

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第10期

Vol.38 No.10

**2017**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

中国城市热岛时空特征及其影响因子的分析 ..... 曹畅, 李旭辉, 张弥, 刘寿东, 徐家平 (3987)  
卫星遥感在 NO<sub>x</sub> 总量控制中的应用 ..... 武卫玲, 薛文博, 王燕丽, 雷宇 (3998)  
京津冀城市群空气污染的模式总结与治理效果评估 ..... 王振波, 梁龙武, 林雄斌, 刘海猛 (4005)  
南京北郊冬春季气溶胶数浓度变化特征分析 ..... 吴丹, 张璠, 刘刚, 吴明, 夏俊荣, 盖鑫磊, 李凤英, 杨孟 (4015)  
冬季临安大气本底站气溶胶来源解析及其粒径分布特征 ..... 施双双, 王红磊, 朱彬, 林旭, 郭婷, 沙丹丹, 蒋琳, 张玉欣, 师远哲 (4024)  
成都市大气颗粒物粒径分布及水溶性离子组成的季节变化特征 ..... 陶月乐, 李亲凯, 张俊, 李斯奇, 李晓东 (4034)  
泉州市大气 PM<sub>2.5</sub> 中水溶性离子季节变化特征及来源解析 ..... 张云峰, 于瑞莲, 胡恭任, 孙境蔚, 张棕巍, 许文质 (4044)  
2011~2012 年北京大气 PM<sub>2.5</sub> 中重金属的污染特征与来源分析 ..... 周雪明, 郑乃嘉, 李英红, 段菁春, 谭吉华, 张元勋, 贺克斌, 马永亮 (4054)  
厦门海沧区 PM<sub>2.5</sub> 中金属元素污染评价及来源分析 ..... 赵莉斯, 于瑞莲, 徐玲珍, 胡恭任, 吴鑫, 陈衍婷 (4061)  
道路扬尘 PM<sub>2.5</sub> 中金属元素污染特征及健康风险评价 ..... 张静, 张衍杰, 方小珍, 李风华, 吴琳, 毛洪钧 (4071)  
福建九仙山大气 PM<sub>10</sub> 及部分化学组成的季节变化 ..... 魏雅, 林长城, 胡清华, 吴水平 (4077)  
北京城区冬季空气污染时期 C2~C6 碳氢化合物含量特征 ..... 李月, 魏巍, 杨干, 陈东升, 程水源, 韩力慧 (4084)  
2016 年北京市春节大气颗粒物污染特征激光雷达监测分析 ..... 石琳琳, 李令军, 李倩, 姜磊, 周一鸣, 李云婷, 刘保献, 张大伟 (4092)  
廊坊市夏季臭氧体积分数影响因素及生成敏感性 ..... 李磊, 赵玉梅, 王旭光, 刘炜, 佟洁, 宋丽芸, 李怀瑞, 王清川 (4100)  
人类活动对漓江地表水体水-岩作用的影响 ..... 李磊, 赵玉梅, 王旭光, 刘炜, 佟洁, 宋丽芸, 李怀瑞, 王清川 (4108)  
岩溶区水库冬季溶解有机质组成特征及来源:以桂林五里峡水库为例 ..... 卢晓漩, 彭文杰, 李强, 房君佳, 靳振江, 宋昂, 黄炳惠, 于爽 (4120)  
岩溶关键带微量元素运移的时空变化:以豫西鸡冠洞为例 ..... 梁沙, 杨琰, 张娜, 孙喆, 张萍, 田宁, 凌新有, 任小敏 (4130)  
龟石水库夏季富营养化状况与蓝藻水华暴发特征 ..... 苟婷, 马千里, 王振兴, 王丽, 姚玲爱, 许振成, 赵学敏, 梁荣昌, 蓝郁 (4141)  
阿哈水库叶绿素 a 时空分布特征及其与藻类、环境因子的关系 ..... 罗宜富, 李磊, 李秋华, 焦树林, 李红梅, 陈峰峰 (4151)  
天目湖沙河水库浮游植物群落结构的时空异质性 ..... 孙祥, 朱广伟, 杨文斌, 朱梦圆, 许海, 国超旋, 余丽, 史浩辰, 杭心语, 徐涤非 (4160)  
程海沉积物重金属时空变化及人为污染与潜在生态风险 ..... 于真真, 刘恩峰, 张恩楼, 林琪, 沈吉, 王荣, 李艳玲 (4169)  
自然降雨条件下红壤坡地磷素随径流垂向分层输出特征 ..... 左继超, 郑海金, 奚同行, 王凌云, 聂小飞, 刘昭 (4178)  
邻苯二甲酸酯在三峡库区消落带非淹水期土壤中污染特征及健康风险 ..... 杨婷, 何明靖, 杨志豪, 魏世强 (4187)  
滦河干流水体多环芳烃与有机氯农药季节性分布、组成及源解析 ..... 王乙震, 张世禄, 孔凡青, 袁媛 (4194)  
潍坊滨海经济技术开发区饮用水中有机磷酸酯的水平及人体暴露风险评估 ..... 董政, 马玉龙, 李珺琪, 袁浩东, 金军, 王英 (4212)  
道路灰尘中有机磷阻燃剂污染特征及人体暴露 ..... 李静, 王俊霞, 许婉婷, 尚荣双, 顾海东, 温耀进, 张丽君 (4220)  
居民经手口途径摄入含 PAHs 颗粒物的致癌风险评价 ..... 佟瑞鹏, 杨校毅, 张磊, 程蒙召 (4228)  
基于空间自相关的地下水脆弱性时空演变 ..... 刘宇, 兰双双, 张永祥, 李芳春, 侯树楷 (4236)  
Ag-AgI/CN/MA 复合物的制备及其可见光催化性能 ..... 张塞, 张丽丽, 胡春 (4245)  
凤眼莲对富营养化水体中氨氮化和反硝化微生物的影响 ..... 李洁, 蒋丽娟, 王晓琳, 肖琳 (4253)  
利用含 Cu(II) 废水强化微生物燃料电池处理含 Cr(VI) 废水 ..... 熊晓敏, 吴夏芈, 贾红华, 雍晓雨, 周俊, 韦萍 (4262)  
生态高负荷土地快速渗滤系统处理猪场废水的效能及微生态 ..... 宿程远, 刘凡凡, 钟余, 黄智, 郑鹏, 农志文, 卢宇翔 (4271)  
细菌对城市污水中小球藻生长和油脂积累的影响 ..... 涂仁杰, 金文标, 韩松芳, 陈洪一 (4279)  
污水处理厂消毒技术对抗生素抗性菌的强化去除 ..... 刘亚兰, 马岑鑫, 丁河舟, 邱勇, 李冰, 王硕, 李激 (4286)  
AnMBR-A-MBR 和 A<sup>2</sup>-MBR 工艺处理焦化废水效果与急性毒性物质特征对比 ..... 朱佳迪, 李菲菲, 陈吕军 (4293)  
基于实时控制技术的 CANON 工艺稳定性运行 ..... 孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 李星, 曹相生 (4302)  
新型硫铁复合填料强化再生水深度脱氮除磷 ..... 周彦卿, 郝瑞霞, 刘思远, 王丽莎 (4309)  
连续流亚硝化中试反应器的启动及其能力提升 ..... 朱强, 刘凯, 董石语, 顾澄伟, 王凡, 李祥, 黄勇 (4316)  
基于不同接种污泥复合型厌氧氨氧化反应器的快速启动特征 ..... 阎刚, 李田, 徐乐中, 沈耀良, 吴鹏, 张婷, Samwine Thomas (4324)  
两段式曝气对好氧颗粒污泥脱氮性能的影响 ..... 王文啸, 卞伟, 王盟, 阚睿哲, 赵青, 梁东博, 李军 (4332)  
醋糟高效厌氧消化体系构建 ..... 周云龙, 许之扬, 赵明星, 施万胜, 黄振兴, 何迪, 阮文权 (4340)  
基于总量及形态的土壤重金属生态风险评价对比:以龙岩市适中镇为例 ..... 王蕊, 陈明, 陈楠, 刘冠男, 张二喜, 刘晓端, 张佳文 (4348)  
锌冶炼区耕地土壤和农作物重金属污染状况及风险评价 ..... 陈凤, 董泽琴, 王程程, 韦雪花, 胡宇, 张丽娟 (4360)  
三峡库区典型消落带 CH<sub>4</sub> 排放的变化特征及影响因素 ..... 柴雪思, 郝庆菊, 黄哲, 范志伟, 江长胜 (4370)  
地膜覆盖对菜地生态系统 N<sub>2</sub>O 排放的影响 ..... 冯迪, 郝庆菊, 张凯莉, 石将来, 石孝均, 江长胜 (4380)  
不同用量竹炭对污泥堆肥过程温室气体排放的影响 ..... 向秋洁, 杨雨洽, 张成, 相欣奕, 木志坚 (4390)  
半固态培养条件下烟曲霉去除土壤中镉 ..... 陈耀宁, 汪元南, 黎媛萍, 李辉, 陈艳容, 伍艳馨, 苟宇, 朱福造, 张道利, 刘耀, 曾光明 (4398)  
猪粪堆肥过程中金霉素去除及重金属形态变化 ..... 温沁雪, 曹永森, 陈志强 (4405)  
堆肥-生物强化对重度石油污染土壤的修复作用 ..... 吴蔓莉, 陈凯丽, 叶茜琼, 祁燕云, 徐会宁, 王卓, 薛鹏飞, 朱常琳 (4412)  
微生物多样性对土壤碳代谢特征的影响 ..... 安丽芸, 李君剑, 严俊霞, 李洪建 (4420)  
冬小麦田 O<sub>3</sub> 气孔与非气孔沉降及风险评估 ..... 徐静馨, 郑有飞, 赵辉, 储仲芳, 黄积庆, 袁月 (4427)  
中国西南酸雨区降水化学特征研究进展 ..... 周晓得, 徐志方, 刘文景, 武瑶, 赵童, 蒋浩 (4438)  
《环境科学》征稿简则(4261) 《环境科学》征订启事(4270) 信息(4186, 4404, 4446)

