种类型水生植物表面附着有大量微生物,且不同植物之间和同种植物不同器官之间的优势种存在一定的差异。

关键词:水生植物;沿水植物;浮叶植物;附生藻类;微生物群落;高通量测序技术

中图分类号:X17 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-6933(2020)03-0083-06

Characteristics of microbial communities in biofilm of four aquatic macrophytes in Xinkai River//ZHANG Songhe, ZHOU Tiantian, LIU Yuansi(College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract: Taking *Ceratophyllum demersum*, *Elodea nuttallii*, *Nuphar pumilum* and *Trapa natans* as the study objects, the distribution of epiphytic microbes and bacterial community structure of different aquatic macrophytes were probed by scanning electron microscopy, fluorescence microscopy and 16S rRNA high-throughput sequencing technology. The results showed that the density of epiphytic algae was higher on the submerged plants than those on the floating plants. And the composition of epiphytic algae was significantly different from that of surrounding water. The community structure on the roots of floating plants (*Nuphar pumilum*, *Trapa natans*) was significantly different from those attached to the leaves. The dominant phyla of bacteria attached to the surface of four aquatic plants were Proteobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Bacteroidetes, Acidobacteria and Verrucomicrobia, which had the function of purifying polluted water. There were a large number of epiphytic microorganisms on two types of plants, and there were some differences in the dominant species between different aquatic macrophytes and between different organs on the same plants.

Key words: aquatic macrophytes; submerged plant; floating plant; epiphytic algae; microbial community; high-throughput sequencing technology

水体污染造成的水生植物消退、藻类暴发以及生物多样性降低等问题已经成为当今社会的热点问题之一^[1-3]。水生植物作为初级生产者,对整个水生生态系统的结构、功能和稳定性具有决定性的影响^[4-5]。水生植物可以直接从水体吸收溶解态氮、磷等营养物质,通过光合作用释放氧气,为水生动物提供食物、栖息和产卵场所,在改善水质、抑制沉积物再悬浮方面起着重要作用^[6-8]。因而,恢复水生植物对修复水生生态系统和防治水体富营养化具有重要的意义。

浮叶植物和沉水植物的叶片通常漂浮或浸没在水面,可以为细菌、藻类和其他微生物提供附着空间,形成微生物群落^[9]。水生植物与生物膜之间存在复杂的相互作用:一方面水生植物可以为附生微生物提供营养物质和微生态位^[10];另一方面水生植物分泌化感物质,导致附生细菌群落的多样性和宿主专一性^[11]。叶片附着生物膜在水体污染物的分解、转化和吸收方面起着重要作用的同时,还为水生植物提供光合作用所必需的二氧化碳,降低植物叶片受到的辐射^[12]。

基金项目:国家自然科学基金(51879084,51579075)

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

然而,对植物表面附着微生物的结构的研究尚不深入。

本研究以自然河流中4种水生植物(典型沉水植物金鱼藻、伊乐藻和典型浮叶植物萍蓬草、菱角)表面的附着微生物为研究对象,利用荧光显微镜和电子显微镜观测水生植物表面附着微生物的分布特征,并对藻类组成进行分析;利用高通量测序技术,比较分析4种水生植物表面细菌群落结构组成的差异性,以为河流水生态修复工程提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 研究区概况及样品采集

水样(取自水面下50 cm处)和植物样品于2015年7月采集于江苏省宿迁市沭阳县新开河(图1)。新开河地处农村,周边以农田为主,无生活污水排入。植物样品采集了沉水植物(金鱼藻和伊乐藻)水面下10~20 cm处的新鲜叶片和浮叶植物(萍蓬草和菱角)新长出的叶片和水面下20~30 cm处的须根。每种植物至少取自3个样品点,同一种植物样品点间隔不少于150 m。

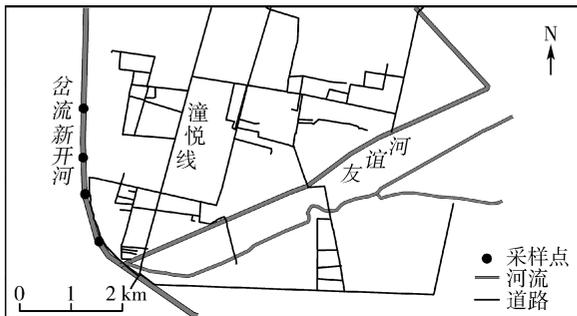


图1 新开河采样点位置

Fig.1 Distribution of sampling sites in Xinkai River

1.2 样品测定

1.2.1 水质测定

TN质量浓度采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法测定,TP质量浓度采用钼酸铵分光光度法测定。河流的TN质量浓度为 (3.07 ± 0.01) mg/L,TP质量浓度为 (0.11 ± 0.04) mg/L,总体来讲水质较好。收集的样品在4℃下冷藏,6 h内运回实验室内保存和处理。

