

白洋淀流域复合污染的生物膜监测方法适用性分析

王雪梅^{1,2}

(1.北京师范大学环境学院,水环境模拟国家重点实验室,北京 100875; 2.西昌学院动物科学学院,四川 西昌 615000)

摘要:生物膜群落结构和功能的变化可以反映复合污染胁迫在不同水生生态系统中群落水平上的生态响应,对于流域水生态监测具有重要意义和广泛应用前景。选取白洋淀流域典型生态单元水库、府河和白洋淀为研究区,采用活性炭纤维为基质的原位生物膜法,对快速生态监测方法在白洋淀流域不同生态单元的适用性进行了比较研究,并对生物膜与水质指标间的响应关系进行了分析。结果表明:活性炭纤维附着生物膜群落的结构、功能指标与天然基质无显著差异($P>0.05$),经过 15 d 的培养其结构和功能可以很好的表征各个生态单元监测点位的水环境质量,且生物膜群落对于复合污染具有很好的响应。生物膜群落与超标水质参数 RDA 分析表明,超标指标可以解释生物膜群落变化的 63.0%,8 个超标水质参数与生物群落相关性大小依次为:DO>TN>COD_{Mn}>COD>BOD₅>Ecoli>TP>NO₃-N。生物膜监测可作为水生态快速监测方法在流域尺度不同生态单元广泛使用。

关键词:生物膜;生态监测;复合污染;白洋淀流域

中图分类号:X832 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)09-1802-08 doi:10.11654/jaes.2014.09.018

Applicability of Biofilm Monitoring Method to Water Combined Pollution in Baiyangdian Basin

WANG Xue-mei^{1,2}

(1.State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2.School of Animal Science, College of Xichang, Xichang 615013, China)

Abstract: Biofilms respond to different pollutants and could be regarded as a community-level monitoring system for aquatic ecosystems. In this study, we highlighted the potential application of biofilms as a biomonitor in different water bodies in Baiyangdian basin using in situ biofilm formed on carbon-fiber membrane. The correlation between biofilm attributes and water quality was analyzed. The structure and function of biofilms were similar between natural substrates and carbon-fiber membrane in different water bodies in Baiyangdian basin. The biofilms on carbon-fiber membrane after 15 day culture could reflect the situations of different water bodies and be used for ecological monitoring of water quality in Baiyangdian Basin. Biofilms reflected the variation of water quality and main pollutants under complex pollution. Redundancy analysis(RDA) indicated that water quality index explained 63.0% variance of biofilm. The correlation between water quality index and biofilm was in order of DO>TN>COD_{Mn}>COD>BOD>Ecoli>TP>NO₃-N. The present results suggest that biofilm on carbon-fiber membrane could be recommended as a biomonitor for different water bodies in basin scale.

Keywords: biofilm; biomonitoring; combined pollution; Baiyangdian Basin

在点源污染逐步得到控制后,农村面源污染问题日益突出,已成为目前水环境污染控制的重点和难点^[1]。

收稿日期:2014-01-20

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项:海河流域河流生态完整性影响机制与恢复途径研究课题(2012ZX07209-008);国家水体污染控制与治理科技重大专项:海河流域河流物理过程演变与环境流量保障技术与应用示范(2012ZX07203-006)

作者简介:王雪梅(1986—),女,四川人,硕士研究生。

E-mail:Virginiawxm@163.com

大量的污染物不断地被排放到自然水体中,对水生生态系统以及人类的健康造成了巨大的威胁^[2]。与化学或物理监测相比,生物群落是对水体中各种化学、物理、生物因子的综合和直接的反映,更能体现水生生态系统的健康状态^[3]。生物膜普遍存在于各种基质的表面上^[4],代表了一种稳定微生物细胞组成的复杂混合物的微生态系统,可以反映各种污染物的效应,并对污染进行早期预警^[5],因而生物膜法是理想的群落水平水生态监测的方法^[6-7]。

不同基质会对生物膜的群落结构、功能产生显著的影响。湖泊和河流中天然基质上的生物膜由于藻类和微生物结构差异巨大而难以用于量化研究^[8],而人工基质生物膜具有很好的可重复性,更适于用于生物监测^[9],因此人工基质被广泛的应用到生物研究中^[8,10]。在生物膜的研究中采用了多种不同的基质,如玻璃^[11]、树脂玻璃^[12]和石料^[13]等人工或天然基质。有不同研究比较了人工和天然基质上生物膜的特点,但得到的结论却不一致^[14],因此应用生物膜法进行生态监测需要筛选适宜基质。对玻璃、有机玻璃、玻璃纤维和活性炭纤维四种人工基质的比较筛选表明,虽然人工基质与天然基质上附着的生物膜群落结构、功能存在显著差异,但经过较长时间的培养,可以一定程度减弱这种差异。人工基质活性炭纤维经过 15 d 左右的培养即可获得与天然基质附着生物膜较为相似的结构和功能属性,是一种较为适宜用于监测的生物膜群落培养基质^[6-7,15]。

