DOI: 10.5846/stxb202008272234

刘洋,刘琦,田雨露,董满宇,徐霞,关梦茜,江源.滦河干流中上游浮游细菌群落多样性及其影响因素.生态学报,2022,42(12):5103-5114. Liu Y, Liu Q, Tian Y L, Dong M Y, Xu X, Guan M X, Jiang Y.Characteristics of bacterioplankton community with relations to environmental parameters in upstream and midstream of the Luanhe River, China. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12):5103-5114.

滦河干流中上游浮游细菌群落多样性及其影响因素

刘 洋^{1,2},刘 琦²,田雨露²,董满宇²,徐 霞²,关梦茜²,江 源^{1,2,*}

1 中药资源保护与利用北京市重点实验室,北京 100875 2 北京师范大学地理科学学部,北京 100875

摘要:浮游细菌是河流生态系统中营养元素的转运者和能量流动的主要贡献者,其群落组成和多样性会受沿途河岸带环境的影响,但目前对开放流动水体中浮游细菌群落的研究还不足。研究使用高通量测序方法,获取了滦河中上游 21 个样点的浮游微生物群落数据,并结合遥感数据和水体理化指标进行分析,探讨浮游细菌群落结构与水环境因子的关系。结果表明:(1)变形菌门和放线菌门是滦河干流中占据优势地位的门类。(2) 群落 Chao1 丰富度指数与 Shannon's 多样性指数均与采样点距河流源头距离存在显著负相关(P<0.05),其中 Chao1 丰富度指数在河流中段的反常升高暗示着外源性偶见种在该河段的大量涌入。(3)采样点距源头距离与细菌群落组成相关性最高;以距源头距离作为控制变量,只有总氮、硝酸盐氮、氨氮与细菌群落组成相关(P<0.05),表明距源头距离所代表的滞水时间和氮营养盐对细菌群落组成存在显著影响。(4) 在 4 种土地利用因子中,无论是否以距源头距离作为控制变量,只有建设用地占比与细菌群落组成相关(P<0.05);若以硝酸盐氮、电导率作为控制变量,则建设用地占比与细菌群落组成在 α=0.05 的显著性水平下不再显著相关;若以总氮、氨氮、pH、叶绿素 a 和流速作为控制变量,则建设用地占比与细菌群落组成在 α=0.1 的显著性水平下不再显著相关。上述结果表明,建设用地对于浮游细菌群落的组成存在影响,包括通过改变硝酸盐氮的排放而造成的直接影响,以及通过改变河流的水文和理化条件而造成的间接影响。

关键词:滦河流域;土地利用;浮游细菌群落;多样性

Characteristics of bacterioplankton community with relations to environmental parameters in upstream and midstream of the Luanhe River, China

LIU Yang^{1,2}, LIU Qi², TIAN Yulu², DONG Manyu², XU Xia², GUAN Mengxi², JIANG Yuan^{1,2,*} 1 Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Protection and Utilization, Beijing 100875, China

2 Faculty of Geographical Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: In river ecosystem, bacterioplankton are major contributors to nutrient transport and energy flow, whose composition and diversity are affected by the riparian environment, while little is known about the bacterioplankton communities in open lotic water. In this study, based on high-throughput sequencing technology, we acquired bacterioplankton community data of 21 samples in the middle and upper reaches of Luanhe River and analyzed it combining with remote sensing data and water physical and chemical parameters, to study the relationship between bacterioplankton community and water environmental factors. Results showed that: (1) Proteobacteria and Actinobacteria were the dominant phyla in the Luanhe River. (2) Chao1 richness index and Shannon diversity index were significantly negatively correlated with distance from headwater (P < 0.05). The abnormal increase of Chao1 richness index in the middle reaches suggested a large influx of allochthonous rare species. (3) Distance from headwater was the most correlated variable with the

收稿日期:2020-08-27; 网络出版日期:2022-02-11

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07301-001-03)

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: jiangy@ bnu.edu.cn

composition of bacterial community. In the case that the distance from headwater was a control variable, only total nitrogen, nitrate nitrogen and ammonium nitrogen were correlated to the Bray-Curtis dissimilarity matrix of bacterial community (P < 0.05), which indicated that the residence time represented by the distance from headwater and nitrogen nutrients had significant influence on the composition of bacterial community. (4) Among the four land use factors, only the area ratio of the urbanized land was correlated with the composition of bacterial community (P < 0.05), regardless of whether the distance from headwater was used as the control variable. However, after taking nitrate nitrogen and electroconductibility as control variables, there was no significant correlation between area ratio of the urbanized land and composition of bacterial community at the significance level $\alpha = 0.05$. With total nitrogen, ammonia nitrogen, pH, chlorophyll-a and velocity of flow as control variables, the area ratio of the urbanized land was no longer correlated with the composition of bacterial community at the significance level $\alpha = 0.1$. Results indicate that the urbanized land can affect the composition of planktonic bacterial community directly by changing the nitrate nitrogen emission, or indirectly by changing hydrological, physical and chemical conditions of the river.