# 凤眼莲对富营养化水体中氨氧化和反硝化微生物的影响

李洁, 蒋丽娟, 王晓琳, 肖琳\*

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化国家重点实验室, 南京 210023)

**摘要:** 凤眼莲近年来广泛应用于富营养化淡水湖泊的生态修复中, 但其对微生物的相互作用和对水体中氮素的去除鲜有报道. 本研究在氮素去除过程中对比凤眼莲和细菌的相对重要性, 并且检测浮游植物对硝化细菌和反硝化细菌相对丰度及多样性的影响. 水体中氮素的去除率以及硝化和反硝化作用的潜在能力使用定量聚合酶链式反应 (qPCRs) 对硝化作用基因 *amoA* 和反硝化作用基因 *nirS/K* 进行检测, 从微观角度研究富营养化水体中是否会受到凤眼莲存在的影响. 结果表明, TN 的减少在 70 d 的实验周期中所有处理组表现较为一致, 但凤眼莲存在的实验组在 24 h 内 TN 和  $\text{NH}_4^+$ -N 的去除上有显著的降低, 并且 *amoA* 的丰度有所增加, *nirS/K* 的丰度有所降低. T-RFLP 结果表明亚硝化单胞菌在氨氧化微生物中占优势. 凤眼莲的种植可以实现富营养化水体中  $\text{NH}_4^+$ -N 的快速有效减少, 且微生物的相互作用可以充分利用到淡水生态系统的修复中.

**关键词:** 凤眼莲; 氮素; *amoA*; *nirS/K*; T-RFLP

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)10-4253-09 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201701179

## Effect of *Eichhornia crassipes* on Ammonia Oxidation and Denitrification Microorganisms in Eutrophic Freshwaters

LI Jie, JIANG Li-juan, WANG Xiao-lin, XIAO Lin\*

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*, is widely used for the ecological restoration of eutrophic freshwater bodies, but little is known about its microbial interactions and nitrogen removal potential. In this study, we compared the relative importance of *E. crassipes* and bacteria in nitrogen removal. We also examined the plant's ability to modulate the abundance and diversity of nitrifying and denitrifying bacteria. Nitrogen removal and the genetic potential for nitrification and denitrification, determined using quantitative polymerase chain reactions (qPCRs) of the nitrification gene *amoA* and the denitrification genes *nirS/K*, were evaluated in microcosms containing water from a eutrophic lake with or without *E. crassipes*. The results showed that total nitrogen (TN) losses on day 70 of the experiment were similar in all treatments but the uptake by *E. crassipes* resulted in the rapid (within 24 h) removal of TN and  $\text{NH}_4^+$ -N. In microcosms containing *E. crassipes*, the abundance of *amoA* increased whereas the abundances of *nirS/K* decreased. The T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) profiles showed that *Nitrosomonas* dominated the ammonia-oxidizing prokaryotes, based on the DNA and RNA levels of the targeted genes. The *E. crassipes* cultivation can be used to achieve fast and efficient reductions in  $\text{NH}_4^+$ -N concentrations in eutrophic water bodies. While this aquatic macrophyte may not be essential to N removal, considering the potential toxicity of  $\text{NH}_4^+$ -N, both aquaphytes and microbes should be fully exploited in the restoration of freshwater ecosystems.

**Key words:** *Eichhornia crassipes*; nitrogen; *amoA*; *nirS/K*; T-RFLP

富营养化水体中过多的氮素对水体生态系统产生诸多危害, 在各种形态的氮之中, 氨氮对水中的生物毒害相对较大<sup>[1]</sup>. 水生植物吸收大量营养元素, 去除水体中多余的氮和磷, 因此用于富营养化水体的修复上<sup>[2~4]</sup>. 水生植物对氮元素去除的影响因素包括颗粒沉降过程、微生物硝化作用和反硝化作用以及物理化学反应<sup>[5]</sup>. 然而, 最近研究表明在水生植物修复水体系统中, 氮转化微生物起着重要的作用. 事实上, 虽然水生植物吸收是氮去除的主要途径<sup>[6]</sup>, 但通过微生物硝化作用和反硝化作用所去除的氮素总量可能高于水生植物本身吸收去除的氮素总量<sup>[7~9]</sup>.

凤眼莲 (*Eichhornia crassipes*) 对水体中铵态氮和硝态氮均有较强的去除能力<sup>[10~12]</sup>, 并大规模地应用于生态系统修复中<sup>[12,13]</sup>. 并且凤眼莲能够通过直接和间接的影响提高微生物对氮的去除作用. 例如, 凤眼莲能够为微生物的附着提供良好的环境<sup>[14]</sup>, 并且能够通过根系分泌物为微生物的代谢提供氧气和有机化合物<sup>[15]</sup>. 此外, 凤眼莲发达的叶片

收稿日期: 2017-01-20; 修订日期: 2017-05-08

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2012ZX07101006)

作者简介: 李洁 (1992~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物学, E-mail: 1035227946@qq.com

\* 通信作者, E-mail: xiaolin@nju.edu.cn

对水面的覆盖度较高,导致对水体中光线的遮挡,进而对微生物产生影响<sup>[16,17]</sup>,改变浮游植物微生物群落结构从自养型到混合营养型和异养型<sup>[18]</sup>.调节硝化和反硝化作用的重要因素中相关细菌群落的结构和丰度最为重要<sup>[19]</sup>.鉴于凤眼莲在调节微生物硝化和反硝化作用中的复杂作用<sup>[20-22]</sup>,凤眼莲对氮的去除机制以及相关微生物群落活性研究涉及较少.但是,凤眼莲对硝化细菌和反硝化细菌多样性及丰度的影响是修复富营养化水体的关键<sup>[16,17]</sup>.

定量聚合酶链式反应(qPCRs)和末端限制性片段长度多样性(T-RFLPs)被用于评估水生生态系统中的硝化细菌[氨氧化古菌(AOA)-*amoA*、氨氧化细菌(AOB)-*amoA*]<sup>[23]</sup>.但基于DNA的功能基因分析并不能代表基因表达和基因活性<sup>[24]</sup>.因此,本研究为了评估凤眼莲根系及分根系对氨氧化和反硝化微生物的影响,比较水生植物和微生物对氮元素的去除能力,在实验室建立凤眼莲存在的模拟富营养化水体环境,考察:①氮素循环的微生物的变化;②基于DNA和RNA的细菌群落结构变化;③参与氮素转化的相关基因丰度变化(*amoA*、*nirS/K*).

## 1 材料与方法

### 1.1 体系构建

凤眼莲幼苗和水样均采自太湖(N 30°55'40"~31°32'58", E 119°52'32"~120°36'10"),实验之前,对凤眼莲在实验室进行预培养.7 d后称取自然淋干水后大小基本一致的新鲜凤眼莲植株.植株平均株高(28.7±2) cm,平均根长为(30.2±3) cm,平均湿重为80~90 g.投放于装有360 L上述湖水的实验装置中(长0.6 m×宽0.6 m×高1.2 m).设置3组处理:①凤眼莲存在的水体处理T1:该处理中凤眼莲盖度为95%,模拟凤眼莲在水体中大面积定植;②水面遮光处理T2:将95%的水面进行遮光处理,模拟凤眼莲叶面对水体光线的遮挡,同时,在与T1根际深度相同的位置放置长约30 cm的若干弹性立体填料和软性填料,模拟凤眼莲根系;③未遮光处理T3:在与T1和T2相同的位置放置与凤眼莲根系等长的若干弹性立体填料和软性填料,无凤眼莲,无遮光.实验在恒温室进行,温度设定为25℃,光照强度为250 μmol·(m<sup>2</sup>·s)<sup>-1</sup>,光照/黑暗周期为12 h/12 h.实验于第0 d开始取样并进行不同处理,每次采样时间均为09:00左右.在第0、1、4、7、10、15、21、28、42、49、70 d采集样品用于分析理化指标、功能基因丰度和

微生物群落结构.

