

罗佳, 韩士群, 严少华, 等. 生态浮床对巢湖双桥河口水体细菌群落结构的影响[J]. 南京农业大学学报, 2013, 36(2): 91-96

生态浮床对巢湖双桥河口水体细菌群落结构的影响

罗佳, 韩士群*, 严少华, 宋伟, 周庆

(江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 以巢湖双桥河入湖口水质调控示范区的生态浮床为研究对象, 采用常规方法和分子生物学方法研究生态浮床对水体细菌群落结构的影响。研究表明: 在 2011 年 4 月至 9 月示范区外 (C1) 采样点总细菌数量为 10^5 CFU·mL⁻¹, 示范区内 (C2) 采样点总细菌数量为 10^6 CFU·mL⁻¹, 生态浮床生物膜表面 (C3) 采样点总细菌数量达到了 10^7 CFU·mL⁻¹; C1 点的硝化细菌和反硝化细菌数量最低, C3 点的最高。PCR-DGGE 结果表明: 在 5、7 和 9 月中 C3 采样点总细菌群落和反硝化细菌群落 Shannon-Wiener 指数和丰度明显高于 C1 和 C2 采样点。结论: 生态浮床挂膜后能有效提高水体中的总细菌、硝化细菌及反硝化细菌数量和群落结构多样性, 且距离生态浮床越近总细菌和反硝化细菌数量和群落结构多样性越高, 受到生态浮床影响越大。

关键词: 巢湖; 生态浮床; 富营养化水体; 细菌; 反硝化细菌

中图分类号: X524

文献标志码: A

文章编号: 1000-2030(2013)02-0091-06

Effect of the ecological floating bed on the bacterial community in the Shuangqiao estuary of Chaohu Lake

LUO Jia, HAN Shiqun*, YAN Shaohua, SONG Wei, ZHOU Qing

(Institute of Agricultural Resource and Environmental Sciences, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: In this study, the conventional and molecular biology methods were used to study the effect of the ecological floating bed on the quantity and diversity of bacterial community in the Shuangqiao estuary of Chaohu Lake. The quantity of bacteria was at a level of 10^5 CFU·mL⁻¹ at sampling site C1 (outside the floating bed), 10^6 CFU·mL⁻¹ at site C2 (inside the floating bed) and 10^7 CFU·mL⁻¹ at site C3 (at the surface of the ecological floating bed) during April to September 2011. The lowest quantity of detectable nitrifying and denitrifying bacteria was found at site C1, while the highest quantity of these bacteria was found at site C3. The PCR-DGGE results showed that Shannon-Wiener index and richness of total bacteria and denitrifying bacterial community at site C3 were significantly ($P < 0.05$) higher than those at site C1 and site C2 at May, July and September 2011. The results in this study showed that the ecological floating bed could effectively increase the quantity of nitrifying and denitrifying bacteria and their community diversity. The quantity and community diversity of the total bacteria and denitrifying bacteria increased reversely with increase of the distance away from the ecological floating bed, which suggested a significant influence of the ecological floating bed on bacterial quantity and diversity.

Key words: Chaohu Lake; ecological floating bed; eutrophic waters; bacteria; denitrifying bacteria

巢湖流域处于长江和淮河两大水系之间, 对流域社会经济发展起着极为重要的作用。但是, 随着巢湖流域工业化及城市化的迅猛发展, 巢湖水体呈现严重的富营养化状况, 造成水质恶化、湖体生态系统衰退等一系列生态环境问题, 从而引起各级政府部门的重视^[1]。从“九五”开始, 国家对巢湖流域水体富营养化进行治疗, 取得了一定的成果, 但是水体富营养化问题依然严重^[2]。双桥河作为巢湖流域主要支流, 其入湖口在饮用水源地二级保护区内, 水体富营养化对饮水安全构成直接威胁。

生态浮床是一种运用无土栽培技术原理培养水生植物的漂浮结构, 利用生态浮床上生长的水生植物吸收水体中的氮、磷等营养物质, 并通过微生物的氨化、硝化和反硝化及聚磷等活动移除水体中的氮、磷来构建生态修复工程治理水体富营养化, 已经成为水体富营养控制的重要手段之一^[3-5]。周元清等^[6]研究表明, 生态浮床植物的吸收同化和氮循环细菌的生物脱氮是生态浮床净化水质的两个重要途径。目前, 生态浮床植物对水体中氮和磷的吸收同化作用研究很多^[7-8], 但是生态浮床对微生物脱氮的影响研究相对较少, 且大部分研究集中在模拟试验中^[9]。水体中氮循环细菌主要包括硝化细菌和反硝化细菌, 其中反硝