Key Words: Luanhe River Basin; land use; bacterioplankton community; diversity

城市工业和生活废水的排放,使得大量含氮、磷物质进入河流,导致水体富营养化,造成河流的严重污染 和水生生态系统的退化^[1]。浮游细菌作为水体环境中元素循环和能量流动的主要承担者,在生物地球化学 循环过程中起着关键作用^[2-5]。河流中的浮游细菌与水环境具有较为复杂的相互作用,其群落多样性的变化 能敏感地反映出水体环境的变化^[6-7]。有研究表明,人类活动产生的外源性营养输入会对水体浮游微生物群 落产生显著影响^[8]。由于居民的生活用水等通常来自于周边河流,水体中致病微生物的种类和来源也与公 共卫生问题密切相关^[9]。研究水体浮游细菌群落特征随水环境的变化将有助于深入揭示人类活动对水生态 的影响特征。

然而,以往有关的研究多集中于季节、水体理化指标、营养盐指标等对浮游细菌群落的影响方面,通常并 未考虑河岸带土地利用因素的影响作用。河岸带的土地利用结构和组成,对水体环境中的营养盐浓度以及水 文过程等均会产生深刻影响,进而影响到河流浮游微生物的群落结构^[10—11]。河岸带范围内较高精度的土地 利用空间数据可以借助遥感技术获得,通过将之整合进水环境因素对浮游细菌群落影响的分析之中,有助于 辨明河岸带土地利用组成结构与水环境以及浮游细菌群落间的关系,进而为解决水污染及其导致的环境问 题,例如水华等提供新的研究视角和研究方法。

本文中的案例研究区位于滦河中、上游一带,其汇入的潘家口水库和大黑汀水库是"引滦入津"工程的重 要水源地。水体浮游细菌群落与水质的关系,将直接反映"引滦入津"工程中的水资源质量,也关联着天津市 民的饮水安全。通过研究河岸带土地利用和水环境因子以及与河流浮游微生物群落多样性间的关系,明确水 环境对浮游微生物群落的影响,揭示河岸带土地利用变化的水生态效应,将有助于加深对河流生态系统的了 解,并为滦河流域的土地利用结构优化和河流生态健康保护提供案例参考和科学支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区位于华北平原东北部的滦河流域中上游区域(115°32′—118°53′E,40°11′—42°45′N),总面积 3.6×10⁴ km²。滦河发源于内蒙古和河北的坝上高原,干流迂回曲折,全长约 620 km,水系发达,支流众多,自 西北向东南流经内蒙古自治区和河北省的多个县、旗、区,其中上游诸支流汇入滦河干流后,于河北省迁西县 流入潘家口水库和大黑汀水库,年平均径流量 13.3×10⁸ m^{3[12-13]}。研究区地处典型的温带大陆性季风气候 区,多年平均气温 6.1℃;月平均气温 7 月最高(21.9℃),1 月最低(-12.0℃)。年平均降水量 444.1mm (http://data.cma.cn)。研究区内林地、农业用地、建设用地、草地、水域和其他用地占比分别为 56.9%、 18.3%、3.9%、17.9%、1.6%和1.5%,其中草地主要分布在西北部的上游地区,农业用地主要分布在河流两岸的沿河平坦阶地一带,建设用地主要分布在南部各个支流与干流的汇流处(图1)。



1.2 样品采集

依据分层采样原则,样点覆盖滦河干流中上游河岸带各类土地利用类型,同时也尽可能考虑空间分布的 均匀性、交通可达性等因素,共布设样点 21 个,于 2018 年 4 月—5 月(春季)进行水样采集,流程如下:

(1)用于测定水质指标的水样:使用 1L 有机玻璃采水器在采样点所在位置河心或距离河岸 5 m 处进行 水样采集(深度约为 0.5m),采集 3 次并在容器中充分混合。将混合后的水样分为 2 份,一份为不做任何处理 的原始水样;另一份水样经孔径为 0.45 µm 的 Whatman GF/C 玻璃纤维膜(Whatman,UK)过滤,过滤后的滤膜 避光冷藏保存,用于测定叶绿素 a(Chla)和总悬浮固体(SS)。两份水样均加入少量浓硫酸(H₂SO₄)酸化保 存。盛装水样的聚乙烯样品瓶预先用 1:10 盐酸溶液浸泡 24h,用蒸馏水洗净并晾干;玻璃纤维素滤膜预先在 450℃温度下烘烤 6h,并用万分之一天平称取其质量,以供后续悬浮性固体的测定。水样保存在低温保存箱 中,并在短时间内运回实验室,在-20℃的条件下冷冻储存。

(2)用于 16S rDNA 测序的水样:使用预先消毒过的聚乙烯桶收集,采集原则同上,每个样点收集三份平行样本(每个 0.9L)。水样先后通过 2 种孔径的滤膜(2.0μm, 0.8μm, Whatman, UK)进行过滤,以去除砂砾和杂质,增加后续富集效率,并使得绝大多数浮游微生物通过^[14-16]。最后使用孔径为 0.22μm 的混合纤维素滤膜(Whatman, UK) 对水样进行过滤,将浮游细菌富集在滤膜上。滤膜用铝箔包裹后保存在液氮罐中(-196℃)。

1.3 水质指标测定

水质指标测定分为现场测定和实验分析两部分,共测定 12 个指标。(1)现场测定:溶解氧(DO)使用便携式溶解氧仪(YSI Incorporated Company, USA)测定;流速(Vel)使用流速仪(FLOWATCH, JDC Electronic SA,

Switzerland)测定;电导率(EC)、pH 和水温(Tem)使用电导率仪(METTLER-SG DUO, Mettler Toledo international LTD, USA)测定^[17]。(2)实验分析:高锰酸盐指数(COD_{Mn})、总氮(TN)和总磷(TP)使用原始水样测定;COD_{Mn}采用高锰酸盐滴定法;TN 采用紫外分光消解法;TP 采用钼锑抗分光光度法;氨氮(NH₃-N)和硝酸盐氮(NO₃-N)使用过滤水样测定;NH₃-N 采用纳氏试剂比色法;NO₃-N 采用紫外分光光度法;悬浮性固体(SS)和叶绿素 a(Chla)使用滤膜上的残余物进行测定;SS 采用称重法测定;Chla 采用丙酮分光光度法进行测定^[18]。