1.2.2 植物表面微生物数和附着藻类密度的测定

采集植物叶片3~5片放入装有10 mL磷酸缓冲液(pH值7.2)的离心管中,在225 r/min的速度下震荡10 min,然后在50 W的功率超声下清洗1 min,将附着微生物从叶片上分离。为测定微生物浓度,选取100 μL不同稀释梯度的混匀洗脱液,并加入700 μL浓度为10 μg/mL的DAPI工作液,避光

染色30 min,过滤至0.22 μm的黑色背景whatman滤膜上,将滤膜制片在荧光显微镜下观察,拍照后计数^[13]。将洗脱完微生物的叶片取出,铺平放置在铺有保鲜膜的玻璃板上,在光下以直尺为对照进行拍照,计算其表面积,后放入65℃烘箱内至恒重,记下干重。

取出适量洗脱液,并加入适量的鲁戈试剂固定。胶头滴管滴2~3滴稀释后的样品于浮游生物计数框中央,盖上盖玻片,小心擦去盖玻片周围多余液体,放在显微镜下用40倍物镜观察。

1.2.3 扫描电镜分析

将切取后的样品依次用30%、50%、70%、80%、90%的酒精脱水各15 min,再用100%的酒精脱水两次,每次15 min,在冷冻干燥仪中干燥12 h后备用。处理后的样品经粘样、喷金后使用日立S-4800场发射扫描电镜进行观察^[9]。

1.2.4 附着生物膜细菌群落结构的测定

洗脱的生物膜的主要来自金鱼藻、伊乐藻、萍蓬根、萍蓬叶、菱角根、菱角叶,将洗脱的生物膜分装、存放于2 mL离心管中冷冻保存(-80℃)。生物膜样品DNA提取按照DNA提取试剂盒(MoBio Laboratories, USA)说明进行,每组样品3个平行样。随后用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性和纯度,同时利用NanoDrop One检测DNA的浓度和纯度。随后对细菌的16S rRNA进行PCR扩增,引物为342F(5'-CTACGGGGGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACCGGGTATCT-3')。PCR反应和高通量测序在上海美吉公司进行,使用Roche 454 GS FLX + Titanium测序平台(Roche 454 Life Sciences, Branford, CT, U. S.)测序。利用QIIME(version 1.17)对原始序列进行处理,得到高质量序列。使用Usearch(vsesion 7.1)按照97%相似性对非重复序列(不含单序列)进行OTU聚类,在聚类过程中去除嵌合体,得到OTU的代表序列。最后采用RDP Classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行分类学分析,并分别在各个分类水平——域、界、门、纲、目、科、属、种统计各样本的群落组成^[14]。

1.3 数据分析

数据的处理及作图使用Origin 8.0。利用PAST生态学分析软件进行聚类分析,利用Heml软件绘制热图(heatmap),运用“circlize”包通过RStudio软件绘制弦图。网络图(network)利用“psych”包基于Spearman相关系数在RStudio软件上分析后,运用Gephi进行可视化分析。

2 结果与分析

2.1 水生植物叶片和根表面附着微生物密度

如表 1 所示,在同一水域中,金鱼藻的单位质量附着微生物密度最大,其次为萍蓬草根、萍蓬草叶、伊乐藻、菱角根和菱角叶。金鱼藻单位叶面积附着微生物密度最大,其次为菱角、萍蓬草和伊乐藻。

表 1 植物表面单位质量和单位叶面积附着微生物密度

Table 1 Density of microorganisms on surface area of leaves and in dry mass of macrophytes

样品	单位质量密度/ (个·g ⁻¹)	单位叶面积密度/ (个·cm ⁻²)	误差值/%
金鱼藻	9.29 × 10 ⁷	1.32 × 10 ⁵	3.52
伊乐藻	7.18 × 10 ⁵	7.61 × 10 ²	1.81
萍蓬草叶	1.23 × 10 ⁶	2.65 × 10 ³	1.88
萍蓬草根	1.42 × 10 ⁶		1.81
菱角叶	6.40 × 10 ⁵	2.84 × 10 ³	2.53
菱角根	6.53 × 10 ⁵		1.85