### 1.2 理化指标的测定

总氮(TN)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)、亚硝态氮(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N)的测定均采用文献[25]中的方法.

### 1.3 DNA、RNA的提取

水样经0.22 μm滤膜过滤后,总DNA按照Kurmayer等<sup>[26]</sup>的方法进行提取.提取RNA的样品经0.22 μm滤膜过滤后立即放到液氮中冷冻,使用RNAiso kit (Takara)进行提取.使用RNeasy mini kit试剂盒对RNA进行纯化.使用PrimeScript® RT Master Mix (Takara)进行反转录.cDNA存放在-80℃冰箱中以备使用.

### 1.4 定量PCR

定量PCR采用20 μL反应体系[10 μL SYBR® Premix Ex Taq™ (Takara), 100 nmol·L<sup>-1</sup>引物,和1.5 μL模板DNA].细菌和古菌的*amoA*基因分别采用*amoA1F/amoA2R-TC*<sup>[27]</sup>和*Arch-amoAF/Arch-amoAR*<sup>[28]</sup>,扩增条件为:94℃,2 min后进行40个循环扩增(94℃,20 s;57℃(AOB),30 s或者55℃(AOA),30 s;72℃,30 s).反硝化基因*nirK*和*nirS*分别用引物为1F/5R<sup>[29]</sup>和cd3af/r3cd<sup>[30]</sup>.*nirK*扩增条件为:94℃,2 min后进行40个循环扩增(94℃,15 s;60℃,60 s),*nirS*扩增条件为:94℃,2 min后40个循环(94℃,30 s;57℃,45 s;72℃,45 s).PCR产物在65℃至99℃进行熔解曲线中的荧光测定,数据用Rotor-Gene 6000 (version 1.7)进行分析.标准曲线的制备参照Chen等的方法<sup>[31]</sup>.本试验AOB *amoA*扩增效率为91%~101% ( $R^2$ 为0.995~0.999);AOA *amoA*扩增效率为103%~109% ( $R^2$ 为0.994~0.999);*nirK*扩增效率为101%~109% ( $R^2$ 为0.992~0.995);*nirS*扩增效率为103%~108% ( $R^2$ 为0.993~0.999).

### 1.5 T-RFLP分析

DNA和反转录所得cDNA进行16S rDNA和*amoA*片段的PCR扩增,所用引物分别为27F/1492R和*amoA1F/amoA2R-TC*.在正向引物的5'端标记荧光物质(CY-5).每个样品做三管重复,然后将PCR产物合并,经纯化后分别使用Hae III、Taq I两种限制性内切酶进行消化37℃,4 h.使用Beckman Coulter CEQ 8000 Genetic Analysis System进行T-RFLP分析.取荧光强度100 cd为检测限,并用CEQ 8000 Genetic Analysis Software 9.0计算大于检测限的峰高、峰面积以及出峰处末端限制性片

段(T-RF)的长度,若相邻两个峰相差在 $1 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ 之内,将其合并为一个峰。

## 1.6 统计分析

水体理化指标和定量PCR数据用SPSS 13.0软件进行One-Way ANOVA(先采用Z score将数据标准化,去除偏差较大值)。平均数的比较采用Fisher's LSD检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 理化指标的变化

在实验的开始和结束时检测总氮含量,以表明

凤眼莲和相关微生物在氮素去除过程中的作用。上部区域(U;根际T1或模拟根际T2)总氮去除率T2U明显高于包含凤眼莲的T1U( $P < 0.05$ ),同时T1U和T3U没有显著区别。然而,在T1中,由于凤眼莲的存在导致总氮去除率达到75.58%。在实验结束时,上部区域的 $\text{NH}_4^+$ -N去除率高于底部(B)区域,但在3个处理组之间没有显著差异。唯一的例外是实验组2B,其中 $\text{NH}_4^+$ -N去除率(85.86%)显著低于其他两个处理组(分别为95.71%和93.24%)。对于 $\text{NO}_3^-$ -N,3U的去除率(91.48%)明显高于T1U(77.29%)和T2U(76.38%)。

表1 各处理组的氮去除率<sup>1)</sup>/%

Table 1 Nitrogen removal/%

处理组	TN	$\text{NH}_4^+$ -N	$\text{NO}_3^-$ -N
T1U(凤眼莲根区)	87.60 ± 8.89 b (凤眼莲吸收占75.58%)	96.79 ± 5.00 a	77.29 ± 5.29 bc
T2U(遮光模拟根区)	91.78 ± 3.61 a	95.35 ± 4.00 ab	76.38 ± 5.57 c
T3U(未遮光模拟根区)	80.21 ± 8.72 bc	95.38 ± 4.36 ab	91.48 ± 4.00 a
T1B(凤眼莲底层)	86.71 ± 8.66 b	95.71 ± 2.65 ab	83.11 ± 5.20 b
T2B(遮光底层)	88.90 ± 2.65 c	85.86 ± 2.65 c	82.33 ± 4.36 b
T3B(未遮光底层)	87.38 ± 5.00 b	93.24 ± 6.90 b	90.96 ± 1.00 ab

1)具有相同字母表示数据间无显著差异,a、b、c表示数据由大到小;T1是存在凤眼莲的水体,T2将95%的水面进行遮光处理并且在与T1根际深度相同的位置放置若干弹性立体填料和软性填料,T3是仅具有与凤眼莲根系等长的若干弹性立体填料和软性填料;U和B分别表示每个实验的上部和底部区域

氮元素随时间的变化曲线如图1所示。总体而言,所有处理中TN浓度均逐渐降低(图1)。在前7d,1U中的TN水平从 $8.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至 $4.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对应的去除率为46.40%。在前15d,T1U和T1B的TN低于T2和T3( $P < 0.05$ )。然而,在第15d和第21d之间,T1U的TN去除率下降到0.02%,而在T2U和T3U中,TN去除率分别增加到46.24%和46.05%。从第48d直到实验结束(第70d),T2U和T3U中的TN浓度 $< 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而在1U中,TN浓度较高,在第70d测量的浓度为 $1.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

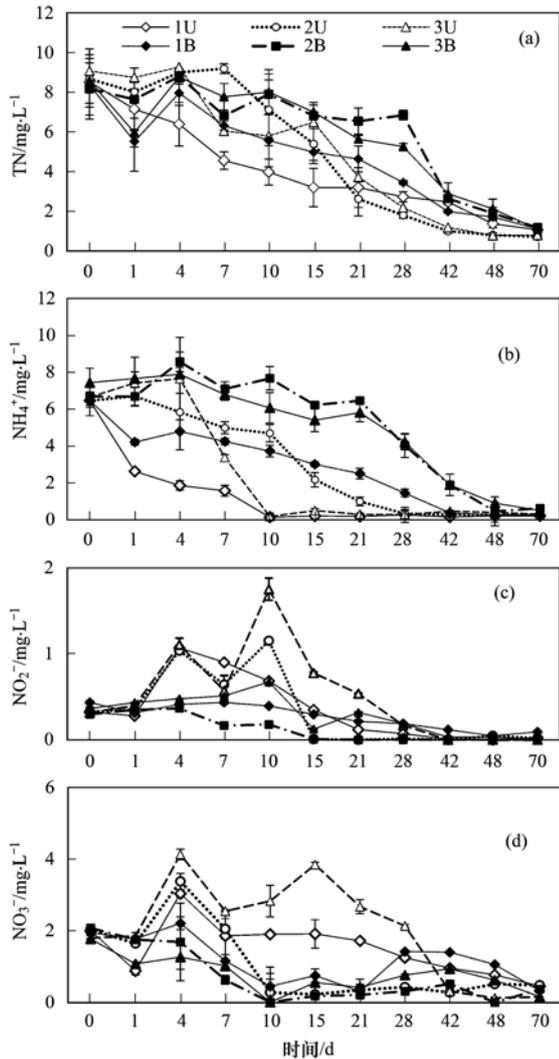
在实验第1d,仅1U[图1(b)]中 $\text{NH}_4^+$ -N的浓度减少( $6.46 \sim 2.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),而 $\text{NO}_2^-$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N[图1(c)和1(d)]没有相应增长,表明在实验前24h内没有发生明显的硝化作用。在第4~7d,所有处理中均出现 $\text{NH}_4^+$ -N减少, $\text{NO}_2^-$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N增加的情况,证明氨氧化细菌和亚硝酸盐氧化细菌(NOB)利用了水中的溶解氧(图1)。在最初7d内,1U的 $\text{NH}_4^+$ -N去除率最高,即凤眼莲的根际(从第0d的 $6.46 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 到第7d的 $1.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,75.70%),其次是T3U(49.30%),T1B(34.30%)