收稿日期: 2012-03-01

基金项目: 水体污染控制与治理科技重大专项(2011ZX07103-002)

作者简介: 罗佳, 博士,* 通信作者; 韩士群, 研究员, 研究方向为富营养化水体治理, E-mail: shqunh@yahoo.com.cn.

化细菌是水体中氮以分子态氮被释放返回大气的主要途径,成为氮素循环中重要的环节。本研究以巢湖双桥河入湖口 1 000 m² 水质调控技术工程示范区中的生态浮床为对象,研究生态浮床对水体中细菌群落结构尤其是反硝化细菌群落结构的影响,为生态浮床系统推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点与设计

本试验在巢湖双桥河入湖口建立的水质调控技术工程示范区(图 1)进行,示范区于 2010 年 5 月建成。示范区由 150 个生态浮床组成,生态浮床由竹子制成(长 4 m,宽 1.8 m),每 3 个生态浮床为 1 组固定在一起,每组间隔 3 m,沿着河岸布置 2 排,生态浮床上种植水花生和白草。2011 年 4 月 13 日将制作好的宽 4 m、高 3 m 的 40 目网袋悬挂于示范区内的生态浮床下,网袋中填充生物膜载体材料(主成分为一种秸秆处理物)^[10]。本试验设置 3 个采样区域,分别为 C1: 示范区直线距离 100 m 外的水体; C2: 示范区内的水体; C3: 生物膜载体材料表面的水体。每个采样区域设置 6 个采样点, C1 区域采样点位置见图 1; C2 和 C3 区域在示范区内,每个采样点间隔 10 m 以上(图 1 中未标出)。

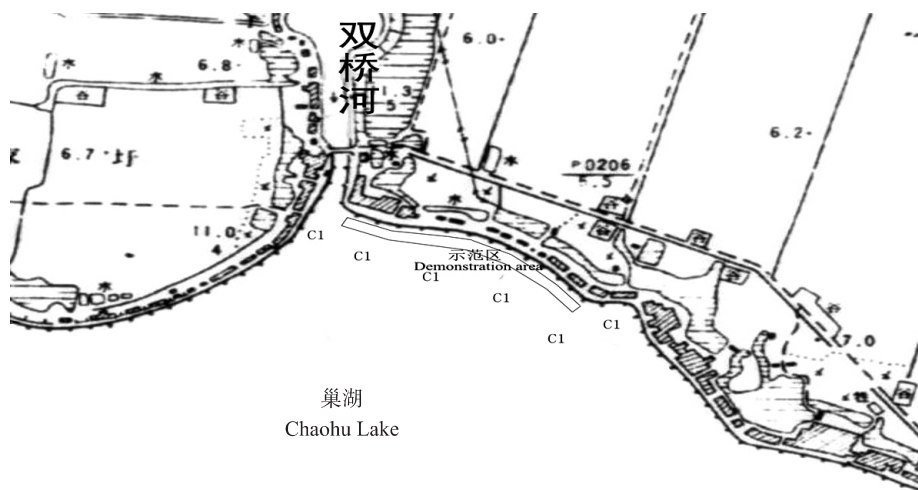


图 1 巢湖双桥河口水质调控示范区位置示意图

Fig. 1 Distribution map of the ecological floating bed in Shuangqiao estuary of Chaohu Lake

C1. 示范区外的采样点 The sampling site outside the demonstration area

1.2 样品的采集和测定

分别于 2011 年 4 月 13 日、5 月 14 日、6 月 14 日、7 月 20 日、8 月 13 日和 9 月 15 日(1 个月采 1 次样品,遇到阴雨天气提前或者推迟 3 d)对 3 个区域 18 个采样点进行采样,用水样采集器采集 1 000 mL 水样装于塑料瓶中,放于冰盒保存带回实验室测定。用剪刀采集生物膜载体表面样品 1 000 g,保存于采样袋中,放于冰盒保存带回实验室测定。