1.4 细菌 16S rDNA 的提取、处理和测序

将附有浮游细菌的 0.22µm 混合纤维素薄膜溶解于 2 mL 丙酮(Beijing Chemical Works, A.R.)中,使用 E.Z.N.A. Water DNA Kit 试剂盒(Omega, USA)提取 DNA。使用简并 PCR 引物 799F^[19]和 1193R^[20]对细菌的 16S rDNA 基因可变区 V5—V7 进行 PCR 扩增,每份三组平行。反应条件如下:98℃预变性 30 s;98℃变性 10 s,55℃复性 15s,72℃延伸 60 s,循环 25 次;72℃延伸 5 min。反应产物作为第二轮 PCR 的扩增模板,除引物换 为含有 Illumina 接头和连接区序列的引物外,其他反应条件不变。对第二轮 PCR 的产物进行纯化并混合,得到 最终的测序文库。文库送交华大基因,依托 HiSeq 2500 测序平台(Illumina Inc., USA)进行高通量测序。

使用 QIIME1.9.1、USEARCH 10.0 处理 16S rDNA 序列,丢弃错误率超 1%的序列,最终得到 3414503 条高 质量序列(平均每个样本 65664 条,最小值为 27829 条,最大值为 100572 条)。以 97%的阈值对序列进行聚 类,得到 18360 个操作分类单元(Operational Taxomic Unit,OTU)。使用 PyNAST 方法去除非细菌的16S rDNA 序列后,得到 15856 个 OTU,使用 Usearch 10 生成 OTU 表。OTU 表中的每一个样本都被重抽样至 30000 条序 列的样本大小,以每个 OTU 的丰度除以 30000 的样本大小,计算 OTU 的相对丰度。使用 RDP 数据库对 OTU 代表序列进行注释,从而得到含有物种信息的 OTU 表。

1.5 空间数据提取

土地利用数据来源于中国科学院计算机网络信息中心国际科学数据服务平台,数据基于 2016 年 30m 分 辨率的 Landsat TM/ETM 影像(http://www.cnic.cas.cn/)。土地利用解译为 6 大类:(1) 林地,包括乔木林和 灌木林;(2)农业用地,包括菜地、果园和其他农用地;(3)建设用地,包括居民、交通、商业和工业用地;(4)草 地;(5)水域,包括河流、湿地和水库;(6)其他用地。根据美国地质调查局的 30m 分辨率数字高程模型 (DEM)获取河道平均坡度和地貌形态数据(http://glovis.usgs.gov/),基于国家基础地理信息中心的 1:250000 矢量水系图获取水系数据(http://ngcc.sbsm.gov.cn/),使用软件 ArcGIS 10.1 中的水文分析(Spatial Analyst Tools-Hydrology)模块提取每个样点的上游集水区。对于每个样点的集水区,先根据河流水系图的双侧 250m 圆角矩形缓冲区进行剪切,得到距河流垂直距离在 250m 以内的河岸带缓冲区;再使用以样点为圆心的 3000m 圆形缓冲区对上一步的河岸带缓冲区进行剪切,获得从样点起至上游 3000m 范围内距河流垂直距离 在 250m 以内的样点河岸带缓冲区(图 2)。统计各样点的缓冲区内草地、林地、农业用地、建设用地的面积占 该四种土地利用类型面积总和的比例,用于后续分析。

1.6 数据处理与分析

使用 Shapiro-Wilks 检验水环境因子是否符合正态 分布,对不符合的数据进行 ln(*x*+1)变换。将每个样点 平行样本的 OTUs 丰度取均值,选取其中出现频率 ≥ 90%的 OTU 作为核心群落^[21]。根据淡水细菌数据库对 OTUs 进行分类学注释,将不能与数据库匹配的,即未在 传统的静水水体(例如湖泊)细菌学研究中出现过的 OTU 记为"非典型淡水分类群细菌"^[22]。多样性指数 的计算在 R 语言环境中使用软件包"Vegan"完成。选 取 Chao1 丰富度指数(Chao1 richness estimator, Chao1)





和 Shannon's 多样性指数(Shannon's Diversity Index, SHDI)作为群落 α-多样性的表征。选择计算各样本 OTU 水平上的 Bray-Curtis 距离(Bray-Curtis Dissimilarity)矩阵,作为对 β-多样性的表征。使用 Spearman 相关分析 计算核心群落占比、非典型淡水细菌类群、多样性指数和距源头距离之间的相关性,和 α-多样性指数与水环 境因子、土地利用因子之间的相关性。使用 Mantel 检验和偏 Mantel 检验,计算细菌群落的 Bray-Curtis 距离矩 阵和地理空间因子(距源头距离)、水质、土地利用因子的欧式距离矩阵之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 滦河各水质指标特征

滦河各水质指标显示(表1):河流理化指标中,pH平均为8.54,呈弱碱性;水温(Tem)平均为13.82 ℃;流速(Vel)平均为1.35 km/h;电导率(EC)平均为417.78 μS/cm;悬浮性固体(SS)平均为30.36 mg/L;溶解氧(DO)平均为8.91 mg/L,达到 I 类水质;高锰酸盐指数(COD_{Mn},)平均为5.22 mg/L,达到 II 类水质。河流营养盐指标中,总磷(TP)平均为0.11 mg/L,达到 II 类水质;总氮(TN)平均为2.63 mg/L,为劣 V 类水质;氨氮(NH₃-N)平均为0.30 mg/L,达到 II 类水质;硝酸盐氮(NO₃-N)平均为1.82 mg/L。生物指标叶绿素 a(Chla)平均12.71 μg/L。