白洋淀流域位于华北平原中部,东经 113°39'~116°11',北纬 39°4'~40°4'之间,属北方典型流域,流域内农业经济较发达,是我国粮食主产区,农业生产造成的面源污染很严重^[16]。流域内主要河流有唐河、沙河、拒马河、大清河等,建有 6 座大型水库,100 多座中小型水库。白洋淀位于流域的下游,是我国北方最具代表性的湖泊和草本沼泽湿地,总面积 366 km²。近年来由于水资源短缺、生态系统退化等问题,白洋淀水环境日益恶化,频繁出现干淀、水质污染、鱼类等生物多样性减少以及生态结构缺失等生态环境问题^[17],因而对其水生态系统健康的监测评价十分必要^[18]。研究表明以活性炭纤维为基质的原位生物膜法适用于草型湖泊湿地的快速生态监测^[19],但白洋淀流域包含了湖泊、河流、水库等不同生态单元,而不同生态单元供给生物膜附着的天然基质各不相同,因此需进一步比较白洋淀流域典型生态单元中典型的天然基质与活性炭纤维基质培养的生物膜群落,验证其是否能反映白洋淀流域天然基质的结构、功能特征,反应各种污染物的效应。本文对以活性炭纤维为基质的原位生物膜法在白洋淀流域的不同生态单元(白洋淀、府河、水库)的适用性进行了研究,以期将生物膜快速水生态监测法拓展到流域范围的生态监测。

1 材料与方法

1.1 不同生态单元水体生物膜的采集

本研究选择白洋淀流域典型生态单元水库、府

河、白洋淀湖泊作为研究点。水库选取王快水库和西大洋水库,每个水库设 3 个采样点,分别设在沿岸和较中心地带;府河设 3 个采样点分别为安州、望亭、焦庄;白洋淀湖泊设 8 个采样点,分别为南刘庄、王家寨、烧车淀、枣林庄、圈头、端村。

于 2010 年 4 月在白洋淀国家水质监控点、王快水库和西大洋水库、府河水质监测点进行生物膜的原位培养和采集。考虑到白洋淀流域各生态单元的水生植物分布特征,在白洋淀选取芦苇作为天然基质;由于府河几乎没有大型水生植物,故选择表层沉积物作为天然基质;在水库岸边以石阶作为天然基质。将人工基质活性炭纤维膜固定在采集装置上,并用绳子固定于水下 20 cm 处,每个采集装置上包括 10 片活性炭纤维膜,每片面积为 40 cm²,培养 15 d 后取出,用小刀刮取活性炭纤维膜上的生物膜。同时在收取人工基质生物膜时,在布设采样装置的另一位置附近刮取同等深度芦苇茎上和石阶上的天然生物膜,并记录面积用于比较;对于府河,在采样器附近用塑料勺挖取底泥,刮取表面约 1 mm 厚表层泥样,记录面积。各采样点均选择采集 3 个样品,所采集的生物膜用 0.2 μm 滤膜过滤后的样点水悬浮,一份加入 5% 甲醛固定,用于藻组成识别分析。所有样品用冰盒保存带回实验室用于分析其生物量、酶活性指标的变化。

1.2 生物膜各指标的分析

生物膜各指标分析方法参照前期基质筛选研究的方法^[19-20],实验室测定生物膜的叶绿素含量(chl.a、chl.b、chl.c)、无灰干重(AFDM)、藻类组成、碱性磷酸酶(APA)活性、β-葡萄糖苷酶(GLU)活性和亮氨酸氨基肽酶(LEU)活性。

1.3 水样采集与理化指标测定

同步采集水样,保存以及测定参照《水和废水监测分析方法(第四版)》,现场测定溶解氧(DO),实验室测定粪大肠菌群(E.coli),氨氮(NH₄-N),硝氮(NO₃-N),总氮(TN),总磷(TP),化学需氧量(COD)、高锰酸盐指数(COD_{Mn}),生化需氧量(BOD₅)、氟化物(F)、重金属(Cu、Zn、Se、As、Hg、Cd、Cr、Pb)等指标。

2 结果

2.1 生物量

对三种生态单元不同基质上附着的生物膜叶绿素 a 进行比较,结果见图 1。在河流单元即府河的采样点,表层沉积物上为 0.424±0.009 9 μg·cm⁻²,活性炭纤维上的叶绿素 a 为 0.640±0.043 μg·cm⁻²,活性炭纤

维基质上叶绿素 a 值更高,根据 ANOVA 分析,两种基质的叶绿素 a 没有显著差异($P=0.921$)。可能是由于府河透明度较差,表层沉积物受到遮挡,所能利用的光能减少,进而减少了藻类的附着与繁殖。在湖泊单元即白洋淀的采样点,芦苇附着生物膜叶绿素 a 为 $1.754 \pm 0.669 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 活性炭纤维上叶绿素 a 为 $0.711 \pm 0.034 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 芦苇上的叶绿素 a 值显著高于活性炭纤维上($P=0.006$)。水库的叶绿素 a 在石阶上为 $0.339 \pm 0.050 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 活性炭纤维基质上为 $0.249 \pm 0.021 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 在该点位两种基质间叶绿素 a 没有显著差异($P=0.998$)。天然基质与活性炭纤维基质附着生物膜的叶绿素 a 都是在白洋淀最高、水库最低。

