



农业资源与环境学报

CSCD 核心期刊
中文核心期刊
中国科技核心期刊

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESOURCES AND ENVIRONMENT

欢迎投稿 <http://www.aed.org.cn>

大藻对规模化奶牛场污水的耐受性和净化效果

杜德林, 王涵, 刘生博, 赵润, 杨鹏, 张克强, 支苏丽

引用本文:

杜德林, 王涵, 刘生博, 赵润, 杨鹏, 张克强, 支苏丽. 大对规模化奶牛场污水的耐受性和净化效果[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(4): 893–905.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0185>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

大对污水中污染物净化作用和效果分析

刘鹤莹, 杨鹏, 支苏丽, 杜德林, 张克强

农业资源与环境学报. 2022, 39(5): 903–912 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0492>

增氧方式对水芹菜-微生物联合作用处理冬季养殖废水的影响

刘方剑, 杨海龙, 陈晓露, 李琳秋, 周化斌

农业资源与环境学报. 2020, 37(5): 770–776 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0345>

硒对油菜根际土壤微生物的影响

程勤, 胡承孝, 明佳佳, 蔡苗苗, 刘康, 汤艳妮, 赵小虎

农业资源与环境学报. 2021, 38(1): 104–110 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0061>

外源菌剂对茄子秸秆原位堆肥微生物群落结构影响及其相关性分析

李雪菲, 靳拓, 邵明娜, 尹君华, 丁超武, 刘勤

农业资源与环境学报. 2023, 40(4): 883–892 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0420>

29种水生植物对农村生活污水净化能力研究

张倩妮, 陈永华, 杨皓然, 陈明利, 柳俊

农业资源与环境学报. 2019, 36(3): 392–402 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2018.0235>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杜德林, 王涵, 刘生博, 等. 大藻对规模化奶牛场污水的耐受性和净化效果[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(4): 893–905.

DU D L, WANG H, LIU S B, et al. Tolerance and purification effects of *Pistia stratiotes* L. on dairy wastewater[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(4): 893–905.

大藻对规模化奶牛场污水的耐受性和净化效果

杜德林^{1,2}, 王涵^{1,2}, 刘生博^{1,2}, 赵润¹, 杨鹏¹, 张克强^{1,2*}, 支苏丽^{1*}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150036)

摘要:为考察大藻对高浓度畜禽污水净化的可行性,通过室内模拟大藻处理奶牛场污水试验,明确大藻在不同类型污水中的生长状况和生理响应,研究大藻对氮、磷和有机物等的净化效果,并通过高通量测序分析微生物群落变化,揭示微生物群落与常规污染物去除之间的关系。结果显示,大藻能够耐受的污水浓度[以化学需氧量(COD_{Cr})计]为0~2 000 mg·L⁻¹原水、0~750 mg·L⁻¹厌氧池和氧化塘污水。当大藻受到高浓度污水胁迫时,叶绿素含量明显减少,过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性明显升高。在耐受范围内,大藻对奶牛场3种污水具有良好的净化效果:0~10 d内对污染物去除较快,10~20 d内去除率上升缓慢;大藻对原水中总氮、氨氮、总磷和COD_{Cr}的去除率分别为84.7%~92.7%、90.6%~96.7%、30.0%~93.1%、67.3%~77.2%,而对厌氧池和氧化塘污水的净化效果略差。从微生物角度分析得出,奶牛场污水微生物以变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为主,且大藻处理组内的微生物群落结构与无植物对照组明显不同,其中蓝藻菌门相对丰度差异最为明显。微生物群落与水体多项指标显著相关($P<0.05$),说明微生物在污染物去除中起重要作用。本研究结果验证了大藻处理高浓度畜禽污水的可行性,为奶牛场污水处理提供了理论基础和技术支撑。

关键词:大藻;奶牛场污水;净化效果;微生物群落

中图分类号:X713

文献标志码:A

文章编号:2095-6819(2023)04-0893-13

doi: 10.13254/j.jare.2022.0185

Tolerance and purification effects of *Pistia stratiotes* L. on dairy wastewater

DU Delin^{1,2}, WANG Han^{1,2}, LIU Shengbo^{1,2}, ZHAO Run¹, YANG Peng¹, ZHANG Keqiang^{1,2*}, ZHI Suli^{1*}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150036, China)

Abstract: To investigate the feasibility of livestock wastewater purification by the floating plant *Pistia stratiotes* L., an experimental study was conducted using *P. stratiotes* L. treatments of dairy wastewater to clarify the growth status and physiological responses of *P. stratiotes* L. in different types of wastewater and investigate the purifying effects on nitrogen, phosphorus, and organic matter. The changes in microbial communities were also analyzed using high-throughput sequencing to reveal the relationship between microbial communities and the removal of conventional pollutants. The results showed that the tolerance ranges were 0–2 000 mg·L⁻¹ and 0–750 mg·L⁻¹ for raw and anaerobic and oxidized pond wastewater, respectively [measured as chemical oxygen demand (COD_{Cr})]. When *P. stratiotes* L. was subjected to high concentrations of wastewater, the chlorophyll content was markedly reduced, and the activities of three enzymes (catalase, peroxidase and superoxide dismutase) were significantly increased. Within the tolerance range, *P. stratiotes* L. showed good purification effects on the three wastewater types from dairy farms. *Pistia stratiotes* L. had a rapid purification speed in the first 10 days, which slowly increased within 10–20 days. After treatment with *P. stratiotes* L., the removal rates of total nitrogen, ammonia nitrogen, total phosphorus,

收稿日期: 2022-04-09 录用日期: 2022-09-29

作者简介: 杜德林(1998—), 男, 山东人, 硕士研究生, 从事畜禽废弃物处理和资源转化研究。E-mail: 2863292054@qq.com

*通信作者: 张克强 E-mail: keqiangzhang68@163.com; 支苏丽 E-mail: zhisuli87@163.com

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2022-jbkyywf-zsl, 2022-jbkyywf-zl); 国家自然科学基金青年基金项目(41807474)

Project supported: Fundamental Research Funds for the Central Public Welfare Research Institute (2022-jbkyywf-zsl, 2022-jbkyywf-zl); The Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China(41807474)

and COD_{Cr} in raw wastewater were 84.7%–92.7%, 90.6%–96.7%, 30.0%–93.1%, and 67.3%–77.2%, respectively; however, the purification effect of *P. stratiotes* L. in anaerobic and oxidation ponds decreased slightly. Regarding the microbial communities, Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes, were the main species in different dairy wastewaters. The microbial community structures in the *P. stratiotes* L. treatment group and non-plant control group were significantly different; in particular, the relative abundance of Cyanobacteria was distinct. The correlation between the microbial community and several indexes of wastewater was significant ($P<0.05$), indicating that microorganisms played an important role in the removal of pollutants. This study verified the feasibility of *P. stratiotes* L. in treating wastewater with high concentrations of pollutants and provides a theoretical basis and technical support for dairy farm wastewater treatment.

Keywords: *Pistia stratiotes* L.; dairy wastewater; purification effect; microbial communities

随着我国畜禽养殖业快速发展,畜禽粪污带来的环境问题日益突出,尤其是奶牛养殖业,不仅污水产量巨大,而且污染物含量高^[1]。目前,虽然部分奶牛养殖场设置了厌氧、好氧等污水处理工艺,但出水中污染物浓度仍偏高,如果这些污水直接排入江河湖泊,会导致水体N、P含量升高,从而引起水体富营养化;若污染物进入地下水,可造成持久性污染,极难治理与恢复^[2]。由此可见,污水处理是奶牛养殖污染防治的难点之一,因此,亟需寻找一种高效率、低成本、易操作的新型污水处理技术,对奶牛养殖场污水中的污染物进一步净化处理^[3–4]。

植物修复是一种新兴技术,主要通过植物本身吸收、微生物降解等共同作用去除污染物^[5],该技术具有设计简单、运行成本较低、处理效果好等特点,因此被广泛用于不同种类污水的深度处理。大藻(*Pistia stratiotes* L.)是多年生漂浮植物,具有生物量大、繁殖迅速、根系发达、适应能力强等特点,更重要的是,大藻漂浮于水面,易打捞、好控制,是净化水体的良好物种^[6–8]。Nahar等^[9]通过模拟试验研究发现,大藻可通过发达的根系极大改善富营养化湖泊的水质。曾乐媛^[10]的研究表明,经过30 d大藻净化后,公园富营养化水体中总磷(TP)和化学需氧量(COD_{Cr})可分别去除90%和85%以上。另有研究表明,由大藻和水葫芦组合构建的生态净化塘对污水处理厂尾水中总氮、硝酸盐氮、总磷和可溶性磷酸盐的去除率分别可达72.4%、79.0%、78.6%和80.6%^[11]。以上研究表明,大藻广泛用于地表水、景观用水、生活污水等水体的净化处理。然而,对于成分复杂、污染物含量高的奶牛养殖场污水,大藻的生长耐受性和净化效果目前还鲜有研究。陈金发等^[12]曾利用大藻对畜禽污水COD_{Cr}、NH₄⁺-N和TP进行去除,但是未明确给出大藻的耐受阈值,更缺乏大藻处理过程中微生物群落分析及其与污染物去除的相关性分析。因此,本研究以大藻为研究对象,选取奶牛场原始污水、厌氧池和氧化塘等不