测定样品总氮(TN)、总磷(TP)、铵态氮($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^- \text{-N}$)和叶绿素 a(Chl. a)含量,总细菌、硝化和反硝化细菌数量以及细菌群落结构(PCR-DGGE 法)。采样点 C1 和 C2 的水样经定性滤纸过滤后直接用于测定, C3 样品需要通过挤压获得水体并经过滤后用于测定。叶绿素 a 用 YSI-600 叶绿素仪现场测定,其他项目均在实验室测定。总氮(TN)、总磷(TP)、铵态氮($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^- \text{-N}$)采用流动分析仪(Auto Analyzer3)测定,细菌数量采用平板计数法,培养基为牛肉膏蛋白胨培养基^[11],硝化细菌和反硝化细菌计数采用 MPN 计数法^[12]。

1.3 PCR-DGGE 测定

样品前处理:取 100 mL 水样,用 0.22 μm 滤膜抽滤后,将细菌过滤在滤膜上,将滤膜保存于 -20 °C,待提取 DNA。通过水体 DNA 试剂盒(Omega)提取水体中细菌 DNA,经过 PCR 扩增后,采用 D-Code 突变检测系统(Bio-Rad)对样品进行 DGGE 分析。细菌通用引物^[13]为 PRBA338F(5'-ACTCCTACGGGAGG-CAGCAG-3')和 PRUN518R(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')。在 PRBA338F 的 5'端添加 GC clamp: 5'-CGCCCGCCGCGCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGCACGGGG-3',所用的聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%,变性

梯度为 40% ~ 60% 80 V、恒温 60 °C、1 × TAE 中电泳 16 h,银染后扫描。反硝化细菌引物^[14]为 *nosZ-F* (5'-CGYTGTTTCMTGACAGCCAG-3') 和 *nosZ-R* (5'-CGSACCTTSTTGCCSTYGCG-3')。在 *nosZ-R* 的 5'端添加 GC clamp: 5'-GGCGGCGCGCCGCCCCGCCCGCCCCCGTGCGCC-3',所用的聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8% ,变性梯度为 30% ~ 50% 80 V、恒温 60 °C、1 × TAE 中电泳 16 h,银染后扫描。

所得图像用 Quantity One 4. 6. 3 软件(Bio-Rad) 进行处理,有关泳道和条带的技术处理都使用该软件。DGGE 条带图案相似性系统树图由系统依据戴斯系数 *C_s*(Dice coefficient) 按照 UPGMA 算法计算出。 $C_s = 2j / (a + b)$ *j* 是样品 A 和 B 共有的条带数 *a* 和 *b* 分别是样品 A 和 B 中各自的条带数。戴斯系数的范围是从 0(没有共同带) 到 1(所有的条带相同)。用戴斯系数计算出各泳道样品相似性矩阵,用它可以对 DGGE 图谱中各泳道样品间的相似性进行比较。通过系统将 DGGE 条带转换成数字信息,用香浓 - 威纳多样性指数(Shannon-Wiener index ,*H*) $H = - \sum P_i \times \ln P_i$ (*P_i* 表示每个种群在群落中的百分比) ,丰度 (*S*) 均匀度指数(*E_H*) $E_H = H / \ln S$ 比较各个样品的多样性^[13]。

1.4 数据统计与分析

试验数据统计分析使用 SPSS 13.0 软件,采用一维方差分析和单因变量多因素方差分析进行比较,比较方法为 Duncan's 和 Tamhane's T2 检测,采用 Quantity One 分析软件(Bio-Rad) 分析样品 DGGE 电泳条带。

2 结果与分析

2.1 巢湖双桥河入湖口水质状况

双桥河作为巢湖流域主要支流,入湖口水体严重富营养化,2011 年 4 月至 9 月水质见表 1。5 月份总氮最高,8 月最低;4 月份总磷和铵态氮最高,8 月份最低;5 月份硝态氮最高,9 月份最低;4 月份叶绿素 a 最低,7 月份最高。半年平均指标为总氮 4.5 mg·L⁻¹、总磷 0.18 mg·L⁻¹、铵态氮 0.79 mg·L⁻¹、硝态氮 2.36 mg·L⁻¹、叶绿素 a 23.45 μg·L⁻¹。根据 GB 3838—2002 《地表水环境质量标准》^[15] 巢湖双桥河入湖口水质处于劣 VI 类水质。

