

王雪梅. 生物膜法应用于湿地恢复监测的适用性研究[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 506–510.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.146

生物膜法应用于湿地恢复监测的适用性研究

王雪梅

(西昌学院动物科学学院, 四川西昌 615013)

摘要:生物膜法是理想的群落水平水生态监测的方法,能够全面反映湿地恢复前后生态健康水平,生物膜法具有重要的研究意义和应用前景。以四川省邛海湿地五期恢复工程为研究对象,综合运用原位生物膜法、群落分析法和生理生态学方法,通过比较五期湿地恢复工程建设前、建设期和恢复期的生物膜结构和功能指标的变化,分析生物膜对湿地恢复工程不同时期的响应情况。结果表明,湿地恢复工程施工对生物膜的结构和功能产生显著影响,其中对藻类结构和细菌胞外酶活性影响最大。基于所分析的各项指标,天然基质生物膜对湿地恢复具有很好的响应,生物膜法适用于湿地恢复的生态监测,可进一步建立评价方法并推广应用。

关键词:生物膜;湿地恢复;生态监测

中图分类号: Q948;X17 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0506-05

湿地是界于水域和陆地之间的具有一定生态功能的交错地带^[1]。它在为人类提供生产、生活等各种资源的同时也发挥着调节径流、降解污染、调节气候等环境生态作用,被誉为“地球之肾”。然而,随着人类社会的不断发展及气候变化等自然因素,湿地面临着不断退化的威胁。因此,为缓解湿地与人类发展需求之间的矛盾,人工恢复湿地逐步成为湿地保护和利用的重要补偿性办法,并引起社会各界人士的广泛关注^[2]。而对湿地恢复过程的跟踪监测对于科学恢复湿地、管理湿地以及客观评价湿地恢复效果等工作具有重要意义^[3]。

湿地恢复监测的方法和指标,主要集中于对湿地水文、水环境、湿地土壤、气象及湿地生物的监测^[3-5],而常用的湿地恢复效果评价方法包括能值分析法、湿地生态系统健康评价法以及景观格局分析法^[6-7]。但通过对湿地的植被、水鸟等动植物的生物监测发现,因生境破碎化严重、水生生物大量灭绝、调水等问题为生物监测带来困难,传统的生物监测已不能满足其生态监测的需求^[8]。而生物膜普遍存在于各种基质的表面上^[9],代表了一种稳定微生物细胞组成的复杂混合物的微生物生态系统,对水质、水量、土地利用类型等环境压力会产生响应^[10-11],因而生物膜法是理想的群落水平水生态监测的方法^[12]。

邛海位于四川省凉山彝族自治州西昌市东南面,距城区仅 4.5 km,是非常特殊的城郊型湿地。本次选取对原农田湿地进行了全方位改造的五期湿地恢复工程为研究对象,通过分析生物膜结构和功能指标的变化,来研究生物膜对湿地恢复工程不同时期的响应情况,以期生物膜监测应用于湿地恢复评价中提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

邛海位于四川省西昌市,流域面积 307.67 km²,系四川省第二大淡水湖泊。20 世纪中后期以来,填海造田、围海造塘、泥沙淤积、气候变暖等各种人为、自然因素使邛海的蓄水面积由 31 km² 减少至 27 km²,邛海的湿地生态功能受到严重破坏,水质恶化严重。为了控制湿地的不断退化,充分发挥湿地的生态环境功能,从 2009 年开始,西昌启动总面积约为 1 333 km²,依据各自特色分六期规划完成的邛海生态保护与湿地恢复工程建设。本次研究点“梦回田园”五期湿地于 2014 年 5 月正式开工建设,2014 年 12 月 22 日竣工开园,建有 5 个以“河”为主题的自然生态区域,该期湿地通过恢复临水天然湿地,改造和保留农用地来达到其目的。

1.2 生物膜的采集

本研究分别于 2014 年 4 月(建设前)、6 月、8 月、10 月、12 月(建设期)及 2015 年 4 月(恢复期)在邛海五期湿地恢复区(S1)进行样品采集,并选取已完工 5 年的邛海一期湿地(S2)作为参照点。各湿地沿湖岸设 3 个采样点,每个采样点随机选取 2 处间隔 50 m 以上的石头进行采样,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。