2.2 水生植物叶片附着生物膜结构特征

图 2 为金鱼藻、伊乐藻、萍蓬草和菱角叶片表面的扫描电镜照片。金鱼藻叶片表面颗粒物较少,生物膜结构不明显,存在少量藻类、杆菌和球菌;伊乐藻叶片表面颗粒物较多,生物膜结构明显,存在大量藻类,未观察到菌落;萍蓬草叶片表面颗粒物很多,生物膜结构不明显,只观察到零散的几个硅藻和杆菌;菱角叶片表面颗粒物较多,生物膜结构明显,观察到大量藻类和杆菌。

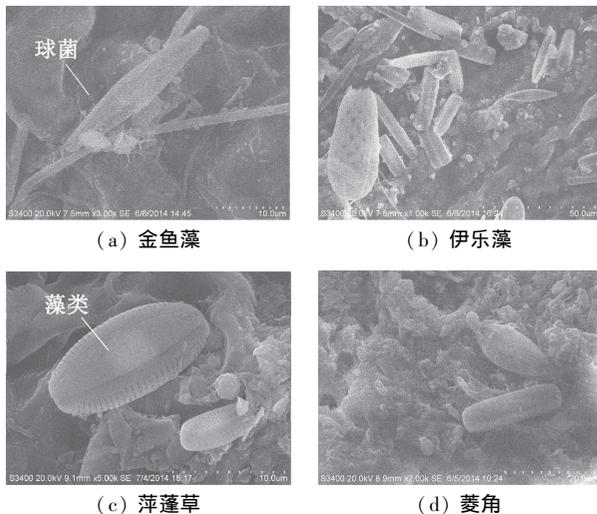


图 2 4 种水生植物叶片表面扫描电镜照片

Fig. 2 SEM photographs of the leaves surface of 4 aquatic macrophytes

2.3 水体中浮游藻类和水生植物叶片表面附着藻类密度及组成

表 2 为水生植物表面的附着藻类密度。在相同水域条件下,植物叶片单位质量附着藻类密度从大到小顺序为:伊乐藻,金鱼藻,萍蓬草,菱角。植物叶

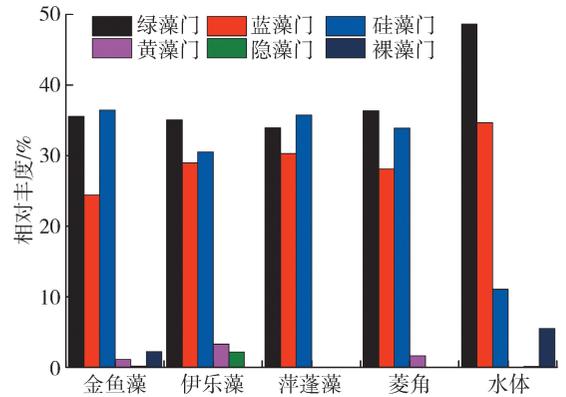
片单位面积附着藻类密度从大到小顺序为:金鱼藻,伊乐藻,菱角,萍蓬草。

表 2 植物单位质量和单位叶面积附着藻类密度

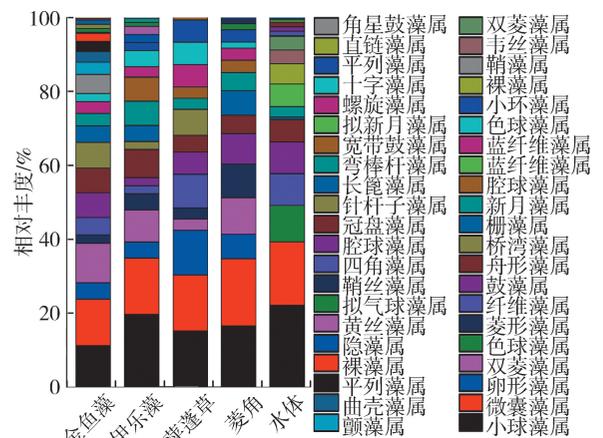
Table 2 The density of algae attached on the surface area of leaves and in dry mass of macrophytes

样品	单位质量密度/ (个·g ⁻¹)	单位叶面积密度/ (个·cm ⁻²)	误差值/%
金鱼藻	1.98 × 10 ⁷	2.82 × 10 ⁴	3.05
伊乐藻	2.59 × 10 ⁷	2.75 × 10 ⁴	3.58
萍蓬草	1.80 × 10 ⁶	3.87 × 10 ³	3.74
菱角	1.14 × 10 ⁶	4.95 × 10 ³	2.61

从新开河水体及水生植物叶片表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 42 个属。不同植物类型表面的藻类有一定的差异,金鱼藻和萍蓬草的优势藻类为硅藻门,其次为绿藻门和蓝藻门;伊乐藻和菱角的优势藻类为绿藻门、硅藻门和蓝藻门;新开河水体里浮游藻类的优势藻类依次为绿藻门、蓝藻门、硅藻门和裸藻门(图 3(a))。



