

DOI: 10.5846/stxb201809091933

林海, 蔡怡清, 李冰, 董颖博, 李阳. 北京市妫水河底泥微生物群落结构特征研究. 生态学报, 2019, 39(20): - .

Lin H, Cai Y Q, Li B, Dong Y B, Li Y. Characteristics of microbial community structure in Guishui River sediment in Beijing. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(20): - .

北京市妫水河底泥微生物群落结构特征研究

林 海^{1,2,*}, 蔡怡清¹, 李 冰^{1,2}, 董颖博^{1,2}, 李 阳¹

1 北京科技大学能源与环境工程学院, 北京 100083

2 工业典型污染物资源化处理北京市重点实验室, 北京 100083

摘要:微生物对外界环境变化较为敏感,常被作为指示生物用于监测和反映水质情况。为满足延庆世园会和冬奥会举办对妫水河水质的调控要求,探讨妫水河底泥微生物群落结构特征及环境因子对其分布的影响。基于妫水河 12 个不同断面的水样和底泥样品,进行了水质、底泥理化性质分析,并对底泥的微生物群落结构特征进行了研究。结果表明,妫水河中、下游水体水质 COD、NH₄⁺-N、TN 超标,其中上覆水 TN 含量与底泥 TN 含量呈极显著正相关($P=0.914$); MiSeq 高通量测序发现,妫水河底泥微生物共检出 70 门 228 纲 1168 属,变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、绿菌门(Chlorobi)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)是妫水河底泥微生物群落结构中的主要菌门,在各个样品中相对丰度之和均占 84% 以上,其中变形菌门为第一优势门,占比达到 45.3%—69.1%,而不同断面样品的优势菌属有所不同。妫水河底泥微生物群落丰度总体较高,多样性也相对较高,其中世园段 D7 点 Ace 丰富度指数和 Shannon 多样性指数均较其他点位低,分别为 2673 和 6.56。RDA(redundancy analysis)分析表明,底泥氨氮和温度是影响其微生物群落结构的主要因子($F=2.92, P=0.038$; $F=2.81, P=0.014$),妫水河底泥的优势反硝化菌属为脱氮单孢菌属和硫杆状菌属,其丰度与 NH₄⁺-N、水温呈正相关,同时与 DO 呈负相关。研究结果对妫水河水生态环境保护和水质管理提供数据支撑及理论指导意义。

关键词:妫水河;底泥;高通量测序;微生物群落结构;环境因子

Characteristics of microbial community structure in Guishui River sediment in Beijing

LIN Hai^{1,2,*}, CAI Yiqing¹, LI Bing^{1,2}, DONG Yingbo^{1,2}, LI Yang¹

1 School of Energy and Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China

2 Beijing Key Laboratory on Resource-oriented Treatment of Industrial Pollutants, Beijing 100083, China

Abstract: Microorganisms are sensitive to changes in the external environment and are often used as indicators to monitor and indicate water quality. We decided to investigate the characteristics of microbial community structure in the sediment of the Guishui River and understand the impact of environmental factors on microbial community distribution, to ensure that water quality requirements are met for hosting the World Horticultural Exhibition and Winter Olympic Games in Yanqing District. Water and sediment samples from 12 different sections of the Guishui River were collected to analyze the physical and chemical properties of water and study the microbial community structure characteristics of sediment. It was found that the water quality of chemical oxygen demand (COD), ammonia nitrogen (NH₄⁺-N), and total nitrogen (TN), were below the standard in the middle and lower reaches of Guishui River, and the total nitrogen content of the sediment had significant positive correlation with that of the overlying water ($P=0.914$). The microbial community structure was investigated using MiSeq high-throughput sequencing. The bacterial species detected in these samples covered 70 phyla, 228 classes, and

基金项目:十三五国家水体污染与控制重大专项课题(2017ZX07101-004-002)

收稿日期:2018-09-09; 网络出版日期:2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: linhai@ces.ustb.edu.cn

1168 genera, and it was found that Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Firmicutes, Cyanobacteria, Chlorobi, Verrucomicrobia, and Nitrospirae, were the main bacteria in the sediment, accounting for more than 84% in each sample, and the phylum Proteobacteria was most abundant, accounting for 45.3% to 69.1% of the total sample. The dominant species varied in different cross-sections of the samples. The abundance and diversity of microbial communities in the sediments of Guishui River were relatively high, but the Ace richness index and the Shannon diversity index (2673 and 6.56, respectively) of the D7 point in the Shiyuan section were lower than at other points. The result of redundancy analysis showed that water dissolved ammonia nitrogen and temperature were the main environmental factors influencing the microbial communities ($F=2.92, P=0.038$ and $F=2.81, P=0.014$, respectively). The dominant bacteria in the sediments were of the genus *Dechloromonas* and *Thiobacillus*. Their abundance is positively correlated with the content of ammonia nitrogen and water temperature, and negatively correlated with the content of dissolved oxygen. The research results provide data support and theoretical guidance for ecological environment protection and water quality management of Guishui River.

Key Words: Guishui River; sediment; high-throughput sequencing; microbial community structure; environmental factors

我国工业化和城市化的快速发展,使得河流等水体普遍受到了不同程度的污染,水体受到污染后,河道水流缓慢导致水中污染物部分沉积或通过吸附作用在底泥中富集,长期累积下使得底泥成为内源污染源,而底泥中微生物可以通过同化或异化作用对污染物进行降解^[1]。另外,由于微生物对外界水环境变化较为敏感,河流水环境质量的变化可使底泥微生物在丰度和群落结构上发生一定的改变,在微生物作为环境现状指示生物的同时,河流底泥微生物可以反过来影响外界水环境,从而使得河流水体生态修复成为可能,因此研究其群落结构特征具有重要意义。目前高通量测序技术已广泛应用于研究环境微生物的群落结构、多样性及进化关系^[2],国内外学者也越来越关注河流微生物群落结构与水质的响应关系^[3-5]。

