张官杰,周英萍,肖 琳.水生植物附着生物膜对水体氮转化和 N_2O 释放的影响及机制 [J]. 中国环境科学, 2026,46(3):1617−1624.
Zhang G J, Zhou Y P, Xiao L. Effects and mechanisms of attached biofilms on aquatic nitrogen transformation and N_2O emission [J]. China Environmental Science, 2026,46(3):1617−1624.

水生植物附着生物膜对水体氮转化和 N_2O 释放的影响及机制

张官杰,周英萍,肖 琳* (南京大学环境学院,水污染控制与资源绿色循环全国重点实验室,江苏 南京 210023)

摘要：为提高水体氮污染的生态修复效果的同时降低氧化亚氮(N_2O)的释放,研究了高氨氮胁迫对不同类型沉水植物的附着生物膜氮转化和 N_2O 释放的影响和机制.结果表明,高氨氮条件下苦草和金鱼藻附着生物膜的硝化作用潜势分别提高了 27.1 和 10.2 倍;但反硝化作用受到抑制,造成水体中氮的积累.高氨氮促进了由硝化菌参与的 N_2O 释放,但硝化过程中 N_2O 的释放速率最高约为反硝化过程的 1.28%,反硝化是 N_2O 释放的主要途径.细菌群落结构和氮转化功能基因丰度分析表明,高氨氮胁迫下硝化功能细菌和基因丰度增加,反硝化菌和基因丰度下降,同时 N_2O 的释放潜势(*nirS*/*nosZ* 和 *nirK*/*nosZ*)分别上升 90%和 59%,是导致氮转化活性变化与 N_2O 释放量增加的主要原因.在 3 种附着生物膜中,人工水草附着生物膜具有最强的硝化和反硝化潜力,但苦草生物膜的 N_2O 释放量仅为金鱼藻和人工水草的 68.89%~78.46%和 65.92%~82.76%,这可能是由于氮转化活性受到功能群丰度和微环境双重调控.

关键词：氨氮胁迫；附着生物膜；N_2O 排放；群落结构；功能基因
中图分类号：X172 **文献标识码**：A **文章编号**：1000−6923(2026)03−1617−08

Effects and mechanisms of attached biofilms on aquatic nitrogen transformation and N_2O emission. ZHANG Guan-jie, ZHOU Ying-ping, XIAO Lin* (State Key Laboratory Water Pollution and Control Green Resource Recycling, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China). *China Environmental Science*, 2026,46(3)：1617~1624

Abstract：The effects and mechanisms of high ammonium (NH_4^+) stress on nitrogen transformation and nitrous oxide (N_2O) emissions of attached biofilms on different substrate were investigated. Under high ammonium-nitrogen conditions, the nitrification potential of epiphytic biofilms associated with Vallisneria natans and Ceratophyllum demersum increased by 27.1-fold and 10.2-fold, respectively, whereas denitrification was suppressed, resulting in nitrogen accumulation. High NH_4^+ levels promoted N_2O emissions associated with nitrification; however, N_2O production during nitrification accounted for only up to 1.28% of that from denitrification, and denitrification was the main pathway of N_2O emissions. Under high NH_4^+ stress, the increased abundances of nitrifying bacteria and genes but decreased denitrifiers contributed to changes in nitrogen transformation activities. Concurrently, the N_2O emission potential (*nirS*/*nosZ* and *nirK*/*nosZ*) increased by 90% and 59%, which enhanced N_2O emissions. Notably, artificial plant biofilms exhibited the highest nitrification and denitrification activities, whereas N_2O emission from attached biofilms on Vallisneria natans was only 65.92%~82.76% of those from artificial plants and Ceratophyllum demersum L., suggesting dual regulation by functional microbial composition and microenvironment.

Key words：ammonium stress；attached biofilms；N_2O emissions；microbial composition；functional gene

在淡水生态系统中,过量氮负荷的输入会损害水体自净功能,进而导致水质恶化和生态系统功能紊乱,并加剧水体氧化亚氮(N_2O)排放[1-4].N_2O 是重要的温室气体,其增温潜势为 CO_2 的 298 倍,同时还能够破坏臭氧层[5].沉水植物是水生态系统的重要组成部分,不仅能通过吸收,释放氧气和抑制底泥再悬浮等机制净化水体,还能为生物膜提供附着基质,营养和适宜的微环境[6-7],对水生态系统的稳定和功能具有重要意义.水体中附着生物膜常富集有氮循环微生物,能够通过硝化和反硝化作用将氮转化为含氮气体(N_2,N_2O)而从水体中彻底去除[6-9],但同时也可能会造成 N_2O 排放量的增加.野外观测证实,与挺水植物及藻型湖区相比,沉水植物湖区的 N_2O 排放量较低,但不同的沉水植物对水体 N_2O 排放量的影响不同,如苦草(*Vallisneria natans*)分布水域的 N_2O 排放量低于狐尾藻分布水域[10].目前对于不同沉水植物影响附着生物膜 N_2O 产生的研究较少.

沉水植物根据吸收和同化氨氮能力的不同可以分为资源获取型和资源保守型两大类.水体中氮污染,尤其是氨氮的增加对不同资源获取型沉水植物的光合作用,形态,生理特征和生长的影响强度不

收稿日期：2025−07−17
基金项目：国家自然科学基金资助项目(42277199)
* 责任作者, 教授, xiaolin@nju.edu.cn

同,资源获取型植物的相对生长速率快,而资源保守型植物则具有较高的营养储存能力,能更好在高氨氮等胁迫环境下更好的生长[11-12].沉水植物性状特征的变化会进一步影响附着生物膜的微生物群落结构,最终会导致其功能的改变[13-16],可以推测,不同资源获取策略的沉水植物对氮污染的响应差异会使氮去除和 N_2O 排放过程更加复杂,其影响和机制仍需深入阐明.