1.3 生物膜各指标的分析

生物膜各指标分析方法参照前期相关研究中的方法^[8,13],实验室测定生物膜的叶绿素含量(叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 c)、无灰干质量(AFDM)、藻类组成、磷酸酶(APA)活性、胞外聚合物多糖(PSC)含量。

1.4 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 4 版)》,现场测定 pH 值、温度(*T*)、透明度(*Trans*)、溶解氧(DO),实验室测定氨氮(NH₃-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

收稿日期:2015-08-05

基金项目:四川省教育厅项目(编号:11ZB111);四川省环境保护厅项目(编号:2011HB005);四川省凉山州应用技术与开发项目。

作者简介:王雪梅(1986—),女,四川西昌人,硕士,助教,主要从事环境监测及评价研究。E-mail:virginiawxm@163.com。

量(BOD_5)、氟化物(F^-)等指标,并使用叶绿素 a、TN、TP、Trans、 COD_{Mn} 等 5 项指标计算综合营养指数(TSI)。

2 结果与分析

2.1 生物量

对邳海五期湿地恢复区(S1)不同时期的生物膜叶绿素 a 进行比较(图 1),可见建设期和恢复期的叶绿素 a 浓度显著低于建设前。参照对照点邳海一期湿地(S2)进行分析,恢复工程开始后(6—8 月)邳海五期湿地恢复区(S1)的生物膜叶绿素 a 浓度显著下降,而同时段的参照点受季节影响叶绿素 a 浓度有显著的升高($P < 0.05$),说明恢复工程的建设显著影响了藻类的生长。在建设期中叶绿素 a 浓度在 10 月较 8 月有所回升,该时段工程破坏较小并开始植被恢复,因而藻类生长胁迫压力减小。恢复期较建设前同时段(4 月)的叶绿素 a 浓度显著降低,反映了湿地恢复后环境发生了改变。综上所述说明生物膜叶绿素 a 浓度受湿地工程建设影响,工程建设导致原有植被等被破坏,叶绿素 a 浓度显著降低,湿地植被恢复后叶绿素 a 浓度有所升高。

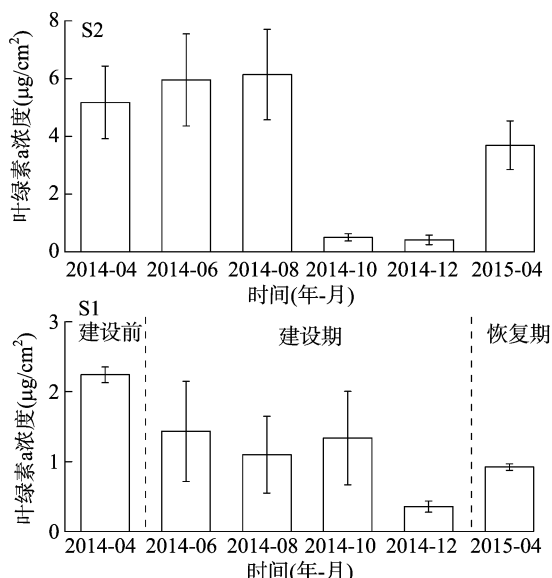


图1 不同时期邳海恢复湿地生物膜叶绿素 a 含量

由图 2 可见,湿地恢复区生物膜的无灰干质量(AFDW)与参照点在建设前、建设期的变化规律相似,但对应叶绿素 a 浓度在 6 月、8 月减少,说明此段时间内无灰干质量主要积累为无机物,可能受工程建设水土流失的影响所致。恢复期的无灰干质量与建设后期(10 月、12 月)差异不显著($P > 0.05$),并显著低于建设前,说明工程建设影响仍然存在,生物膜群落尚未完全恢复。