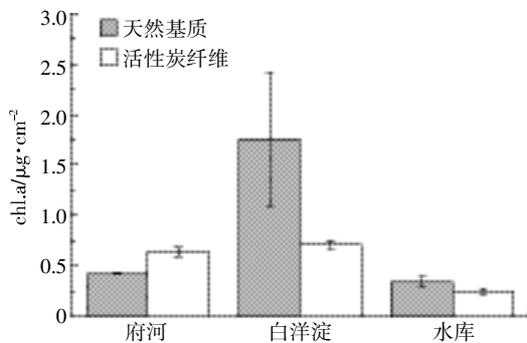


图1 白洋淀流域活性炭纤维基质与天然基质附着生物膜叶绿素 a 的比较

Figure 1 Chlorophyll-a of biofilms between natural and artificial substrates in Baiyangdian Basin

研究表明自养指数可以反映水体污染程度^[21],因此通过计算更能反映生物膜结构的自养指数:

$$AI = \frac{AFDM}{chl.a}$$

式中:AI 自养指数;AFDM 无灰干重, $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$; chl.a 叶绿素 a, $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。

同一水域天然基质生物膜由于长期的培养和演替,形成了相对稳定的结构,因此各天然基质生物膜的自养指数彼此间没有显著差异。对各生态单元不同基质附着生物膜的自养指数进行比较(图2),结果表明水库石阶上生物膜自养指数为 $1\,238.9 \pm 231.2$, 活性炭纤维上为 $1\,471.1 \pm 92.0$, 白洋淀芦苇上自养指数为 $1\,607.8 \pm 331.0$, 活性炭纤维上为 $2\,116.5 \pm 88.8$, 在这两个生态单元的采样点都表现为活性炭纤维的自养指数略高。而在府河,沉积物生物膜上自养指数为 $7\,561.7 \pm 2\,019.2$, 活性炭纤维上为 $2\,729.4 \pm 101.3$, 天然基质上自养指数极高,说明表层沉积物上附着大量的自养细

菌,而活性炭纤维上的生物膜悬挂在距水面 20 cm 处,相对充足的光源给藻类提供了更适宜的附着条件,因此影响了自养细菌的繁殖。在三个采样点中只有府河点位不同基质生物膜之间的自养指数均存在显著差异($P < 0.05$),白洋淀和水库不同基质间自养指数没有显著差异($P=0.973, P=0.999$)。活性炭纤维附着的生物膜的自养指数在三个生态单元采样点的排序为府河>白洋淀>水库,与天然基质相同。

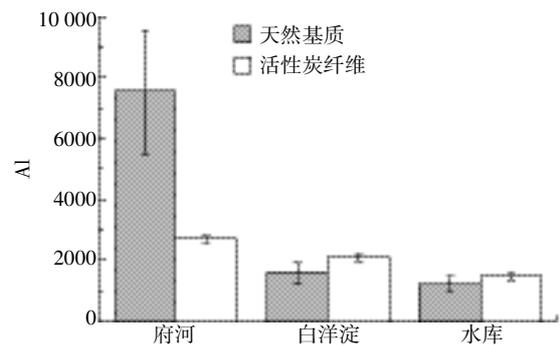


图2 白洋淀流域活性炭纤维基质与天然基质附着生物膜自养指数的比较

Figure 2 Autotrophic index of biofilms between natural and artificial substrates in Baiyangdian Basin

2.2 藻类组成

通过比较各生态单元不同基质上生物膜附着藻类组成(图3)可以看出,所有采样点活性炭基质上附着藻类与天然基质上组成比例十分相似。在府河采样点,天然基质上硅藻占 15.8%,绿藻占 49.0%,蓝藻占 35.2%; 活性炭纤维基质上三种藻类分别为 18.7%, 47.5%和 33.8%。通过 ANOVA 分析可知,硅藻丰度、绿藻丰度和蓝藻丰度在天然基质和活性炭纤维基质间都不存在显著差异($P=0.403, P=0.869, P=1.00$);在白洋淀采样点,芦苇上附着的硅藻为 20.0%,绿藻为 68.1%,蓝藻为 11.9%,活性炭纤维上硅藻为 14.6%,绿藻为 69.6%,蓝藻为 15.8%,ANOVA 分析表明,三种藻类丰度在天然基质和活性炭纤维基质间都不存在显著差异($P=0.051, P=0.999, P=0.777$);在水库采样点,石阶上附着的硅藻为 50.1%,绿藻为 32.2%,蓝藻为 17.7%,活性炭纤维上硅藻为 44.5%,绿藻为 33.3%,蓝藻为 22.2%,ANOVA 分析表明,三种藻类丰度在天然基质和活性炭纤维基质间都不存在显著差异($P=0.174, P=0.992, P=0.570$)。