Table 1 Characterist	ics of water quality parameters	in Luanhe River	
指标	平均值±标准差	最小值	最大值
Indexes	Mean±SD	Minimum	Maximum
pH	8.54±0.33	7.75	9.18
水温 Temperature (Tem)/℃	13.82±3.39	8.10	21.90
流速 Flow Velocity (Vel)/(km/h)	1.35 ± 0.86	0.00	2.80
电导率 Electroconductivity (EC)/(µS/cm)	417.78 ± 148.69	100.40	671.00
悬浮性固体 Suspended Solid (SS)/(mg/L)	30.36 ± 26.52	5.00	113.00
溶解氧 Dissolved Oxygen (DO)/(mg/L)	8.91±1.54	5.92	13.81
高锰酸盐指数 Permanganate Index (COD _{Mn})/(mg/L)	5.22±1.19	2.78	7.36
总磷 Total Phosphorus (TP)/(mg/L)	0.11 ± 0.05	0.02	0.22
总氮 Total Nitrogen (TN)/(mg/L)	2.63 ± 1.43	0.40	5.20
氨氮 Ammonia Nitrogen (NH ₃ -N)/(mg/L)	0.30 ± 0.22	0.04	0.78
硝酸盐氮 Nitrate Nitrogen (NO3-N)/(mg/L)	1.82±1.32	0.06	4.38
叶绿素 a Chlorophyll a (Chla)/(µg/L)	12.71±10.72	2.69	38.48

表1 滦河各水质指标特征

2.2 滦河中上游浮游细菌群落的组成特征

使用 RDP 数据库对每个 OTU 的代表序列进行注释后,对其进行从门到属水平的分类。在检出的 15856 个 OTU 中,共检测到分类地位明确的细菌界 28 门(Phylum)、72 纲(Class)、113 目(Order)、265 科(Family)和 936 属(Genus)。其中变形菌门(Proteobacteria)由于种类众多,根据核糖体 rRNA 序列的差异,将其拆分为 5 个纲,分别冠以 α、β、γ、δ 和 ε 前缀,以便于研究。

研究共确定出 12 个的优势细菌门(纲),它们在至少一个样本中相对丰度大于 1%。依据相对丰度的大 小排序,分别为:放线菌门(Actinobacteria,平均 28.95%)、β-变形菌纲(β-Proteobacteria,平均 28.90%)、α-变形 菌纲(α-Proteobacteria,平均 10.62%)、拟杆菌门(Bacteroidetes,平均 6.14%)、γ-变形菌纲(γ-Proteobacteria,平 均 5.57%)、δ-变形菌纲(δ-Proteobacteria,平均 4.51%)、厚壁菌门(Firmicutes,平均 3.93%)、酸杆菌门 (Acidobacteria,平均 3.87%)、绿弯菌门(Chloroflexi,平均 2.24%)、疣微菌门(Verrucomicrobia,平均 1.06%)、浮 霉菌门(Planctomycetes,平均 1.01%)、硝化螺杆菌门(Nitrospirae,平均 0.75%),其余 20 种细菌门(纲)组成了 低丰度类群,平均为 1.46%。变形菌门和放线菌门的平均相对丰度高于 50%,是滦河干流中占据优势地位的 门类。



图 3 滦河干流中上游浮游细菌群落组成

Fig.3 Composition of bacterioplankton community in upper-middle reach of Luanhe river

滦河中上游浮游细菌的核心群落共有 209 个 OTU,占 OTU 总数(15 856 个)的 1.29%,序列数占总序列数 的 43.04%。核心群落的相对丰度占比与距源头距离存在显著正相关,Spearman 相关系数为 0.909(P<0.01)。 非典型淡水分类群细菌的相对丰度与距源头距离存在显著负相关,Spearman 相关系数为-0.935(P<0.01)。 2.3 滦河中上游浮游细菌群落的 α-多样性特征

Chao1 丰富度指数和 Shannon's 多样性指数计算描述的统计特征如下(表 2)。

	Table 2 Descriptive statis	stics of α -diversity Index of b	oacterioplankton communi	ty
指数	平均值	最小值	最大值	变异系数
Index	Mean	Minimum	Maximum	Coefficient of Variation
OTUs	3895.56	6881	404	0.487
Chao1	6165.99	15461.43	554.41	0.529
SHDI	6.44	7.81	3.77	0.201

t
,

OTUs:操作分类单元 Operational taxomic units; Chao1: Chao1 丰富度指数 Chao1 richness estimator; SHDI: Shannon's 多样性指数 Shannon's diversity index

OTU 数和 Shannon's 多样性指数均成阶梯状下降趋势, 而 Chao1 丰富度指数则在河流中段首先增大, 随后迅速降低(图 4)。







http://www.ecologica.cn

浮游细菌群落的 α-多样性指数与各项环境因子的 Spearman 相关性分析如表 3 所示。

距源头距离、建设用地占比(URBAN)、氨氮(NH₃-N)、硝酸盐氮(NO₃-N)、总氮(TN)、电导率(EC)、总悬 浮固体(SS)和溶解氧(DO)与 OTU 数、Chao1 丰富度指数和 Shannon's 多样性指数间均存在显著负相关(P< 0.01)。

草地占比(GRASS)与 OTU 数、Shannon's 多样性指数(P<0.05)和 Chao1 丰富度指数均存在显著正相关 (P<0.01);而总磷(TP)则与三项指标均不存在相关性。