天然生物膜经过长期的培养和演替,具有更加成熟的结构组成和更大的生物量,有研究表明自养指数可以反映水体污染程度^[14],因此计算生物膜群落的自养指数进行比较公式(1)。

$$AI = \frac{AFDM}{chl a} \quad (1)$$

式中:AI 为自养指数;AFDM 为无灰干质量;chl a 为叶绿素 a 浓度。

由图 3 可见,生物膜的自养指数在建设期初(6 月)较建设前显著增加($P < 0.05$),但同时参照点无显著差异($P <$

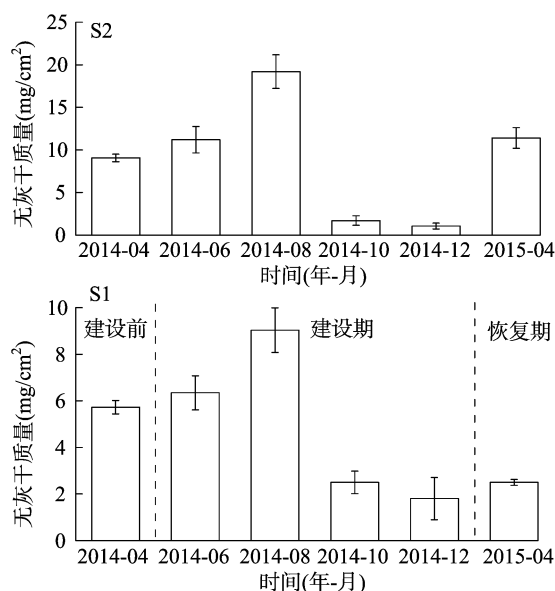


图2 不同时期邳海恢复湿地生物膜的无灰干质量(AFDW)

0.05),表明建设工程的开始对水环境造成较大的污染。但建设期中 10 月出现了显著下降($P < 0.05$),同时参照点却有所上升,说明 10 月工程措施的停止和植被的恢复对水环境有较大影响。综上可见自养指数对于湿地工程不同建设时期有明显的响应。

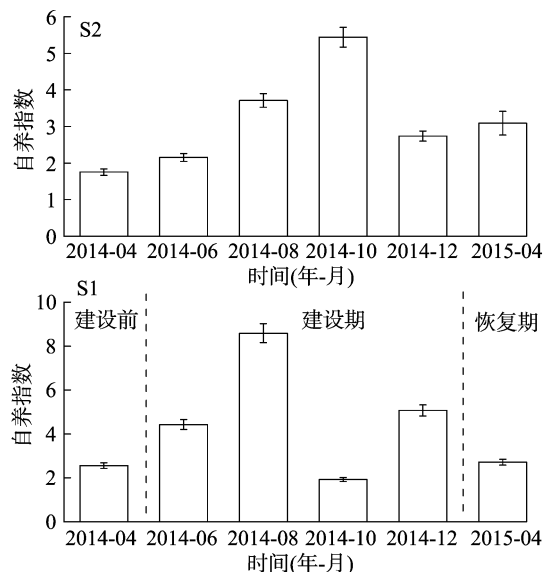


图3 不同时期邳海恢复湿地生物膜的自养指数(AI)

2.2 藻类结构

由图 4 可见,其中湿地恢复区(S1)不同时期的硅藻比例差异显著($P < 0.05$),其中建设期较建设前的硅藻比例出现极显著下降($P < 0.01$),而绿藻比例在建设开始初期出现了显著升高($P < 0.05$),而同时参照点邳海公园生物中的绿藻比例变化不显著($P < 0.05$),这说明生物膜藻类结构的变化明显受到湿地建设工程的影响,其中硅藻、绿藻对建设工程的响应最明显。恢复期的生物膜藻类以硅藻为主,较建设前和建设期的硅藻比例都有所升高,说明该时期的水环境情况较好。

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^[15],由图 5 可见叶绿素 b 浓度变化规律与参照

点相似,说明受湿地恢复工程影响较小。而叶绿素 c 浓度在建设期波动较大,且恢复期显著高于建设前,这样藻类结构中硅藻的变化规律一致。说明了硅藻、叶绿素 c 浓度对湿地恢复工程的响应最显著。