表 1 巢湖双桥河入湖口 2011 年 4 月至 9 月水质指标

Table 1 The parameters of water from April to September 2011 in Shuangqiao estuary of Chaohu Lake

| 水质指标 Water quality index | 4 月 13 日 April 13 | 5 月 14 日 May 14 | 6 月 14 日 June 14 | 7 月 20 日 July 20 | 8 月 13 日 August 13 | 9 月 15 日 September 15 |
|---|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 总氮/(mg·L ⁻¹) Total nitrogen | 5.94 ± 0.26 ^a | 6.46 ± 0.35 ^a | 6.14 ± 0.40 ^a | 3.60 ± 0.84 ^b | 2.41 ± 0.22 ^c | 2.47 ± 0.44 ^c |
| 总磷/(mg·L ⁻¹) Total phosphorus | 0.30 ± 0.02 ^a | 0.28 ± 0.02 ^a | 0.25 ± 0.05 ^a | 0.09 ± 0.02 ^b | 0.06 ± 0.01 ^b | 0.09 ± 0.03 ^b |
| 铵态氮/(mg·L ⁻¹) NH ₄ ⁺ -N | 1.23 ± 0.43 ^a | 1.18 ± 0.27 ^a | 0.87 ± 0.15 ^b | 0.63 ± 0.22 ^b | 0.38 ± 0.10 ^c | 0.47 ± 0.12 ^{bc} |
| 硝态氮/(mg·L ⁻¹) NO ₃ ⁻ -N | 3.26 ± 0.38 ^a | 3.47 ± 0.62 ^a | 3.07 ± 0.38 ^a | 1.85 ± 0.43 ^b | 1.26 ± 0.27 ^b | 1.25 ± 0.32 ^b |
| 叶绿素 a/(μg·L ⁻¹) Chlorophyll a | 7.17 ± 0.99 ^c | 9.60 ± 0.72 ^c | 13.52 ± 2.02 ^c | 44.23 ± 2.73 ^a | 36.33 ± 1.65 ^b | 29.85 ± 2.34 ^b |

注:同行不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。Different letters in a line mean significant difference at 0.05 level.

2.2 不同区域水体中总细菌数量

通过平板计数法测定巢湖双桥河口不同区域水体中总细菌数量(图 2)。在 4 月份,采样点 C3 才开始布置,所以未在该采样点采样,仅对 C1 和 C2 采样点进行采样,C1 采样点总细菌数量为 4.5 × 10⁵ CFU·mL⁻¹,C2 采样点总细菌数量为 4.7 × 10⁶ CFU·mL⁻¹,C2 采样点水体总细菌数量比示范区外的 C1 采样点提高了 10 倍左右。5 月份开始对 C3 采样点进行采样,连续 5 个月的结果显示 C1 采样点总细菌数量为 10⁵ CFU·mL⁻¹,C2 采样点总细菌数量为 10⁶ CFU·mL⁻¹,C3 采样点总细菌数量达到了 10⁷ CFU·mL⁻¹,C3 采样点比 C2 采样点高了 10 倍左右。统计分析表明,总细菌数量在不同采样点差异显著 (*F* = 1 594.99, *P* < 0.05),在不同季节差异显著 (*F* = 24.13, *P* < 0.05),在不同采样点和不同季节差异显著 (*F* = 19.96, *P* < 0.05)。

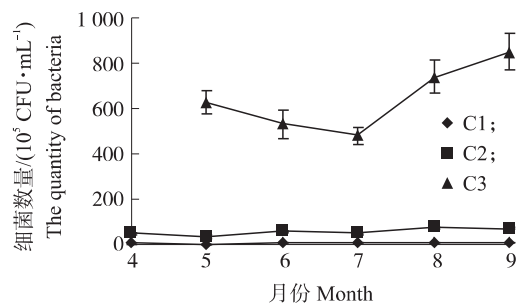


图 2 水体中总细菌数量的变化

Fig. 2 Changes of the quantity of total bacteria in water

C1. 示范区外的采样点 The sampling site outside the demonstration area; C2. 示范区内的采样点 The sampling site in the demonstration area; C3. 生态浮床生物膜表面采样点 The sampling site at the surface of the ecological floating bed. The same as follows.