和T2U(22.90%)。在第10d,T1U和T3U中的 $\text{NH}_4^+$ -N浓度分别降低至 $0.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,之后保持恒定。相比之下,在T2U中, $\text{NH}_4^+$ -N水平降低至 $0.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 需要28d。在第2d和第28d之间的 $\text{NO}_2^-$ -N水平在T3U中最高,从第7d起,在T2B中最低[图1(c)]。与 $\text{NO}_2^-$ -N相似, $\text{NO}_3^-$ -N浓度在第2d和第28d之间在T3U中最高,随后为T1U[图1(d)]。到实验结束时,在每个处理的上部区域中的 $\text{NO}_2^-$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N浓度高于在底部区域中的 $\text{NO}_2^-$ -N和 $\text{NO}_3^-$ -N浓度。

### 2.2 氨氧化和亚硝酸还原酶的基因丰度

逆转录-qPCR显示AOA-*amoA*和AOB-*amoA*的丰度在T1中高于其他处理组(图2)。此外,在T1中,AOB-*amoA*的丰度显著增加,在42d的时间(从第0d的 $9.7 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ )增加了10~160倍。明显高于T2U和T3U中的0.25~6.35倍和0.4~4.13倍。相比之下,在所有处理组中AOA-*amoA*的相对丰度几乎没有增加;事实上,除了T1U,15d后所有位点的该基因的拷贝数都减少了。

与*amoA*不同,T2和T3中的*nirK*和*nirS*丰度



U 和 B 分别表示每个实验的上部和底部区域,下同

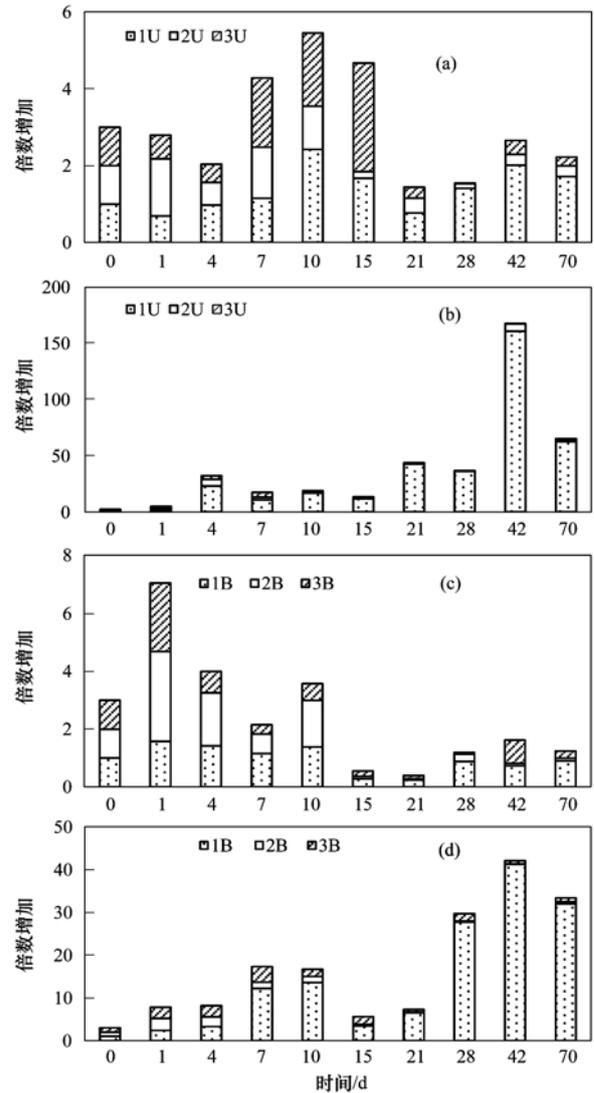
图1 T1、T2和T3处理组培养期间TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的变化曲线

Fig. 1 Variation in profiles of TN,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ , and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  during cultivation in T1, T2, and T3 microcosms

的增加均高于T1(图3)。这个现象表明凤眼莲抑制携带这些基因的细菌的增殖。此外,在所有3种处理中它们的拷贝数和增长率在底部区域比上部区域高。对于 $nirS$ 基因,在所有处理组和时间点从 $3.56 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 变化到 $1.67 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ,与 $nirK$ 的拷贝数相比均表现出10~100倍的差异。

### 2.3 AOB群落组成

AOB- $amoA$ 基因的T-RFLP分析显示不论在DNA还是RNA水平上,亚硝化单胞菌都是优势种群。对于每个样品,在DNA和RNA水平上AOB- $amoA$ 的主要T-RF均不相同。代表亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas europaea*)的T-RF 219,在所有样品(图4)的DNA和RNA中占优势,然后是代表亚硝



(a) 实验体系上部 AOA- $amoA$  基因; (b) 实验体系上部 AOB- $amoA$  基因; (c) 实验体系底部 AOA- $amoA$  基因; (d) 实验体系底部 AOB- $amoA$  基因

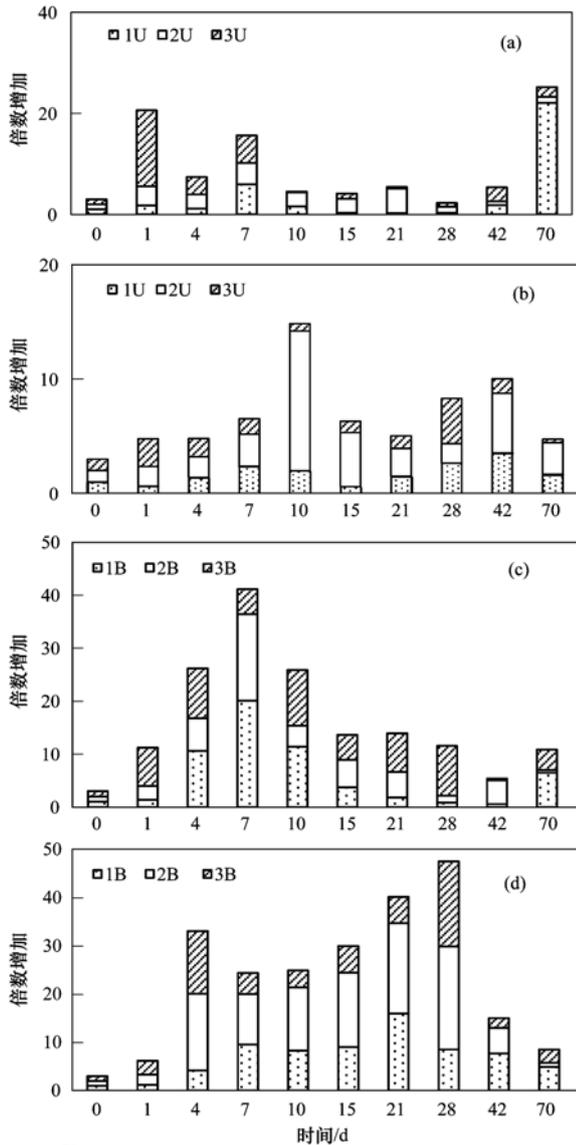
图2 实验体系上部和底部的 AOA- $amoA$  和 AOB- $amoA$  基因增加倍数

Fig. 2 Fold increase in AOA- $amoA$  and AOB- $amoA$  genes in the upper zone and the bottom zone, respectively

化单胞菌属的T-RF 80,但仅在样品的RNA部分。代表*Nitrosomonas oligotropha*的T-RF 354在许多DNA样品中占优势,但在任何相应RNA中未检测到。因此,凤眼莲的存在似乎刺激了由T-RF 219表示的AOB- $amoA$ 的丰度,特别是在RNA水平。

### 2.4 细菌16S rDNA和16S rRNA分析的群落结构

使用T-RFLP和计算机分析细菌16S rDNA和16S rRNA(图5),在本实验中检测到的T-RF可以分为 $\alpha$ -变形菌( $\alpha$ -Proteobacteria)、 $\beta$ -变形菌( $\beta$ -Proteobacteria)、 $\gamma$ -变形菌( $\gamma$ -Proteobacteria)、 $\delta$ -变形菌( $\delta$ -Proteobacteria)、拟杆菌(Bacteroidetes)、酸杆

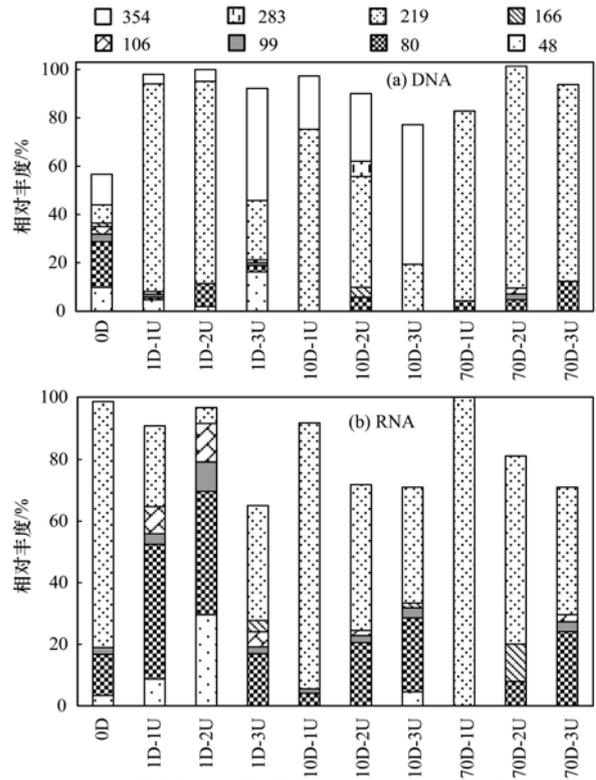


(a) 实验体系上部 *nirK* 基因、(b) 实验体系上部 *nirS* 基因；  
(c) 实验体系底部 *nirK* 基因；(d) 实验体系底部 *nirS* 基因