2.3 酶活性

对天然基质和人工基质上附着生物膜的三种与

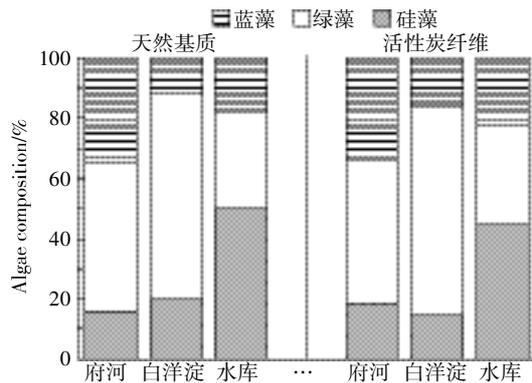


图3 白洋淀流域活性炭纤维基质与天然基质附着生物膜藻类组成的比较

Figure 3 Algal composition in biofilms between natural and artificial substrates in Baiyangdian Basin

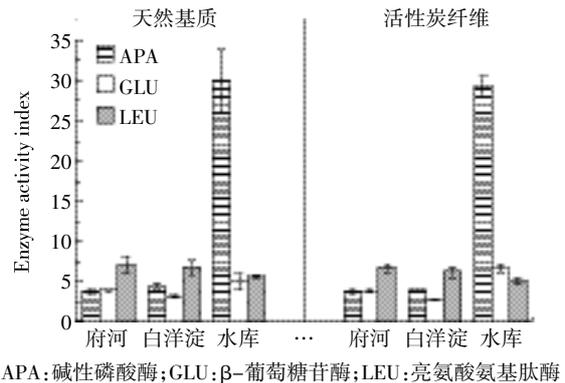


图4 白洋淀流域活性炭纤维基质与天然基质附着生物膜酶活性指数的比较

Figure 4 Enzyme activity index of biofilms between natural and artificial substrates in Baiyangdian Basin

代谢密切相关的酶活性: 碱性磷酸酶、 β -葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶进行比较,并计算各个采样点三种酶活性的指数(图4),府河表层沉积物附着的碱性磷酸酶、 β -葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶三种酶活性指数分别为 1.245 ± 0.180 , 1.363 ± 0.060 , 4.588 ± 0.897 ;活性炭纤维附着的生物膜三种酶活性指数分别为 1.254 ± 0.100 , 1.306 ± 0.110 , 4.160 ± 0.398 ;生物膜的碱性磷酸酶活性指数、 β -葡萄糖苷酶活性指数和亮氨酸氨基肽酶在天然基质与活性炭纤维基质间均不存在显著差异($P=1.00$, $P=0.995$, $P=0.994$)。白洋淀芦苇上生物膜这三种酶活性指数分别为 1.933 ± 0.245 , 0.617 ± 0.059 , 4.219 ± 0.788 ;活性炭纤维上响应的三种酶活性指数分别为 1.395 ± 0.110 , 0.301 ± 0.020 , 3.710 ± 0.598 ;通过ANOVA分析,白洋淀天然基质和活性炭纤维基质的碱性磷酸酶活性和亮氨酸氨基肽酶活性指数没有显著差异($P=0.235$, $P=0.987$),而 β -葡萄糖苷酶活性指数在两种基质间存在显著差异($P=0.034$)。水库天然基质上为 27.38 ± 3.89 , 2.523 ± 0.880 , 3.214 ± 0.446 ;活性炭纤维上为 26.75 ± 1.22 , 4.110 ± 0.398 , 2.532 ± 0.355 。ANOVA分析表明两种基质间的碱性磷酸酶活性指数没有显著差异($P=1.00$, $P=0.345$, $P=0.561$)。天然基质和活性炭纤维的碱性磷酸酶活性指数都呈现府河<白洋淀<水库, β -葡萄糖苷酶活性指数都表现为白洋淀<府河<水库,而亮氨酸氨基肽酶活性指数则为水库<白洋淀<府河,活性炭纤维基质可以很好地反映天然生物膜的酶活性指数。

2.4 白洋淀流域水质状况

根据白洋淀流域水质监测数据可以看出,白洋淀流域水体中主要的超标水质指标为粪大肠菌群(Ecol-

i)、氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$)、总氮(TN)、总磷(TP)、化学需氧量(COD)、高锰酸盐指数(COD_{Mn})、生化需氧量(BOD_5)、溶解氧(DO)等(表1),其中营养物质是最为主要的超标指标。在整个白洋淀流域,总氮的监测断面达标率不足7%,即使是在水库,总氮指标也没有达到标准;河湖的氨氮达标率也仅有36.4%,而总磷在河湖中达标率为0%。白洋淀流域有机污染严重,在河、湖地区化学需氧量、生化需氧量和高锰酸盐指数的达标率分别为11.4%、63.6%和29.5%。河湖中溶氧的达标率为52.3%,粪大肠菌群达标率为45.5%,只有重金属指标在白洋淀流域监测断面都处在很低的水平,达标率达100%。