(a) 门水平



(b) 属水平

图 3 植物叶片表面附着藻类和水体浮游藻类相对丰度

Fig. 3 The relative abundance of algae attached in leaves of macrophytes and planktonic algae in water

金鱼藻、伊乐藻、萍蓬草和菱角叶片表面分别检测出 24、20、15 和 15 种藻属,而新开河水体内有 19 种藻属,其中,10 个藻属均存在于 4 种水生植物叶

片上,5个藻属在新开河水体和4种水生植物叶片上均有检出。丰度最高的5个藻属依次为:小球藻、微囊藻、卵形藻、双菱藻和色球藻,其中小球藻和微囊藻在新开河水体和4种水生植物叶片上的比例均较高,尤其是在水体里,卵形藻在萍蓬草上的比例远高于其他样品,而双菱藻在萍蓬草上的比例远低于其他样品,色球藻只存在于水样中(图3(b))。

2.4 水生植物表面附着细菌群落结构与功能

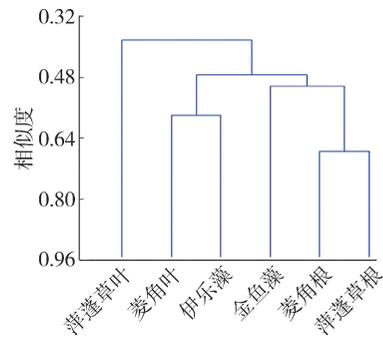
根据高通量数据结果的注释,对多样性指数进行了分析,结果如表3所示。由Ace指数和Chao指数可知,金鱼藻、萍蓬草根和菱角根附着生物膜群落丰度较高。由Shannon指数可知,萍蓬草根、伊乐藻和菱角根附着生物膜群落多样性较高。根据OTU水平上的聚类分析图(图4(a)),可知浮叶植物萍蓬草和菱角的根和叶表面附着细菌群落结构差异较大。

表3 水生植物样品细菌测序数据和多样性指数

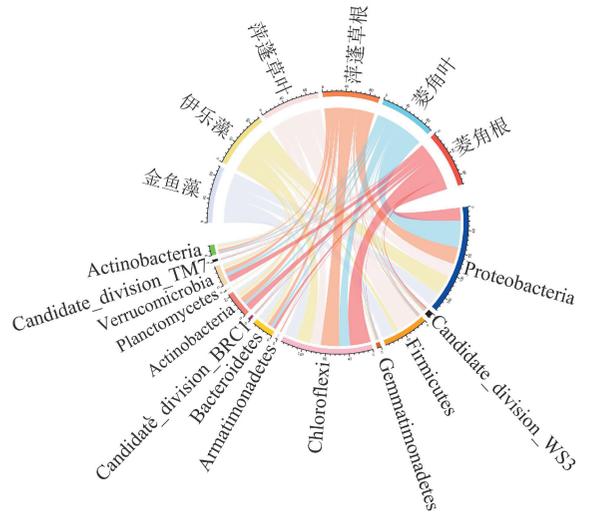
Table 3 Summary of sequences and diversity indexes of bacteria attached to plant samples

样品	高质量序列	OTU 数量	Ace 指数	Chao 指数	Shannon 指数
金鱼藻	16857	1275	2294.29	1942.03	4.85
伊乐藻	10016	1048	1511.51	1528.34	5.74
萍蓬草叶	18453	829	1213.92	1212.28	5.30
萍蓬草根	15926	1293	1903.36	1897.05	6.05
菱角叶	10069	1213	1727.98	1763.95	5.56
菱角根	9344	1184	1740.80	1809.58	5.66

6种表面生物膜样品中共检测出36个细菌门,包含有13个优势门(至少1个样品中的丰度大于1%)。金鱼藻、伊乐藻、萍蓬草和菱角的根叶表面生物膜中优势细菌门类依次为变形菌门(Proteobacteria, 22.66% ~ 48.37%)、厚壁菌门(Firmicutes, 0.97% ~ 41.54%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 18.51% ~ 36.93%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 2.04% ~ 11.86%)、酸杆菌门(Actinobacteria, 3.11% ~ 11.57%)和疣微菌门(Verrucomicrobia, 2.92% ~ 10.69%)。变形菌门在各个样品中相对丰度均较高,尤其在菱角叶片上;厚壁菌门在萍蓬草叶片和金鱼藻上明显高于伊乐藻、萍蓬草根、菱角叶片和根部,且在萍蓬草叶片上最高;拟杆菌门在金鱼藻表面最高;绿弯菌门、酸杆菌门和疣微菌门在菱角根和萍蓬草根表面较高(图4(b))。在属水平上,6个样品中共发现682个细菌属,其中46个属的相对丰度在至少一个样品中大于1%,优势属为微杆菌属(*Exiguobacterium*)、*Caldilineaceae_uncultured*、*Acidaminobacter*属、*Enterobacteriaceae_unclassified*、库特氏菌属(*Kurthia*)、*Acidaminococcaceae_uncultured*和Subgroup_6_norank。