妫水河为延庆的母亲河,是官厅水库三大入库河系之一。针对妫水河冬季水流动性差、水体富营养化较为严重的问题,本文采用 MiSeq 高通量测序方法研究了妫水河不同断面底泥微生物群落结构分布特征,分析底泥微生物群落与环境因子之间的关系,研究结果对妫水河水生态环境保护和水质管理提供数据支撑及理论指导意义。

1 材料与方法

1.1 研究区域与样品采集

妫水河流域分布在北京市延庆城区内,属于永定河水系,是北京市重要的供水水源河道和水源保护区,地理坐标为 115°49'21"E—116°16'16.75"E, 40°24'52.18" N—40°33'25.91"N,发源于延庆城区东北 13 公里处,横贯延庆盆地,在下屯乡大路村北入官厅水库后入永定河,沿途有支流古城河、三里河和蔡家河汇入,河长 18.5 km,流域面积 1064.66 km²,占延庆区总面积的 52%。妫水河流域属大陆季风气候区,冬季寒冷干燥,在农场橡胶坝至南关桥段间水体流动性差,河岸及浅滩区水生植物稀少且分布不均,水体富营养化较为严重,为官厅水库水环境改善带来了沉重的负担,也极大的影响了延庆城区周边的生态环境^[6]。

根据《水质 采样方案设计技术规范》(HJ 495-2009)的断面设置原则在妫水河干流设置 9 个断面(D1—D9),古城河(DG)、三里河(DS)、蔡家河(DC)三个支流分别各设置 1 个断面,共 12 个,如图 1。于 2017 年 11 月采用多点混合采样法对每个断面进行采样,每个断面设置距离为 10 m 的 3 个采样点,每个采样点设置 3—5 个重复。使用有机玻璃采水器采集 36 个采样点上覆水样 500 mL,利用便携式柱状采泥器采集河流表层底泥(0—10 cm),底泥样品在去除杂物后,将各断面样品分别各自混合,用无菌袋封装并 4℃ 冷藏运送至实验室,放入-80℃冰柜保存至 DNA 提取。

1.2 样品理化分析

采用便携式水质分析仪(Thermo Orion A329, USA)现场测定上覆水 pH、水温 T 和溶解氧 DO。其他理化

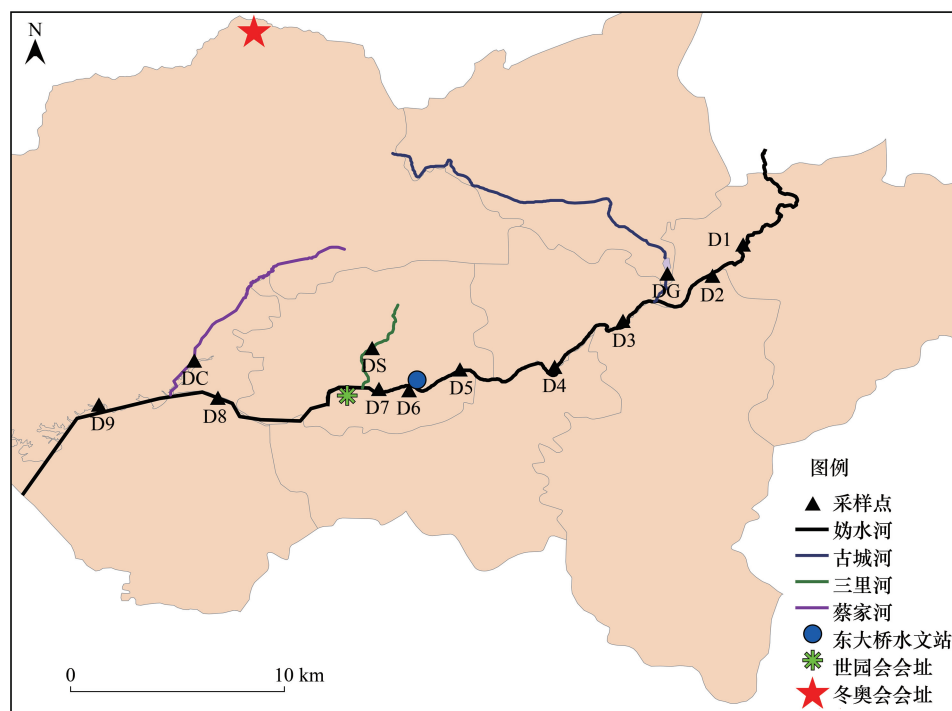


图 1 采样点位置示意图

Fig.1 Sampling sites in Guishui River

D 表示采样样品编号,各采样点地理位置如下:D1(N40°30'57", E116°7'34"); D2(N40°30'54", E116°7'5"); DG(N40°29'37", E116°5'8"); D3(N40°29'1", E116°4'16"); D4(N40°27'42", E116°2'34"); D5(N40°27'38", E116°0'3"); D6(N40°27'21", E115°58'55"); D7(N40°27'5", E115°58'42"); DS(N40°27'7", E115°57'54"); D8(N40°28'20", E115°57'55"); DC(N40°27'52", E115°53'1"); D9(N40°26'42", E115°50'28")

指标(包括化学需氧量 COD、总磷 TP、总氮 TN、氨氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)则在水样采样后 24 h 之内于实验室按国家标准方法^[7]检测完成。

底泥样品经冷冻干燥后研磨,称取 0.1 g 样品于 50 mL 比色管中,加入 25 mL 碱性过硫酸钾溶液,在 0.15—0.16 MPa 压力下保持 120—124℃ 的温度 30 min,自然冷却后过滤,滤液定容到 100 mL,总氮采用紫外分光光度法、总磷采用钼酸铵分光光度法测定^[8]。氨氮和硝态氮按照《HJ 634-2012 土壤氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮的测定氯化钾溶液提取-分光光度法》国家标准方法测定,并取 1 g 粉末原样用 2 mL 的 1 mol/L 盐酸超声波 3 h 除去无机碳后,用德国 Elementar vario EL cube 元素分析仪进行总 TOC/TN 的测定^[9]。