同类型污水,研究大藻在奶牛场污水中的生长状况和生长阈值,分析大藻对不同污染物的去除效果,对比试验前后污水中微生物群落的变化,明确微生物群落与污染物去除之间的相关性。研究结果可印证大藻对畜禽污水的适应性能,也可为大藻净化畜禽污水提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于农业农村部环境保护科研监测所(天津)的温室大棚内进行,试验准备阶段(2021年7月10–15日)进行奶牛场污水采集和大藻的预培养。试验所用污水来自天津某规模化奶牛场,其奶牛存栏总数为2 600头左右,污水处理工艺为:原水(R)–厌氧池(A)–氧化塘(O),采集3种处理工艺阶段污水50~70 L,并尽快运回实验室,测定3种污水的初始指标,结果如下:总氮(TN)为(659±14)~(1 710±44)mg·L⁻¹、氨氮(NH₄⁺-N)为(531±31)~(1 037±42)mg·L⁻¹、总磷(TP)为(116±2)~(226±3)mg·L⁻¹、化学需氧量(COD_{Cr})为(3 850±60)~(18 716±350)mg·L⁻¹、pH为7.37~8.25、电导率(EC)为(14.5±3.6)~(45.5±4.9)μS·cm⁻¹。供试大藻为本地购得,用蒸馏水将大藻冲洗干净,在自然条件下预培养7 d。

试验时间为2021年7月15日至8月5日,试验期间气温为25~32℃,水温为20~26℃。试验装置采用11.25 L蓝色培养箱(长30 cm、宽25 cm、高15 cm)。添加蒸馏水将3种污水稀释至COD_{Cr}值为250、500、750、1 000、1 500、2 000 mg·L⁻¹和3 000 mg·L⁻¹,在每个试验培养箱内添加10 L污水静置1 d,均匀栽种150 g长势相近的大藻,保证其初始种植密度为2.3 kg·m⁻²左右。以上每个处理组设3个重复,每个梯度处理另设一组无植物对照组(CK组),并以自来水培养大藻为对照组(CK₀组)。每日19:00用蒸馏水补充蒸发水量以保证污水体积恒定。培养期间每5 d采水

样 50 mL,测定水样 TN、 NH_4^+-N 、TP、 COD_{Cr} 、pH 和 EC。试验第 20 天时测定植物的生长参数。为了对比试验效果,分别测定处理前后(第 0 天和第 20 天)大藻组和无植物对照组的微生物群落结构。样品名称编码原则为字母+数字:字母为 R、A 和 O,分别代表原水、厌氧池和氧化塘污水;数字为 250、500、750、1 000、1 500、2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 3 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,代表污水不同 COD_{Cr} 浓度。

1.2 样品常规指标和生理指标测定

水样中 TN 采用碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法测定, NH_4^+-N 采用纳氏试剂光度法测定,TP 采用钼锑抗分光光度法测定, COD_{Cr} 采用重铬酸钾消解哈希仪(美国 Hach)测定,pH 和 EC 采用便携式电极法测定。具体测定步骤参照《水和废水监测分析方法》^[13]。生理指标中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性分别用 NBT 法和愈创木酚法测定^[14],过氧化氢酶(CAT)活性用索莱宝实验盒测定,叶绿素含量采用分光光度法测定^[15]。

1.3 生长参数分析

分别在试验开始和结束时,从各处理的培养箱中取出植株,吸干水分后测定质量^[11]。

增长率=(第 20 天生物量-第 1 天生物量)÷第 1 天生物量×100%。

1.4 样品 DNA 提取、PCR 扩增和高通量测序

对处理前后污水样本进行微生物高通量测序,使用 FastDNA™ Spin Kit for soil 试剂盒(MP Biomedicals, 美国)对样本进行 DNA 提取,提取步骤严格遵守操作工序说明书,并采用超微量紫外可见分光光度计检测 DNA 纯度,质检合格后放入-80℃的冰箱保存。细菌 16S rRNA 基因在 V3~V4 区域进行扩增和分析,引物序列为 338F(5'-ACTCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R(5'-GGACTACNNGGTTATCTAAT-3')。在上游和下游引物的 5' 末端各添加 8 bp 条形码序列,以区分不同的样本。PCR 反应体系(总体积为 25 μL): 12.5 μL 2xTaq Plus Master Mix、3 μL BSA (2 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$)、1 μL Forward Primer (5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、1 μL Reverse Primer (5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、2 μL DNA (加入的 DNA 总量为 30 ng),最后加入 5.5 μL ddH₂O 补足至 25 μL 。反应程序:95℃预变性 5 min;95℃变性 45 s,55℃退火 50 s,72℃延伸 45 s,28 个循环;72℃延伸 10 min。PCR 产物使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增目的条带大小,并用 Agencourt AMPure XP 核酸纯化试剂盒纯化。PCR 产物用于构建微生物多样性测序文库,在北

京奥维森基因科技有限公司使用 Illumina Miseq PE300 高通量测序平台进行 Paired-end 测序。

1.5 数据分析

使用 Vsearch (v2.7.1) 软件 uparse 算法对优质序列进行 OTU (Operational Taxonomic Units) 聚类,序列相似性阈值为 97%,与 Silva128 数据库使用 RDP Classifier 算法进行比对,设置 70% 的置信度阈值,得到每个 OTU 对应的物种分类信息,并使用奥维森数据分析平台对微生物群落数据进行物种注释等相关性分析。用 Microsoft Excel 2007 进行数据处理,采用 SPSS 20.0 软件对数据进行单因素方差分析,使用 Origin 2017 进行绘图处理。

2 结果与分析

2.1 大藻在奶牛场不同类型污水中的生长情况

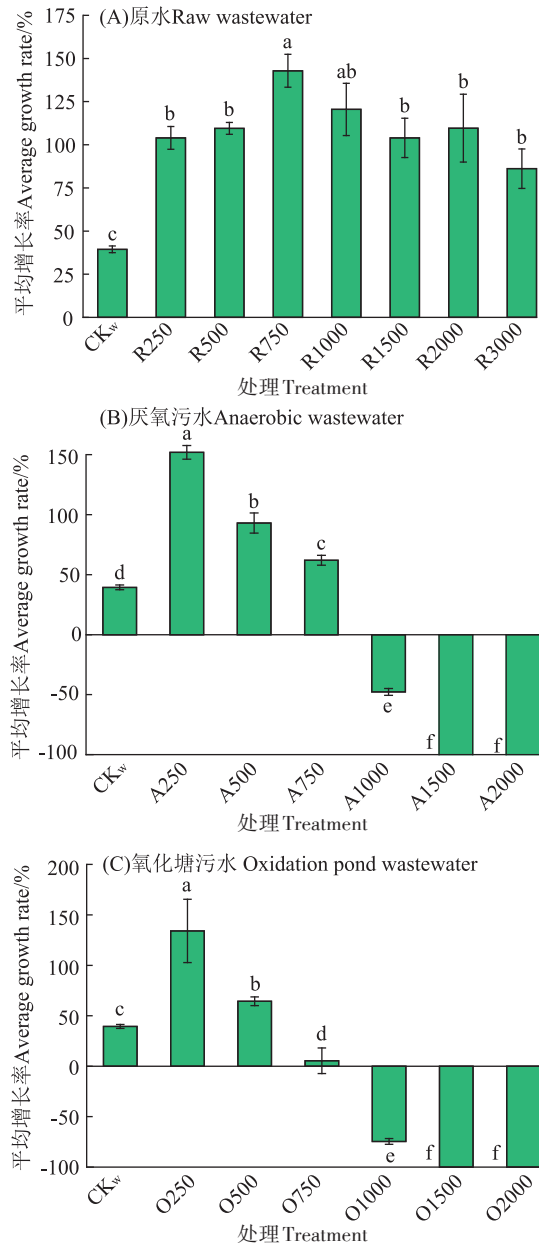
2.1.1 大藻的生长率和形态指标

图 1 为大藻在 3 种不同类型污水(原水、厌氧池、氧化塘)中的平均增长率(20 d)。由图 1 可知,纯水培养组(CK₀)的大藻平均增长率仅有 39%,而大藻在 3 种污水中平均增长率均显著增加($P<0.05$)。在不同浓度的原始污水中,大藻表现出良好的生长性能(图 1A),不同浓度处理平均增长率均显著升高至 100% 以上,且比 CK₀ 组平均增长率增加 61~104 个百分点。在不同浓度的厌氧污水(图 1B)和氧化塘污水(图 1C)中,大藻的平均增长率呈先升高后降低趋势,大藻增长率最高的为 A250 组(151%)和 O250 组(138%)。由此可知,大藻在不同类型奶牛场污水中的适应范围(以 COD_{Cr} 计)如下:0~2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 原水、0~750 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 厌氧池和氧化塘污水。