(a) OTU 水平聚类



(b) 门水平弦图

图4 细菌群落 OTU 水平聚类 and 门水平细菌群落与样品之间关系弦图

Fig. 4 Cluster analyses of the bacterial community at the OTU level and chordal graph of relation between bacterial community and samples at the phylum level

基于46个属进行共现性分析,结果如图5所示。至少1个样品中相对丰度大于1%,每个节点代表一个属,每条边代表所连的属间的相关性,去除小于3个属的组,红色表示正相关,蓝色表示负相关。图5有42个节点和102条边,42个属之间呈显著性相关(Spearman's $|r| > 0.6, p < 0.05$),平均度为4.857,平均聚类系数为0.559。在42个节点中,有29个节点的属隶属于变形菌门、厚壁菌门和疣微菌门。在102条边中,其中有68条边连接的属呈正相关,34条边连接的属呈负相关。

3 讨论

沉水植物和浮叶植物及其根系上面都有大量的藻类和细菌等微生物附着,沉水植物附生藻类的密度显著高于浮叶植物^[14],这些和植物叶片的结构差异有关,如金鱼藻的叶片为针状,而伊乐藻的叶片较小,比浮叶植物的比表面积大,能为附着微生物提供更大的固着面积^[15]。浮叶植物的附着微生物主要

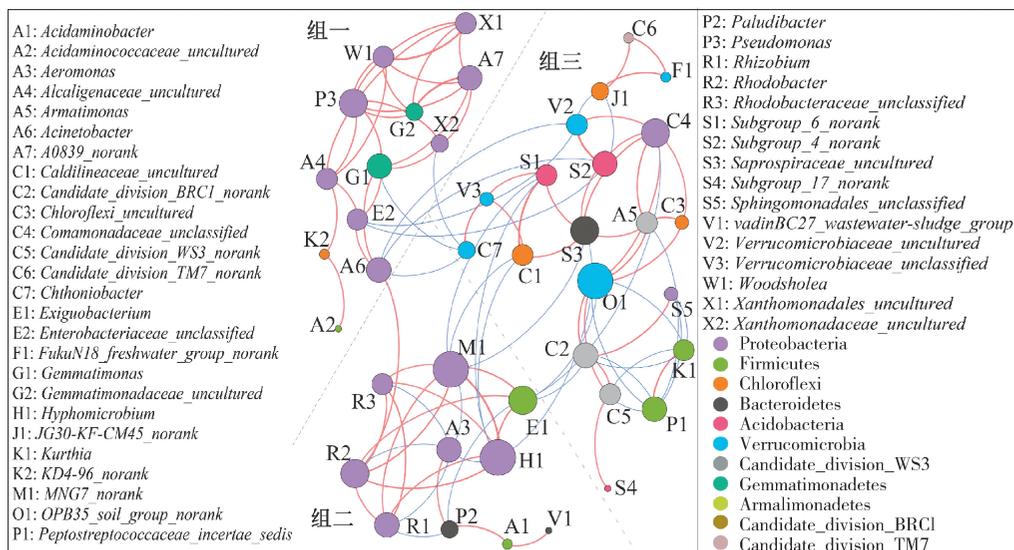


图5 细菌主要属之间相互关系网络图

Fig. 5 The network graph of interrelationships among dominant genera of bacteria

分布在叶片下方,使得藻类获取阳光的效率降低,进而影响藻类的生长^[14]。水体中藻类与不同植物表面附着藻类的群落结构间存在着一定的差异(图3)。这些差异,一方面可能与宿主植物的结构和化感作用有关^[16];另一方面,与浮游藻类相比,附着在沉水植物表面的藻类从水中和植物组织中获取营养方面具有竞争优势。

浮叶植物菱角和萍蓬草根单位质量总菌数、Ace 指数、Chao 指数和 Shannon 指数均大于叶,浮叶植物的根表面细菌群落丰富度和多样性较高。其主要原因一方面是菱角和萍蓬草叶片下表面存在大量的微生物,而叶片上表面由于暴露在空气中会受到紫外线和水分减少的影响导致微生物较少^[17];另一方面是由于它们的根贴近沉积物,附着在根上的微生物栖息于特定的生态位,这些生态位的营养物质来源和环境参数可能受到植物根、地表水、沉积物成分甚至水生动物的影响。因此,水生植物根上附着微生物丰富度和多样性通常高于叶表面。