图 3 实验体系上部和底部的 *nirK* 和 *nirS* 基因增加倍数

Fig. 3 Fold increase in the *nirK* and *nirS* genes in the upper zone and the bottom zone, respectively

菌 (Acidobacteria)、疣微菌 (Verrucomicrobiae)、浮霉菌 (Planctomycetacia)、厚壁菌 (Firmicutes)、放线菌 (Actinobacteria) 和硝化螺菌 (Nitrospira)。在上层样品获得的 DNA 中, 放线菌、 $\alpha$ -变形菌、 $\beta$ -葡萄球菌和  $\gamma$ -变形菌是优势的, 并且这些门的丰度在实验过程中保持相对稳定。在 70d 的培养期间, 所有未分类部分样品的 T-RF 在门级水平上增加, 特别是在没有凤眼莲的微生物生态系统中。例外是疣微菌纲, 其丰度在 T2 和 T3 下降。 $\alpha$ -变形菌、 $\beta$ -变形菌和  $\gamma$ -变形菌在样品 RNA 部分仍是优势门。浮霉菌和酸杆菌的 RNA 丰度明显高于其 DNA 丰度, 特别是在有凤眼莲根际的组。硝化螺菌的 DNA 和 RNA 丰度



0D、1D、10D、70D 分别表示第 0、1、10、70 d 的样品；  
1U、2U、3U 分别表示凤眼莲的根际区、遮光处理的模拟根际区  
和不遮光处理的模拟根际区, 下同

图 4 各处理 AOB-*amoA* 的 DNA 和 RNA T-RFLP 分析中各类 T-RFs 所占百分比

Fig. 4 Relative abundances of the major T-RFs of AOB-*amoA* targeted DNA and RNA in the three microcosms during the 70-day cultivation

在 T1U 中最高, 并且在整个实验的其他处理中仍然很高。

### 3 讨论

#### 3.1 凤眼莲能够提高 $\text{NH}_4^+$ -N 去除率和 AOB 的丰度

种植凤眼莲处理根际区的氨氮去除率要明显高于其他处理组 [图 1(b)]。在研究初期 24 h 内, 种植凤眼莲实验组通过生物质吸收从而使氨氮去除率达到 59.4%。这种去除氨氮的机制对于含有游离氨毒性效应的水生生态系统的修复具有重要意义<sup>[32,33]</sup>。此外, 结果表明凤眼莲根际能够提高 AOB *amoA* 基因丰度 (高达 160 倍), 这种现象在未种植凤眼莲的实验组中没有出现 (图 2)。T1 中前 24 h, AOB *amoA* 基因丰度的提高可能促进氨氮的快速去除。

凤眼莲根际分泌物中化感物质的释放可能促进了 AOB *amoA* 基因丰度的提高以及因此提高的硝化作用。先前有研究表明 *Littorella uniflora* 根际对

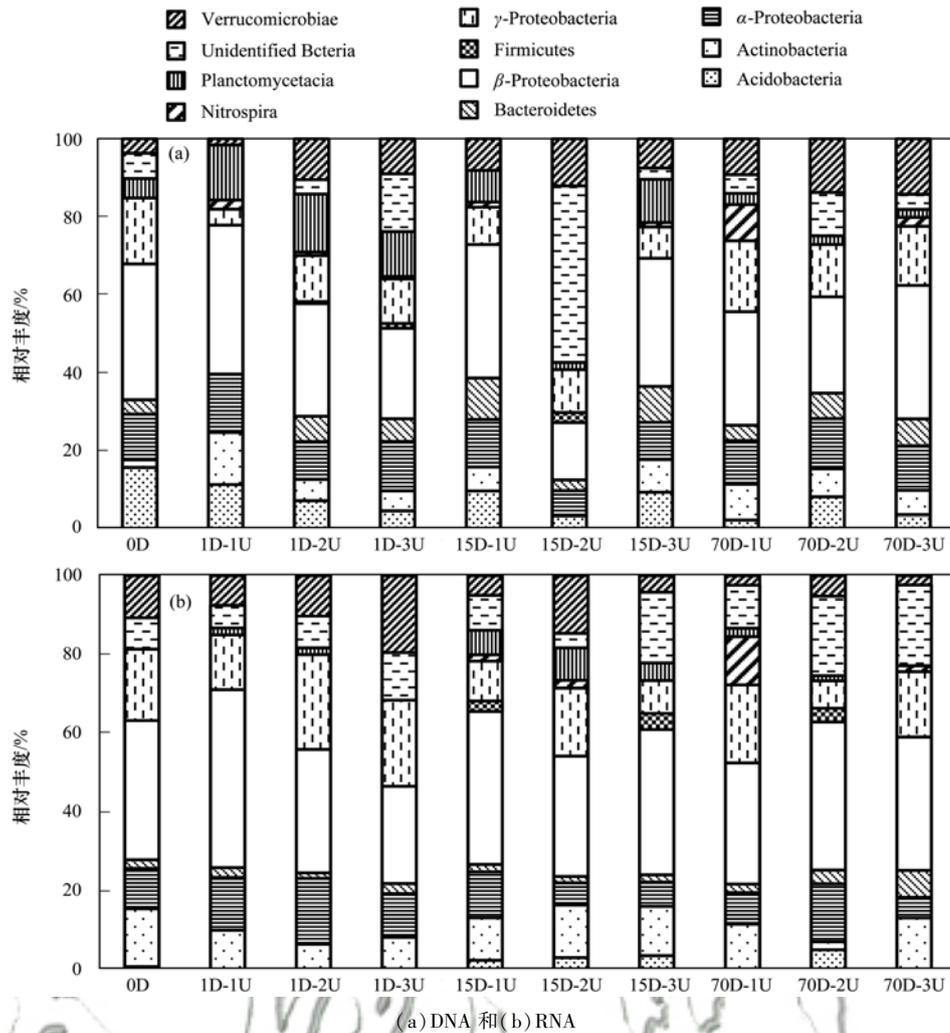


图5 各处理组 16S rDNA 和 16S rRNA 的 T-RFLP 分析中各类 T-RFs 所占百分比

Fig. 5 Relative abundances of the major T-RFs of 16S rDNA and 16S rRNA in the three microcosms during the 70-day cultivation

*amoA* 基因相对丰度有显著提高作用<sup>[34]</sup>。种植植物的土壤和稻田中氨氧化菌活性也较强<sup>[31]</sup>。氧气是氨氧化过程中的必要条件,同时为 AOA *amoA* 基因和 AOB *amoA* 基因提供能量。这也解释了凤眼莲能够提高硝化作用、为好氧氨氧化菌提供能量物质。此外,凤眼莲的有机根际分泌物包含生物碱和邻苯二甲酸酯衍生物<sup>[15]</sup>。这些化感物质抑制藻类的生长<sup>[15]</sup>,而藻类同氨氧化菌之间可能存在着对铵态氮和氧气的竞争关系。在根际处由根和微生物的呼吸作用产生的二氧化碳水平的升高为化能自养型微生物提供碳源。

此外,还研究了光照作用对硝化细菌群落结构和活性的影响。先前研究表明,光照强度在  $300 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$  时几乎完全抑制硝化作用<sup>[35]</sup>,在  $75 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$  时, AOB 和 NOB 的生长也受到抑制<sup>[36]</sup>。光照可能对氨氧化微生物产生抑制作用<sup>[16,17]</sup>,因此有利于硝化作用的产生。然而, T2U

(水面覆盖率 95%) 中 *amoA* 的丰度和 T3U 相比相差不大,表明在本研究系统中,凤眼莲对水体中氨氧化菌丰度的影响并非通过改变水体中光强来实现的。

### 3.2 凤眼莲对总氮去除率的影响

在水生生态系统中,根际相关的氮素循环和去除是一个核心过程<sup>[37]</sup>。根际区反硝化率较高<sup>[38,39]</sup>,在一定程度上能够反映大型水生植物对反硝化微生物的直接作用<sup>[40,41]</sup>。本研究中,3 个实验组得到的总氮去除率相差不大(表 1 和图 1)。事实上,未种植凤眼莲实验组 T2U 的总氮去除率高于种植凤眼莲实验组 T1U。