经过 20 d 处理后,大藻在不同污水中的形态指标如表 1 所示。在原始污水中,大藻的叶长、叶宽的变化量均呈现增加趋势,且高于 CK₀ 组;但根长随着原水污水浓度的增加逐渐减小。对于厌氧池污水,随着污水浓度增加,大藻的叶长、叶宽先增加后减小,大藻根长明显受到抑制,均小于 CK₀ 组,其中 A250 组具有最大根长(19 cm)且小于 CK₀ 组的最大根长(28 cm)。对于氧化塘污水,大藻叶长、叶宽、根长的变化规律与厌氧污水组类似,低浓度污水促进大藻生长,高浓度污水抑制大藻生长,O1500 组和 O2000 组中大藻快速死亡。这些结果与图 1 中大藻增长率结果一致。

2.1.2 大藻的生理响应

大藻的生理指标变化可反映其不同浓度牛场污水中的内在响应机制,图 2 为大藻在不同类型牛场



不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。
Different letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

图1 不同浓度的污水中大藻的平均增长率变化

Figure 1 Changes in the average growth rate of *Pistia stratiotes* L. in different wastewaters

污水中光合色素和抗氧化酶活性的变化规律。由图2A可知,在不同浓度原水中,大藻的叶绿素含量随着污水浓度的升高先增加后逐渐降低,叶绿素含量最高的处理为R750,这与大藻在原水中的增长率一致(图1A)。由图2B、图2C可知,叶绿素含量随着厌氧池和氧化塘污水浓度的增加呈先升高后降低的趋势,低浓度污水促进大藻叶绿素合成,而高浓度污水降低大藻叶绿素含量,进而影响大藻生长;叶绿素a含量相对

较高,且变化量较大。图3A~图3C表明,大藻体内的酶(CAT、POD和SOD)活性也受到污水浓度的影响,整体呈现先增高后降低的趋势;在低浓度污水中,大藻体内酶活性受污水浓度影响不大,高浓度污水使得大藻酶活性增加,不同类型污水中酶活性最高的处理分别为R3000、A500和O500组,分别对应大藻增长率受到明显抑制的浓度组(图1)。

2.2 大藻对奶牛场不同类型污水的净化效果

2.2.1 不同处理时间下的净化效果

图4为大藻对污染物去除效果随时间的变化规律。由图4可知,TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP和 COD_Cr 的浓度随时间变化均呈现逐渐下降趋势,而其去除率呈现先快速上升后缓慢增加的趋势。0~10 d内,大藻对污染物去除较快,3种污水中TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP和 COD_Cr 的浓度快速降低,去除率迅速升高,去除率分别达到55.5%~82.3%、56.3%~85.1%、39.9%~59.7%和22.1%~58.2%;10~20 d内,大藻去除污染物的速率有所下降,20 d时TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP和 COD_Cr 的去除率分别比第10 d时增加了8.7~37.2、9.2~35.2、25.6~35.9个百分点和6.9~37.7个百分点。无植物对照组(CK)的去除率随着处理时间变化基本平稳,且最终去除率明显低于大藻组。对比不同类型的奶牛场污水可知,大藻处理原水中污染物的去除速度较快,如在第5 d时,大藻对原水中 COD_Cr 的去除率约为60%(图4J),这与大藻在原始污水中增长率较高(图1)有关。

为了更好地研究大藻处理对奶牛场污水水质的影响,本研究对大藻处理组和无植物对照组中pH和EC的变化进行了分析(图5)。由图5可知,大藻处理组的3种污水的pH均有所下降,且更接近于中性;而无植物组污水的pH波动较大,如O500组,经过大藻处理后污水pH为7.9左右,而无植物对照组的pH达到9.4左右(图5C)。EC代表溶液传导电流的能力,能够间接推断水中的总离子浓度。整体而言,大藻具有降低污水EC值的作用,如在原水中,大藻组的EC值由 $600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 左右降低至 $212 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$,而无植物组的EC仍维持在 $600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 左右(图5A)。

2.2.2 不同浓度净化效果的变化

图6为不同浓度大藻对污水中不同污染物的去除效率。与无植物对照组相比,大藻对不同污水中的4种污染物都表现出较好的去除效果,尤其是浓度较低时去除效果更佳,TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TP和 COD_Cr 的最终去除效率最高可分别达到92.7%、96.7%、93.1%和77.2%。整体而言,不同浓度下,大藻对TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和

表 1 不同类型污水中大藻叶长、叶宽及根长变化(cm)

Table 1 Changes of leaf length, leaf width and root length of *Pistia stratiotes* L. in different types of dairy wastewater(cm)

处理 Treatment	梯度 Gradient	叶长 Leaf length			叶宽 Leaf width			根长 Root length		
		Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
CK _w 原水 Raw wastewater	自来水	5.0	4.5	4.7	5.0	4.0	4.5	28	15	20
	R250	7.3	6.5	6.9	5.4	5.0	5.1	35	25	30
	R500	7.5	6.5	7.1	5.5	5.3	5.4	30	23	26
	R750	8.7	7.5	8.0	6.5	5.5	6.0	26	21	23
	R1000	7.3	6.8	7.3	6.0	4.3	5.4	19	14	16
	R1500	7.8	6.7	6.9	5.7	4.8	5.3	13	11	12
	R2000	7.5	6.9	7.4	5.9	5.5	5.8	8	7	8
厌氧污水 Anaerobic wastewater	A250	6.1	5.1	5.8	4.6	4.0	4.3	19	15	17
	A500	5.8	4.5	5.1	4.8	4.5	4.6	14	11	13
	A750	3.7	3.3	3.5	4.0	3.6	3.8	7	6	6
	A1000	3.0	2.8	2.8	3.0	2.8	2.9	3	2	3
	A1500	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A2000	—	—	—	—	—	—	—	—	—
氧化塘污水 Oxidationpond wastewater	O250	5.2	4.7	4.9	4.2	3.6	3.9	15	10	13
	O500	6.5	4.5	5.4	5.5	4.5	4.7	11	9	10
	O750	6.3	5.5	5.9	6.3	5.5	5.9	10	7	8
	O1000	4.7	4.3	4.5	4.7	4.3	4.5	4	2	4
	O1500	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	O2000	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注:—表示大藻死亡。
Note:— means *Pistia stratiotes* L. died.

COD_{Cr}的最终去除率保持在60%以上,而对TP的去除率随着污水浓度的升高从93%下降至30%。对于厌氧池和氧化塘污水,在低浓度范围内(COD_{Cr}含量在250~750 mg·L⁻¹),大藻处理组的去除率明显高于无植物对照组,而在高浓度范围内(COD_{Cr}含量在1 000~2 000 mg·L⁻¹),由于大藻的生长受到抑制甚至腐烂死亡(图1),大藻处理组去除率和无植物对照组差别不大。

2.3 大藻处理污水过程中微生物群落变化

本研究进一步分析了微生物群落的物种组成,图7A为在第0天和第20天时3种污水中的微生物组成(门水平)。由图可知,试验前(第0天),变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为优势菌门,它们在3种污水中的相对丰度之和为81.3%~94.7%;此外,放线菌门(Actinobacteriota)、蓝藻门(Cyanobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Patescibacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、弯曲杆菌门(Campilobacterota)和互养菌门(Synergistota)在试验前的丰度也较高。对比20 d后的大藻处理组和无植物对照组可知,不同处理的污水中微生物相对丰度有所改变。其中,3种污水的无植物处理组的变形菌门相对丰度由20.0%~71.2%

下降至16.0%~47.9%,而大藻处理组的变形菌门相对丰度高于对应无植物对照组,保持在38.5%~51.1%;在试验前(第0天)污水中厚壁菌门相对丰度为13.1%~44.6%,20 d后大藻处理组的厚壁菌门相对丰度降至10.0%~37.4%,而无植物对照组升至14.0%~45.5%。且污水经大藻处理20 d后拟杆菌门相对丰度从4.3%~24.0%升至5.9%~32.3%,对应的无植物对照组降至2.5%~18.4%。蓝藻门相对丰度占比在无植物对照组中升幅较大,尤其是第20天时氧化塘污水的无植物组中蓝藻门最高可占50.5%(O250B),而相对应的大藻处理组中蓝藻门的相对丰度只占0.07%~3.22%。