根据高通量测序结果,4种水生植物根和叶表面附着细菌群落优势门类依次为变形菌门、厚壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和疣微菌门。不同水生植物和同种植物不同器官上附着细菌群落组成均不同,如伊乐藻、菱角叶片、菱角根和萍蓬草根上的优势门为变形菌门和绿弯菌门,而金鱼藻和萍蓬草叶片上的优势门为厚壁菌门、变形菌门和绿弯菌门。这些结果表明不同植物载体乃至组织器官上附着的微生物群落具有一定的差异性,这与洪泽湖内沉水和浮叶植物附着生物膜的结果相似^[14]。已有研究表明,植物化感作用和分泌出的多酚类等物

质可能是造成植物附生微生物量和微生物组成差异的主要因素之一^[14]。细菌群落组成的差异性也可能与空间分布有关,萍蓬草和菱角的叶漂浮在水面上,而金鱼藻和伊乐藻的整个植株浸在水中。水生植物空间分布不同,进而生长环境也不同,水流、光照条件和营养浓度等方面也不同,从而导致细菌群落的差异性。植物表面微生物在水生态系统中能量转换和营养物质的吸收等方面起着关键作用,水生生态系统中水生植物的修复可以增加微生物的多样性和数量,增加生态系统的稳定性。

变形菌门内大多数都是兼性或专性厌氧的异养细菌,对有机物和氮的去除有重要作用^[18]。根据图4,组一和组二内的属间主要呈正相关关系,其中,组一内的属主要来自芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、 α -变形菌纲、 β -变形菌纲和 γ -变形菌纲,主要分布在伊乐藻和菱角叶片表面, γ -变形菌和 β -变形菌是污水处理系统中参与有机质降解的主要细菌^[19-20],具有降解复杂有机大分子的能力。而组二中的属主要来自 α -变形菌纲, *Rhodobacter*、*Rhizobium*、*Rhodobacteraceae_unclassified*、*Hyphomicrobium* 和 *MNG7_norank* 属间呈显著正相关关系,主要分布在浮叶植物叶片上。*Rhodobacter*、*Rhizobium*、*Rhodobacteraceae_unclassified* 和 *Hyphomicrobium* 均是好氧反硝化菌,能在好氧条件下进行反硝化。生丝微菌属可以在处理成熟堆填区渗滤污水方面发挥重要作用,芽孢杆菌属能吸收利用多种有机碳源,假单胞菌属可以降解碳氢化合物。然而, γ -变形菌纲内的 *Aeromonas* 与组二内的 *Hyphomicrobium*、*Rhodobacter* 和 *MNG7_norank* 呈显著负相关关系(主要分布在浮叶植物叶片上),而 *Aeromonas* 也可与厚

壁菌门内的 *Acidaminobacter* 和拟杆菌门内的 *Paludibacter*、*vadinBC27_wastewater-sludge_group* 呈正相关关系(主要分布在金鱼藻上)。有研究显示 *Acidaminobacter*、*Aeromonas* 和 *Paludibacter* 为严格厌氧或兼性厌氧菌^[21]。金鱼藻叶片能够吸附大量悬浮颗粒物,可能为这些厌氧或兼性厌氧菌提供了低氧或无氧环境。

组三内的属来自 10 个门,主要来自疣微菌门和绿弯菌门。其中变形菌门的属 *Comamonadaceae_unclassified* 与酸杆菌门内的 *Subgroup_4_norank*、拟杆菌门的 *Saprospiraceae_uncultured*、绿弯菌门内的 *Chloroflexi_uncultured*、*Armatimonas* 属和疣微菌门内的 *Verrucomicrobiaceae_unclassified* 和 *OPB35_soil_group_norank* 属呈显著正相关关系,主要分布在萍蓬草和菱角的根部;而 *Kurthia* 和 *Peptostreptococcaceae_incertae_sedis* (厚壁菌门,主要分布在萍蓬草叶表面)均与 *OPB35_soil_group_norank*、*Candidate_division_WS3_norank*、*Candidate_division_BRC1_norank* 和 *Sphingomonadales_unclassified* 呈显著负相关关系。绿弯菌门是光合自养菌,兼性厌氧,可降解难降解的有机碳。绿弯菌门可能附着在萍蓬草和菱角靠近沉积物的低氧环境中。有研究表明酸杆菌门在根际土壤中含量丰富,具有较高的代谢活性,而疣微菌门普遍存在于土壤中^[22]。拟杆菌和厚壁菌对有机物的降解起到非常重要的作用。综上所述,呈正相关关系的属以相对较高的丰度出现在同一载体上,而呈负相关关系的属则出现在不同载体上,即不同种类或同种植物不同部位地附着于生物膜内。这些菌的生态功能需要进一步研究。