Table 5 Correlation anal	ysis between a-urversity inc	lex of bacteriopialiktoli co	minumery and environment a	lifu failu use factors
			α-多样性指数	
指标类型	指标		Index of α -diversity	
Type of index	Indexes	OTU 数	Chao1 丰富度指数	Shannon 多样性指数
		Number of OTUs	Chao1 richness estimator	Shannon diversity index
地理空间因子 Geographic factor	距源头距离	-0.914 **	-0.729 **	-0.905 **
无机营养盐因子	氨氮	-0.770 **	-0.609 **	-0.744 **
Inorganic Nutrient factor	硝酸盐氮	-0.772 **	-0.546 *	-0.763 **
	总氮	-0.806 **	-0.748 **	-0.813 **
	总磷	-0.284	-0.281	-0.364
理化因子	电导率	-0.841 **	-0.695 **	-0.833 **
Physicochemical factor	悬浮性固体	-0.705 **	-0.639 **	-0.719 **
	溶解氧	-0.648 **	-0.549 **	-0.556 **
	水温	0.405	0.396	0.296
	叶绿素 a	-0.278	-0.110	-0.290
	高锰酸盐指数	0.199	0.209	0.244
	pН	0.111	0.278	0.275
	流速	0.079	0.045	0.055
土地利用因子	建设用地面积占比	-0.529 *	-0.490 *	-0.306
Land use factor	草地面积占比	0.731 **	0.710 **	0.547 *
	耕地面积占比	-0.043	-0.179	-0.010
	林地面积占比	-0.168	-0.121	-0.222

表 3 浮游细菌群落 α-多样性指数与环境因子和土地利用因子的相关性分析

hotwoon a diversity index of hasterionlankton community and environment a

**为该项在双侧检验中于 α = 0.01 的显著性水平上显著;*为该项在双侧检验中于 α = 0.05 的显著性水平上显著

2.4 滦河中上游浮游细菌群落的 β-多样性特征及其与水环境因子和土地利用因子的关系

基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(PCoA)揭示了滦河中上游各样点所取平行样本中细菌群落的分布模式(图5)。细菌群落 PCoA 排序图的第一轴(PC1)和第二轴(PC2)分别能解释 55.27%和 16.27%的物种差异,其中 PC1 轴与距源头距离存在显著负相关关系(Spearman 相关系数-0.891,P<0.05)。样本分为三部分:位于排序图右侧的样本,距源头距离较近,核心群落占比较低,而非典型淡水分类群细菌占比较高;位于排序图左下侧的样本,距源头距离较远,核心群落占比较高,而非典型淡水分类群细菌占比较低。位于排序图上侧的样本,位于河段的中部,其较为分散的分布模式暗示中游样本的群落组成存在一定的差异,体现出过渡性的特征。

使用 Mantel 检验和偏 Mantel 检验,对各项水环境因子的欧式距离矩阵和细菌群落组成的 Bray-Curtis 距 离矩阵进行相关性检验,结果显示:距源头距离与细菌群落组成存在显著相关,相关系数为 0.723(P<0.01), 在将其他水质因子作为控制变量后,两者依然显著相关(P<0.01)(表 4)。电导率、总氮、硝酸盐氮、氨氮、总 悬浮固体、溶解氧、叶绿素 a、pH、流速均与细菌群落组成存在显著相关(P<0.05);在将距源头距离作为控制 变量后,只有总氮、硝酸盐氮、氨氮仍与细菌群落组成存在显著相关(P<0.05),这说明这三种氮营养盐指标其 含量不完全随滞水时间的增加而改变,存在空间异质性。







表 4	群落 Brav-Curtis 距离矩阵与水质因子欧式距离矩阵的 Mantel 检验	ì
		-

Table 4	Mantel test betwee	n community	composition and	water environment	factors excluding	land	use factors
---------	--------------------	-------------	-----------------	-------------------	-------------------	------	-------------

				-		
	Mante	1 检验	偏相关 Mantel 检验			
指标	Mantel test		Partial Mantel test			
Indexes	D		控制变量	Р		
	P	r	Control variable		r	
距源头距离	0.001	0.723	$\mathrm{COD}_{\mathrm{Mn}}$	0.001	0.735	
Distance from headwater			TP	0.001	0.723	
			Tem	0.001	0.722	
			Vel	0.001	0.714	
			pH	0.001	0.709	
			chla	0.001	0.708	
			DO	0.001	0.697	
			SS	0.001	0.684	
			NH ₃ -N	0.001	0.627	
			TN	0.001	0.571	
			NO_3 -N	0.001	0.532	
			EC	0.001	0.531	
EC	0.001	0.584	Dist	0.168	0.089	
TN	0.001	0.571	Dist	0.008	0.220	
NO ₃ -N	0.001	0.596	Dist	0.026	0.171	

续表					
	Mante	1 检验	偏	自相关 Mantel 检验	
指标	Mant	el test	I	Partial Mantel test	t
Indexes	Р	r	控制变量 Control variable	Р	r
NH ₃ -N	0.001	0.504	Dist	0.016	0.225
SS	0.001	0.342	Dist	0.132	0.124
DO	0.008	0.291	Dist	0.170	0.117
Chla	0.024	0.213	Dist	0.601	-0.033
pH	0.025	0.231	Dist	0.177	0.111
Vel	0.036	0.166	Dist	0.405	0.021
Tem	0.107	0.108	Dist	0.245	0.080
TP	0.321	0.036	Dist	0.330	0.040
COD_{Mn}	0.670	-0.053	Dist	0.973	-0.196

将土地利用占比作为控制变量后,距源头距离与细菌群落组成仍存在显著相关(*P*<0.01)(表 5)。土地 利用因子中,只有建设用地占比(URBAN)与细菌群落组成存在显著相关(*P*<0.05);将距源头距离作为控制 变量后,建设用地占比与细菌群落组成在 α=0.05 的显著性水平上不再相关,但在 α=0.1 的显著性水平上依 然相关(*P*<0.1),说明建设用地对细菌群落的影响存在空间异质性。

将溶解氧、总磷、高锰酸盐指数和水温作为控制变量后,建设用地占比与细菌群落组成依然存在显著相关 (P<0.05);将总氮、氨氮、pH、叶绿素 a 和流速作为控制变量后,建设用地占比与细菌群落组成在 α=0.05 的 显著性水平上不再相关,但在 α=0.1 的显著性水平上依然相关(P<0.1);将硝酸盐氮和电导率作为控制变量 后,建设用地占比与细菌群落组成不再存在显著相关。这说明在滦河干流中上游,建设用地可通过影响含氮 物质排放,以及改变流速、pH等指标,对细菌群落组成产生影响。