1.3 DNA 的提取及高通量测定

根据 E.Z.N.A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行总 DNA 抽提,DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量,PCR 扩增及其高通量测序采用细菌引物为 338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和 806R:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。扩增程序为:95℃ 预变性 3 min,27 个循环(95℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s),最后 72℃ 延伸 10 min。所有样本反应结束后,每个样本 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物浓度进行等量混样后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化,Tris-HCl 洗脱,2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™-ST (Promega, USA) 进行检测定量。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序,测序委托北京中科晶云科技有限公司进行,对原始序列进行预处理,根据 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类,选取高质量的序列进行分析。

1.4 数据分析

高通量测序所得的序列通过 QIIME 进行处理,主要包括 OUT 分类、多样性分析和 PCoA 聚类分析;采用

CANOCO 4.5 进行线性回归的冗余分析(RDA)分析,获取底泥微生物群落对环境因子之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 底泥及上覆水的理化性质分析

如表 1 所示,pH 整体呈弱碱性,各样点底泥的 pH 值基本上低于上覆水。妣水河中下游 COD、TN 含量未满足“水十条”标准,D5 和 DS 点 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 均为Ⅳ类水标准。其中,支流三里河 DS 点污染严重的水体流入妣水河主干流是导致 D8 点 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 污染超标的重要原因之一,TN 含量整体偏高可能是由于冬季水温低,微生物的活性较低,降低了生物作用对氮磷的去除效果^[10],且秋冬季降雨补给减少,污染稀释作用降低。由表 1、表 2 对比可知上覆水 TN 含量主要超标点位由高到低依次为:DS>D5>D4>D6>D7,底泥中 TN 含量变化顺序为:DS>D5>D4>D6>D7,由相关性分析可得,各点位之间上覆水 TN 含量与底泥 TN 含量呈极显著正相关($P=0.914$)。通过 C/N 比示踪环境与气候演变的过程,可以得出沉积物有机质的来源信息,通常有机质中 C/N 比介于 10—13,表示来源为水生植物,小于 10 为藻类^[11],因此根据表 2 中 C/N 比可得出妣水河底泥污染主要来源为水生植物和藻类。

表 1 妣水河水体各项理化指标

Table 1 Physicochemical indices of water in Guishui River

样品编号 Samples	pH	温度 Temperature/℃	溶解氧 Dissolved oxygen/ (mg/L)	化学需氧量 Chemical oxygen demand/ (mg/L)	总磷 Total phosphorus/ (mg/L)	氨氮 Ammonia nitrogen/ (mg/L)	硝态氮 Nitrate/(mg/L)	总氮 Total nitrogen/ (mg/L)
D1	7.36	9.8	6.33	11.54	0.01	0.04	0.53	0.87
D2	7.62	9.8	8.24	13.86	0.13	0.05	0.43	0.95
DG	7.64	7.4	9.35	15.49	0.04	0.13	0.73	0.92
D3	7.78	11.0	9.74	43.30	0.11	0.05	0.60	0.75
D4	8.21	10.8	12.36	33.13	0.02	0.27	0.15	1.64
D5	7.92	9.8	11.85	23.56	0.05	1.22	0.29	1.94
D6	8.33	11.0	15.33	19.11	0.06	0.35	0.34	1.4
D7	7.67	10.8	8.80	20.22	0.14	0.75	0.20	1.21
DS	7.95	11.7	7.36	36.15	0.20	1.57	0.13	2.16
D8	8.38	10.3	8.38	29.50	0.19	0.75	0.24	1.21
DC	8.05	10.6	9.40	35.48	0.17	0.45	0.04	1.08
D9	8.67	13.6	12.30	16.56	0.05	0.62	0.03	1.16

表 2 妣水河表层底泥各项理化指标

Table 2 Physicochemical indices of sediments in Guishui River

样品编号 Samples	pH	氨氮 Ammonia nitrogen/ (g/kg)	硝态氮 Nitrate/ (g/kg)	总氮 Total nitrogen/ (g/kg)	总磷 Total phosphorus/ (g/kg)	C/N Carbon to nitrogen ratio
D1	7.52	0.03	0.13	1.93	0.10	11.9
D2	7.48	0.15	0.20	2.22	0.38	10.4
DG	7.67	0.83	0.07	2.78	0.16	9.8
D3	7.54	0.75	0.15	2.39	0.07	10.2
D4	7.50	0.40	0.24	17.10	0.10	9.8
D5	7.79	0.81	0.20	18.80	0.11	6.3
D6	7.48	0.55	0.08	15.15	0.20	11.3
D7	7.62	0.80	0.12	12.46	0.13	10.3
DS	7.76	0.24	0.26	21.73	0.07	10.0
D8	7.81	0.14	0.18	10.02	0.04	5.0
DC	7.82	0.19	0.16	11.73	0.05	7.5
D9	7.90	0.09	0.21	2.86	0.01	6.1

2.2 优势微生物菌群分布

利用 Miseq 测序技术研究妫水河底泥微生物群落结构,共检出 70 门 228 纲 1168 属,其中丰度最大的 10 个菌门为变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes)、蓝细菌门 (Cyanobacteria)、绿菌门 (Chlorobi)、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 和硝化螺旋菌门 (Nitrospirae),如图 2 所示。以上菌门之和在各个样品中均占 84% 以上,但这些菌门的分布有所不同。变形菌门 (Proteobacteria) 在各个样品中均是第一优势门,而在丰度上也存在差异,其中 D7 样品最高,占 69.1%,而 D5 样品相对较低,占 45.3%。