图7B为3种污水在不同处理组微生物属水平的物种组成。试验前(第0天),污水中相对丰度较高的菌属为不动杆菌属(*Acinetobacter*),原水中的相对丰度在53.6%~56.5%之间;其次,变形菌门未知属(*Proteobacteria_uncultured*)、*Romboutsia*菌属、拟杆菌门未知属(*Bacteroidetes_uncultured_bacterium*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、螺旋杆菌(*Turicibacter*)、芽孢杆菌(*Paeniclostridium*)、噬氢菌属(*Hydrogenophaga*)和水杆菌属(*Aquabacterium*)也占较大比例,它们的相对丰

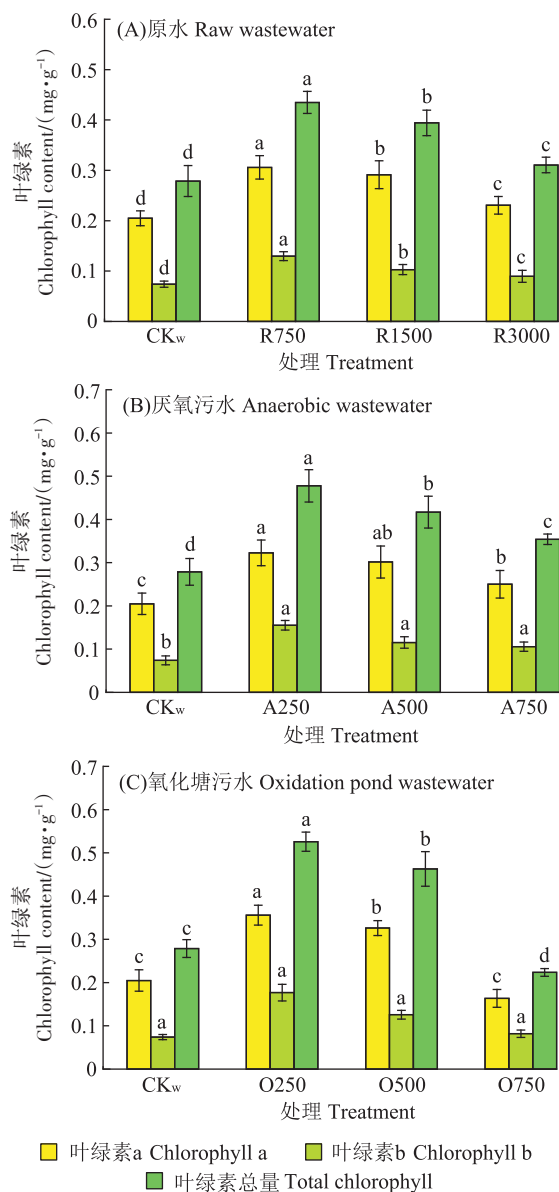


图2 不同浓度奶牛场污水中大藻叶绿素的变化

Figure 2 Changes of chlorophyll contents of *Pistia stratiotes* L. under different concentrations of dairy wastewater

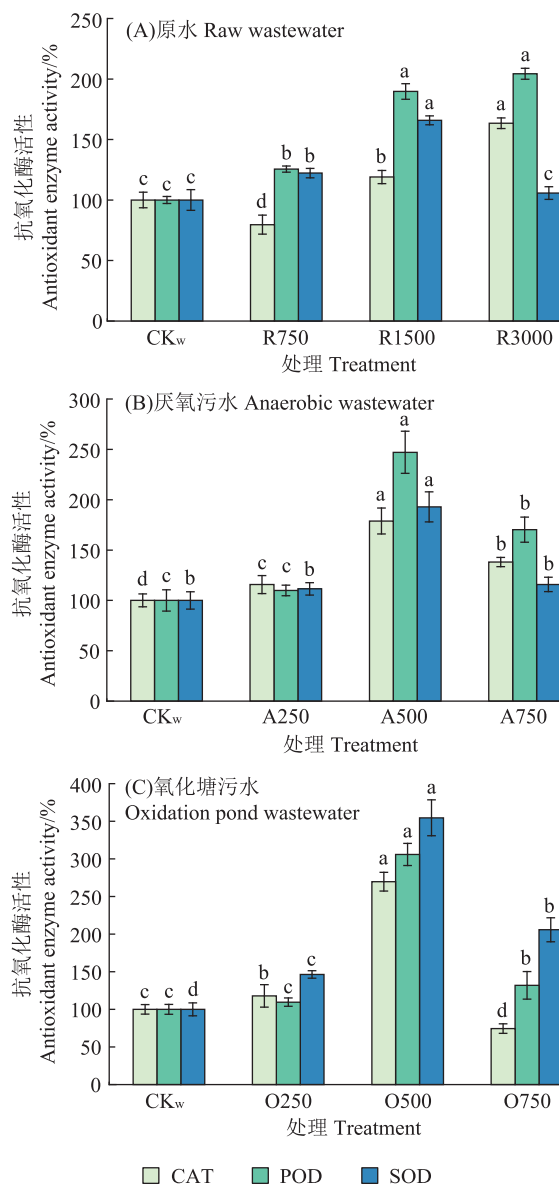


图3 不同浓度奶牛场污水中抗氧化酶活性的变化

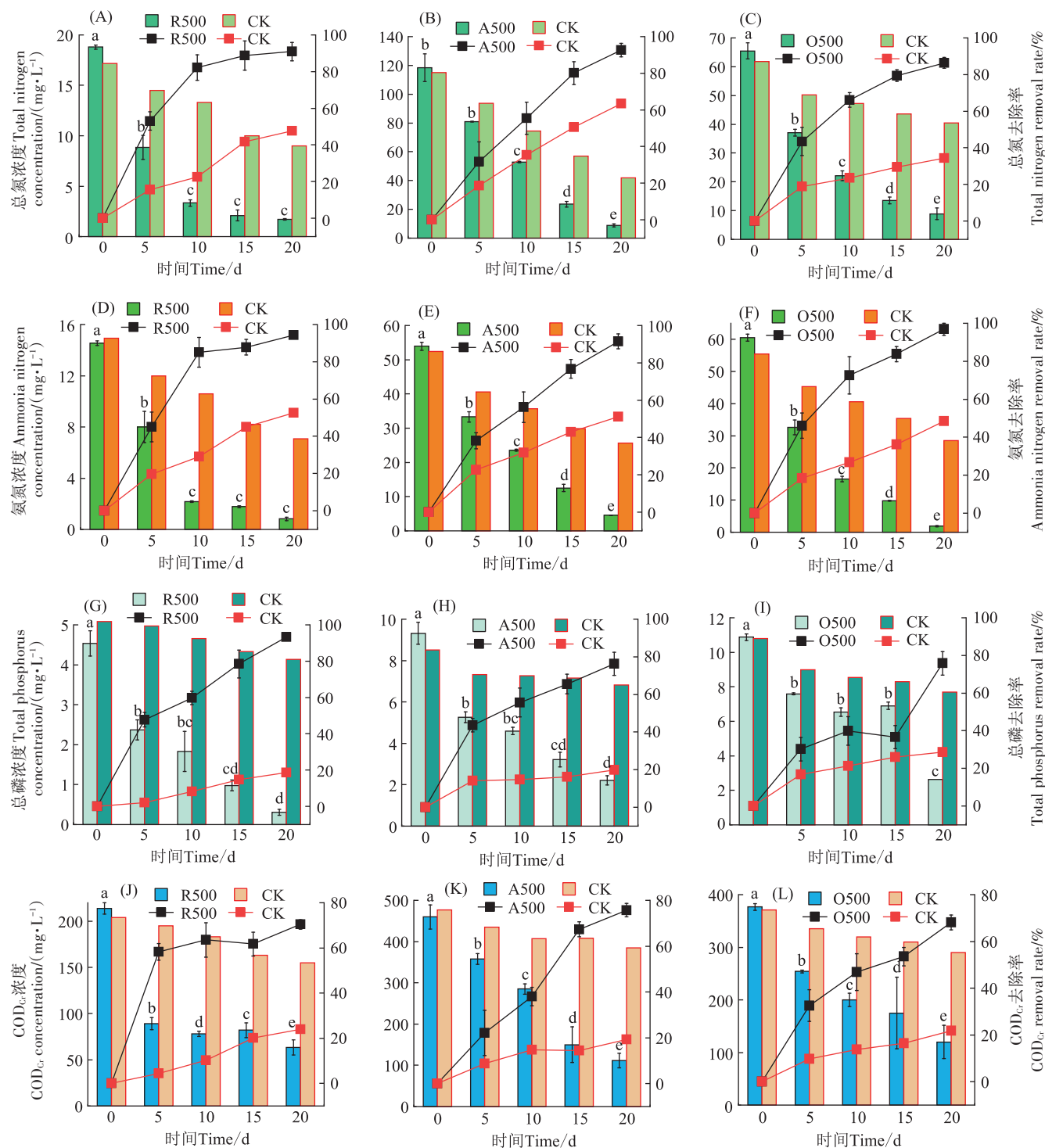
Figure 3 Changes of antioxidative enzymes activity of *Pistia stratiotes* L. under different concentrations of dairy wastewater