	Mantel 检验		偏相关 Mantel 检验					
土地利用因子	Mantel test		Partial Mantel test					
Landuse factor	Р	Г	控制变量 Control variable	Р	r			
距源头距离	0.001	0.723	URBAN	0.001	0.630			
Distance from headwater		GRASS	0.001	0.732				
			AGRI	0.001	0.633			
			FOREST	0.001	0.635			
建设用地面积占比	0.036	0.178	Dist	0.094	0.167			
Area proportion of urbanized			NO3-N	0.513	-0.018			
land			EC	0.266	0.058			
			TN	0.078	0.159			
			NH ₃ -N	0.066	0.179			
			pН	0.062	0.153			
			chla	0.056	0.168			
			Vel	0.052	0.165			
			DO	0.048	0.177			
			TP	0.043	0.175			
			$\mathrm{COD}_{\mathrm{Mn}}$	0.039	0.177			
			Tem	0.037	0.178			
			SS	0.035	0.231			
草地面积占比 Area proportion of grassland	0.108	0.144	dist	1	-0.493			
耕地面积占比 Area proportion of farmland	0.587	-0.023	dist	0.343	0.030			
林地面积占比 Area proportion of forest land	0.991	-0.132	dist	0.964	-0.149			

表 5 群落 Bray-Curtis 距离矩阵与土地利用因子欧式距离矩阵的 Mantel 检验 Table 5 Mantel test between community composition and land use factors

3 讨论

3.1 距河流源头的距离对浮游细菌群落多样性的影响

距源头距离与滦河中上游浮游细菌群落的 Bray-Curtis 距离矩阵间的相关系数为各项水环境因子中最高 (Mantel *R*=0.723),且偏相关分析结果仍显著。距源头距离影响浮游细菌在河流中的滞留时间,细菌群落组 成存在其独特的影响^[23]。在滦河干流上段,其主要的土地利用类型为自然程度较高的草原,向水体提供的细 菌的多样性也较高^[24],而其中的核心群落一般来自于源头附近的岩表生物膜或深层土壤^[25]。随着滞留时间 的增加,从河岸带周边环境被径流带入水体的细菌之生态位,逐渐被能更好地适应淡水环境的核心群落细菌 所取代。

此外,距源头距离由于其数值上递增的特点,与某些在河水流向下游过程中不断积累的环境变量间存在 某种相关性,例如各类非点源污染(氮、磷等),因此在一定程度上可以代表人类活动对河流水环境的扰动^[8]。 考虑到滦河中上游的中段的主要土地利用类型为林地,其生产力和能提供的外源性输入量与草原相比较高; 下段为承德市主城区,其城市规模较大,提供的外源性输出更多。各种营养物质的累积,使得能高效利用养分 的类群被选择出来^[22]。在这个过程中,浮游细菌群落由多样性较高的近自然群落转变为由静水细菌占优势 地位的类湖泊群落^[21,26]。在本研究中,这体现在沿河流方向,α-多样性指数的降低和非典型淡水分类群占比 降低,以及核心群落占比的升高^[8,26-29]。

3.2 水环境因子对浮游细菌群落多样性的影响

群落 α-多样性指数与氨氮、硝酸盐氮、总氮、总磷、电导率、悬浮性固体、溶解氧间存在显著的负相关关系。多样性指数与营养盐因子间呈显著负相关,表明营养物质的增加可能导致了生态位分化,使得能够高效利用营养盐的类群比例逐渐上升而成为优势类群;总悬浮固体可为水体中的一部分细菌提供定殖空间,滦河 干流中上游的中段位于河谷地区,两岸较为陡峭,水土流失情况比较严重,因此中段样点的总悬浮固体量较上 段和下段的多,这使得颗粒附着型细菌(particle-associated bacteria)的许多种类得以稳定存在并增殖,例如 β-变形菌纲和拟杆菌门的细菌^[27-28],而这些细菌也正是能高效利用营养盐和藻类有机物的类群。

氮营养盐对于河流浮游细菌群落结构的显著影响已为多项研究所报道^[30-32]。在以距源头距离为控制变量后,各水质因子中只有以硝酸盐氮、氨氮和总氮为代表的水体营养盐因子依然与群落 Bray-Curtis 距离矩阵间存在显著相关性(*P*<0.05)。这表明在滦河中上游,氮的排放变化与距源头距离的增加并非完全一致,即并非自然状态下的简单累积过程,这很有可能是人类活动的空间异质性造成的。

3.3 河岸带土地利用对浮游细菌群落多样性的影响

Chao1 丰富度指数是一种对偶见种较为敏感的多样性指数^[33],而 Chao1 丰富度指数在中端的波动,表明 在河流的中段可能存在大量外源性的偶见种细菌输入,而这些细菌在进入河流下段后又无法在种间竞争中胜 出,因此在强烈的选择作用下迅速消亡。外源细菌大量涌入的现象,可能与中段的各样点处于地形和土地利 用的过渡地带有关。研究区的中段位于华北平原的丘陵地带,与上游盐碱化的坝上高原相比,在土壤类型、理 化条件、植被类型等方面均存在较大差异,这些自然条件的差异会增加河流的其他外源性细菌输入的可 能性^[34]。

此外,在研究区中段各样点周边的河岸带缓冲区中,耕地和建设用地所占的比例与林地基本相当。已有 研究表明,在农业土壤中,不同的作物种植、农药和化肥的使用,以及机械化翻动土壤等做法,会改变土壤的理 化性质,从而改变了土壤细菌群落及其生态功能这一变化使得农业土壤与近自然植被覆盖下的土壤内的细菌 群落结构间存在显著差异,从而对随地表径流进入水体的外源性细菌输入产生影响^[35-36]。因此,河流中段样 点 Chao1 丰富度指数的异常升高,可以认为是自然条件差异以及土地利用类别发生变化后的综合影响结果。