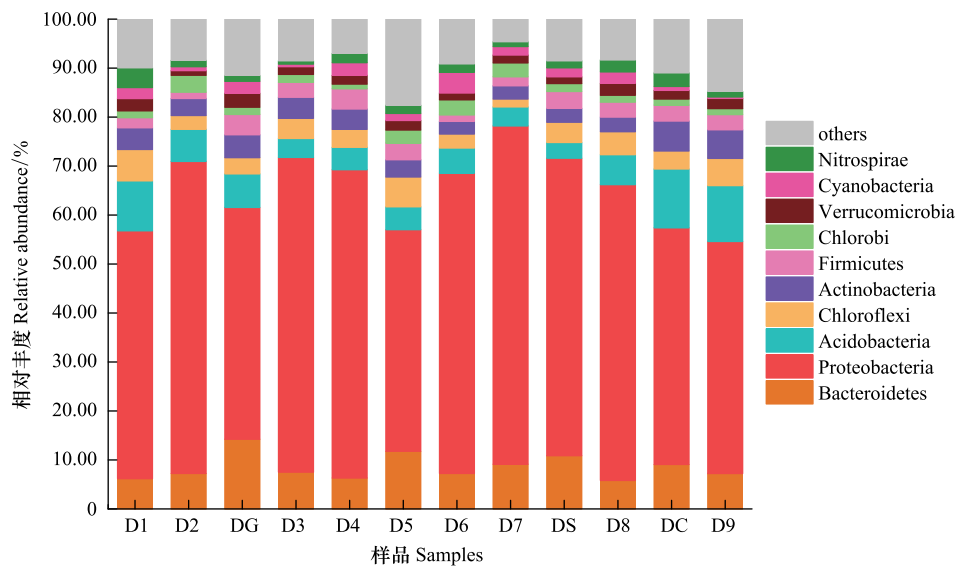


图 2 妫水河底泥样品主要优势菌门群落结构组成比例

Fig.2 Relative abundance of the most abundance classes at phylum level in the analyzed samples

Bacteroidetes:拟杆菌门;Proteobacteria:变形菌门;Acidobacteria:酸杆菌门;Chloroflexi:绿弯菌门;Actinobacteria:放线菌门;Firmicutes:厚壁菌门;Chlorobi:绿菌门;Verrucomicrobia:疣微菌门;Cyanobacteria:蓝细菌门;Nitrospirae:硝化螺旋菌门;Others:其他

对 12 个底泥样品的变形菌门微生物的分布特征进行分析,结果见表 3。可以看出,β-变形菌纲 (β-proteobacteria) 和 δ-变形菌纲 (δ-proteobacteria) 是变形菌门丰度最大的两个菌群,β-变形菌纲约占细菌总量的 11.01%—31.50%,δ-变形菌纲约占细菌总量的 11.6%—20.24%,除此之外,γ-变形菌纲 (γ-proteobacteria) 和 α-变形菌纲 (α-Proteobacteria) 也占有较高的丰度比例,而 ε-变形菌纲 (ε-proteobacteria) 的丰度最低。DC 样品中 α-变形菌纲 (α-proteobacteria) 含量偏高,达到 12.8%。

表 3 妫水河底泥样品中变形菌门微生物的分布比例/%

Table 3 Proportion distribution of Proteobacteria in each sediment sample

项目 Project	D1	D2	DG	D3	D4	D5	D6	D7	DS	D8	DC	D9
α-变形菌纲 Alphaproteobacteria	5.74	4.28	8.33	3.34	7.02	3.57	5.13	2.75	7.24	7.59	12.8	9.99
β-变形菌纲 Betaproteobacteria	21.27	29.86	13.42	29.25	31.50	13.11	24.38	30.96	22.39	24.45	11.01	14.89
δ-变形菌纲 Deltaproteobacteria	14.27	16.44	15.99	11.6	12.41	19.77	14.28	14.56	20.24	16.16	15.33	14.99
ε-变形菌纲 Epsilonproteobacteria	0.47	0.10	0.10	2.05	2.51	0.68	0.32	0.08	0.39	0.19	0.30	0.42
γ-变形菌纲 Gammaproteobacteria	8.71	12.88	9.36	17.70	9.30	7.95	16.96	20.63	10.28	11.60	8.75	7.01

从属水平上对微生物的占比情况进行统计,其中相对丰度大于1%的包括20个属(平均丰度),如图3所示,分别是 *Bacteroidales_norank*、*Sinobacteraceae_norank*、脱氮单胞菌属(*Dechloromonas*)、*Comamonadaceae_norank*、*Ellin6067_norank*、地杆菌属(*Geobacter*)、*Stramenopiles_norank*、*iii1-15_norank*、*SC-I-84_norank*、*MND1_norank*、*Syntrophobacteraceae_norank*、*Myxococcales_norank*、硫杆菌属(*Thiobacillus*)、*Dok59*、*Ignavibacteriaceae_norank*、*Betaproteobacteria_norank*、*Gemm-1_norank*、*Syntrophaceae_norank*、*Deltaproteobacteria_norank*、*Xanthomonadaceae_norank*。其中,脱氮单胞菌属、*Comamonadaceae_norank*、*SC-I-84_norank*、硫杆菌属、*Ellin6067_norank*、*Dok59*、*MND1_norank*均隶属于 β -变形菌纲。