度之和为35.6%~67.6%。经过20 d的大藻处理后,不动杆菌属降低至0.6%以下,变形菌门未知属和蓝藻门未知属相对丰度升高;无植物处理组中蓝藻门未知属相对丰度最高上升至32.2%,但它在大藻处理组中最高仅有10.7%;黄杆菌属恰恰相反,其在大藻处理组中最高相对丰度可达14.9%,而无植物处理中其相对丰度仅在2.8%以下。由此可见,大藻处理后微生物群落变化与无植物对照组有很大不同。

2.4 微生物群落与常规污染物的相关性

污水中微生物的变化可影响各种污染物的去除效果,本研究将处理前后微生物群落和常规污染指标

进行了相关性分析,由图8可见,相对丰度排名前10的菌门和菌属中有13个物种与COD_{Cr}、pH、EC、TN、NH₄⁺-N和TP存在显著相关性。在门水平上,互养菌门与pH极显著正相关($P<0.01$),与COD_{Cr}、EC、TN和NH₄⁺-N显著正相关($P<0.05$);放线菌门和绿弯菌门与EC、TN、NH₄⁺-N和TP浓度呈显著正相关($P<0.05$);厚壁菌门与多种环境因子呈正相关,但不显著($P>0.05$),而与pH具有显著正相关性($P<0.05$);而酸杆菌门与这6种环境因子呈显著负相关($P<0.05$);变形菌门与6种环境因子呈负相关,但不显著($P>0.05$);疣微菌门与其中4种(COD_{Cr}、EC、TN和TP)呈

图4 不同时间下大藻对3种污水中TN、NH₄⁺-N、TP、COD_{Cr}的去除情况(500 mg·L⁻¹)Figure 4 Removal of TN, NH₄⁺-N, TP and COD_{Cr} in three kinds of wastewater by *Pistia stratiotes* L. with time(500 mg·L⁻¹)

显著负相关。在属水平上,黄杆菌属与5种环境因子呈显著负相关($P<0.05$);拟杆菌门未知属与COD_{Cr}、EC和TP呈显著正相关;水杆菌属与pH、TN和NH₄⁺-N浓度呈显著负相关。

3 讨论

3.1 大藻在奶牛场污水中的生长状况和耐受阈值

大藻具有强大的吸收能力和适应能力,被广泛用

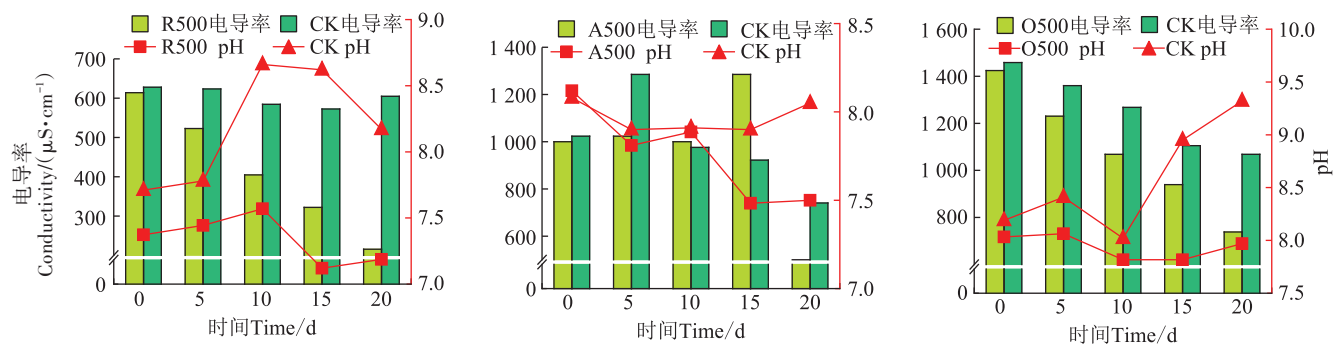


图5 3种污水中pH和EC的变化规律

Figure 5 Change of pH and conductivity in three kinds of wastewater

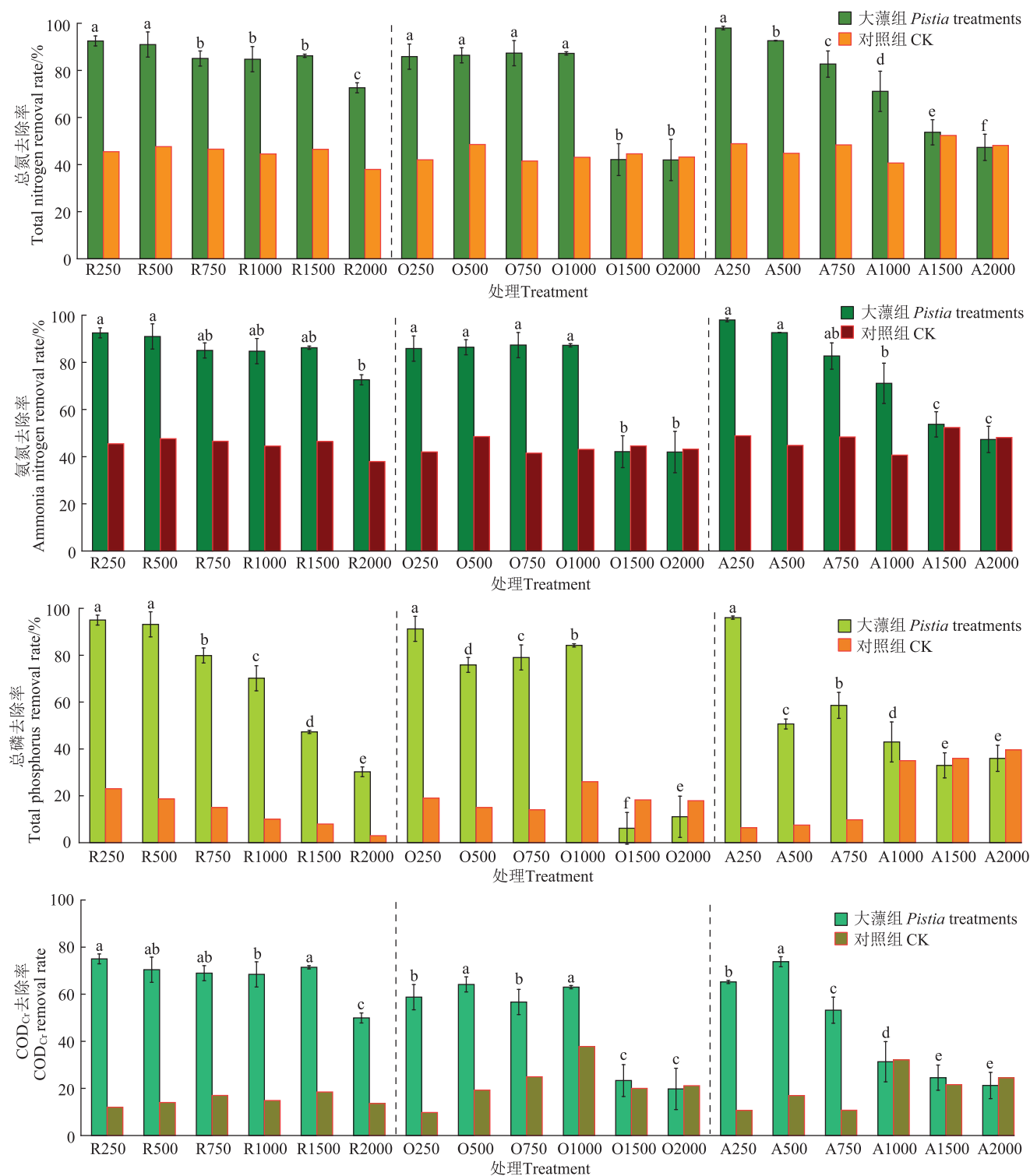
于污水净化和污染物去除等相关研究。然而,大藻在不同类型奶牛场污水中的生长阈值仍未见报道。因此,本研究首要目的是印证大藻在高浓度奶牛场污水中的生长性能,并明确其生长阈值。研究表明,在一定浓度范围内,水体中C、N、P等元素会促进植物的生长,但超过一定范围时会抑制植株生长,甚至导致其死亡。这与本研究结论一致,大藻在0~2 000 mg·L⁻¹(以COD_{Cr}计,下同)原水、0~750 mg·L⁻¹厌氧池和氧化塘污水中均能生长;低浓度污水可以促进大藻的生长,但随着污水浓度的增加,大藻的增长率和根长受到抑制,甚至死亡(图1)。以往研究也得出相似结论,如万志刚等^[16]将凤眼莲放入不同梯度的高浓度氮素培养液(TN浓度最高达1 514.26 mg·L⁻¹),其叶片变黄、根腐烂、植株死亡;龙滨^[17]研究发现,当营养液中N、P的浓度分别高于100、50 mg·L⁻¹时大藻生长受到抑制,当浓度分别为250、150 mg·L⁻¹时抑制效果最为明显。Sooknah等^[18]也发现漂浮类植物的生长可能受到污水浓度的影响。本试验表明大藻在不同类型高浓度奶牛场污水中其生长可能受到抑制甚至死亡(图1),大藻对牛场原水的适应范围较大,为0~2 000 mg·L⁻¹,在厌氧池和氧化塘中的适应范围较小,为0~750 mg·L⁻¹。本研究结果对于大藻在畜禽污水净化方面的应用具有一定借鉴意义。