2.3 胞外聚合物多糖含量

胞外聚合物(EPS)的多糖(PSC)含量的测定结果(图6)表明,湿地恢复区(S1)建设期6—8月较建设前多糖含量显著增加,但同时期参照点增加极显著($P < 0.01$),说明生物膜微生物分泌形成胞外聚合物的过程可能受到了建设工程的影响;建设期12月较建设期10月多糖含量下降达最低值,为 $0.114 \pm 0.229 \text{ mg/cm}^2$,但同时期参照点含量增加;恢复期核多糖含量较建设期显著增加($P < 0.05$),说明多糖含量受湿地工程建设的影响,其中建造后期和恢复期影响较大。

2.4 磷酸酶活性

由图7可见,磷酸酶活性受湿地恢复工程的影响也很大。湿地恢复区(S1)的生物膜磷酸酶活性在建设期呈逐步下降趋势,并在恢复期较前面的时期出现显著升高($P < 0.05$),而同时期的参照点受季节影响呈先升高后下降的趋势。说明生物膜胞外酶活性受工程建设影响下降,但在恢复期得到升高,微生物生长恢复。

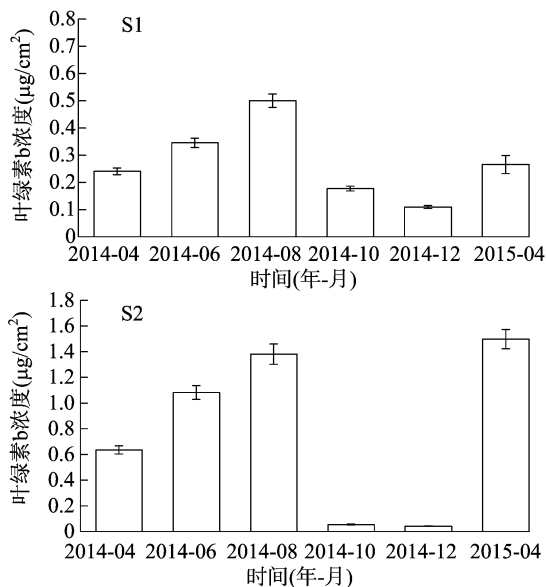


图5 不同时期邳海恢复湿地生物膜叶绿素 b、叶绿素 c 浓度

2.5 水质因子测定结果

根据同期水质监测数据(表1)可以看出,邳海湿地的水质状况较好,全年月平均水质均达到国家地表水Ⅰ类水质标准。其中受湿地恢复工程的影响,在2014年6月、8月的水体透明度(Trans)较低,且8月有机物污染较其他月份严重,COD、BOD₅的最大值分别为15.33 mg/L和3.05 mg/L,均超过国家地表水Ⅱ类水质标准。湿地恢复后的2015年4月较恢复前水质状况更佳,水体综合营养指数有所下降。