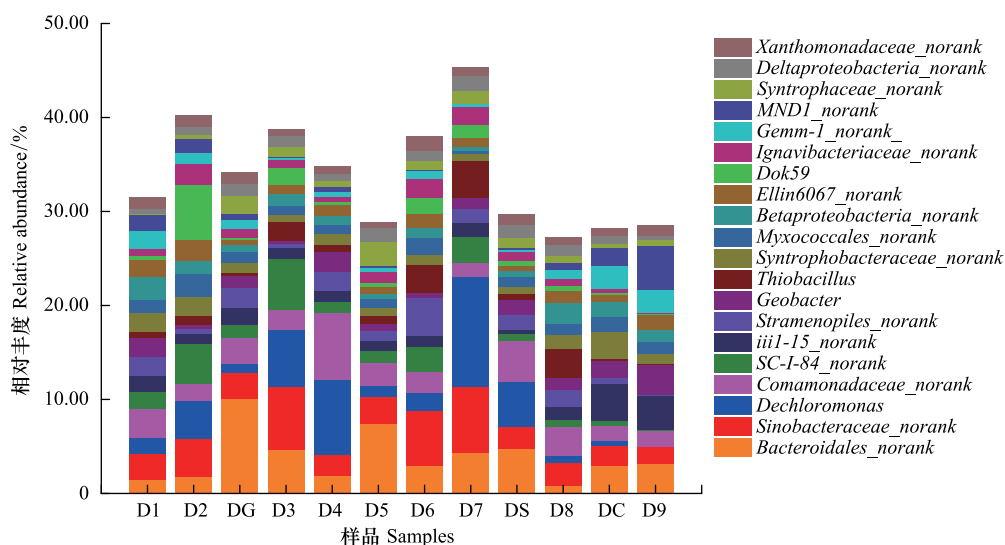


图3 妯水河底泥样品主要优势菌属群落结构组成比例

Fig.3 Relative abundance of the most abundance classes at genus level in the analyzed samples

Bacteroidales_norank: 未命名; *Sinobacteraceae_norank*: 未命名; *Dechloromonas*: 脱氮单胞菌属; *Comamonadaceae_norank*: 未命名; *Ellin6067_norank*: 未命名; *Geobacter*: 地杆菌属; *Stramenopiles_norank*: 未命名; *iii1-15_norank*: 未命名; *SC-I-84_norank*: 未命名; *MND1_norank*: 未命名; *Syntrophobacteraceae_norank*: 未命名; *Myxococcales_norank*: 未命名; *Thiobacillus*: 硫杆菌属; *Ignavibacteriaceae_norank*: 未命名; *Betaproteobacteria_norank*: 未命名; *Gemm-1_norank*: 未命名; *Syntrophaceae_norank*: 未命名; *Deltaproteobacteria_norank*: 未命名; *Xanthomonadaceae_norank*: 未命名

不同断面样品的优势种属有所差别。其中 DG、D5 的优势菌属为 *Bacteroidales_norank*, D3、D6 的优势菌属集中在 *Sinobacteraceae_norank*, D4、D7 含有较高比例的脱氮单胞菌属微生物,但上游点位 D1、D2 和下游点位 DS、D8、DC、D9 的优势菌属比较分散,分别为 *BPC076_norank*、*Comamonadaceae_norank*、*Dok59*、硫杆菌属、*iii1-15_norank*、*MND1_norank*。

2.3 微生物群落多样性及差异性分析

如表4所示,本研究将相似度为97%的序列划分为1个OTU,并进行多样性指数计算。由Ace丰富度指数可知,D7样品的丰富度较其他样品偏低,低至2673,而DG古城河样品的Ace指数最高,达4869,D5样品其次,为4826,表明DG、D5样品中物种总数也相对最高,Chao丰富度指数所表现趋势和Ace指数相同。各样品Shannon指数均大于6.0,其中DC蔡家河样品的Shannon指数值最高,为8.72,其多样性相对较高,D1、D2、D3、D6、D7点Shannon指数均小于8.0,其中D7点最小,为6.56。

为了进一步分析样本间在群落物种组成上的差异性,基于weighted Unifrac^[12]采用PCoA分析衡量样本间群落物种组成的相似度,结果表明12个样品主要分布在两个不同的位置。如图4所示PC1是造成样品差异性最大的主坐标成分,解释度为35.08%,其次为PC2,解释度为25.83%,对物种分布的总解释量为60.91%。在PC1和PC2维度上,将采样地分为两组,妯水河中游点位D2、D3、D4、D6、D7、D8和DS微生物群落结构相似度较高为一组,上游点位D1、DG及下游点位D9、DC相似度较高为一组,进而将两个分组的Shannon指数

进行方差分析,结果也表明两组多样性存在显著性差异($P=0.037$)。

表 4 底泥微生物群落丰富度和多样性指数

Table 4 Summary of the richness and diversity indices of the sediment microbial communities

样品编号 Samples	OTUs	Ace 指数 Ace index	Chao 指数 Chao index	Shannon 指数 Shannon index
D1	3256	4683	4482	7.86
D2	2633	4484	4195	6.45
DG	3075	4869	4639	8.53
D3	2516	3987	3808	7.12
D4	2932	4504	4387	8.62
D5	3347	4826	4548	8.64
D6	2892	4398	4273	7.69
D7	2034	2673	2645	6.56
DS	2429	3780	3511	8.36
D8	2948	4012	3860	8.27
DC	2988	4203	4051	8.72
D9	2648	3612	3445	8.15

2.4 微生物群落结构与环境因子关系的冗余分析

基于 12 个样品优势属微生物群落信息和底泥主要环境因子进行冗余分析(RDA),考察微生物群落因子与环境因子变量之间的关系。图 5 中 RDA 模型分析发现,两主坐标分别解释了 43.1%和 21.3%的底泥微生物群落因子与环境因子关系,共解释了微生物属水平 64.4%的分布差异。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 T 对妫水河底泥微生物群落结构影响最大($F=2.92, P=0.038; F=2.81, P=0.014$)。值得注意的是, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 *Bacteroidales-norank* 相关性最大,脱氮单孢菌属和硫杆状菌属均与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、T 呈正相关,同时与 DO 呈负相关。