污水浓度不仅影响大藻的生长指标,还会影响大藻的内在生理指标,如POD、SOD、CAT和叶绿素含量等^[19]。叶绿素含量的升高和降低通常用来表征植物的生长状况,植物体内的叶绿素a和叶绿素b可以在氧化还原反应下相互转化,并且叶绿素a比叶绿素b对活性氧更敏感,在受到胁迫时也更容易被影响^[20]。本试验中大藻在受到高浓度污水胁迫时,叶绿素a的含量明显比叶绿素b变化更大(图2)。当大藻受到胁迫时,3种抗氧化酶活性先升高后降低,先增高是因

为植物出现应激反应,这是维持自身稳定的保护机制,后降低是受到胁迫损害的表现^[21],这表明植物发生脂质过氧化作用和膜损伤,从而使生长受到抑制。康彩霞等^[22]研究亚洲苦草对高磷素的生理响应机制,发现高浓度磷素处理的苦草体内CAT活性明显高于中浓度磷胁迫组。朱士江等^[23]发现在高浓度氨氮胁迫下,4种挺水植物叶片的SOD活性变化速率超过CAT活性变化速率,这与本试验结果(图3)基本一致。POD在植物抗氧化防御机制中起着至关重要的作用,水体中有机物质越来越多,会对植物产生胁迫,导致其体内POD活性增高,而本研究COD_{Cr}胁迫试验中POD相较于其他两种酶变化更为明显,也有研究表明水生植物对COD_{Cr}去除的生理特性关联排序为POD>CAT^[24]。

3.2 大藻对常规污染物的去除及其对水质的影响

漂浮类植物在净化污染水体方面具有重要作用,大藻的生长状况与污染物去除息息相关,大藻生长旺盛时对污水中污染物去除能力较强,且与无植物对照组相比,大藻处理组污染物去除效果更加明显。当植物净化污水时,呈现先快速去除而后去除速率有所下降的规律,这可能是因为初始阶段污染物含量较高,刺激植物提高自身吸收和同化营养物质的能力,进而大量繁殖增加生物量^[25]。董文斌等^[26]通过开展狐尾藻净化猪场污水试验,发现污水中TN、TP、NH₄⁺-N和COD_{Cr}的浓度均呈前期迅速下降、后期缓慢下降规律,这与本研究结果基本一致。对于水中的有机污染物,大藻可通过根系将其吸收,并运送至各器官中积累和转化^[27],这也是大藻处理组有机物去除率大于无植物对照组的原因。此外,大藻在去除N、P方面也具有明显优势,姜敏等^[28]的研究表明,凤眼莲、紫萍和大藻3种植物处理中,大藻改善富营养化水体水质的效果最佳,在处理时间为6 h条件下,大藻对TN和TP的去除

图6 不同初始浓度下大藻对3种污水中TN、NH₄⁺-N、TP、COD_{Cr}的去除情况(20 d)Figure 6 Removal of TN, NH₄⁺-N, TP and COD_{Cr} in three kinds of wastewater by *Pistia stratiotes* L. under different initial concentrations(20 d)

率可分别达到19.3%和96.4%。目前,关于大藻处理畜禽养殖污水的相关报道较少,陈金发等^[12]利用大藻对畜禽污水的COD_{Cr}、NH₄⁺-N和TP进行去除,最高去除率分别达到82.3%、69.2%和45.8%,但其去除效率

明显低于本研究中的去除率,这种差异可能是因为污水水质、处理体系和处理时间等不同。此外,与无植物对照组相比,大藻的存在能够明显降低污水电导率、调节污水pH值。pH和EC是衡量水质好坏的重

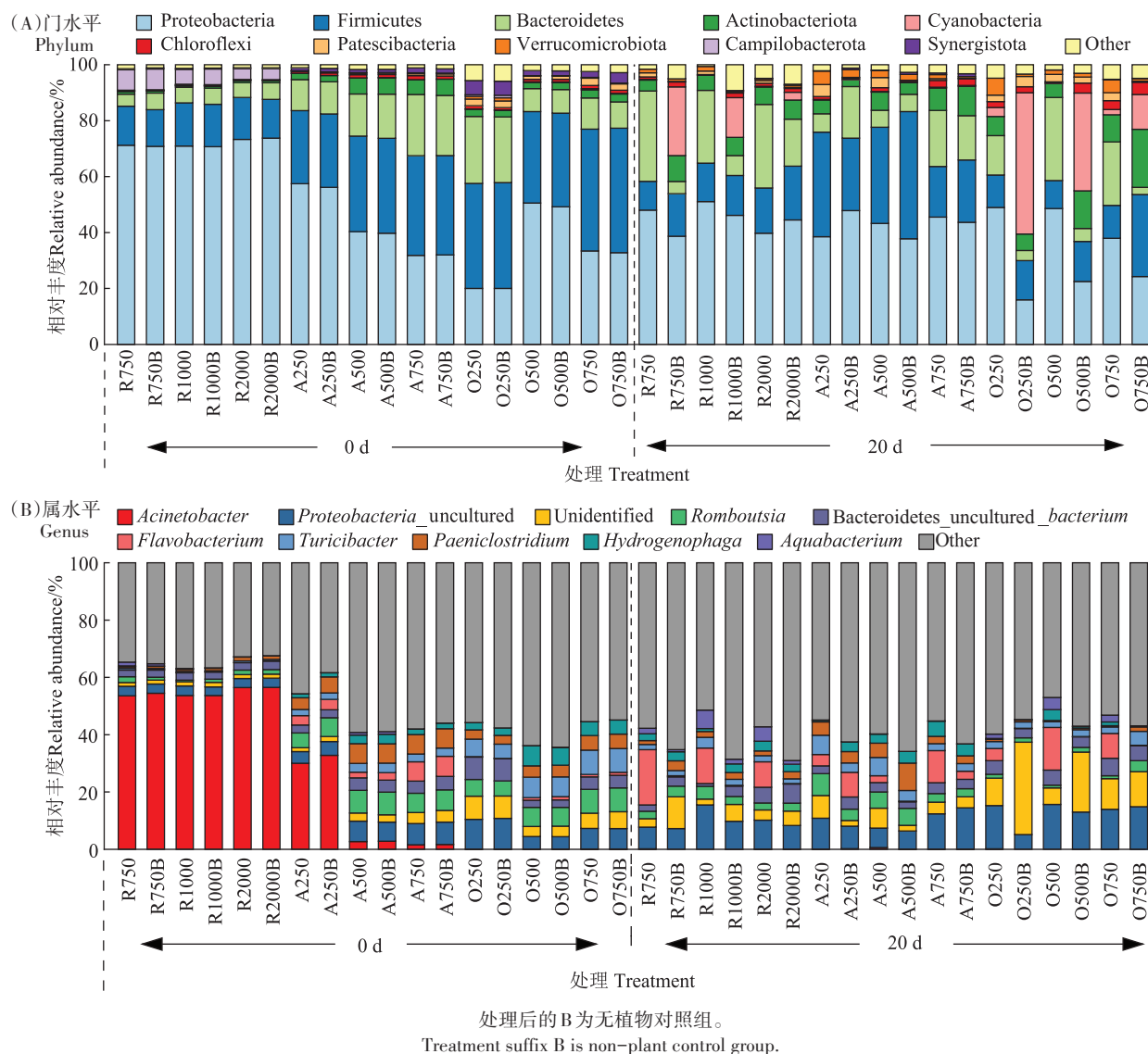


图7 门水平和属水平的微生物群落组成

Figure 7 Microbial community structure at the phylum level and genus level

要指标。引起水体中 pH 和 EC 发生变化的因素是多方面的,包括植物吸收^[12]、植物呼吸作用^[29]、硝化作用^[30]、逸散作用^[31]等。因此,在本试验过程中,由于大藻在低浓度奶牛场污水中生长旺盛,自身呼吸作用较强,提高了对水体营养物质的吸收利用能力,其会在水中吸收 CO₂ 并排出 O₂, CO₂ 溶解在水中会变成碳酸,导致 pH 值降低;另外大藻能够吸收水体不同形态营养盐离子,使得 EC 值下降。