3 讨论

3.1 生物膜群落对湿地恢复工程的响应

生物膜可以对各种形式的干扰产生响应,在野外环境中,生物膜会受到水文、气候、捕食压力、水质状况等各种干扰的

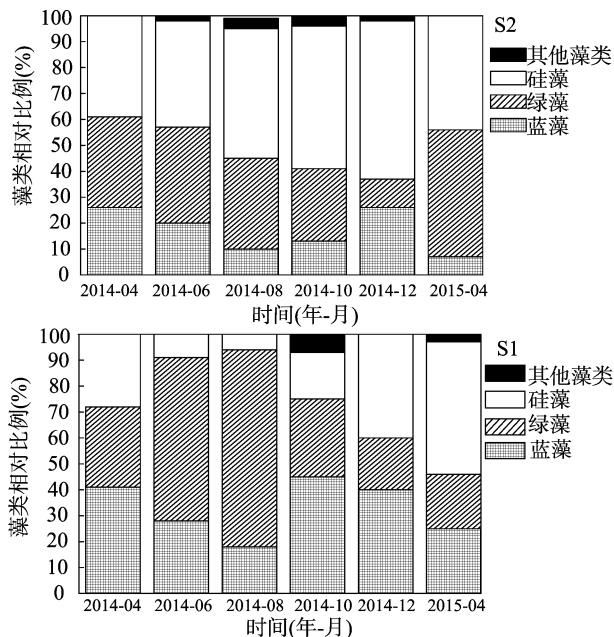
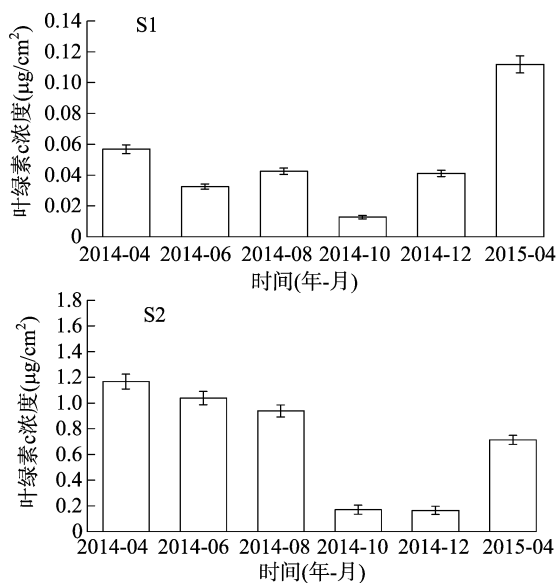


图4 不同时期邳海恢复湿地生物膜的藻类结构



影响。而湿地恢复工程在建设期会对植被造成破坏,产生大量水土流失并对水体产生污染,在恢复期逐步构建新的生态景观,这些因素都构成了对生物膜群落的干扰。

生物膜的生物量指标可以反映出生物因子、环境因子对群落的影响^[13]。本研究中生物膜叶绿素 a 浓度、无灰干质量在建设期均发生了改变。叶绿素 a 浓度在建设开始后出现显著下降,可能是由于施工中挖掘对水体的扰动及水土流失造成水体浑浊影响了藻类的生长。而恢复期的叶绿素浓度较建设前低,可能是由于湿地恢复改变了土地利用类型造成的影响,Findlay 等对新西兰河流的研究结果表明土地利用类型会对生物膜群落产生定性和定量的影响^[16]。建设前该区域主要为农田湿地,农业生产使用大量化肥,会使营养物质显著增加,进而促进生物膜生物量的生长,故生物量较恢复后高。