4 结 论

a. 新开河 4 种水生植物中,沉水植物金鱼藻和浮叶植物萍蓬草、菱角的根表面微生物群落丰度较高;萍蓬草根、伊乐藻和菱角根表面附着群落多样性较高;金鱼藻单位质量和单位面积表面附着总菌数最高,金鱼藻和伊乐藻单位质量和单位面积附着藻类密度最高。

b. 4 种水生植物附生藻类优势门相同,而附生藻类组成与周围水体的藻类组成不同。

c. 不同水生植物表面附着细菌群落结构均不相同,附生细菌群落具有多样性和宿主专一性。萍蓬草和菱角的根表面细菌群落组成相似性较高,而与 4 种水生植物叶片表面细菌群落结构组成差异较大。

参考文献:

- [1] YAN L, ZHANG S, LIN D, et al. Nitrogen loading affects microbes, nitrifiers and denitrifiers attached to submerged macrophyte in constructed wetlands [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 121: 622-623.
- [2] 赵钟楠, 张越, 黄火键, 等. 基于问题导向的水生态文明概念与内涵 [J]. *水资源保护*, 2019, 35 (3): 88-92. (ZHAO Zhongnan, ZHANG Yue, HUANG Huojian, et al. Concept and connotation of aquatic ecological civilization based on problem orientation [J]. *Water Resources Protection*, 2019, 35(3): 88-92. (in Chinese))
- [3] 沈益, 胡南. 多种修复技术对城市内河水水质及微生物群落的影响 [J]. *水资源保护*, 2017, 33 (6): 167-174. (SHEN Yi, HU Nan. Effects of various remediation technologies on water quality and microbial community in urban inland rivers [J]. *Water Resources Protection*, 2017, 33(6): 167-174. (in Chinese))
- [4] YAN L, MU X, HAN B, et al. Ammonium loading disturbed the microbial food webs in biofilms attached to submersed macrophyte *Vallisneria natans* [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 659: 691-698.
- [5] 张松贺, 张丽莎, 韩冰, 等. 轮叶黑藻腐解过程营养物质释放及微生物胞外酶活性变化规律 [J]. *河海大学学报 (自然科学版)*, 2019, 47 (2): 5-11. (ZHANG Songhe, ZHANG Lisha, HAN Bing, et al. Changes of nutrients and enzyme activity during the decomposition process of *Hydrilla verticillatum* [J]. *Journal of Hohai University (Natural Sciences)*, 2019, 47(2): 5-11. (in Chinese))
- [6] 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 Sciences*, 2015, 27 (1): 103-112; (in Chinese))
- [7] MADSEN T V, CEDERGREEN N. Sources of nutrients to rooted submerged macrophytes growing in a nutrient-rich stream [J]. *Freshwater Biology*, 2002, 47(2): 283-291.
- [8] 王苏鹏, 陈吉炜, 刘意恒, 等. 城区河流中沉水植物分布特征及其影响因素分析: 以宁波城区内河为例 [J]. *湖泊科学*, 2019, 31 (4): 1064-1074. (WANG Supeng, CHEN Jiwei, LIU Yiheng, et al. Distribution characteristics of submerged plants in urban rivers and its influencing factors: a case of Ningbo urban rivers [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2019, 31(4): 1064-1074. (in Chinese))
- [9] 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. (下转第 104 页)