Yi 等<sup>[42]</sup>发现氮元素的损失在只有凤眼莲根部(除去大部分茎和叶)水样中要比包含整个凤眼莲植物水样中的多。在本研究体系中,水体中总氮去除的主要途径可能是脱氮微生物的反硝化作用,而不是主要由于凤眼莲的存在。不同水域的凤眼莲根

系微生物组成可能有所不同。

微生态系统中总氮去除率与 *nir* 基因丰度有关, 特别是 *nirS* ( $P < 0.05$ ); 因此 *nir* 基因丰度能够作为评价系统中脱氮能力的参数。在 T1U 中, *nirS/K* 基因丰度显著降低(图 3)表明了凤眼莲的存在抑制 *nirK/S* 包括反硝化微生物活性。这种抑制作用能够促进氧气传递到凤眼莲根部<sup>[43,44]</sup>, 导致不利于反硝化微生物生存的好氧环境<sup>[45]</sup>。相比之下, 在本研究中使用的非生物弹性填料, 包括凤眼莲根部(去除大部分的茎和叶)为反硝化微生物提供一个低氧环境。T1B 中 *nirK/S* 较高丰度进一步证实凤眼莲的根部抑制反硝化微生物活性, 水体中存在反硝化作用。此外, 相对于 T1 实验组, T2 和 T3 中较高的反硝化速率可能是由于弹性填料在水体中比凤眼莲的根部能够提供更大的表面积。较大的表面积能够加速硝酸盐在水体中与微生物的接触, 为细菌的定殖提供更大的表面, T2 和 T3 中细菌反硝化作用的基因丰度要比 T1 中的高。

### 3.3 凤眼莲对水体中细菌群落结构的影响

对水体中细菌 16S rDNA 和 16S rRNA 的 T-RFLP 分析可知, 环境中 DNA 丰度占优势的微生物种群未必是代谢活跃的种群。例如, 酸杆菌门(Acidobacteria)的片段在 RNA 分析中相对丰度较高, 但是在 DNA 的分析中则非常低。表明酸杆菌门的细菌活性普遍较高, 但在本研究的生境中存在的相对丰度则较低。种植凤眼莲处理(T1)根际水体第 70d 时 *Nitrospira* 16S rRNA 相对丰度和 16S rDNA 相对丰度较其他各水体高, 表明凤眼莲长期存在有助于水体中 *Nitrospira* 的活性表达和代谢水平的提高。凤眼莲对水体中的氨氧化作用有促进作用, 为硝化作用提供更多底物, 因而对执行硝化功能的 *Nitrospira* 的活性表达和代谢均有促进作用。

在先前的研究中, 研究者们普遍用氨氧化菌的 *amoA* 基因拷贝数作为微生物群落大小和活性的表征<sup>[4]</sup>。然而, 随着对微生物的代谢情况和功能活性的比较研究越来越深入, 研究者们逐渐发现某种功能基因的丰度与其表达活性并非完全一致。功能基因的存在或者高丰度并不意味着该基因功能的执行, 而可能仅仅在某种环境条件下表达<sup>[24]</sup>。在本研究中, 对同一样品 DNA 水平和 RNA 水平的 T-RFLP 结果比较可知, 只有 *Nitrosomonas europaea* 在环境中的丰度和功能活性都较高(图 5), 且凤眼莲的存在对 *Nitrosomonas europaea amoA* 基因的数量和转录均有促进作用; 而 *Nitrosomonas communis* 和

*Nitrosomonas oligotropha* 虽然在环境中丰度较高, 但其氨氧化活性并不强。这些均证明了氨氧化细菌的数量和功能之间并不一定存在对等关系, 即在环境中 *amoA* 基因数量占优势的 AOB 并不一定有较高的氨氧化活性, 反之亦然。

## 4 结论

凤眼莲对富营养化湖泊水体中总氮去除率的影响不大, 硝化作用和反硝化作用的微生物对总氮的去除起到较大的影响。本研究的实验系统中, 凤眼莲阻碍反硝化作用。但是通过 AOB 相对丰度和活性的增加, 凤眼莲促进了氨氮和总氮的去除率, 为水生植物修复生态系统奠定良好基础。

### 参考文献:

- [1] Halling-Sørensen B, Jørgensen S E. The removal of nitrogen compounds from wastewater[M]. New York: Elsevier Science, 1993.
- [2] Wang G X, Zhang L M, Chua H, et al. A mosaic community of macrophytes for the ecological remediation of eutrophic shallow lakes[J]. Ecological Engineering, 2009, 35(4): 582-590.
- [3] Pavanelli D, Cavazza C. River suspended sediment control through riparian vegetation: a method to detect the functionality of riparian vegetation[J]. Clean-Soil Air Water, 2010, 38(11): 1039-1046.
- [4] Wankel S D, Mosier A C, Hansel C M, et al. Spatial variability in nitrification rates and ammonia-oxidizing microbial communities in the agriculturally impacted Elkhorn Slough Estuary, California [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(1): 269-280.
- [5] Wang H, Chen Z X, Zhang X Y, et al. Plant species richness increased belowground plant biomass and substrate nitrogen removal in a constructed wetland[J]. Clean-Soil Air Water, 2013, 41(7): 657-664.
- [6] Hallin S, Hellman M, Choudhury M I, et al. Relative importance of plant uptake and plant associated denitrification for removal of nitrogen from mine drainage in sub-arctic wetlands [J]. Water Research, 2015, 85: 377-383.
- [7] Reddy K R, Agami M, Tucker J C. Influence of nitrogen supply rates on growth and nutrient storage by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) plants [J]. Aquatic Botany, 1989, 36(1): 33-43.
- [8] Mosier A C, Francis C A. Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11): 3002-3016.
- [9] Søvik A K, Mørkved P T. Use of stable nitrogen isotope fractionation to estimate denitrification in small constructed wetlands treating agricultural runoff [J]. Science of the Total Environment, 2008, 392(1): 157-165.
- [10] Reddy K R, Tucker J C. Productivity and nutrient uptake of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* L. Effect of nitrogen source [J]. Economic Botany, 1983, 37(2): 237-247.
- [11] Petrucio M M, Esteves F A. Uptake rates of nitrogen and

- phosphorus in the water by *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata* [J]. *Revista Brasileira de Biologia*, 2000, **60**(2): 229-236.
- [12] Nahlik A M, Mitsch W J. Tropical treatment wetlands dominated by free-floating macrophytes for water quality improvement in Costa Rica [J]. *Ecological Engineering*, 2006, **28**(3): 246-257.
- [13] Mahujchariyawong J, Ikeda S. Modelling of environmental phytoremediation in eutrophic river—the case of water hyacinth harvest in Tha-chin River, Thailand [J]. *Ecological Modelling*, 2001, **142**(1-2): 121-134.
- [14] So L M, Chu L M, Wong P K. Microbial enhancement of  $\text{Cu}^{2+}$  removal capacity of *Eichhornia crassipes* (Mart.) [J]. *Chemosphere*, 2003, **52**(9): 1499-1503.
- [15] Jin Z H, Zhuang Y Y, Dai S G, *et al.* Isolation and identification of extracts of *Eichhornia crassipes* and their allelopathic effects on algae [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, **71**(5): 1048-1052.
- [16] Guerrero M A, Jones R D. Photoinhibition of marine nitrifying bacteria. I. Wavelength-dependent response [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, **141**: 183-192.
- [17] Christman G D, Cottrell M T, Popp B N, *et al.* Abundance, diversity, and activity of ammonia-oxidizing prokaryotes in the coastal arctic ocean in summer and winter [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(6): 2026-2034.
- [18] Sinistro R, Izaguirre I, Asikian V. Experimental study on the microbial plankton community in a South American wetland (Lower Paraná River Basin) and the effect of the light deficiency due to the floating macrophytes [J]. *Journal of Plankton Research*, 2006, **28**(8): 753-768.
- [19] Peralta A L, Matthews J W, Kent A D. Microbial community structure and denitrification in a wetland mitigation bank [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(13): 4207-4215.
- [20] Fox L J, Struik P C, Appleton B L, *et al.* Nitrogen phytoremediation by water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2008, **194**(1-4): 199-207.
- [21] Polomski R F, Taylor M D, Bielenberg D G, *et al.* Nitrogen and phosphorus remediation by three floating aquatic macrophytes in greenhouse-based laboratory-scale subsurface constructed wetlands [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2009, **197**(1-4): 223-232.
- [22] 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.
- [23] Ge S J, Wang S Y, Yang X, *et al.* Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: a review [J]. *Chemosphere*, 2015, **140**: 85-98.
- [24] Prosser J I, Nicol G W. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(11): 2931-2941.
- [25] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [26] Kurmayer R, Christiansen G, Chorus I. The abundance of microcystin-producing genotypes correlates positively with colony size in *Microcystis* sp. and determines its microcystin net production in Lake Wannsee [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(2): 787-795.
- [27] Nicolaisen M H, Ramsing N B. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2002, **50**(2): 189-203.
- [28] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, *et al.* Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(41): 14683-14688.
- [29] Braker G, Fesefeldt A, Witzel K P. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(10): 3769-3775.
- [30] Michotey V, Méjean V, Bonin P. Comparison of methods for quantification of cytochrome *cd*<sub>1</sub>-denitrifying bacteria in environmental marine samples [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(4): 1564-1571.
- [31] Chen X P, Zhu Y G, Xia Y, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(8): 1978-1987.
- [32] Carrera J, Baeza J A, Vicent T, *et al.* Biological nitrogen removal of high-strength ammonium industrial wastewater with two-sludge system [J]. *Water Research*, 2003, **37**(17): 4211-4221.
- [33] Effler S W, Brooks C M, Auer M T, *et al.* Free ammonia and toxicity criteria in a polluted urban lake [J]. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 1990, **62**(6): 771-779.
- [34] Herrmann M, Saunders A M, Schramm A. Effect of lake trophic status and rooted macrophytes on community composition and abundance of ammonia-oxidizing prokaryotes in freshwater sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(10): 3127-3136.
- [35] Lipschultz F, Wofsy S C, Fox L E. The effects of light and nutrients on rates of ammonium transformation in a eutrophic river [J]. *Marine Chemistry*, 1985, **16**(4): 329-341.
- [36] Yoshioka T, Saijo Y. Photoinhibition and recovery of  $\text{NH}_4^+$ -oxidizing bacteria and  $\text{NO}_2^-$ -oxidizing bacteria [J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1984, **30**(3): 151-166.
- [37] Ottosen L D M, Risgaard-Petersen N, Nielsen L P. Direct and indirect measurements of nitrification and denitrification in the rhizosphere of aquatic macrophytes [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, **19**: 81-91.
- [38] Toet S, Huibers L H F A, Van Logtestijn R S P, *et al.* Denitrification in the periphyton associated with plant shoots and in the sediment of a wetland system supplied with sewage treatment plant effluent [J]. *Hydrobiologia*, 2003, **501**(1-3): 29-44.
- [39] Penton C R, Deenik J L, Popp B N, *et al.* Importance of subsurface rhizosphere-mediated coupled nitrification-denitrification in a flooded agroecosystem in Hawaii [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, **57**: 362-373.