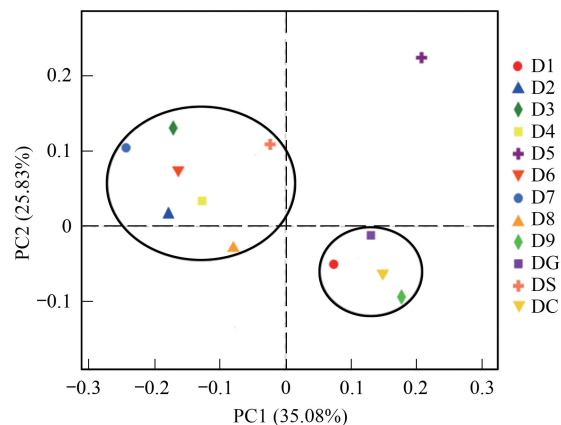


图 4 基于 Weighted Unifrac 的 PCoA 分析

Fig.4 PCoA plot based on Weighted Unifrac

PC1:第一主坐标 First primary coordinate; PC2:第二主坐标 Second primary coordinate

3 讨论

3.1 妫水河不同断面微生物群落结构特征

妫水河第一优势菌门为变形菌门(Proteobacteria),在水环境中普遍存在。相关研究表明其在湿地、养殖废水和深海沉积物等环境中均以第一优势门存在^[13-15],大多数在生物脱氮、生物除磷及诸多污染物降解过程中起重要作用的微生物均归属于变形菌门^[16]。在纲水平上, β -变形菌纲占比最多,达到 11.01%—31.50%,其广泛存在河流和湖泊中(如松花江^[17]、海宁长山河^[18]、东江^[19]、Prealpine 湖^[20]等),并在氮磷等污染物的去除中起到了重要的作用^[21]。

妫水河各样品 Shannon 多样性指数均较高,与微生物多样性指数在水体底泥表层通常最高有关^[22]。D7 点 Shannon 多样性指数较其他点位低,而 D7 点变形菌门丰度最高,经实地调研这可能是由于 D7 点位河面较宽,水流速极小(小于 $0.02\text{m}^3/\text{s}$),微生物迁移速度慢导致菌种单一稳定,多样性小。妫水河微生物群落结构在 12 个样品间存在断面差异,妫水河中游点位 D2、D3、D4、D6、D7、D8 和 DS 微生物群落结构相似度较高,这与中游点位均分布在延庆城区内,受人类活动影响大有关。下游 D9 入官厅水库点位和支流 DC 蔡家河点位差异性较小,与两个点位地理位置相近、附近环境相似有关,而在三条支流中古城河 DG 点和蔡家河 DC 点具有一定的相似性,是由于两条支流附近均有村庄分布,与城区有一定距离,受农业面源污染影响大,因此生态

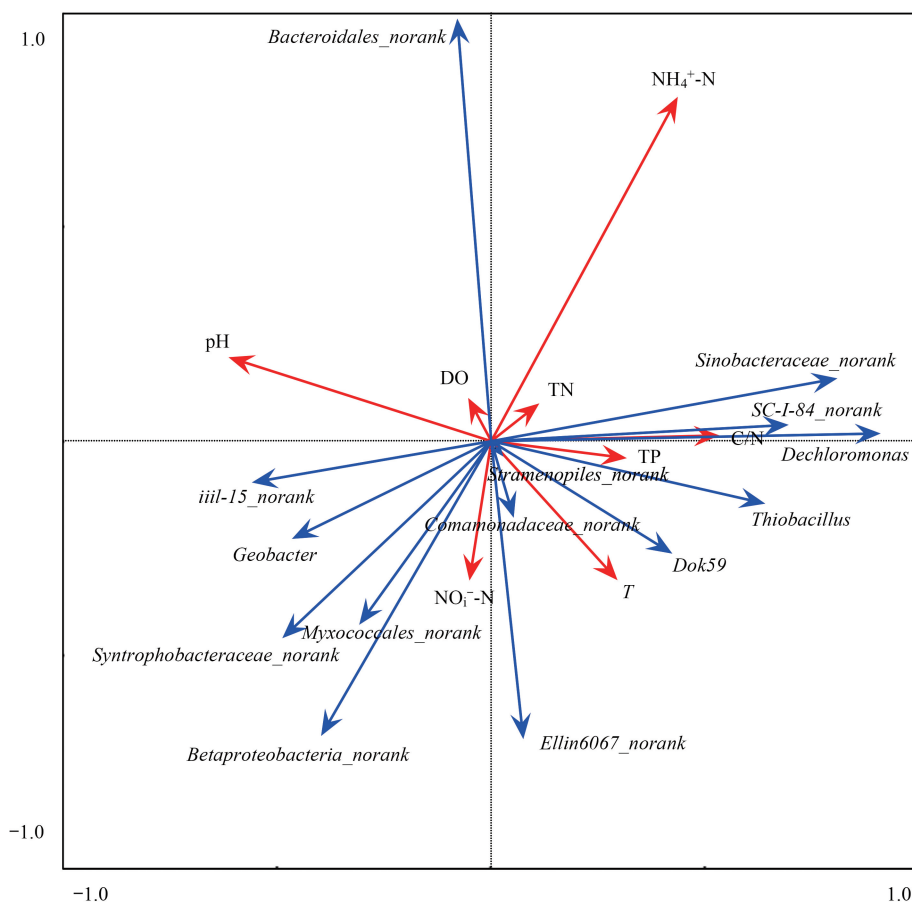


图5 微生物群落结构和环境因子的 RDA 分析

Fig.5 RDA analysis of environmental factors and microbial community structure

RDA:冗余分析 Redundancy analysis; DO:溶解氧 Dissolved oxygen; T:温度 Temperature; $\text{NH}_4^+\text{-N}$:氨氮 Ammonia nitrogen; $\text{NO}_3^-\text{-N}$:硝态氮 Nitrate; TN:总氮 Total nitrogen; TP:总磷 Total phosphorus; C/N:碳氮比 Carbon to nitrogen ratio