在将硝酸盐氮和电导率作为控制变量后,建设用地占比的欧式距离矩阵与群落 Bray-Curtis 距离矩阵间的相关性不再显著,这说明土地利用结构的改变对外源性营养输入有着重要影响。在建设用地占比较多的地

42 卷

区,其郊区城乡交错带种土地利用的变化剧烈^[37],导致了含氮物质排放的增加。这对总氮输出浓度和硝酸盐 氮输出浓度有显著源作用^[38]。在滦河干流中上游沿岸,建设用地(包括旱地、居民地)的占比与距源头距离 并不存在线性关系,这说明城镇的分布虽然有越向下游越多的趋势,但其分布并不是完全成线性的,而这可能 就是导致如上现象的原因。这也解释了氮指标在以距源头距离作为控制变量后,仍与浮游细菌群落结构间仍 存在显著相关的原因。

在将溶解氧、总磷、高锰酸盐指数、温度和总悬浮颗粒作为控制变量后,建设用地占比的欧式距离矩阵与 群落 Bray-Curtis 距离矩阵间的相关性依然显著(P<0.05),这表明建设用地与这些变量对群落结构的影响并 不重合。在将距源头距离、总氮、氨氮、pH、叶绿素 a、流速作为控制变量后,建设用地占比的欧式距离矩阵与 群落 Bray-Curtis 距离矩阵间在 α=0.05 的显著性水平下不再呈显著相关,但仍在 α=0.1 的显著性水平下呈显 著相关,表明建设用地除了通过影响以上诸因子间接影响浮游细菌群落外,还可能通过其他效应影响着浮游 细菌群落。

土地利用变化,特别是城市化会改变河流栖息地的局部物理条件,例如,使河流河段遭受泥沙侵蚀或沉积、电导率升高、温度变化或其他环境胁迫^[10-11]。此外,集水区的不透水地表占比(Watershed% IC)与城市化地区河流中的细菌群落关系密切,在土地利用结构向城市化转变的过程中,地表不透水层的扩大切断或改变了水源河流与地下水的供应,从而影响到细菌通过径流进入河流^[39]。不同类型的土地利用,由于其物质循环和能量流动的差异,也可能向水体输出不同种类的菌种。与人畜病原体、肠道细菌和塑料降解功能等有关的菌种,会随着一部分基础设施(如流域内的渗漏管道)等被直接输送到城市化程度高的河流中^[40]。

4 结论

(1) 滦河中上游的浮游细菌群落 α-多样性较高,细菌种类较为丰富。沿河流方向,β-变形菌纲和拟杆菌 门相对丰度逐渐增加,放线菌门和 γ-变形菌纲相对丰度保持稳定,其他门类细菌的相对丰度则随距源头距离 的增加而逐渐降低。最终在下游形成了主要由 β-变形菌纲、拟杆菌门、放线菌门占优势地位的群落结构,与 传统研究中的湖泊细菌群落的组成类似。

(2)滦河中上游的浮游微生物群落组成受距源头距离(营养滞留时间)、氮磷营养盐的综合影响。其中距 源头距离与细菌群落的是影响滦河中上游细菌群落结构的主要因素,很可能是伴随着细菌滞水时间增加而随 之发生的群落演替过程。总氮、氨氮和硝酸盐氮是影响滦河中上游群落结构的重要因素,且其分布存在空间 异质性,这是由于建设用地的空间异质性分布导致的。

(3)建设用地占比对滦河中上游的浮游微生物群落组成存在显著相关性。建设用地通过影响河流的水 温和理化指标,对浮游微生物群落产生复杂影响。该结果可为河流水生态保护和流域土地利用结构优化提供 科学依据。

参考文献(References):

- [1] 陈水勇, 吴振明, 俞伟波, 吕一锋. 水体富营养化的形成、危害和防治. 环境科学与技术, 1999, (2): 12-16.
- [2] Cotner J B, Biddanda B A. Small Players, Large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. Ecosystems, 2002, 5(2): 105-121.
- [3] Battin T J, Luyssaert S, Kaplan L A, Aufdenkampe A K, Richter A, Tranvik L J. The boundless carbon cycle. Nature Geoscience, 2009, 2(9): 598-600.
- [4] Findlay S. Stream microbial ecology. Journal of the North American Benthological Society, 2010, 29(1): 170-181.
- [5] Madsen E L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. Current Opinion in Biotechnology, 2011, 22(3): 456-464.
- [6] Fandino L B, Riemann L, Steward G F, Long R A, Azam F. Variations in bacterial community structure during a dinoflagellate bloom analyzed by DGGE and 16S rDNA sequencing. Aquatic Microbial Ecology, 2001, 23(2): 119-130.
- [7] Riemann L, Steward G F, Azam F. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(2): 578-587.
- [8] Wang P, Zhao J, Xiao H Y, Yang W J, Yu X F. Bacterial community composition shaped by water chemistry and geographic distance in an anthropogenically disturbed river. Science of the Total Environment, 2019, 655: 61-69.