2.3 不同区域水体中硝化细菌和反硝化细菌数量

用 MPN 计数法测定巢湖双桥河口不同区域水体中硝化细菌和反硝化细菌数量(图 3 和图 4)。连续 6 个月的监测结果显示硝化细菌和反硝化细菌数量在不同采样点差异显著 ($F = 774.48$ 和 $F = 883.51, P < 0.05$) ,在不同季节差异显著 ($F = 56.72$ 和 $F = 35.17, P < 0.05$) ,在不同采样点和不同季节 3 个采样点差异显著 ($F = 30.98$ 和 $F = 9.98, P < 0.05$) ,采样点 C1 硝化细菌和反硝化细菌数量最低 ,C3 点硝化细菌和反硝化细菌最高。C1 采样点硝化细菌数量是逐渐降低 ,到 7 月份达到最低值后开始逐渐升高; C2 采样点硝化细菌数量是先下降后上升 ,到 8 月份又开始下降; C3 采样点硝化细菌 5 月就逐渐上升 ,到 8 月份开始下降。C1 采样点反硝化细菌数量在 170 $MPN \cdot mL^{-1}$ 左右波动; C2 采样点反硝化细菌数量呈现逐渐上升的趋势 9 月份数量最多; C3 采样点反硝化细菌数量呈逐渐上升趋势 ,7 月份有所下降 8 月份又开始上升 9 月份数量最多。上述结果表明 ,在示范区内硝化细菌和反硝化细菌数量明显高于示范区外 ,而添加生物膜载体后的生态浮床富集硝化细菌和反硝化细菌能力明显提高。在 7 月份各采样点硝化细菌和反硝化细菌数量增加缓慢或者降低的主要原因是每年 7 月份左右巢湖处于雨季 ,水位最高时期比旱季高 3 m 左右。

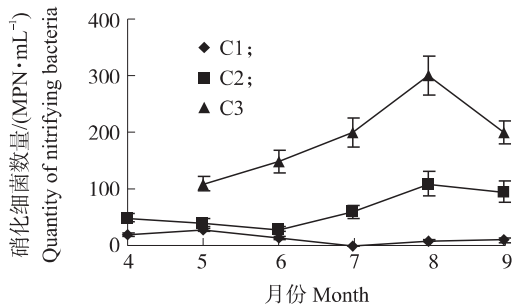


图 3 水体中硝化细菌数量的变化

Fig. 3 Changes of the quantity of nitrifying bacteria in water

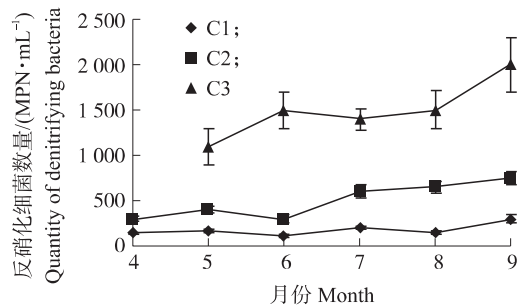


图 4 水体中反硝化细菌数量的变化

Fig. 4 Changes of the quantity of denitrifying bacteria in water

2.4 不同区域水体细菌群落结构的差异

分别利用细菌 16S rDNA V3 片段通用引物和反硝化细菌 *nosZ* 基因特异性引物对水体中微生物的总 DNA 进行 PCR 扩增 ,扩增产物片段经检测分别为 230 bp 左右和 500 bp 左右 ,经证实为所需要的目的基因片段。通过 DGGE 技术分别将各个处理的 PCR 产物分离为若干条带(图 5 和图 6) ,不同处理样品 PCR 产物出现的带型有一定的差别。对 2 幅 DGGE 图谱进行初步统计发现 ,DGGE 图谱中电泳条带数目、强度和迁移率均存在一定的差异。利用软件 Quantity One(Quantity One 4.6.3 ,Bio-Rad $P < 0.05$) 将 DGGE 图谱转换为数字模式 ,并计算各个样品的 Shannon-Wiener 指数、丰度 (S) 和均匀度指数 (E_H) ,结果见表 2。