本研究构建了包含上覆水,底泥,苦草,金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)和人工水草的微宇宙系统以模拟水生生态系统.其中,苦草和金鱼藻在生态修复中广泛应用,它们分别代表了资源保守型和资源获取型的沉水植物[17-19].人工水草作为非生物基质对照,其上有大量附着生物膜,具有较高的 NH_4^+-N 和总氮(TN)去除能力,但其 N_2O 排放量也高于沉水植物[6,20-21].本研究通过探究 NH_4^+-N 污染对不同类型沉水植物性状,脱氮效率及 N_2O 释放的影响,比较不同基质上附着生物膜对硝化/反硝化潜力及 N_2O 释放的作用,揭示高 NH_4^+-N 条件下沉水植物影响氮去除和 N_2O 释放的机制.

1 材料与方法

1.1 实验设置与采样

选用苦草(VA)和金鱼藻(CE)作为研究对象,以聚偏氯乙烯材质的人工水草(AP)作为非生物基质的对照,实验在 60cm×45cm×35cm 的玻璃缸中进行.缸内配置 20cm 上覆水和 8cm 底泥,植物种植密度统一为 900g/m²,在温室中(25℃,12h/12h 光暗循环)驯化 2 周后开始实验.实验设置两种处理系统,共进行 9d:(1)单次污染(SP):实验开始时设置上覆水 NH_4^+-N,NO_3^--N 和 TP 的终浓度分别为 15,5 和 0.2mg/L,后期不再添加;(2)连续污染(CP):实验开始时设置与 SP 相同,并分别在第 3,5,7d 补充 NH_4^+-N 至上覆水中 NH_4^+-N 终浓度为 15mg/L.两个系统均设置 3 个重复组.实验期间每日采集上覆水,实验结束时采集上覆水,底泥,植物和生物膜样品进行后续检测.

1.2 植物特征分析

植物生物量采用重量法测定,叶片中叶绿素 a(Chla)通过乙醇提取后使用分光光度法进行定量[22].植物全氮(TN)采用 H_2SO_4-H_2O_2 消煮法测定[23].

1.3 水体中不同形态氮和 N_2O 浓度分析

NH_4^+-N,NO_2^--N,NO_3^--N 和总氮(TN)的浓度测定参照《水和废水监测分析方法》[24]进行.溶解态 N_2O 浓度采用顶空平衡-气相色谱法测定,具体步骤如下:从各系统采集 115mL 水样置于血清瓶中,注入 30mL 高纯氦气置换顶空气体.样品在振荡器上平衡 30min 后,采集顶空气体,通过气相色谱仪(Agliet7890B,EDC 检测器)定量分析 N_2O 浓度.

1.4 硝化潜势,反硝化潜势和 N_2O 释放速率分析

硝化潜势(PNR)采用 NO_2^--N 和 NO_3^--N 产生量法测定[25].分别称取 4g 带生物膜的植物叶片,10g 底泥及 100mL 水样过滤后的 0.22μm 滤膜,置于含 30mL 硝化培养液(15mg/L NH_4^+-N,1mmol/L PBS 缓冲液,pH=7.4)的 100mL 血清瓶中,24h 后测定 NO_2^--N 和 NO_3^--N 浓度并计算 PNR.

反硝化潜势(PDNR)通过乙炔抑制法测定[26].同 PNR 一样采集样品后,置于含 30mL 反硝化培养液(20mg/L NO_3^--N, 200mg/L 葡萄糖,1mmol/L PBS 缓冲液,pH=7.4)的血清瓶中.瓶口用橡胶塞和铝盖密封后,通入氦气去除 N_2O 和溶解氧,随后在顶空注入 10% C_2H_2 以抑制 N_2O 还原.分别于 0,1,2,3 和 4h 采集 10mL 顶空气体用气相色谱定量分析 N_2O 浓度(Agliet7890B,EDC 检测器),根据 N_2O 生成速率计算 PDNR.

硝化和反硝化过程的 N_2O 净释放速率为未添加 C_2H_2 抑制剂的处理组中 N_2O 的浓度随时间的变化速率.所有实验均在微宇宙系统相同的光照和温度条件下(25℃,12h/12h 光暗循环)进行.

1.5 DNA 提取及氮转化功能基因定量分析

实验结束后采集上覆水,底泥及生物膜样品,采用 FastDNA SPIN 土壤 DNA 提取试剂盒(MP,美国)进行总 DNA 提取,具体操作参照试剂盒说明书进行.提取后的 DNA 浓度使用 NanoDrop 核酸定量仪(Thermo,美国)测定.采用定量 PCR(qPCR)对氮转化相关功能基因的丰度进行定量分析[27].

1.6 微生物群落结构分析

采用细菌 16S rRNA 通用引物 338F 和 806R 对各样本的 16S rRNA 扩增子进行测序.测序工作委托上海美吉生物医药科技有限公司在 Illumina MiSeq 平台完成,后续细菌群落分析在美吉云平台在线分析平台进行.

1.7　统计分析

水体理化指标和 qPCR 数据进行 Two-Way ANOVA 分析,所有统计学分析采用 GraphPad Prism 7.0 完成.