- [22] VITHANA C L, SULLIVAN L A, SHEPHERD T. Effect of schwertmannite and jarosite on the formation of hypoxic blackwater during inundation of grass material [J]. *Water Research*, 2017, 124C: 1-10.
- [23] POZO J, BASAGUREN A, ELÓSEGUI A, et al. Afforestation with *Eucalyptus globulus* and leaf litter decomposition in streams of northern Spain [J]. *Hydrobiologia*, 1998, 373-374: 101-110.
- [24] JANSSEN M A, WALKER K F. Processing of riparian and wetland plant litter in the River Murray, South Australia [J]. *Hydrobiologia*, 1999, 411: 53-64.
- [25] 陈书秀, 江明喜. 三峡地区香溪河流域不同树种叶片凋落物的分解 [J]. *生态学报*, 2006, 26(9): 2905-2912. (CHEN Shuxiu, JIANG Mingxi. Leaf litter decomposition dynamics of different tree species in Xiangxi River watershed, the Three Gorges region [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(9): 2905-2912. (in Chinese))
- [26] 施媛媛, 李一平, 罗凡, 等. 桉树人工林区水库底泥氮、磷和有机质时空分布特征 [J]. *水资源保护*, 2018, 34(5): 69-75 (SHI Yuanyuan, LI Yiping, LUO Fan, et al. Distribution of nitrogen, phosphorus and organic matter in sediments of reservoir in *Eucalyptus* plantation [J]. *Water Resources Protection*, 2018, 34(5): 69-75. (in Chinese))
- [27] 李一平, 罗凡, 郭晋川, 等. 我国南方桉树 (*Eucalyptus*) 人工林区水库突发性泛黑形成机理初探 [J]. *湖泊科学*, 2018, 30(1): 15-24. (LI Yiping, LUO Fan, GUO Jinchuan, et al. Mechanism of "black-water" occurrence in the reservoirs with *Eucalyptus* plantation, southern China [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, 30(1): 15-24. (in Chinese))
- [28] 盛东, 徐兆安, 高怡. 太湖湖区“黑水团”成因及危害分析 [J]. *水资源保护*, 2010, 26(3): 41-44. (SHENG Dong, XU Zhaoan, GAO Yi. Case and impact analysis of black water cluster in Taihu Lake [J]. *Water Resources Protection*, 2010, 26(3): 41-44. (in Chinese))

(收稿日期: 2019-06-12 编辑: 彭桃英)

(上接第 88 页)

- [10] 吕小央, 张松贺, 刘凯辉, 等. 水生植物-生物膜体系的生态功能与互作机制研究进展 [J]. *水资源保护*, 2015, 31(2): 20-25. (LYU Xiaoyang, ZHANG Songhe, LIU Kaihui, et al. Advances in ecological function and interaction mechanism of aquatic macrophyte-biofilm system [J]. *Water Resources Protection*, 2015, 31(2): 20-25. (in Chinese))
- [11] 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.
- [12] KLANCNIK K, GRADINJAN D, GABERSCIK A. Epiphyton alters the quantity and quality of radiation captured by leaves in submerged macrophytes [J]. *Aquatic Botany*, 2015, 120: 229-235.
- [13] CAI X, GAO G, YANG J, et al. An ultrasonic method for separation of epiphytic microbes from freshwater submerged macrophytes [J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(7): 758-761.
- [14] PANG S, ZHANG S, LYU X, et al. Characterization of bacterial community in biofilm and sediments of wetlands dominated by aquatic macrophytes [J]. *Ecological Engineering*, 2016, 97: 242-250.
- [15] CATTANEO A, GALANTI G, GENTINETTA S, et al. Epiphytic algae and macroinvertebrates on submerged and floating-leaved macrophytes in an Italian lake [J]. *Freshwater Biology*, 1998, 39(4): 725-740.
- [16] KUCZYNSKA N, MESSYASZ B, NAGENGAST B, et al. A comparative study of periphyton communities on reed complex and *Chara tomentosa* in three shallow lakes of Wielkopolska area, Poland [J]. *Biologia (Lahore, Pakistan)*, 2005, 60(4): 349-355.
- [17] JACOBS J L, SUNDIN G W. Effect of solar UV-B radiation on a phyllosphere bacterial community [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(12): 5488-5496.
- [18] LI A, YANG S, LI X, et al. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates [J]. *Water Research*, 2008, 42(13): 3552-3560.
- [19] YUAN X, QIAN X, ZHANG R, et al. Performance and microbial community analysis of a novel bio-cord carrier during treatment of a polluted river [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117: 33-39.
- [20] 翟一帆, 袁青彬, 胡南. 养猪废水处理系统微生物群落结构变化及影响因素研究 [J]. *水资源保护*, 2018, 34(1): 88-94. (ZHAI Yifan, YUAN Qingbin, HU Nan. Study on structure variation and influencing factors of microbial community in swine wastewater treatment system [J]. *Water Resources Protection*, 2018, 34(1): 88-94. (in Chinese))
- [21] UEKI A, AKASAKA H, SUZUKI D, et al. *Paludibacter propionicigenes* gen. nov., sp. nov., a novel strictly anaerobic, gram-negative, propionate-producing bacterium isolated from plant residue in irrigated rice-field soil in Japan [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56: 39-44.
- [22] BERGMANN G T, BATES S T, EILERS K G, et al. The under-recognized dominance of verrucomicrobia in soil bacterial communities [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(7): 1450-1455.

(收稿日期: 2020-01-05 编辑: 彭桃英)