从细菌 DGGE 图谱中可以看出 ,3 次采样时间所采的样品均是 C3 采样点的样品条带数最多 ,C1 和 C2 采样点样品条带数量比较接近。C3 采样点总细菌 Shannon-Wiener 指数和丰度明显高于 C1 和 C2 采样点 ,表明生态浮床能有效地富集细菌 ,明显提高水体中总细菌的群落结构多样性。通过反硝化细菌 DGGE

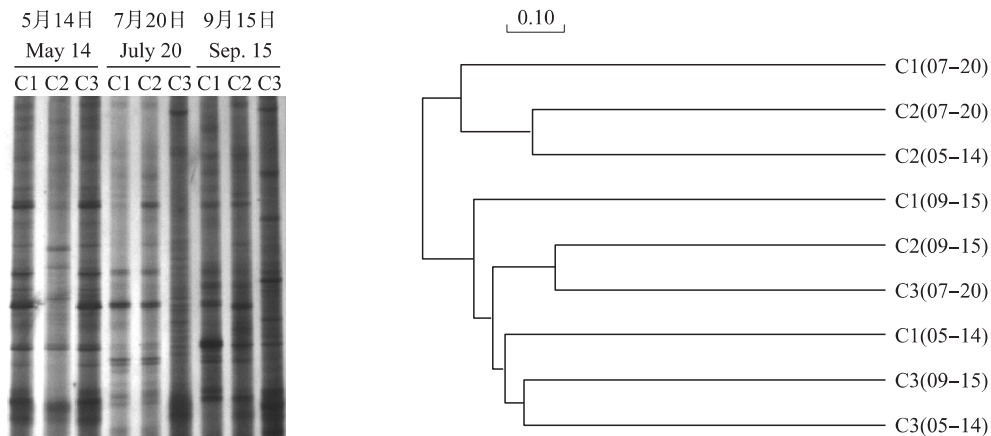


图 5 总细菌 16S rDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 图谱和聚类分析(UPGMA)

Fig. 5 DGGE profile of amplified 16S rDNA V3 fragments and cluster analysis

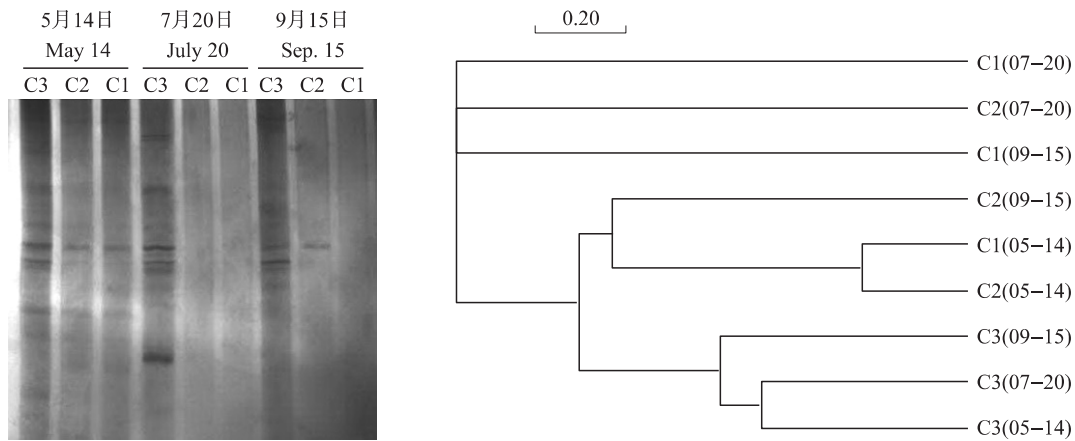


图 6 反硝化细菌 *nosZ* 片段 PCR 产物的 DGGE 图谱和聚类分析 (UPGMA)

Fig. 6 DGGE profile of amplified denitrifying bacteria *nosZ* fragments and cluster analysis

图谱分析发现, 在 5 月份 3 个采样点均分离出了条带, C3 采样点的条带数明显比 C1 和 C2 采样点的多; 在 7 月份仅 C3 采样点分离出了条带; 在 9 月份 C2 采样点分离出了 2 个条带, C3 采样点分离出了 6 个条带。C3 采样点反硝化细菌 Shannon-Wiener 指数和丰度明显高于 C1 和 C2 采样点, 表明生态浮床能提高水体中反硝化细菌的群落结构多样性。