环境相似度高,微生物群落结构差异性较小。

3.2 妣水河微生物群落生态功能及对环境因子的相关性

底泥微生物群落结构会随着环境因子的变化呈现出一定的空间分布特征,而微生物群落结构的变化又会在一定程度上反映环境因子的变化情况^[3]。王娜等^[23]在研究太湖沉积物中微生物生物量与碳、氧、磷等主要元素关系时发现,太湖沉积物 TOC/TN 的变化显著影响微生物群落结构。鲍林林等^[24]通过高通量测序研究得出氨氮是影响河流底泥氨氮化微生物群落结构特征的主要因子,与本研究结论一致。刘吉文等^[25]在研究典型海域微生物群落结构中得出 DO 对细菌属水平上具有重要显著影响,本研究中 *Bacteroidales-norank* 与 DO 呈正相关,而 *Bacteroidales-norank* 多存在与生物粪便内,常被作为粪便来源标识物^[26],作为 DG、D5 点的优势菌属,与 DG 点农村动物粪便、D5 点城区生活污水排放相关。DC 蔡家河点位优势菌属 *iii1-15_norank* 隶属于酸杆菌门 (Acidobacteria),与 pH 相关性最大,并呈正相关,这与酸杆菌是生长较缓慢的寡营养菌,其丰度受 pH 影响较大相符,且 pH 对不同亚群相关性影响不同^[27],有研究表明氮肥会降低酸杆菌细菌的丰度^[28],本研究中 *iii1-15_norank* 与 pH 正相关,这可能与施肥导致 pH 下降有关^[29]。

不同环境因子对微生物群落丰度具有不同的影响。pH 可以通过 H^+ 浓度改变土壤中营养元素的形态从而影响着自养微生物类群^[30],妣水河不同断面之间 pH 值差异性不大,呈弱碱性。妣水河上游古城河支流 DG 点硝态氮含量较其他点位高,但其微生物群落丰富度高,可能与上游农业面源污染有关,在长期施用氮肥累积

下硝态氮含量升高,从而使微生物的数量和生物量增多^[31]。经实地调研妫水河 D8 谷家营国控断面点位河面很宽,水位较高,DO 相对较小,D8 点优势菌属为硫杆菌属(*Thiobacillus*),占细菌总数达到 3.10%,同为浑河底泥优势菌属,在厌氧条件下以 NO_3^- 为电子受体,在氧化硫化物的过程中将其转化为 N_2 ,可实现脱硫反硝化^[32]。并且本研究中硫杆菌属(*Thiobacillus*)与温度相关性较大,当水温升高时,营养物质丰富的环境中微生物生长较旺盛,而硫杆菌属主要参与反硝化过程^[33],因此反硝化速率会有所升高。Zhao 等^[34]在太湖流域研究中得出沉积物反硝化速率随 NH_4^+ 含量的增加而升高,而且当高含氮污水排入河流时,氮素的去除效率也相应的提高,本研究中反硝化菌^[35]脱氮单孢菌属(*Dechloromonas*)与氨氮含量呈正相关,同时与 DO 呈负相关,这与反硝化菌群在高 DO 条件下的反硝化能力会受到抑制有关^[36]。作为妫水河底泥中主要反硝化菌属,硫杆菌属和脱氮单孢菌属在不同断面中的平均占比和达到 4.55%,妫水河水体流速缓慢,为底泥中反硝化细菌提供了较好的缺氧环境,而在冬季温度较低条件下底泥微生物反硝化速率减弱。因此,通过分析微生物群落及丰度变化与环境因子的相关性,反映水环境因子的变化,体现水生态环境状况的好坏,并为水质改善、水生态保护和管理提供指导意见。但基于河流的季节性变化,妫水河底泥微生物群落结构与环境因子相互作用的具体机制较为复杂,还需今后进行更深入全面的探究。

4 结论

(1) 妫水河中下游水质偏差,上覆水中营养物质对底泥污染存在一定的影响,基本呈正相关性;支流三里河水质和底泥污染较严重,对妫水河干流水质影响较大,因此,要进一步加大对支流水源的监督与控制。

(2) 妫水河底泥微生物共检出 70 门 228 纲 1168 属,作为第一优势菌门,变形菌门(*Proteobacteria*)在各样品中占比高达 45.3%—69.1%,其中 β -变形菌纲(β -*proteobacteria*)和 δ -变形菌纲(δ -*proteobacteria*)是变形菌门丰度最大的两个菌群,占比分别为 11.01%—31.50%和 11.6%—20.24%;妫水河底泥微生物群落丰度总体较高,多样性也相对较高,但不同样品之间存在差异性,其中世园段 D7 点 Ace 丰富度指数和 Shannon 多样性指数均较其他点位低。

(3) 妫水河底泥微生物群落受 NH_4^+ -N 和温度的影响较大,妫水河优势反硝化菌属脱氮单孢菌属和硫杆菌属的丰度与 NH_4^+ -N、温度均呈正相关,与 DO 呈负相关。在冬季温度较低条件下底泥反硝化速率减弱,通过分析微生物群落及丰度变化与环境因子的相关性,加强妫水河冬季对水质的管理与监测,可为水环境治理和水质改善提供指导意见。

致谢:感谢罗明科、李阳、王源在野外采样中的帮助。

参考文献(References):

- [1] Wu Q H, Zhang R D, Huang S, Zhang H J. Effects of bacteria on nitrogen and phosphorus release from river sediment. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(4): 404-412.
- [2] 艾铎,张丽杰,肖芃颖,张晓凤,邢志林. 高通量测序技术在环境微生物领域的应用与进展. *重庆理工大学学报:自然科学*, 2018, 32(9): 111-121.
- [3] Zhang X Y, Hu B X, Ren H J, Zhang J. Composition and functional diversity of microbial community across a mangrove-inhabited mudflat as revealed by 16S rDNA gene sequences. *Science of the Total Environment*, 2018, 633: 518-528.
- [4] 张雅洁,李珂,朱浩然,张洪勋. 北海湖微生物群落结构随季节变化特征. *环境科学*, 2017, 38(8): 3319-3329.
- [5] 杨浩,张国珍,杨晓妮,武福平,赵伟,张洪伟,张翔. 16S rRNA 高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性. *环境科学*, 2017, 38(4): 1704-1716.
- [6] 韩东方,王岩峰,晏颖,许吕章. 延庆县妫水河水环境保护与治理的思考分析. *北京水务*, 2015, (6): 16-18.
- [7] 国家环境保护总局,《水和废水监测分析方法》编委会. *水和废水监测分析方法(第四版)*. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
- [8] 陈肖刚,李雅静,李欣益. 南北方河流沉积物中污染物含量的对比分析. *中国农村水利水电*, 2012, (10): 35-38.
- [9] 白亚之,朱爱美,崔菁菁,施美娟,高晶晶,张俊. 中国近海沉积物氮和有机碳标准物质的研制. *岩矿测试*, 2014, 33(1): 74-80.