3 分析与讨论

3.1 人工基质的原位验证

附着在三种天然基质的生物膜群落结构、功能存在差异,其中附植生物膜的生物量显著高于石块和表层沉积物上附着的生物膜,且三种基质的附着藻类组成也各不相同,在菹草上附着的蓝藻显著高于表层沉积物和石块,相比之下附着在石块上的三种主要藻类丰度分布相对平均,其上的硅藻较另两种天然基质更高。这可能是因为硅藻容易形成较厚的胶状垫,更容易附着在石块这类表面积相对更大的基质上^[22],而蓝藻、绿藻,尤其是丝状藻则较容易缠绕在水生植物上。表层沉积物由于受到光照的限制,虽然底泥提供了丰富的营养,但其上的生物膜生长还是受到一定的限制,尤其是附着藻类的生长。

通过对白洋淀流域典型生态单元典型天然基质与活性炭纤维基质附着生物膜生物量、自养指数、藻

表1 白洋淀流域2010年4月水质状况

Table 1 Water quality of Baiyangdian Basin in April, 2010

项目	Min	Max	地表水 II 类标准	地表水 III 类标准	河、湖达标率	水库达标率	
Cu	mg·L ⁻¹	0.05	0.05	≤1.0	≤1.0	100%	100%
Zn	mg·L ⁻¹	0.02	0.038	≤1.0	≤1.0	100%	100%
Se	mg·L ⁻¹	0.000 5	0.000 9	≤0.01	≤0.01	100%	100%
As	mg·L ⁻¹	0.007	0.010	≤0.05	≤0.05	100%	100%
Hg	mg·L ⁻¹	0.000 01	0.000 07	≤0.000 05	≤0.000 1	100%	100%
Cd	mg·L ⁻¹	0.000 1	0.000 5	≤0.005	≤0.005	100%	100%
Cr	mg·L ⁻¹	0.004	0.004	≤0.005	≤0.05	100%	100%
Pb	mg·L ⁻¹	0.001	0.007	0.01	≤0.05	100%	100%
F	mg·L ⁻¹	0.011	1.05	≤1.0	≤1.0	97.7%	100%
COD	mg·L ⁻¹	5	55	≤15	≤20	11.4%	100%
COD _{Mn}	mg·L ⁻¹	1.8	15.6	≤4	≤6	29.5%	100%
BOD ₅	mg·L ⁻¹	2	13.3	≤3	≤4	63.6%	100%
DO	mg·L ⁻¹	1.04	14.8	≥6	≥5	52.3%	100%
TN	mg·L ⁻¹	0.75	33.6	≤0.5	≤1.0	6.8%	0
TP	mg·L ⁻¹	0.01	1.84	≤0.1(湖库≤0.025)	≤0.2(湖库 0.05)	0(府河)43.8%(淀区)	100%
NH ₄ -N	mg·L ⁻¹	0.09	27.8	≤0.5	≤1	36.4%	100%
NO ₃ -N	mg·L ⁻¹	0.069	6.3	≤10			100%
Ecoli	10 ⁴ 个/L	0.002	24	≤0.2	≤1	45.5%	100%

类组成和酶活性指数的比较可以看出,活性炭纤维基质虽然与各典型单元的天然基质在生物量与自养指数存在显著差异,特别是与表层沉积物之间,但是活性炭纤维基质与表层沉积物的藻类组成和酶活性指数都没有显著差异,可以很好地表征天然生物膜的附着藻类结构和代谢功能特征。而且活性炭纤维基质附着生物膜的各种属性特征在各监测点的分布规律与天然基质附着生物膜一致,说明活性炭纤维基质可以很好的表征各监测点位的天然生物膜群落的结构和功能特征,且误差小,可重复度高,适宜用于白洋淀流域的生态监测,但用于表征表层沉积物自养指数时要慎重。

3.2 生物膜群落对复合污染的响应

对白洋淀流域的生物膜群落各指标进行 One way ANOVA 分析,生物膜所有监测的结构功能指标在各采样点间都具有显著差异($P<0.05$);除了 chl.c ($P=0.351$)以外,其他所有指标在不同的生态单元中都具有显著差异($P<0.05$)。而生物膜群落空间上的显著差异可能是由流域污染状况^[23]、营养状态、景观格局^[24]和水文状况^[25]等相关干扰造成的。由于府河承载了大量的城市生活污水,加之城区工业废水通过农灌进入水体,使得府河水质恶化,主要污染物为氮、磷等营养元素与耗氧性有机物,经府河进来的污染物质进

入白洋淀后,受淀体内水陆交错带的控制,水流域污染物扩散缓慢,污染范围基本都集中在入淀口附近。由于水陆交错带对来自府河的营养物质强烈的截留作用,氮、磷等营养元素迅速下降,这使得白洋淀流域生物膜群落在府河入淀后发生迅速变化,因而生物膜在不同生态单元类型之间的显著差异说明生物膜群落受到污染状况的影响。