表 2 不同样品细菌群落的多样性指数、丰度和均匀度指数

Table 2 Shannon-Wiener index (H), richness (S) and evenness (E_H) of the bacterial popularity

| 指标 Item | 5 月 14 日 May 14 | | | 7 月 20 日 July 20 | | | 9 月 15 日 Sep. 15 | | |
|--|--------------------|------|------|---------------------|------|------|---------------------|------|------|
| | C1 | C2 | C3 | C1 | C2 | C3 | C1 | C2 | C3 |
| 总细菌 | | | | | | | | | |
| Total bacteria | | | | | | | | | |
| 丰度 (S) Richness | 22 | 15 | 26 | 17 | 16 | 27 | 19 | 19 | 25 |
| Shannon-Wiener 指数 (H) Shannon-Wiener index | 3.02 | 2.50 | 3.21 | 2.66 | 2.73 | 3.23 | 2.87 | 2.91 | 3.17 |
| 均匀度指数 (E_H) Evenness | 0.98 | 0.92 | 0.98 | 0.94 | 0.99 | 0.98 | 0.97 | 0.99 | 0.98 |
| 反硝化细菌 | | | | | | | | | |
| Denitrifying bacteria | | | | | | | | | |
| 丰度 (S) Richness | 4 | 4 | 9 | 0 | 0 | 7 | 0 | 2 | 6 |
| Shannon-Wiener 指数 (H) Shannon-Wiener index | 1.21 | 1.22 | 2.14 | — | — | 1.90 | — | 0.32 | 1.50 |
| 均匀度指数 (E_H) Evenness | 0.87 | 0.88 | 0.97 | — | — | 0.97 | — | 0.46 | 0.84 |

注: “—”表示该数值无法计算。“—” means the data cannot be calculated.

3 讨论

水体中氮和磷超标是导致水体富营养化的主要因素, 因此去除水体中氮和磷对于缓解水体富营养化程度具有重要意义。大量研究表明生态浮床能有效地去除水体中氮和磷^[3-5], 已经成为水体富营养化治理的重要手段之一, 生态浮床对水体中氮和磷的移除主要途径是植物的吸收同化和微生物脱氮作用。植物的吸收同化作用受植物生物量的限制^[16], 达到一定程度后无法增加, 但是微生物脱氮作用只要条件合适可以持续进行。范洁群等^[9]研究表明, 在一定条件下浮床植物对富营养水体净化过程中微生物脱氮作用对水体中氮和磷的移除贡献大于植物的吸收同化作用。本研究通过在生态浮床下挂膜来提高微生物的脱氮作用, 结果表明膜材料表面水体中总细菌、硝化细菌和反硝化细菌数量明显高于未挂膜区域, 同时细菌和反硝化细菌群落多样性也明显高于未挂膜区域, 生态浮床技术的脱氮能力得到进一步提高。

用 PCR-DGGE 技术对水体中微生物群落进行分析具有明显的优势, 但是影响其分辨率的因素也很多, PCR-DGGE 技术不能将样品中所有的 DNA 片段进行分离, 只能分离群落中的优势种群, 且易受 PCR 条件的影响产生偏差^[17]。尽管 PCR-DGGE 技术存在一些不足, 但是到目前为止仍然是一种比较理想的研究不同环境中微生物群落变化的工具^[18]。本研究利用 PCR-DGGE 技术对生态浮床周围不同距离水体中的细菌 16S rDNA V3 片段的基因和反硝化细菌群落 *nosZ* 片段的基因进行分离, 结果表明距离生态浮床越近水体中细菌群落和反硝化细菌群落多样性越高。这是由于浮床植物根系和膜材料为细菌提供了栖息场所和能量供给, 特别是浮床植物根系分泌物和膜材料中的有机质为反硝化细菌生长提供了电子供体^[19]。C1 和 C2 采样点细菌 16S rDNA V3 片段 DGGE 图谱可以分离获得很多条带, 但是 C1 和 C2 采样点反硝化细菌 *nosZ* 片段 DGGE 图谱分离获得较少条带, 甚至 7 月都没有检测出任何条带。原因可能有 2 点:

1) 样品本身浓度比较低,反硝化细菌数量少,不是当季水体中的优势菌群;2) *nosZ* 片段基因是氧化二氮还原酶功能基因,只能检测出反硝化最后一步 N_2O 被还原成 N_2 过程中起主导作用的反硝化细菌^[20],而在反硝化过程中产硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶和一氧化氮还原酶细菌基因不能被检测出来。因此, *nosZ* 片段基因不能完整地反映水体中所有反硝化细菌群落,仅能反映水体中部分反硝化细菌的群落。

本文在巢湖双桥河入湖口的水质调控示范区进行原位湖泊试验并进行监测,研究表明生态浮床经过挂膜后能有效提高水体中的细菌、硝化细菌及反硝化细菌数量和群落结构多样性,距离生态浮床越近微生物的生长受到生态浮床影响越大。本文仅对反硝化过程中的 *nosZ* 片段基因进行分析,要完整地理解水体中反硝化细菌群落还必须结合其他测定方法。随着对生态浮床技术研究的不断深入,生物浮床技术在富营养化水体生态修复中的作用和机制将会越来越清楚。

参考文献:

- [1] 李雷,戴万宏.巢湖水体富营养化污染现状及防治对策[J].中国水土保持,2009(7):55-57
- [2] 许其功,曹金玲,高如泰,等.我国湖泊水质恶化趋势及富营养化控制阶段划分[J].环境科学与技术,2011,34(11):147-151
- [3] 罗思亭,张饮江,李娟英,等.沉水植物与生态浮床组合对水产养殖污染控制的研究[J].生态与农村环境学报,2011,27(2):87-94
- [4] 王彦玲,韩士群,宋伟,等.植物与螺组合浮床对富营养化水体的净化效果[J].江苏农业学报,2011,27(2):295-300
- [5] Li X N, Song H L, Li W, et al. An integrated ecological floating-bed employing plant, freshwater clam and biofilm carrier for purification of eutrophic water[J]. Ecological Engineering, 2010, 36(4):382-390
- [6] 周元清,李秀珍,唐莹莹,等.不同处理水芹浮床对城市河道黑臭污水的脱氮效果及其机理研究[J].环境科学学报,2011,31(10):2192-2198
- [7] 张文艺,姚立荣,王立岩,等.植物浮岛湿地处理太湖流域农村生活污水效果[J].农业工程学报,2010,26(8):279-284
- [8] Zhou X H, Wang G X. Nutrient concentration variations during *Oenanthe javanica* growth and decay in the ecological floating bed system[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(11):1710-1717
- [9] 范洁群,邹国燕,宋祥甫,等.不同类型生态浮床对富营养河水脱氮效果及微生物菌群的影响[J].环境科学研究,2011,24(8):850-856
- [10] 罗佳,韩士群,宋伟,等.生物膜载体对富营养化水体细菌群落结构的影响[J].江苏农业学报,2011,27(5):1016-1020
- [11] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,2001:214-215
- [12] 张光亚,陈美慈,闵航,等.设施栽培土壤氧化亚氮释放及硝化、反硝化细菌数量的研究[J].植物营养与肥料学报,2002,8(2):239-243
- [13] 罗佳,蒋小芳,孟琳,等.不同堆肥原料的有机无机复合肥对油菜生长及土壤供氮特性的影响[J].土壤学报,2010,47(1):97-106
- [14] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis Å, et al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 49:401-417
- [15] 国家质量监督检验检疫总局. GB 3838—2002 地表水环境质量标准[S].北京:环境科学技术出版社,2002
- [16] 张迎颖,吴富勤,张志勇,等.凤眼莲有性繁殖与种子结构及其活力研究[J].南京农业大学学报,2012,35(1):135-138
- [17] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA[J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59:695-700
- [18] Muyzer G, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1998, 73:127-141
- [19] Peralta A L, Matthews J W, Kent A D. Microbial community structure and denitrification in a wetland mitigation bank[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(13):4207-4215
- [20] 王淑莹,孙洪伟,杨庆,等.传统生物脱氮反硝化过程的生化机理及动力学[J].应用与环境生物学报,2008,14(5):732-736

责任编辑:沈波 刘怡辰