- [40] Angeloni N L, Jankowski K J, Tuchman N C, *et al.* Effects of an invasive cattail species (*Typha × glauca*) on sediment nitrogen and microbial community composition in a freshwater wetland [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **263**(1): 86-92.
- [41] Kofoed M V W, Stief P, Hauzmayer S, *et al.* Higher nitrate-reducer diversity in macrophyte-colonized compared to unvegetated freshwater sediment [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2012, **35**(7): 465-472.
- [42] Yi N, Gao Y, Long X H, *et al.* *Eichhornia crassipes* cleans wetlands by enhancing the nitrogen removal and modulating denitrifying bacteria community [J]. *Clean-Soil Air Water*, 2014, **42**(5): 664-673.
- [43] Carpenter S R, Elser J J, Olson K M. Effects of roots of *Myriophyllum verticillatum* L. on sediment redox conditions [J]. *Aquatic Botany*, 1983, **17**(3-4): 243-249.
- [44] Burks R L, Jeppesen E, Lodge D M. Macrophyte and fish chemicals suppress *Daphnia* growth and alter life-history traits [J]. *Oikos*, 2000, **88**(1): 139-147.
- [45] Tuomainen J M, Hietanen S, Kuparinen J, *et al.* Baltic Sea cyanobacterial bloom contains denitrification and nitrification genes, but has negligible denitrification activity [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **45**(2): 83-96.

## 《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道成果要有创新性,论点明确,文字精炼,数据可靠.全文不超过8 000字(含图、表、中英文摘要及参考文献).国家自然科学基金项目、国家科技攻关项目、国际合作项目或其它项目请在来稿中注明(在首页以脚注表示).作者投稿时请先登陆我刊网站([www.hjxx.ac.cn](http://www.hjxx.ac.cn))进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面给出的提示信息投稿即可.

2. 稿件请按 GB 7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》中学术论文的规范撰写.论文各部分的排列顺序为:题目;作者姓名;作者工作单位、地址、邮政编码;中文摘要;关键词;中图分类号;英文题目;作者姓名及单位的英译名;英文摘要;关键词;正文;致谢;参考文献.

3. 论文题目应简练并准确反映论文内容,一般不超过 20 字,少用副标题.

4. 中文摘要不少于 300 字,以第三人称写.摘要内容包括研究工作的目的、方法、结果(包括主要数据)和结论,重点是结果和结论.英文摘要与中文对应,注意人称、时态和语言习惯,以便准确表达内容.

5. 前言包括国内外前人相关工作(引文即可)和本工作的目的、特点和意义等.科普知识不必赘述.

6. 文中图表应力求精简,同一内容不得用图表重复表达,要有中英文对照题目.图应大小一致,曲线粗于图框,图中所有字母、文字字号大小要统一.表用三线表.图表中术语、符号、单位等应与正文一致.

7. 计量单位使用《中华人民共和国法定计量单位》(SI).论文中物理计量单位用字母符号表示,如 mg(毫克),m(米),h(小时)等.科技名词术语用国内通用写法,作者译的新名词术语,文中第一次出现时需注明原文.

8. 文中各级标题采用 1, 1.1, 1.1.1 的形式,左起顶格书写,3 级以下标题可用(1), (2)……表示,后缩 2 格书写.

9. 文中外文字母、符号应标明其大小写,正斜体.生物的拉丁学名为斜体.缩略语首次出现时应给出中文全称,括号内给出英文全称和缩略语.

10. 未公开发表资料不列入参考文献,可在出现页以脚注表示.文献按文中出现的先后次序编排.常见文献书写格式为:

期刊:作者(外文也要姓列名前).论文名[J].期刊名,年,卷(期):起页-止页.

图书:作者.书名[M].出版地:出版社,年.起页-止页.

会议文集:作者.论文名[A].见(In):编者.文集名[C].出版地:出版社(单位),年.起页-止页.

学位论文:作者.论文名[D].保存地:保存单位,年份.

报告:作者.论文名[R].出版地:出版单位,出版年.

专利:专利所有者.专利题名[P].专利国别:专利号,出版日期.

11. 来稿文责自负,切勿一稿多投.编辑对来稿可作文字上和编辑技术上的修改和删节.在 3 个月内未收到本刊选用通知,可来电询问.

12. 投稿请附作者单位详细地址,邮编,电话号码,电子邮箱等.编辑部邮政地址:北京市 2871 信箱;邮编:100085;电话:010-62941102,010-62849343;传真:010-62849343;E-mail:[hjxx@reecs.ac.cn](mailto:hjxx@reecs.ac.cn);网址:[www.hjxx.ac.cn](http://www.hjxx.ac.cn)