2　结果和讨论

2.1　植物性状特征的变化

如图 1 所示,至第 9d 时,CP 组两种植物的 Chla 和生物量增长均显著低于 SP 组(P<0.05).与起始相比,苦草的 Chla 在 SP 和 CP 组中虽均有上升,但在 SP 和 CP 组中分别增加了 61.33%和 8.43%,金鱼藻的 Chla 则在 CP 组中出现了下降.Chla 是光合作用的关键色素,光合作用为植物生长提供碳源和能量,碳骨架还能将植物吸收的氮同化为氨基酸进行氨氮的解毒[28].Chla 在 CP 中显著低于 SP 表明高 NH_4^+-N 对苦草和金鱼藻的光合系统均能造成损伤,并对金鱼藻的损伤更强[12,29],导致对植物生长的抑制.与金鱼藻中 TN 增量在 CP 组中依然低于 SP 组不同,CP 组中苦草的 TN 高于 SP 组(P<0.01),与苦草作为资源保守型植物所具有的高效营养储存特性相符[12].高 NH_4^+-N 胁迫对金鱼藻生理性状的影响更为显著,金鱼藻的 Chla 在 CP 组中受到高浓度氨氮影响,含量下降,光合作用受到抑制,不能固定足够的碳源来同化氨氮以解毒,这与金鱼藻作为资源获取型植物(高相对生长速率)对高氨氮胁迫更敏感一致[12,30-31].

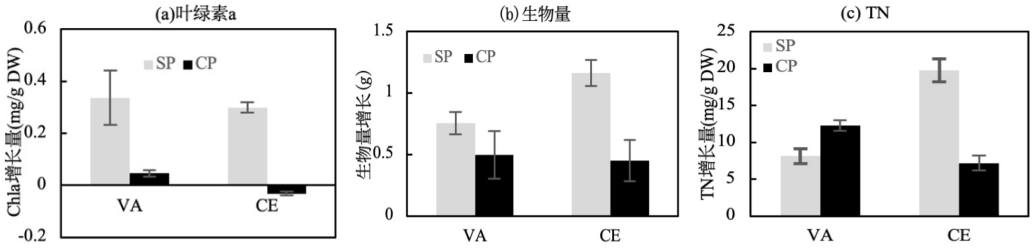


图 1　苦草和金鱼藻植物特征在单次和连续氨氮污染下的变化

Fig.1　Variation of plant traits of *Vallisneria Natans* and *Ceratophyllum demersum L.* in SP and CP

2.2　上覆水中不同形态氮含量的变化

如图 2 所示,NH_4^+-N 浓度在 SP 和 CP 中均随时间呈线性下降,其终浓度在 SP 和 CP 中分别为(2.20±0.09)和(12.12±0.03)mg/L,对应的 NH_4^+-N 总去除量分别为(12.80±0.90) mg/L(去除率 85.26%)和(18.76±0.55) mg/L(去除率 60.75%)(图 2(a)).随着 NH_4^+-N 浓度的降低,SP 和 CP 中 NO_2^--N 和 NO_3^--N 浓度均呈现逐渐上升趋势(图 2(b)),表明氨氧化作用在 NH_4^+-N 去除中发挥了关键作用[5].CP 中的 NH_4^+-N 净去除速率((1.90± 0.34)~(2.34±0.17) mg/(L·d)) 显著高于 SP((1.53±0.09) mg/(L·d)) (P<0.05),与 NH_4^+-N 浓度呈现显著正相关,这可能与高 NH_4^+-N 浓度对硝化菌群的刺激作用相关[32-34].

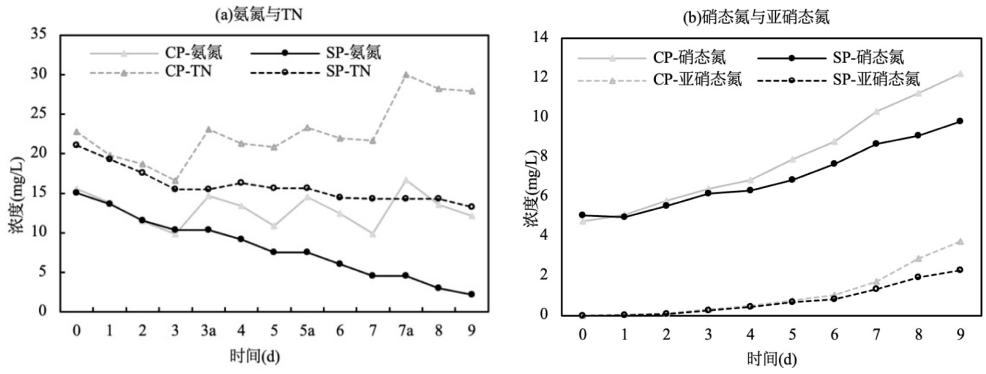


图 2　水体中不同形态氮浓度的变化

Fig.2　Variation of different nitrogen species in overlying water

3a,5a,7a 为补加氮污染

与氨氧化作用不同,CP 中 NO_2^-−N 和 NO_3^-−N 浓度均比 SP 中高,同时,CP 中 TN 浓度((27.93±0.10) mg/L)显著高于 SP((13.29±0.40) mg/L) (图 2(a)) (P<0.05),表明微生物的反硝化活性受到明显抑制.这可能由于反硝化更多受到除底物浓度外其他因素的影响,如细菌活性,微生物群落结构,有机质含量及溶解氧水平等因素均可影响反硝化作用的进行[35].第 9d 时水体中溶解态 N_2O 的浓度在 CP 中((4.97±0.29)μg N/L)达到 SP 中((1.55±0.33)μg N/L)的 3.19 倍,说明高氨氮浓度显著促进了 N_2O 的产生.