- [10] Walsh C J, Roy A H, Feminella J W, Cottingham P D, Groffman P M, Morgan II R P. The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. Journal of the North American Benthological Society, 2005, 24(3): 706-723.
- [11] Hosen J D, McDonough O T, Febria C M, Palmer M A. Dissolved organic matter quality and bioavailability changes across an urbanization gradient in headwater streams. Environmental Science & Technology, 2014, 48(14): 7817-7824.
- [12] 付晓花,董增川,刘晨,山成菊,方庆,刘倩. 滦河流域径流变化及其驱动力分析. 南水北调与水利科技, 2013, 11(5): 6-10.
- [13] 山成菊, 董增川, 付晓花, 方庆, 刘晨, 刘倩. 近 50 年来滦河流域径流演变规律研究. 南水北调与水利科技, 2013, 11(4): 5-8, 12-12.
- [14] Robarts R D, Wicks R J. Heterotrophic bacterial production and its dependence on autotrophic production in a hypertrophic African reservoir. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1990, 47(5): 1027-1037.
- [15] Sieracki M E, Johnson P W, Sieburth J M. Detection, enumeration, and sizing of planktonic bacteria by image-analyzed epifluorescence microscopy. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49(4): 799-810.
- [16] 孙敏秋,林克冰,葛辉,黄种持,郑乐云,周宸.基于宏基因组比较分析石斑鱼育苗两种模式水体中的菌群多样性和分布特点.渔业研究,2016,38(3):181-191.
- [17] 刘琦,田雨露,刘洋,许丁雪,李洁敏,江源.两类水质综合评价方法的特点及其在河流水环境管理中的作用.生态学报,2019,39 (20):7538-7546.
- [18] 国家环境保护总局.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.
- [19] Chelius M K, Triplett E W. The diversity of archaea and bacteria in association with the roots of Zea mays L. Microbial Ecology, 2001, 41(3): 252-263.
- [20] Lundberg D S, Lebeis S L, Paredes S H, Yourstone S, Gehring J, Malfatti S, Tremblay J, Engelbrektson A, Kunin V, Del Rio T G, Edgar R C, Eickhorst T, Ley R E, Hugenholtz P, Tringe S G, Dangl J L. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. Nature, 2012, 488(7409): 86-90.
- [21] Newton R J, Jones S E, Eiler A, McMahon K D, Bertilsson S. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, 75(1): 14-49.
- [22] Savio D, Sinclair L, Ijaz U Z, Parajka J, Reischer G H, Stadler P, Blaschke A P, Blöschl G, Mach R L, Kirschner A K T, Farnleitner A H, Eiler A. Bacterial diversity along a 2600 km river continuum. Environmental Microbiology, 2015, 17(12): 4994-5007.
- [23] Read D S, Gweon H S, Bowes M J, Newbold L K, Field D, Bailey M J, Griffiths R I. Catchment-scale biogeography of riverine bacterioplankton. The ISME Journal, 2015, 9(2): 516-526.
- [24] Hossain Z, Sugiyama S I. Geographical structure of soil microbial communities in northern Japan: effects of distance, land use type and soil properties. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(2): 88-94.
- [25] Niño-García J P, Ruiz-González C, Del Giorgio P A. Interactions between hydrology and water chemistry shape bacterioplankton biogeography across boreal freshwater networks. The ISME Journal, 2016, 10(7): 1755-1766.
- [26] Crump B C, Amaral-Zettler L A, Kling G W. Microbial diversity in arctic freshwaters is structured by inoculation of microbes from soils. The ISME Journal, 2012, 6(9): 1629-1639.
- [27] Crump B C, Adams H E, Hobbie J E, Kling G W. Biogeography of bacterioplankton in lakes and streams of an Arctic tundra catchment. Ecology, 2007, 88(6): 1365-1378.
- [28] Wang P, Chen B, Yuan R Q, Li C Q, Li Y. Characteristics of aquatic bacterial community and the influencing factors in an urban river. Science of the Total Environment, 2016, 569-570: 382-389.
- [29] de Oliveira L F V, Margis R. The source of the river as a nursery for microbial diversity. PLoS One, 2015, 10(3): e0120608.
- [30] Hu A Y, Yang X Y, Chen N W, Hou L Y, Ma Y, Yu C P. Response of bacterial communities to environmental changes in a mesoscale subtropical watershed, Southeast China. Science of the Total Environment, 2014, 472: 746-756.
- [31] Staley C, Gould T J, Wang P, Phillips J, Cotner J B, Sadowsky M J. Species sorting and seasonal dynamics primarily shape bacterial communities in the Upper Mississippi River. Science of the Total Environment, 2015, 505: 435-445.
- [32] Gao Y, Wang C C, Zhang W G, Di P P, Yi N, Chen C R. Vertical and horizontal assemblage patterns of bacterial communities in a eutrophic river receiving domestic wastewater in southeast China. Environmental Pollution, 2017, 230: 469-478.
- [33] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. Scandinavian Journal of Statistics, 1984, 11(4): 265-270.
- [34] Staley C, Unno T, Gould T J, Jarvis B, Phillips J, Cotner J B, Sadowsky M J. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. Journal of Applied Microbiology, 2013, 115(5): 1147-1158.
- [35] Lozupone A C, Knight R. Global patterns in bacterial diversity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(27): 11436-11440.
- [36] Bissett A, Richardson A E, Baker G, Thrall P H. Long-term land use effects on soil microbial community structure and function. Applied Soil Ecology, 2011, 51: 66-78.
- [37] 陈青松,李婷,张世熔,刘续兰,栾明明.城乡交错带土壤氮素空间分布及其影响因素.生态学报,2016,36(8):2133-2141.
- [38] 罗璇, 史志华, 尹炜, 陈佳, 李璐, 伍世良. 小流域土地利用结构对氮素输出的影响. 环境科学, 2010, 31(1): 58-62.
- [39] Wang S Y, Sudduth E B, Wallenstein M D, Wright J P, Bernhardt E S. Watershed urbanization alters the composition and function of stream bacterial communities. PLoS One, 2011, 6(8): e22972.
- [40] Hosen J D, Febria C M, Crump B C, Palmer M A. Watershed urbanization linked to differences in stream bacterial community composition. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1452.