3.3 微生物群落变化及其与污染物去除的相关性

植物净化污水过程中,除植物自身吸收和根系吸附等净化途径之外,微生物降解也起到了重要作用。本研究表明,与无植物对照组相比,大藻的存在会明显改变微生物群落结构,如 20 d 后,无植物对照组中

的蓝藻门相对丰度高达 50.5%,但大藻处理组中蓝藻门的相对丰度仅为 0.07%~3.22%,这些微生物的改变可能影响污染物的去除。研究表明,漂浮植物可通过改变微生物群落结构提高对常规污染物的去除能力^[32],因此,本研究进行了微生物物种与各个环境因子之间的相关性分析(图 8),结果表明,变形菌门和不动杆菌属与 TN、NH₄⁺-N 和 TP 浓度呈负相关,说明变形菌门和不动杆菌属的增加有助于污染物的去除。这是因为变形菌门和不动杆菌属是肠道微生物的主要种类^[33],变形菌门包含多种具有脱氮功能的硝化、反硝化微生物,并且有研究指出变形菌门是脱氮的主要驱动微生物^[34],而大藻处理组中的变形菌门丰度明显高于对照组,因此,大藻处理组中 TN、NH₄⁺-N 和 TP

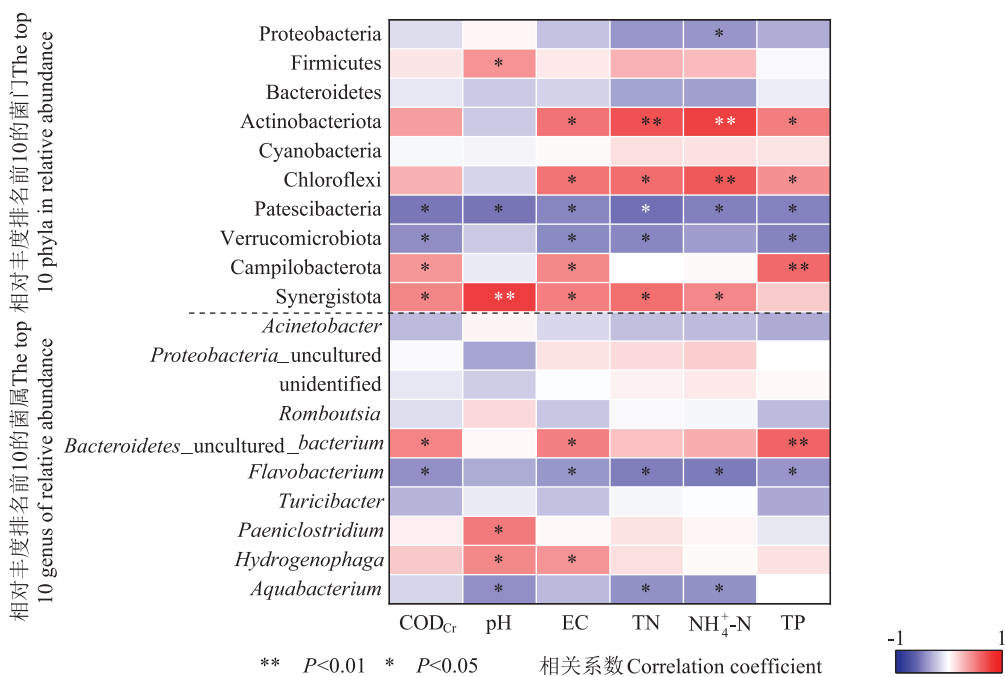


图8 污水中门水平和属水平微生物群落与环境因子的相关性分析

Figure 8 Correlation analysis between microbial communities and environmental factors in wastewater at the phylum level and genus level

的去除率高于无植物处理组;而属水平中不动杆菌属与TN、NH₄⁺-N和TP浓度呈负相关但不显著,推测其在减少硝酸盐和亚硝酸盐中有较大优势^[35]。厚壁菌门和拟杆菌门是微生物系统中重要的酸水解微生物,它们可以通过分泌多种酶(如纤维素酶、脂肪酶、蛋白酶和其他胞外酶)来水解蛋白质、脂肪、纤维素、半纤维素、糖和氨基酸,且疣微菌门也具有较高的木质素降解能力^[36]。在经过大藻处理20 d后,污水中厚壁菌门和拟杆菌门两种菌门的相对丰度增加,但与污染物的去除无显著相关性。而疣微菌门的丰度与COD_{Cr}、TN、TP和EC呈显著负相关,可能与污水处理后不同碳氮比及氮磷比有关^[37]。然而,放线菌门和绿弯菌门与污水中EC、TN、NH₄⁺-N和TP浓度呈显著正相关,它们在对照组中的相对丰度较高,且不利于污染物去除,这是因为它们需要厌氧或兼性环境,大藻根系与污水营造的微生态环境不利于其生存繁殖^[38]。

值得注意的是,相较于大藻处理组,无植物对照组经20 d处理后,蓝藻菌门(Cyanobacteria)的相对丰度大幅升高,相对丰度最高可达到50.5%,这可能是由于污水中含有丰富的磷素,导致蓝藻生长迅速,但大量的藻类会产生藻类毒素(如微囊藻毒素)和生物活性化合物,从而导致人类急性和慢性疾病^[39];而在大藻处理组中,蓝藻菌门的相对丰度小于3.22%,这

说明大藻通过光竞争抑制了藻类生长^[40],且大藻根系会分泌抑藻物质^[41],进而达到抑制藻类生长的效果^[42]。进一步从属水平分析可以得知,uncultured和unidentified在微生物群落中占据了较大比例,有研究指出,细菌群落组成中一些不能鉴别细菌,可能在污染物去除过程中发挥重要作用^[41],但其作用机制有待进一步研究。此外,黄杆菌属(*Flavobacterium*)在大藻处理组的相对丰度高于对照组,是由于该细菌含有硝酸盐还原酶,在净化水体中氮素和有机物方面起到重要作用^[43]。综合来看,大藻的存在导致环境因子改变,进而引起微生物生存环境的变化,而微生物群落的变化又直接影响污染物的去除,表明大藻对污水中污染物的去除是通过多种作用共同实现的。

4 结论

(1)大藻对奶牛场原水的适应范围较大,为0~2 000 mg·L⁻¹(以COD_{Cr}计),在厌氧池和氧化塘中的适应范围较小,均为0~750 mg·L⁻¹(以COD_{Cr}计);当大藻受到高浓度污水胁迫时,叶绿素含量明显减少,体内形成自我保护机制,CAT、POD、SOD酶活性明显升高。

(2)大藻对奶牛场污水中的污染物(TN、NH₄⁺-N、TP和COD_{Cr})净化效果较好,去除率在前10 d升高较

快,而在后期(10~20 d)上升缓慢,最终去除效率最高可分别达到92.7%(TN)、96.7%(NH₄⁺-N)、93.1%(TP)和77.2%(COD_{Cr});此外,大藻具有调节污水pH值以及降低污水EC值的作用。

(3)在微生物门水平,变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门等是奶牛场污水中的优势菌门,从属水平看,不动杆菌属、变形菌门未知属、拟杆菌门未知属等为优势菌属;与无植物对照组相比,大藻可提高变形菌门和拟杆菌门等功能菌门的相对丰度,并降低蓝藻菌门的相对丰度。

(4)污水中的优势菌门和菌属与水体多种指标显著相关,这说明除大藻生长吸收外,微生物群落对畜禽污水净化也起到重要作用。

参考文献:

- [1] BARAL K R, LABOURIAU R, OLESEN J E, et al. Nitrous oxide emissions and nitrogen use efficiency of manure and digestates applied to spring barley[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2017, 239: 188-198.
- [2] 张淑芬. 畜禽养殖生产中污水的来源及危害[J]. 现代畜牧科技, 2016(2): 148. ZHANG S F. The source and harm of wastewater in livestock and poultry production[J]. *Modern Livestock Husbandry Technology*, 2016(2): 148.
- [3] 吴建强, 丁玲. 不同植物的表面流人工湿地系统对污染物的去除效果[J]. 环境污染与防治, 2006, 28(6): 432-434. WU J Q, DING L. Study on treatment of polluted river water using pilot-scale surface flow constructed wetlands system[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2006, 28(6): 432-434.
- [4] US Environmental Protection Agency. Phytotechnology project profiles [R]. Washington D. C.: USEPA, 2016.
- [5] FANG Y Y, YANG X E, CHANG H Q, et al. Phytoremediation of nitrogen-polluted water using water hyacinth[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2007, 30(11): 1753-1765.
- [6] AUWAH E, OPPONG-PEPRAH M, LUBBERDING H J, et al. Comparative performance studies of water lettuce, duckweed, and algal-based stabilization ponds using low-strength sewage[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2004, 67(20/21/22): 1727-1739.
- [7] GUPTA P, ROY S, MAHINDRAKAR A B. Treatment of water using water hyacinth, water lettuce and vetiver grass: a review[J]. *System*, 2012(2): 202-215.
- [8] GALAL T M, FARAHAT E A. The invasive macrophyte *Pistia stratiotes* L. as a bioindicator for water pollution in Lake Mariut, Egypt[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, 187(11): 1-10.
- [9] NAHAR K, HOQUE S. Phytoremediation to improve eutrophic ecosystem by the floating aquatic macrophyte, water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) at lab scale[J]. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 2021, 47(2): 231-237.
- [10] 曾乐媛. 5种水生植物对富营养水体的净化研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2016. ZENG L Y. The Research on purification of 5 species aquatic plants in eutrophic water[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2016.
- [11] 徐寸发, 闻学政, 张迎颖, 等. 漂浮植物组合生态处理污水处理厂尾水的效果及植物生理响应[J]. 环境污染与防治, 2019, 41(11): 1335-1340. XU C F, WEN X Z, ZHANG Y Y, et al. The ecological treatment effect of tail water from sewage treatment plant by combination with floating macrophytes and their physiological response[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2019, 41(11): 1335-1340.
- [12] 陈金发, 杨平, 聂琦珊, 等. 大藻对不同质量浓度畜禽废水的净化作用及生物学效应[J]. 重庆大学学报, 2014, 37(3): 87-94. CHEN J F, YANG P, NIE Q S, et al. Purification and biological effect of *Pistia stratiotes* under different concentrations of livestock wastewater[J]. *Journal of Chongqing University*, 2014, 37(3): 87-94.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 四版. 北京: 中国环境出版集团, 2002. State Environmental Protection Administration. Analysis method of water and wastewater monitoring[M]. 4th edition. Beijing: China Environmental Publishing Group, 2002.
- [14] DURSO L M, COOK K L. Impacts of antibiotic use in agriculture: what are the benefits and risks?[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 19: 37-44.
- [15] HVISTENDAHL M. China takes aim at rampant antibiotic resistance [J]. *Science*, 2012, 336(6083): 795.
- [16] 万志刚, 顾福根, 孙丙耀, 等. 6种水生维管束植物对氮和磷的耐受性分析[J]. 淡水渔业, 2006, 36(4): 37-40. WAN Z G, GU F G, SUN B Y, et al. Analysis of the resistance of six aquatic vascular plants to nitrogen and phosphorus[J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, 36(4): 37-40.
- [17] 龙斌. 大藻控制环境条件研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2017. LONG B. Study on environment control of *Pistia stratiotes*[D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2017.
- [18] SOOKNAH R D, WILKIE A C. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater[J]. *Ecological Engineering*, 2004, 22(1): 27-42.
- [19] CHENG T S. NaCl-induced responses in giant duckweed[J]. *Journal of Aquatic Plant Management*, 2011, 49: 62-71.
- [20] SARWAR N, ISHAQ W, FARID G, et al. Zinc-cadmium interactions: impact on wheat physiology and mineral acquisition[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 122: 528-536.
- [21] WANG C, ZHANG S H, WANG P F, et al. Metabolic adaptations to ammonia-induced oxidative stress in leaves of the submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara[J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, 87(2): 88-98.
- [22] 康彩霞, 戴星照, 刘艳. 高浓度氨氮或磷胁迫对亚洲苦草生理特性的影响[J]. 安全与环境工程, 2018, 25(3): 72-77. KANG C X, DAI X Z, LIU Y. Physiological responses of *Vallisneria spiralis* to the stress of high concentrations of ammonia N or P[J]. *Safety and Environmental Engineering*, 2018, 25(3): 72-77.
- [23] 朱士江, 贵树彪, 徐文, 等. 4种挺水植物在高浓度氮磷污染条件下耐受性试验研究[J]. 中国农村水利水电, 2022(2): 34-38. ZHU S J, GUI S B, XU W, et al. Experimental research on the tolerance of

- four emergent plants under high nitrogen and phosphorus pollution conditions[J]. *China Rural Water and Hydropower*, 2022(2):34-38.
- [24] SAINI P, KHAN S, BAUNTHIYAL M, et al. Effects of fluoride on germination, early growth and antioxidant enzyme activities of legume plant species *Prosopis juliflora*[J]. *Journal of Environmental Biology*, 2013, 34(2):205-209.
- [25] SHAH M, HASHMI H N, ALI A, et al. Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater[J]. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 2014, 12(1):1-12.
- [26] 董文斌, 何铁光, 蒙炎成, 等. 狐尾藻对养殖废水的减控去污效果[J]. 南方农业学报, 2017, 48(7):1204-1210. DONG W B, HE T G, MENG Y C, et al. Reduction and decontamination effects of *Myriophyllum spicatum* on livestock wastewater[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2017, 48(7):1204-1210.
- [27] ANSARI A A, NAEEM M, GILL S S, et al. Phytoremediation of contaminated waters: an eco-friendly technology based on aquatic macrophytes application[J]. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 2020, 46(4):371-376.
- [28] 娄敏, 廖柏寒, 刘红玉, 等. 3种水生漂浮植物处理富营养化水体的研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(3):194-195. LOU M, LIAO B H, LIU H Y, et al. Study of three aquatic floating plants to treat the water eutrophication[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2005, 13(3):194-195.
- [29] IAMCHATURAPATRI J, YI S W, RHEE J S. Nutrient removals by 21 aquatic plants for vertical free surface-flow (VFS) constructed wetland[J]. *Ecological Engineering*, 2007, 29(3):287-293.
- [30] KADLEC R H. The effects of wetland vegetation and morphology on nitrogen processing[J]. *Ecological Engineering*, 2008, 33(2):126-141.
- [31] 刘树元, 阎百兴, 王莉霞. 潜流人工湿地中植物对氮磷净化的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(6):1538-1546. LIU S Y, YAN B X, WANG L X. The effect of two wetland plants on nitrogen and phosphorus removal from the simulated paddy field runoff in two small-scale subsurface flow constructed wetlands[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(6):1538-1546.
- [32] GAO Y, YI N, ZHANG Z, et al. Effect of water hyacinth on N_2O emission through nitrification and denitrification reactions in eutrophic water[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2012, 32(2):349-359.
- [33] 黄薇, 刘兰英, 吴妙鸿, 等. 养殖废水处理系统中微生物菌群结构及动态变化[J]. 中国环境科学, 2019, 39(2):839-848. HUANG W, LIU L Y, WU M H, et al. Microbial community structure and dynamics in swine wastewater treatment system[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(2):839-848.
- [34] 郭鹤方, 甄志磊, 赵林婷, 等. 潮汐流-潜流人工湿地对城市污染水体中氮的去除[J]. 环境化学, 2021, 40(12):3887-3897. GUO H F, ZHEN Z L, ZHAO L T, et al. Research on the removal effect of tidal flow-subsurface flow constructed wetland on nitrogen in urban polluted water[J]. *Environmental Chemistry*, 2021, 40(12):3887-3897.
- [35] DU L, TRINH X, CHEN Q, et al. Enhancement of microbial nitrogen removal pathway by vegetation in integrated vertical-flow constructed wetlands (IVCWs) for treating reclaimed water[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249:644-651.
- [36] CARMICHAEL W W, AZEVEDO S M, AN J S, et al. Human fatalities from Cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2001, 109(7):663-668.
- [37] HUANG L, WANG N, DENG C R, et al. Interactive effect of carbon source with influent COD/N on nitrogen removal and microbial community structure in subsurface flow constructed wetlands[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 250:109491.
- [38] FALKOWSKI P G, FENCHEL T, DELONG E F. The microbial engines that drive earth's biogeochemical cycles[J]. *Science*, 2008, 320(5879):1034-1039.
- [39] CARMICHAEL W W. Health effects of toxin-producing Cyanobacteria: "The CyanoHABs"[J]. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 2001, 7(5):1393-1407.
- [40] NAKAI S, INOUE Y, HOSOMI M, et al. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*[J]. *Water Research*, 2000, 34(11):3026-3032.
- [41] HILT S, GROSS E M. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes?[J]. *Basic and applied Ecology*, 2008, 9(4):422-432.
- [42] MA Q, QU Y Y, SHEN W L, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179:436-443.
- [43] 徐新阳, 张轶, 李海波, 等. 用于修复污染地表水的黄杆菌固定化工艺[J]. 东北大学学报(自然科学版), 2005, 26(8):783-786. XU X Y, ZHANG Y, LI H B, et al. Immobilization process of *Flavobacterium* sp. for bioremediation of contaminated surface water[J]. *Journal of Northeastern University(Natural Science)*, 2005, 26(8):783-786.