2.3 硝化/反硝化潜势及其对 N_2O 排放贡献

N_2O 的产生途径包括硝化过程产生的羟胺(NH_2OH)的化学氧化,硝化菌反硝化以及经典的反硝化作用等[5].为了厘清高 NH_4^+−N 对水体氮脱除的影响及所造成 N_2O 释放量增加的主要途径,对 PNR,PDNR 以及硝化/反硝化过程中的 N_2O 净释放速率进行分析(图 3).附着生物膜的总 PNR 在 SP 和 CP 中均显著高于水体和沉积物(P<0.05),表明生物膜是水生生态系统氮转化热点[20,36].除人工水草外,PNR 在 CP 中显著高于 SP(P<0.05),其中苦草和金鱼藻的附着生物膜分别增加了 27.1 和 10.2 倍,再次证明高 NH_4^+−N 浓度能够促进硝化作用的进行.CP 中人工水草,苦草和金鱼藻附着生物膜的 PDNR 受到抑制,分别为 SP 组的 80.99%,85.09%和 81.66%(图 3(b)),导致水体中 TN,NO_2^-−N 和 NO_3^-−N 的积累(图2).

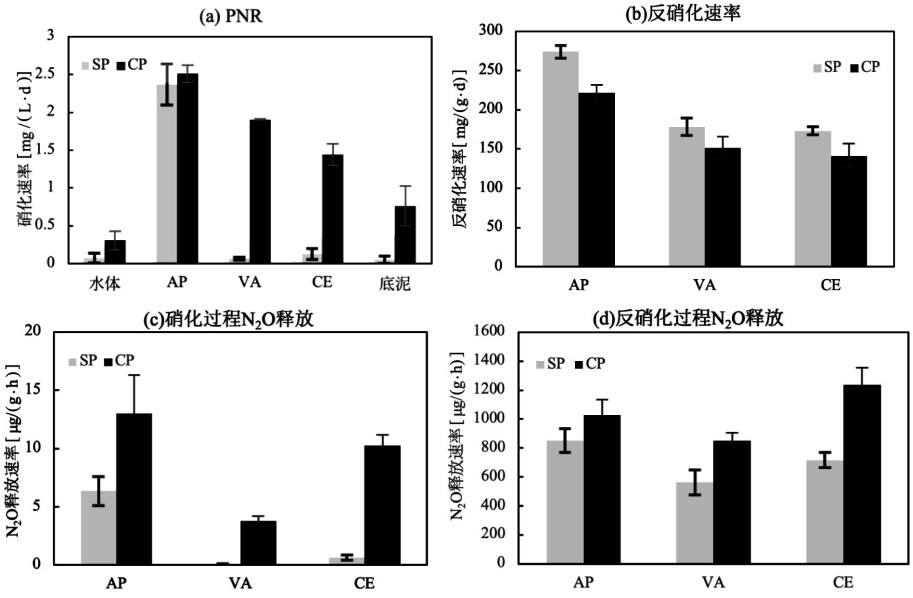


图 3 硝化与反硝化潜势及在 N_2O 释放速率的变化

Fig.3 Variation of PNR, PDNR and N_2O emission rate during nitrification and denitrification

在硝化过程中,附着生物膜 N_2O 释放速率在 CP 组中为 SP 中的 2~35 倍(P<0.01),表明氨氧化作用的提高也促进了硝化过程中 N_2O 的释放(图 3(c)).这可能是由于在高氨氮条件下,伴随着氨氧化菌活性的增强,氨氧化细菌(AOB)可以通过羟胺氧化酶和一氧化氮还原酶将 NH_2OH 和 NO 转化为 N_2O 外[37],其在代谢过程中所产生对 ROS 还可以通过化学氧化 NH_2OH 产生 N_2O[38].CP 中的附着生物膜在反硝化过程中 N_2O 释放速率也显著高于 SP 组,同时,硝化过程中 N_2O 的释放速率在 CP 中虽然较 SP 中升高,但最高仍仅为反硝化过程的约 1.28%,表明反硝化过程在 SP 和 CP 中均是 N_2O 产生的主要途径.目前已发现 AOB 中携带 *nirK* 和 *nor* 基因,硝化菌的反硝化作用可能也是在高 NH_4^+条件下反硝化过程中 N_2O 释放量增加的原因[34,39-40].

苦草生物膜的 N_2O 释放速率[562.20~850.68μg N/(g·h)]始终低于人工水草[852.81~1027.68μg N/(g·h)]和金鱼藻[716.55~1234.88μg N/(g·h)],这与前人的研究结果类似,即苦草能够降低 N_2O 的产生[6,21].但在 CP 中,金鱼藻生物膜的 N_2O 释放速率显著高于苦草,并且其增幅高于苦草和人工水草生物膜(图 3),表明不同资源获取类型植物的附着生物膜 N_2O 释

放响应存在差异,这可能与植物在受到高氨氮胁迫时其光合作用和生理特征等的差异有关(图 1).

2.4　细菌群落结构及氮转化相关功能群的变化

微生物是水体中氮转化作用的主要驱动者,因此对沉积物,水体和附着生物膜的细菌群落进行了分析(图 4(a)).在门水平上,CP 中水体样品的优势菌群由变形菌门 (Proteobacteria) 转变为蓝藻门 (Cyanobacteria),这与富营养化水体中蓝藻逐渐成为优势种一致.在苦草的附着生物膜中,变形菌门在 CP 和 SP 中均占据主导地位,而蓝藻门丰度较低,这可能是由于苦草对蓝藻的化感作用抑制了蓝藻的增殖[29].人工水草和金鱼藻的附着生物膜中优势菌群均为蓝藻门,且在 CP 中其相对丰度分别达到 47.30%和 49.29%(图 4),成为绝对优势菌门.Liu 等的研究同样发现人工基质附着生物膜中蓝藻丰度高于沉水植物[41].蓝藻能够通过光合作用,提供用于硝化作用的氧气[42],还能够通过光合作用提供反硝化作用的碳源[43],人工水草附着生物膜中高丰度的蓝细菌可能是其硝化和反硝化活性都高的原因之一.