生物膜群落结构、功能指标与水质指标显著相关($P<0.05$),由于白洋淀流域的污染主要以氮、磷等营养元素和耗氧有机污染为主,选取白洋淀流域主要超标指标,包括 COD_{Mn}、COD、BOD₅、DO、TN、TP、NH₄-N、NO₃-N 和 Ecoli 共 9 个水质指标进行 RDA 分析,以确定生物膜群落特征与主要污染物的关系,结果见表 2。Monte Carlo permutation 检验所有排序轴均显著($P<0.01$),说明排序效果理想。RDA 分析的前两个排序轴特征值分别为 0.508 和 0.047,前两个排序轴与水质参数之间的相关系数为 0.878 和 0.795,分别揭示了 50.8%和 4.6%的生物膜群落特征变化。四个排序轴共解释了 63.0%的生物膜群落特征变化,和 95.9%的生物膜群落特征与水质的关系。所选的 8 个水质参数(由于总氮和氨氮具有强烈的多重相关性,在分析中剔除了 NH₄-N)共解释了 73.6%的生物膜群落总特征值,对生物膜群落结构、功能变化具有显著

表2 生物膜群落与主要超标水质参数的 RDA 排序结果

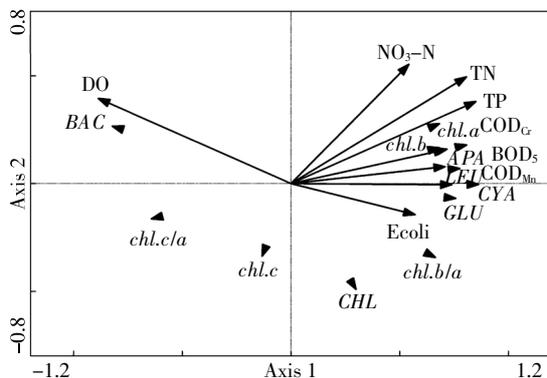
Table 2 RDA results of biofilms and water quality parameters exceeding China water quality standard

排序轴	特征值	生物膜-水质相关系数	生物膜特征变化累积/%	生物膜与水质关系变化累积/%	特征值总和	典范特征值总和
1	0.508	0.878	50.8	80.6	1	0.63
2	0.047	0.795	55.4	88.0		
3	0.032	0.737	58.6	93.1		
4	0.018	0.629	60.4	95.9		

影响。可以看出超标水质参数对生物膜群落影响极其显著($P < 0.01$)。这8个参数解释了63.0%的总特征值,说明这8个因子就是影响生物膜群落特征的最主要水质因子。

从图5可以看出,对于Axis1,水质参数与生物膜群落的相关性大小为 $TN > COD > COD_{Mn} > BOD_5 > Ecoli > TP > NO_3-N$,与Axis1正相关;DO与Axis1负相关。根据各水质参数与生物膜群落前两排序轴的相关系数可以得出,选取的8个水质参数与生物群落相关性大小依次为: $DO > TN > COD_{Mn} > COD > BOD_5 > Ecoli > TP > NO_3-N$ 。chl.a、chl.b、chl.b/a、绿藻比例(CYA)、蓝藻比例(CHL)、碱性磷酸酶活性(APA)、 β -葡萄糖苷酶活性(GLU)、亮氨酸氨基肽酶活性(LEU)与总氮、总磷、硝酸盐含量、高锰酸盐指数、化学需氧量、生化需氧量、粪大肠菌群呈正相关关系,与溶解氧呈负相关关系;而硅藻比例(BAC)、chl.c/a、chl.c与溶解氧正相关,与其他超标指标负相关,其中绿藻比例、chl.c与超标水质因子相关性较弱。

生物膜群落可以很好地反映水质变化。叶绿素a、藻类组成在研究生物膜群落对水质的响应中被广



三角形代表生物膜群落特征

Triangles represent biofilm attributes

图5 生物膜群落与超标水质参数的二维排序图

Figure 5 RDA biplot of biofilm attributes and water quality parameters exceeding China water quality standard

泛使用,在本研究中,叶绿素a、蓝藻比例与水质指标呈正相关关系,硅藻比例与水质指标呈负相关关系,与许多学者的相关研究相同。在污染较严重的区域(下游或干流)附着藻类生物量更高,而硅藻密度和相对丰度在有机污染强烈的地区受到抑制^[26]。色素比例可以一定程度上反映藻类组成,且测定方法简单,节约时间^[27],在本研究中叶绿素b/a与水质指标呈正相关,但在水质较差时chl.b/a上升趋势变小甚至发生减少,这与chl.b/a随营养等级变化的趋势相同。胞外酶活性是描述生物膜功能的重要指标,碱性磷酸酶活性、葡萄糖酶活性和肽酶活性对于有机质降解和营养循环其重要作用,可以反映人为干扰造成的富营养化状态。本研究中碱性磷酸酶活性、 β -葡萄糖苷酶活性、亮氨酸氨基肽酶活性都与水质指标呈正相关关系,Penton等^[28]对佛罗里达沼泽四个保护区的研究中, β -葡萄糖酶随营养物质增加而增加,但亮氨酸氨基肽酶和碱性磷酸酶在不同的保护区随营养物质变化无明显规律。