## CONTENTS

Correlation Analysis of the Urban Heat Island Effect and Its Impact Factors in China .....	CAO Chang, LI Xu-hui, ZHANG Mi, <i>et al.</i> (3987)
Application of Satellite Remote Sensing in NO <sub>x</sub> Emission Control .....	WU Wei-ling, XUE Wen-bo, WANG Yan-li, <i>et al.</i> (3998)
Control Models and Effect Evaluation of Air Pollution in Jing-Jin-Ji Urban Agglomeration .....	WANG Zhen-bo, LIANG Long-wu, LIN Xiong-bin, <i>et al.</i> (4005)
Pollution Characteristics of Aerosol Number Concentration in Winter and Spring in a Northern Suburb of Nanjing .....	WU Dan, ZHANG Fan, LIU Gang, <i>et al.</i> (4015)
Source Apportionment and Size Distribution of Aerosols at Lin'an Atmosphere Regional Background Station During Winter .....	SHI Shuang-shuang, WANG Hong-lei, ZHU Bin, <i>et al.</i> (4024)
Seasonal Variations in Particle Size Distribution and Water-soluble Ion Composition of Atmospheric Particles in Chengdu .....	TAO Yue-le, LI Qin-kai, ZHANG Jun, <i>et al.</i> (4034)
Seasonal Variation and Source Apportionment of Water-Soluble Ions in PM <sub>2.5</sub> in Quanzhou City .....	ZHANG Yun-feng, YU Rui-lian, HU Gong-ren, <i>et al.</i> (4044)
Chemical Characteristics and Sources of Heavy Metals in Fine Particles in Beijing in 2011-2012 .....	ZHOU Xue-ming, ZHENG Nai-jia, LI Ying-hong, <i>et al.</i> (4054)
Pollution Assessment and Source Analysis of Metals in PM <sub>2.5</sub> in Haicang District, Xiamen City, China .....	ZHAO Li-si, YU Rui-lian, XU Ling-ling, <i>et al.</i> (4061)
Characteristics and Health Risk Assessment of Metallic Elements in PM <sub>2.5</sub> Fraction of Road Dust .....	ZHANG Jing, ZHANG Yan-jie, FANG Xiao-zhen, <i>et al.</i> (4071)
Seasonal Variations in PM <sub>10</sub> and Associated Chemical Species in Jiuxian Mountain in Fujian Province .....	WEI Ya, LIN Chang-cheng, HU Qiong-hua, <i>et al.</i> (4077)
Characteristics of C2-C6 Hydrocarbons During the Winter Air Pollution Period in Beijing Urban Area .....	LI Yue, WEI Wei, YANG Gan, <i>et al.</i> (4084)
Analysis of Atmospheric Particulate Matter Pollution Characteristics by LIDAR in Beijing During Spring Festival, 2016 .....	SHI Lin-lin, LI Ling-jun, LI Qian, <i>et al.</i> (4092)
Influence Factors and Sensitivity of Ozone Formation in Langfang in the Summer .....	LI Lei, ZHAO Yu-mei, WANG Xu-guang, <i>et al.</i> (4100)
Impact of Human Activities on Water-Rock Interactions in Surface Water of Lijiang River .....	ZHAO Hai-juan, XIAO Qiong, WU Xia, <i>et al.</i> (4108)
Distinguishing the Properties and Sources of the Dissolved Organic Matter in Karst Reservoir Water During Winter Using Three-Dimensional Fluorescence Spectrum Technology: A Case Study in Wulixia Reservoir of Guangxi Province .....	LU Xiao-xuan, PENG Wen-jie, LI Qiang, <i>et al.</i> (4120)
Analysis of Temporal and Spatial Variations in Trace Element Migration in Karst Critical Zone: An Example of Jiguan Cave, Henan .....	LIANG Sha, YANG Yan, ZHANG Na, <i>et al.</i> (4130)
Eutrophication and Characteristics of Cyanobacteria Bloom in the Summer in Guishi Reservoir .....	GOU Ting, MA Qian-li, WANG Zhen-xing, <i>et al.</i> (4141)
Spatial and Temporal Distribution of Chlorophyll a and Its Relationship to Algae and Environmental Factors in Aha Reservoir .....	LUO Yi-fu, LI Lei, LI Qiu-hua, <i>et al.</i> (4151)
Spatio-temporal Variations in Phytoplankton Community in Shahe Reservoir, Tianmuhu, China .....	SUN Xiang, ZHU Guang-wei, YANG Wen-bin, <i>et al.</i> (4160)
Spatio-temporal Variations, Contamination and Potential Ecological Risk of Heavy Metals in the Sediments of Chenghai Lake .....	YU Zhen-zhen, LIU En-feng, ZHANG En-lou, <i>et al.</i> (4169)
Characteristics of Phosphorus Output Through Runoff on a Red Soil Slope Under Natural Rainfall Conditions .....	ZUO Ji-chao, ZHENG Hai-jin, XI Tong-hang, <i>et al.</i> (4178)
Occurrence, Distribution and Health Risk of the Phthalate Esters in Riparian Soil in the Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir .....	YANG Ting, HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, <i>et al.</i> (4187)
Seasonal Distribution, Composition, and Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organochlorine Pesticides in the Main Stream of the Luanhe River .....	WANG Yi-zhen, ZHANG Shi-lu, KONG Fan-qing, <i>et al.</i> (4194)
Occurrence and Human Exposure Risk Assessment of Organophosphate Esters in Drinking Water in the Weifang Binhai Economic-Technological Development Area .....	DONG Zheng, MA Yu-long, LI Jun-qi, <i>et al.</i> (4212)
Contamination Characteristics and Human Exposure to Organophosphate Flame Retardants in Road Dust from Suzhou City .....	LI Jing, WANG Jun-xia, XU Wan-ting, <i>et al.</i> (4220)
Cancer Risk of Human Intake of PAH-Contaminated Particles Based on Hand-to-Mouth Activities .....	TONG Rui-peng, YANG Xiao-yi, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (4228)
Spatio-temporal Evolution of Groundwater Vulnerability Based on Spatial Autocorrelation .....	LIU Yu, LAN Shuang-shuang, ZHANG Yong-xiang, <i>et al.</i> (4236)
Preparation of Ag-AgI/CN/MA Composites and Their Visible-light Photocatalytic Performance .....	ZHANG Sai, ZHANG Li-li, HU Chun (4245)
Effect of <i>Eichhornia crassipes</i> on Ammoxidation and Denitrification Microorganisms in Eutrophic Freshwaters .....	LI Jie, JIANG Li-juan, WANG Xiao-lin, <i>et al.</i> (4253)
Utilization of Copper ( II ) Wastewater for Enhancing the Treatment of Chromium ( VI ) Wastewater in Microbial Fuel Cells .....	XIONG Xiao-min, WU Xia-yuan, JIA Hong-hua, <i>et al.</i> (4262)
Efficiency and Microecology of a Soil Infiltration System with High Hydraulic Loading for the Treatment of Swine Wastewater .....	SU Cheng-yuan, LIU Fan-fan, ZHONG Yu, <i>et al.</i> (4271)
Effects of Bacteria on the Growth of and Lipid Accumulation in <i>Chlorella pyrenoidosa</i> Cultivated in Municipal Wastewater .....	TU Ren-jie, JIN Wen-biao, HAN Song-fang, <i>et al.</i> (4279)
Enhanced Antibiotic Resistant Bacteria Removal from Wastewater Treatment Plant by Different Disinfection Technologies .....	LIU Ya-lan, MA Cen-xin, DING He-zhou, <i>et al.</i> (4286)
Coking Wastewater Treatment Efficiency and Comparison of Acute Toxicity Characteristics of the AnMBR-A-MBR and A <sup>2</sup> -MBR Processes .....	ZHU Jia-di, LI Fei-fei, CHEN Li-jun (4293)
Stability of the CANON Process Based on Real-Time Control Technologies .....	SUN Yan-fang, HAN Xiao-yu, ZHANG Shun-jun, <i>et al.</i> (4302)
Improving Nitrogen and Phosphorus Removal from Reclaimed Water Using a Novel Sulfur/Iron Composite Filler .....	ZHOU Yan-qing, HAO Rui-xia, LIU Si-yuan, <i>et al.</i> (4309)
Start-up and Capacity Enhancement of a Partial Nitrification Pilot Reactor in Continuous Flow .....	ZHU Qiang, LIU Kai, DONG Shi-yu, <i>et al.</i> (4316)
Quick Start-up Performance of Combined ANAMMOX Reactor Based on Different Inoculated Sludge Types .....	LÜ Gang, LI Tian, XU Le-zhong, <i>et al.</i> (4324)
Effect of Two-Stage Aeration on Nitrogen Removal Performance of Aerobic Granular Sludge .....	WANG Wen-xiao, BIAN Wei, WANG Meng, <i>et al.</i> (4332)
Construction of a High Efficiency Anaerobic Digestion System for Vinegar Residue .....	ZHOU Yun-long, XU Zhi-yang, ZHAO Ming-xing, <i>et al.</i> (4340)
Comparison of Ecological Risk Assessment Based on the Total Amount and Speciation Distribution of Heavy Metals in Soil: A Case Study for Longyan City, Fujian Province .....	WANG Rui, CHEN Ming, CHEN Nan, <i>et al.</i> (4348)
Heavy Metal Contamination of Soils and Crops near a Zinc Smelter .....	CHEN Feng, DONG Ze-qin, WANG Cheng-cheng, <i>et al.</i> (4360)
Characteristics and Influencing Factors of CH <sub>4</sub> Emissions from the Drawdown Area of the Three Gorges Reservoir .....	CHAI Xue-si, HAO Qing-ju, HUANG Zhe, <i>et al.</i> (4370)
Effects of Plastic Film Mulching on Nitrous Oxide Emissions from a Vegetable Field .....	FENG Di, HAO Qing-ju, ZHANG Kai-li, <i>et al.</i> (4380)
Effects of Bamboo Biochar on Greenhouse Gas Emissions During the Municipal Sludge Composting Process .....	XIANG Qiu-jie, YANG Yu-han, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (4390)
Removal of Cd from Soil by <i>Aspergillus fumigatus</i> in a Semi-solid Culture .....	CHEN Yao-ning, WANG Yuan-nan, LI Yuan-ping, <i>et al.</i> (4398)
Removal of Chlortetracycline and Morphological Changes in Heavy Metals in Swine Manure Using the Composting Process .....	WEN Qin-xue, CAO Yong-sen, CHEN Zhi-qiang (4405)
Remediation of Petroleum-Contaminated Soil Using a Bioaugmented Compost Technique .....	WU Man-li, CHEN Kai-li, YE Xi-qiong, <i>et al.</i> (4412)
Effects of Microbial Diversity on Soil Carbon Mineralization .....	AN Li-yun, LI Jun-jian, YAN Jun-xia, <i>et al.</i> (4420)
Ozone Deposition and Risk Assessment for a Winter Wheat Field; Partitioning Between Stomatal and Non-stomatal Pathways .....	XU Jing-xin, ZHENG You-fei, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (4427)
Progress in the Studies of Precipitation Chemistry in Acid Rain Areas of Southwest China .....	ZHOU Xiao-de, XU Zhi-fang, LIU Wen-jing, <i>et al.</i> (4438)