在属水平上,本研究共检测到 4 类硝化功能菌.CP 中硝化菌的相对丰度显著高于 SP,特别是人工水草和苦草附着生物膜中的硝化菌丰度分别达到 SP 中的 3.85 倍和 5.21 倍.表明硝化菌能够快速适应高 NH_4^+–N 胁迫环境,并通过 NH_4^+–N 的氧化作用实现种群增长[5,44],其高丰度又直接促进了 CP 中 NH_4^+–N 的高效去除.

在优势菌属(相对丰度>1%)中有 10 个反硝化功能菌属,包括 *Acidovorax*,g__norank_f__Caldilineaceae,*Hydrogenophaga*,*Methylotenera*,*Pseudomonas*,*Rhodobacter*,*Thiobacillus*,g_unclassified_f_Rhodobacteraceae,*Vogesella* 以及 *Flavobacterium*.除苦草生物膜中反硝化菌丰度在 CP 中有所上升外,其余样本中反硝化菌的相对丰度均从 SP 中的 7.77%~25.33%降低至 CP 的 5.49%~17.29%(图 4(c)).其中,人工水草生物膜的反硝化菌丰度降幅尤为显著,达到近 50%.已有研究表明,高浓度 NH_4^+–N 会对微生物产生毒性,不可逆地抑制其代谢活性[44],NH_4^+–N 胁迫可能直接导致关键反硝化功能菌的代谢活性受到损伤,导致其丰度降低和反硝化能力下降.

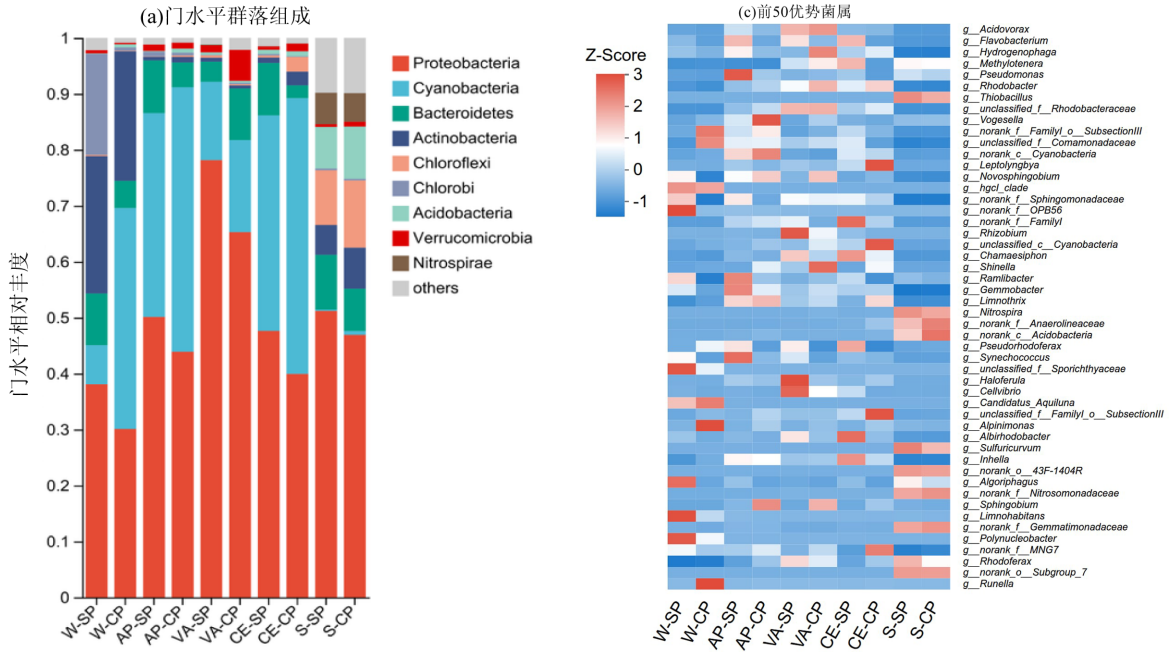


图 4　细菌门水平群落组成,硝化菌丰度和优势菌属丰度的变化

Fig.4　The bacterial community composition at phylum level (a), relative abundance of nitrifiers (b) and the top 50bacteria on genus level (c)

2.5 硝化和反硝化功能基因丰度的变化

与细菌群落分析结果一致,硝化和反硝化相关功能基因的定量 PCR 结果显示,CP 中苦草和人工水草生物膜中氨单加氧酶基因(*amoA*)的丰度显著高于 SP(P<0.05),而硝酸盐还原酶基因(*narG* 和 *napA*)在 CP 中显著下降(P<0.05)(图 5).反硝化功能基因丰度的下降再次证实了 CP 中反硝化作用受抑制的现象.