生物膜群落可以对各种污染物质产生响应,包括农药、化肥、各种杀虫剂、除草剂、重金属等^[29]。而复合污染条件下,生物膜群落对水质参数的响应与单一污染情况差别很大,例如,Ivorra等^[30]的室内试验研究证明,重金属(Zn,Cd)可以显著减少藻类的生物量,改变硅藻的组成,但是在有磷存在的条件下,由于磷对藻类生物量具有促进作用,这种毒性效应会被补偿。而在天然水体中,污染物的情况更为复杂,加上有光照、温度、水力条件等因素的影响,使得生物膜群落的响应并不遵从单因子情况时的规律,且与多种环境因素相关。在本研究选定的超标水质参数可以解释生物膜群落变化的63.0%,说明复合污染是影响白洋淀生物膜群落变化最重要的原因。

4 结论

(1)人工基质的原位验证实验表明,活性炭纤维基质与白洋淀流域的各生态单元典型天然生物膜群

落结构、功能特征比较,虽然经过 15 d 的培养,在生物量上与天然基质仍存在显著差异,但与芦苇和石块在自养指数、藻类组成、酶活性指数方面都没有显著差异,可以很好地表征这两种天然基质的生物膜群落结构和功能。虽然其与表层沉积物的附着生物膜在生物量、自养指数方面均存在显著差异,但在藻类组成和酶活性指数方面不存在显著差异,而且活性炭纤维附着的生物膜群落的所有检测的组成、结构、功能指标在各监测点的分布情况均与天然基质一致。说明活性炭基质附着生物膜经过 15 d 的培养其结构和功能可以很好地表征各个生态单元监测点位的实际情况,是白洋淀流域适宜的水生态监测工具。

(2)生物膜群落对于复合污染具有很好的响应,生物膜群落特征各指标与水质指标显著相关($P < 0.05$)。生物膜群落与超标水质参数 RDA 分析表明,超标指标可以解释生物膜群落变化的 63.0%,8 个超标水质参数与生物群落相关性大小依次为 $DO > TN > COD_{Mn} > COD > BOD_5 > Ecoli > TP > NO_3-N$,说明复合污染是影响白洋淀生物膜群落变化最重要的原因。生物膜群落可以很好的反映水质变化和主要污染物的变化。

(3)由于面源污染的污染物成分和作用机制复杂,因此对于水生生态系统已经受到严重破坏的流域,传统的水质的理化监测不能提供水生生态系统所受潜在危害的充足信息,需要加强长期定位的生态系统监测,以实现流域的生态系统管理。生物膜快速监测方法具有快速、灵敏的特点,可应用到流域的不同生态单元的水生态监测中,而在进一步的研究中则应注重:

开展对生物膜的长时间序列的监测研究,积累相关数据,从流域管理的需求筛选建立最适指标体系或综合指标,并制定相关标准;未来在不同流域和生态单元,特别是在河口及近海岸,应完善生物膜监测在流域不同尺度的推广应用,为流域水生态数据库的建立与生态系统管理提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 杨林章,施卫明,薛利红,等.农村面源污染治理的“4R”理论与工程实践:总体思路与“4R”治理技术[J].农业环境科学学报,2013,32(1):1-8.
YANG Lin-zhang, SHI Wei-ming, XUE Li-hong, et al. Reduce-Reduce-Reuse-Reuse-Restore technology for the controlling the agricultural non-point source pollution in countryside in China: A case study[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(1): 1-8.
- [2] Wei D, Tan Z, Du Y. A biological safety evaluation on reclaimed water reused as scenic water using a bioassay battery[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(10): 1611-1618.
- [3] Nikanorov A M, Khoruzhaya T A, Stradomskaya A G, et al. Biotesting in the assessment of environmental and toxicological state of water bodies in Lower Don River Basin[J]. *Water Resources*, 2004, 31(2): 189-194.
- [4] Grady Jr C P L, Daigger G T, Love N G, et al. Biological wastewater treatment[M]. London: IWA Publishing, 2011.
- [5] Lawrence J R, Zhu B, Swerhone G D W, et al. Community-level assessment of the effects of the broad-spectrum antimicrobial chlorhexidine on the outcome of river microbial biofilm development[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(11): 3541-3550.
- [6] 马牧源.白洋淀流域生物膜群落对人为干扰的响应[D].北京:北京师范大学,2011.
MA Mu-yuan. Response of biofilm to human disturbance in Baiyangdian basin[D]. Beijing: Beijing Normal University, 2011.
- [7] 王雪梅.海河流域生物膜快速水生态监测方法研究[D].北京:北京师范大学,2011.
WANG Xue-mei. Research of biological monitoring method based on the biofilm for Haihe river basin monitoring[D]. Beijing: Beijing Normal University, 2011.
- [8] Sabater S, Guasch H, Ricart M, et al. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: The biofilm as an interface[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387(4): 1425-1434.
- [9] Kröpfel K, Vladár P, Szabó K, et al. Chemical and biological characterisation of biofilms formed on different substrata in Tisza river (Hungary) [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 144(2): 626-631.
- [10] Ishida C K, Armon S, Peterson C G, et al. Influence of algal community structure on denitrification rates in periphyton cultivated on artificial substrata[J]. *Microbial Ecology*, 2008, 56(1): 140-152.
- [11] Xu H, Min G S, Choi J K, et al. An approach to analyses of periphytic ciliate communities for monitoring water quality using a modified artificial substrate in Korean coastal waters[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2009, 89(4): 669-679.
- [12] Dorigo U, Leboulanger C, Berard A, et al. Lotic biofilm community structure and pesticide tolerance along a contamination gradient in a vineyard area[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, 50(1): 91-102.
- [13] Mages M, Ovari M, Tumpling Jr W, et al. Biofilms as bio-indicator for polluted waters?[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 378(4): 1095-1101.
- [14] Tlili A, Dorigo U, Montuelle B, et al. Responses of chronically contaminated biofilms to short pulses of diuron: An experimental study simulating flooding events in a small river [J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, 87(4): 252-263.
- [15] Wang X M, Liu J L, Ma M. Response of freshwater biofilm to pollution and ecosystem in Baiyangdian Lake of China[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2010, 2: 1759-1769.
- [16] 崔惠敏.农业面源污染对白洋淀流域水环境的影响分析[J].现代农业科技,2011,7:298-300.
CUI Hui-min. Analysis on effect of agricultural non-point source pollution on the water environment in Baiyangdian Basin[J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2011, 7: 298-300.
- [17] 张婷,刘静玲,王雪梅.白洋淀水质时空变化及影响因子评价与分析[J].环境科学学报,2010,30(2):261-267.