- [10] 聂泽宇, 梁新强, 邢波, 叶玉适, 钱轶超, 余昱葳, 边金云, 顾佳涛, 刘瑾, 陈英旭. 基于氮磷比解析太湖苕溪水体营养现状及应对策略. 生态学报, 2012, 32(1): 48-55.
- [11] Kendall C, Silva S R, Kelly V J. Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter in four large river systems across the United States. *Hydrological Processes*, 2001, 15(7): 1301-1346.
- [12] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, Lurie E, Podishetty N K, Bhatnagar S, Eisen J A, Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [13] 杜瑞芳, 李靖宇, 赵吉. 乌梁素海湖滨湿地细菌群落结构多样性. 微生物学报, 2014, 54(10): 1116-1128.
- [14] 张健. 海参循环水养殖系统建立及曝气生物滤池细菌多样性分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [15] 陈丽蓉. 北极深海沉积物中微生物的多样性研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2012.
- [16] Nguyen H T T, Le V Q, Hansen A A, Nielsen J L, Nielsen P H. High diversity and abundance of putative polyphosphate-accumulating *Tetrasphaera*-related bacteria in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(2): 256-267.
- [17] Kirchman D L, Dittel A I, Findlay S, Fischer D. Changes in bacterial activity and community structure in response to dissolved organic matter in the Hudson River, New York. *Aquatic Microbial Ecology*, 2004, 35(3): 243-257.
- [18] Zhang X, Gu Q, Long X E, Li Z L, Liu D X, Ye D H, He C Q, Liu X Y, Väänänen K, Chen X P. Anthropogenic activities drive the microbial community and its function in urban river sediment. *Journal of Soils and Sediments*, 2016, 16(2): 716-725.
- [19] 孙巍. 东江微生物的群落结构及其在氨氮转化中的作用特点[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [20] Salcher M M, Posch T, Pernthaler J. *In situ* substrate preferences of abundant bacterioplankton populations in a prealpine freshwater lake. *The ISME Journal*, 2013, 7(5): 896-907.
- [21] 高晨晨, 郑兴灿, 游佳, 陈轶, 范波, 张文安, 孙永利. 城市污水脱氮除磷系统的活性污泥菌群结构特征. 中国给水排水, 2015, 31(23): 37-42.
- [22] Mermillod-Blondin F, Nogaro G, Detry T, Gibert M J. Do tubificid worms influence the fate of organic matter and pollutants in stormwater sediments? *Environmental Pollution*, 2005, 134(1): 57-69.
- [23] 王娜, 徐德琳, 郭璇, 吴筱清, 安树青. 太湖沉积物微生物生物量及其与碳、氮、磷的相关性. 应用生态学报, 2012, 23(7): 1921-1926.
- [24] 鲍林林, 陈永娟, 王晓燕. 北运河沉积物中氨氧化微生物的群落特征. 中国环境科学, 2015, 35(1): 179-189.
- [25] 刘吉文. 典型海域微生物群落结构及其生物地球化学意义[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- [26] Bambic D G, Kildare-Hann B J, Rajal V B, Sturm B S M, Minton C B, Schriever A, Wuertz S. Spatial and hydrologic variation of *Bacteroidales*, adenovirus and enterovirus in a semi-arid, wastewater effluent-impacted watershed. *Water Research*, 2015, 75: 83-94.
- [27] Shen C Z, Xiong J B, Zhang H Y, Feng Y Z, Lin X G, Li X Y, Liang W J, Chu H Y. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [28] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 王新珍, 金剑, 刘晓冰. 土壤酸杆菌门细菌生态学进展. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20.
- [29] Wang F H, Chen S M, Wang Y Y, Zhang Y M, Hu C S, Liu B B. Long-term nitrogen fertilization elevates the activity and abundance of nitrifying and denitrifying microbial communities in an upland soil: implications for nitrogen loss from intensive agricultural systems. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2424.
- [30] Stockdale E A, Shepherd M A, Fortune S, Cuttle S P. Soil fertility in organic farming systems-fundamentally different? *Soil Use and Management*, 2002, 18(S1): 301-308.
- [31] 徐万里, 唐光木, 葛春辉, 王西和, 刘骅. 长期施肥对新疆灰漠土土壤微生物群落结构与功能多样性的影响. 生态学报, 2015, 35(2): 468-477.
- [32] 王佳, 彭剑峰, 宋永会, 袁林江, 石国强. 浑河底泥微生物群落季节性变化特征. 环境科学研究, 2016, 29(2): 202-210.
- [33] 王佩琦, 周伟丽, 何圣兵, 黄荣振. 磷对混养反硝化污泥活性和微生物群落结构的影响. 环境科学, 2018, 39(3): 1350-1356.
- [34] Zhao Y Q, Xia Y Q, Li B L, Yan X Y. Influence of environmental factors on net N_2 and N_2O production in sediment of freshwater rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(16): 9973-9982.
- [35] 王硕, 徐巧, 张光生, 李激. 完全混合式曝气系统运行特性及微生物群落结构解析. 环境科学, 2017, 38(2): 665-671.
- [36] Wittorf L, Bonilla-Rosso G, Jones C M, Bäckman O, Hulth S, Hallin S. Habitat partitioning of marine benthic denitrifier communities in response to oxygen availability. *Environmental Microbiology Reports*, 2016, 8(4): 486-492.