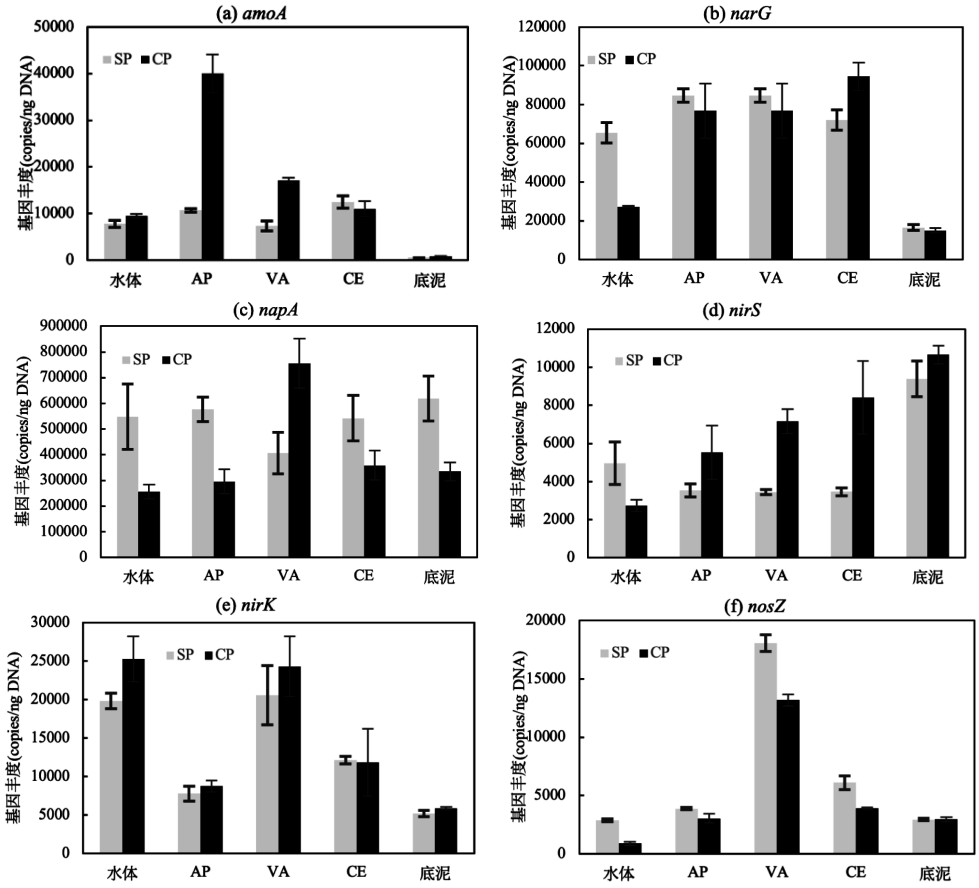


图 5 氨氧化与反硝化相关功能基因丰度

Fig.5 Functional gene abundance of ammonia oxidization and denitrification

AOB 中携带 *nirK* 基因,*nirK* 和 *nirS* 分别作为硝化菌和反硝化菌反硝化参与 N_2O 产生的标记基因[40].*nirK* 丰度始终显著高于 *nirS*(P<0.01),表明硝化菌反硝化可能是 CP 和 SP 中 N_2O 产生的重要途径.尽管 N_2O 可能通过多种途径产生,*nosZ* 基因编码的 N_2O 还原酶是唯一能够消耗 N_2O 的关键酶[5],其活性是影响 N_2O 释放的关键因素之一.在 CP 中,*nirK* 和 *nirS* 丰度上升,而 *nosZ* 丰度显著低于 SP(P<0.05)(图 5),同时 *nirS/nosZ* 和 *nirK/nosZ* 分别上升 90%和 59%,表明硝化菌和反硝化菌介导的 N_2O 生成潜力均超过其消耗潜力,导致系统净 N_2O 排放潜能增加.

2.6 不同类型介质附着生物膜氮转化和 N_2O 释放的差异

人工水草生物膜在不同氨氮污染下均表现出最强的硝化和反硝化潜力,N_2O 排放量相对较低.人工水草附着生物膜中硝化菌和 *amoA* 基因的丰度在 SP 和 CP 系统中均显著高于苦草上的附着生物膜(P<0.05),这解释了其较高的硝化活性.人工水草附着生物膜中蓝藻丰度较高,外层蓝藻的光合作用提供了充足的 O_2,通过藻菌的协同作用促进了硝化作用.

然而,反硝化活性的分布模式与功能菌丰度不完全一致,苦草附着生物膜中含有最高丰度的反硝化菌及其功能基因(图 4,图 5),但其反硝化活性却低于人工水草生物膜,这可能是由于沉水植物与非生物介质表面生物膜层内微环境的差异所导致的.附着生物膜可划分为内层,中层和外层,为不同功能菌群提供了差异化的生态位和微环境[21].由于传质阻

力的存在,人工水草附着生物膜的内层更易形成适合反硝化的缺氧微环境,保护了内层反硝化菌因免受水体及外层生物膜中氧和活性氧的影响,保障了对氧敏感的 *nosZ* 酶活性[45],推动 N_2O 向 N_2 的完全转化,可能是其更高的反硝化活性和 N_2O 产生量较低的重要原因[36].

与人工水草相比,苦草和金鱼藻附着生物膜中反硝化菌和功能基因丰度较高,但反硝化活性却低于人工水草,这可能是由于植物叶片光合释氧会破坏反硝化所需的厌氧微环境.但在高氨氮胁迫下,苦草与金鱼藻对 N_2O 释放的影响不同.苦草对高氨氮胁迫有较好的适应性,尽管苦草生物膜中反硝化菌和功能基因丰度最高,叶表较高的 O_2 浓度会抑制反硝化作用和中间产物 N_2O 的产生.Huang 等[6,21]也发现在扰动情况下,苦草附着生物膜的反硝化作用受到抑制,从而使得 N_2O 释放量的降低.在自然水体中,苦草分布区的水体 N_2O 浓度较其他沉水植物区域低 40%~60%[10].与苦草不同,金鱼藻对高氨氮胁迫更为敏感,光合作用受到严重抑制(图 1),但氧化亚氮还原酶即使在极低氧浓度(<0.5mg/L)下也会受到显著抑制[45],N_2O 还原为 N_2 的反应受到抑制,导致 N_2O 释放量的增加.同时,光合作用产生氮部分有机物被用于植株的解毒代谢,在金鱼藻附着生物膜中,有效碳源供应不足也可能导致更高的 N_2O 产生.