- ZHANG Ting, LIU Jing-ling, WANG Xue-mei. Causal analysis of the spatial-temporal variation of water quality in Baiyangdian Lake[J]. *Acta Scientiae Circum stantiae*, 2010, 30(2):261-267
- [18] 马牧源, 刘静玲, 杨志峰. 生物膜法应用于海河流域湿地生态系统健康评价展望[J]. 环境科学学报, 2010, 30(2):226-236.
- MA Mu-yuan, LIU Jing-ling, YANG Zhi-feng. Research progress on wetland health assessment using biofilms and its potential use in the Haihe River Basin[J]. *Acta Scientiae Circum Stantiae*, 2010, 30(2): 226-236.
- [19] Ma M Y, Liu J L, Wang X M. Biofilms as potential indicators of macrophyte-dominated lake health[J]. *Ecotoxicology*, 2011, 20(5):982-992.
- [20] 王雪梅, 刘静玲, 马牧源. 生物膜法应用于白洋淀湿地生态监测的基质筛选研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(10):1876-1883.
- WANG Xue-mei, LIU Jing-ling, MA Mu-yuan. Application of biofilm for ecological monitoring in Baiyangdian: Substrate selection[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(10): 1876-1883.
- [21] Bonet B, Corcoll N, Acuña V, et al. Seasonal changes in antioxidant enzyme activities of freshwater biofilms in a metal polluted Mediterranean stream[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 444:60-72.
- [22] Hoagland K D, Rosowski J R, Gretz M R, et al. Diatom extracellular polymeric substances: Function, fine structure, chemistry, and physiology[J]. *Journal of Phycology*, 1993, 29(5):537-566.
- [23] Morin S, Duong T T, Dabrin A, et al. Long-term survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 151(3):532-542.
- [24] Washington V J, Lear G, Neale M W, et al. Environmental effects on biofilm bacterial communities: A comparison of natural and anthropogenic factors in New Zealand streams[J]. *Freshwater Biology*, 2013, 58(11):2277-2286.
- [25] Nelson C E, Bennett D M, Cardinale B J. Consistency and sensitivity of stream periphyton community structural and functional responses to nutrient enrichment[J]. *Ecological Applications*, 2013, 23(1):159-173.
- [26] Sabater S, Armengol J, Comas E, et al. Algal biomass in a disturbed Atlantic river: Water quality relationships and environmental implications [J]. *Science of the Total Environment*, 2000, 263(1):185-195.
- [27] 曹治国, 徐杰, 刘静玲, 等. 淡水湖泊营养状态监测新方法: 叶绿素比值模型[J]. 环境科学学报, 2010, 30(2):275-280.
- CAO Zhi-guo, XU Jie, LIU Jing-ling, et al. A new trophic status monitoring method for freshwater lakes: The chlorophyll ratio model[J]. *Acta Scientiae Circum stantiae*, 2010, 30(2):275-280.
- [28] Penton C R, Newman S. Enzyme activity responses to nutrient loading in subtropical wetlands[J]. *Biogeochemistry*, 2007, 84(1):83-98.
- [29] Sabater S, Guasch H, Ricart M, et al. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: The biofilm as an interface[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387(4):1425-1434.
- [30] Ivorra N, Hettelaar J, Kraak M H S, et al. Responses of biofilms to combined nutrient and metal exposure[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(3):626-632.