3　结论

3.1　高氨氮促进了水体的硝化作用但抑制了反硝化作用.高氨氮下附着生物膜中硝化菌丰度最大提高了 5.21 倍,反硝化菌丰度降低了 50%,其硝化潜力最高可达对照的 27.1 倍,同时反硝化潜力降低至对照的 80.99%~85.09%.

3.2　高氨氮胁迫提高了硝化和反硝化过程 N_2O 释放速率,分别是对照组的 2~35 倍和 1.2~1.7 倍,但反硝化过程依然是 N_2O 产生的主要途径;高氨氮下 N_2O 释放潜势(*nirS/nosZ* 和 *nirK/nosZ*)分别上升 90% 和 59%.

3.3　在高氨氮下,苦草 TN 增量是对照的 1.5 倍,高于金鱼藻(36.4%),苦草对高氨氮的耐受性更好,其附着生物膜的 N_2O 释放速率[562.20~850.68μg N/(g·h)]低于人工水草[852.81~1027.68μg N/(g·h)]和金鱼藻[716.55~1234.88μg N/(g·h)],具有更广泛的生态应用价值.

参考文献:

[1] Chen H, Pan H, XIAO S, et al. Nitrous oxide dominates greenhouse gas emissions from hydropower's reservoirs in China from 2020 to 2060 [J]. Water Research, 2025,279:123420.

[2] Xiao Q, Xu X, Zhang M, et al. Coregulation of nitrous oxide emissions by nitrogen and temperature in China's third largest freshwater lake (Lake Taihu) [J]. Limnology and Oceanography, 2019, 64(3):1070−1086.

[3] Audet J, Levi E E, Jeppesen E, et al. Nutrient enrichment—but not warming—increases nitrous oxide emissions from shallow lake mesocosms [J]. Limnology and Oceanography, 2024,9999:1−12.

[4] 王大玲,杨雨虹,贺　惠,等.氨氧化微生物对硝化潜势和 N_2O 生成的贡献 [J]. 中国环境科学, 2024,44(12):6828−6837.
Wang D L, Yang Y H, He H, et al. Contribution of ammonia−oxidizing microorganisms to nitrification potential and N_2O production [J]. China Environmental Science, 2024,44(12):6828−6837.

[5] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen−cycling network [J]. Nature Reviews Microbiology, 2018,16:263.

[6] Huang Y, Deng M, LI L, et al. Freshwater salinization mitigated N_2O emissions in submerged plant−covered systems: Insights from attached biofilms [J]. Environmental Science & Technology, 2025,59(6):3205−3217.

[7] 梁淑雅,崔陈陈,胡思文,等.苦草附生细菌的分离鉴定及高效功能菌株筛选 [J]. 中国环境科学, 2024,44(5):2630−2641.
Liang S Y, Cui C C, Hu S W, et al. Isolation and identification of epiphytic bacteria from Vallisneria natans and screening of functional strains [J]. China Environmental Science, 2024,44(5):2630−2641.

[8] Mu X, Lv X, Liu W, et al. Biofilms attached to *Myriophyllum spicatum* play a dominant role in nitrogen removal in constructed wetland mesocosms with submersed macrophytes: Evidence from 15N tracking, nitrogen budgets and metagenomics analyses [J]. Environmental Pollution, 2020,266:115203.

[9] Chen C, Yin G, Li Q, et al. Effects of microplastics on denitrification and associated N_2O emission in estuarine and coastal sediments: insights from interactions between sulfate reducers and denitrifiers [J]. Water Research, 2023,245:120590.

[10] Guo W, Liu T, Fan Z, et al. Aquatic plants dominate spatiotemporal dynamics of N_2O fluxes in small urban lake by regulating nutrient distribution and emission path [J]. Environmental Research, 2025, 274:121290.

[11] Yuan G, Fu H, Zhong J, et al. Nitrogen/carbon metabolism in response to NH_4^+ pulse for two submersed macrophytes [J]. Aquatic Botany, 2015,121:76−82.

[12] Yuan G, Tan X, Guo P, et al. Linking trait network to growth performance of submerged macrophytes in response to ammonium pulse [J]. Water Research, 2023,229:119403.

[13] Zhang W, Li Q, Yang Y, et al. Joint toxicity mechanisms of perfluorooctanoic acid and sulfadiazine on submerged macrophytes and periphytic biofilms [J]. Journal of Hazard Materials, 2023,458:131910.

[14] Davidson T A, Audet J, Svenning J C, et al. Eutrophication effects on greenhouse gas fluxes from shallow−lake mesocosms override those of climate warming [J]. Global Change Biology, 2015,21(12):4449−4463.

[15] Yang L, Zhang S, Lv X, et al. *Vallisneria natans* decreased CH_4fluxes in wetlands: Interactions among plant physiological status, nutrients

and epiphytic bacterial community [J]. Environmental Research, 2023, 224:115547.

[16] Guo S, Zhang S, Wang S, et al. *Potamogeton crispus* restoration increased the epiphytic microbial diversity and improved water quality in a micro-polluted urban river [J]. Environmental Pollution, 2023, 326:121485.

[17] Penning W E, Mjelde M, Dudley B, et al. Classifying aquatic macrophytes as indicators of eutrophication in European lakes [J]. Aquatic Ecology, 2008,42(2):237-251.

[18] Zhu Z, Yuan H, Wei Y, et al. Effects of ammonia nitrogen and sediment nutrient on growth of the submerged plant *Vallisneria natans* [J]. Clean Soil, Air, Water, 2015,43(12):1653-1659.

[19] Dou Y, Wang B, Chen L, et al. Alleviating versus stimulating effects of bicarbonate on the growth of v*allisneria natans* under ammonia stress [J]. International Journal of Environmental Science and Pollution Research, 2013,20(8):5281-5288.

[20] Qiu Z, Zhang S, DING Y, et al. Comparison of *Myriophyllum Spicatum* and artificial plants on nutrients removal and microbial community in constructed wetlands receiving WWTPs effluents [J]. Bioresource Technology, 2021,321:124469.

[21] Huang Y, Deng M, Zhou S, et al. Microbial mechanisms underlying the reduction of N_2O emissions from submerged plant covered system [J]. Water Research X, 2025,28:100314.

[22] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1and c2in higher plants, algae and natural phytoplankton [J]. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1975,167(2):191-194.

[23] 李朝英,郑 路,卢立华,等.测定植物全氮的 H_2SO_4-H_2O_2 消煮法改进 [J]. 中国农学通报, 2014,30(6):159-162.
Li Z Y, Zheng L, Lu L H, et al. Improvement in the H_2SO_4-H_2O_2 digestion method for determining plant total nitrogen [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014,30(6):159-162.

[24] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法 [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
State Environmental Protection Administration. Standard methods for the examination of water and wastewater [M]. Beijing: China Environmental Science Press. 2002.

[25] Taylor A E, Zeglin L H, Wanzek T A, et al. Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations and contributions to soil nitrification potentials [J]. The ISME Journal, 2012,6(11):2024-2032.

[26] Yang X, He Q, Guo F, et al. Nanoplastics disturb nitrogen removal in constructed wetlands: Responses of microbes and macrophytes [J]. Environmental Science & Technology, 2020,54(21):14007-14016.

[27] Yu L, Liu S, Jiang L, et al. Insight into the nitrogen accumulation in urban center river from functional genes and bacterial community [J]. PLoS One, 2020,15(9):e0238531.

[28] Cao T E, Ni L, Xie P, et al. Effects of moderate ammonium enrichment on three submersed macrophytes under contrasting light availability [J]. Freshwater Biology, 2011,56(8):1620-1629.

[29] 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.

[30] Fu H, Yuan G X, Cao T, et al. Relationships between relative growth rate and its components across 11submersed macrophytes [J]. Journal of Freshwater Ecology, 2012,27(4):471-480.

[31] Gao J, Ren P, Zhou Q, et al. Comparative studies of the response of sensitive and tolerant submerged macrophytes to high ammonium concentration stress [J]. Aquatic Toxicology, 2019,211:57-65.

[32] Zhao Y, Liu H, Wang R, et al. Interactions between dicyandiamide and periphytic biofilms in paddy soils and subsequent effects on nitrogen cycling [J]. Science of The Total Environment, 2020,718:137417.

[33] Li X, Gao D, Li Y, et al. Increased nitrogen loading facilitates nitrous oxide production through fungal and chemodenitrification in estuarine and coastal sediments [J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(6):2660-2671.

[34] León-palmero E, Morales-baquero R, Reche I. P inputs determine denitrifier abundance explaining dissolved nitrous oxide in reservoirs [J]. Limnology and Oceanography, 2023,68(8):1734-1749.

[35] Sun X, Buchanan P J, Zhang I H, et al. Ecological dynamics explain modular denitrification in the ocean [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2024,121(52): e2417421121.

[36] Jiang C, Zhang S, Wang J, et al. Nitrous oxide (N_2O) emissions decrease significantly under stronger light irradiance in riverine water columns with suspended particles [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(48):19749-19759.

[37] Caranto J D, Lancaster K M. Nitric oxide is an obligate bacterial nitrification intermediate produced by hydroxylamine oxidoreductase [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2017,114(31): 8217-8222.

[38] Ju X, Sun H, Ruan C, et al. Prophage induction and quorum sensing enhance biofilm stability and resistance under ammonia-oxidizing bacteria-mediated oxidative stress [J]. Water Research, 2025,284: 124010.

[39] Venterea R T. Nitrite-driven nitrous oxide production under aerobic soil conditions: kinetics and biochemical controls [J]. Global Change Biology, 2007,13(8):1798-809.

[40] Liang X, Wang B, Gao D, et al. Nitrification regulates the spatiotemporal variability of N_2O emissions in a eutrophic lake [J]. Environmental Science & Technology, 2022,56(23):17430-17442.

[41] Liu Y, Gong L, Mu X, et al. Characterization and co-occurrence of microbial community in epiphytic biofilms and surface sediments of wetlands with submersed macrophytes [J]. Science of the Total Environment, 2020,715:136950.

[42] Wang Z, Liu Z, Wang J, et al. Characterizing algal-bacterial symbiotic biofilms: Insights into coexistence of algae and anaerobic microorganisms [J]. Bioresource Technology, 2024,406:130966.

[43] Wan H, Wang K, Luo X, et al. Algal-mediated nitrogen removal and sustainability of algal-derived dissolved organic matter supporting denitrification [J]. Bioresource Technology, 2024,407:131083.

[44] Yue X, Liu H, Wei H, et al. Reactive and microbial inhibitory mechanisms depicting the panoramic view of pH stress effect on common biological nitrification [J]. Water Research, 2023,231:119660.

[45] Dalsgaard T, Stewart F J, Thamdrup B, et al. Oxygen at nanomolar levels reversibly suppresses process rates and gene expression in anammox and denitrification in the oxygen minimum zone off northern chile [J]. mBio., 2014,5(6):e01966.

作者简介：张官杰(2004-),男,贵州毕节人,南京大学本科生,研究方向为环境微生物.发表论文 1 篇.3569815212@qq.com.