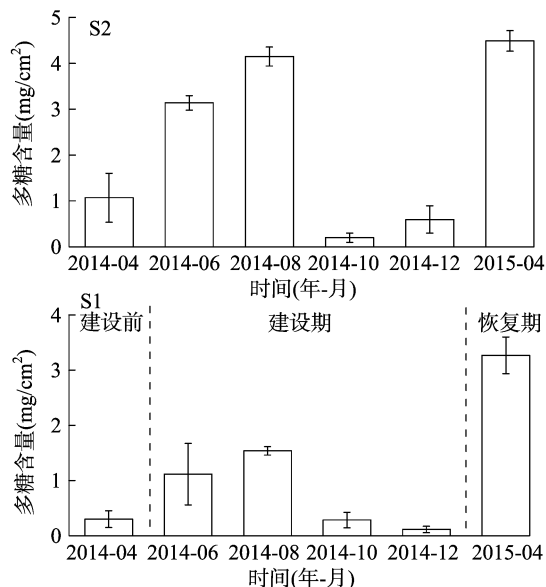


图6 不同时期邳海恢复湿地生物膜胞外聚合物多糖(PSC)含量

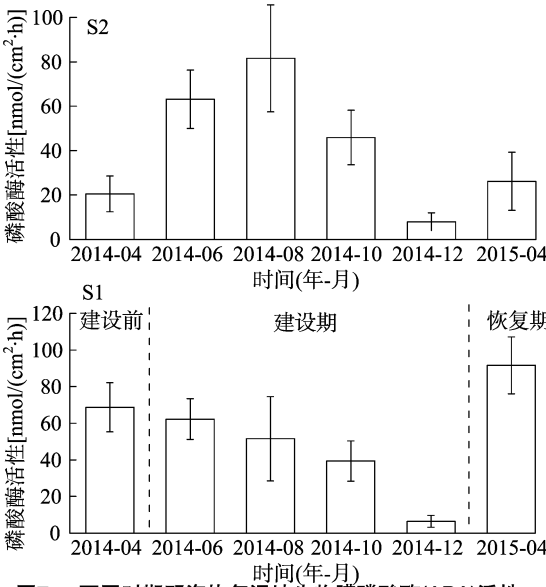


图7 不同时期邳海恢复湿地生物膜磷酸酶(APA)活性

表 1 2014 - 04—2015 - 04 邳海恢复湿地水质状况

时间 (年 - 月)	pH 值	T (℃)	Trans (mg/L)	COD (mg/L)	NH ₃ - N (mg/L)	BOD ₅ (mg/L)	DO (mg/L)	F ⁻	TSI
2014 - 04	8.11	14.0	1.45	11.75	0.05	2.58	6.82	0.22	37.2
	0.141	0.00	0.071	2.333	0.001	0.276	0.141	0.001	0.749
2014 - 06	7.46	20.0	0.95	11.75	0.03	0.89	6.22	0.22	34.9
	0.035	0.00	0.070	2.345	0.002	0.417	0.142	0.016	0.438
2014 - 08	7.88	23.0	0.83	14.20	0.07	2.77	7.02	0.22	34.5
	0.021	0.00	0.106	1.131	0.029	0.283	0.134	0.021	0.071
2014 - 10	8.04	16.0	1.45	6.72	0.07	1.29	7.27	0.24	33.7
	0.028	0.00	0.071	2.376	0.001	0.141	0.141	0.002	0.882
2014 - 12	7.37	17.6	1.40	14.53	0.11	2.87	6.40	0.24	32.8
	0.290	0.58	0.100	1.963	0.011	0.115	0.346	0.016	0.191
2015 - 04	6.93	14.0	1.55	10.75	0.01	2.20	6.90	0.21	34.3
	0.092	0.00	0.077	0.919	0.004	0.100	0.141	0.002	0.142

从结构指标上来看,生物膜藻类结构的变化明显受到湿地建设工程的影响,其中硅藻、绿藻对建设工程的响应最明显。建设期较建设前的硅藻比例出现极显著下降($P < 0.01$),而绿藻比例在建设开始初期出现了显著升高($P < 0.05$),而恢复期的生物膜藻类以硅藻为主,较建设前和建设期的硅藻比例都有所升高。其原因主要可能是湿地恢复工程影响了水体的透明度,进而影响光照程度,生物膜在光照充分的情况下比较高,硅藻数目多。此外光照不仅会对生物膜组成结构产生直接的影响,还会通过影响其他环境因子进而使得生物膜群落发生改变^[17]。另一方面湿地恢复工程还会对水体的营养水平产生影响,进而影响藻类的生长,与其他藻类相比绿藻更适宜在中等营养状态下生长,在高营养条件下绿藻生长受到蓝藻的抑制,而随着氮磷和有机污染物大量降低,不能满足大多数绿藻的生长条件,因此绿藻比例在建设期中先升高后降低。不同的藻类含有不同的色素种类,其中,蓝藻门只含叶绿素 a,不含叶绿素 b、叶绿素 c;绿藻门含叶绿素 a 和叶绿素 b;硅藻门、甲藻门、金藻门均含叶绿素 a 和叶绿素 c^[15],因而叶绿素 b、叶绿素 c 从色素水平上也反应出了相同

的藻类结构变化。

胞外聚合物多糖含量和磷酸酶活性都与生物膜的细菌群落有密切关系。生物膜的微生物会分泌形成复杂的胞外聚合物(EPS),其中多糖占生物膜有机成分的 50% ~ 90%,因此多糖被认为是胞外聚合物的标志性成分。磷酸酶活性被认为可以反映相应环境中微生物可能进行的聚合物的降解和代谢^[8]。因此本研究中胞外聚合物多糖含量和磷酸酶活性变化,反映了由于湿地恢复而引起的细菌群落的变化。

综上所述,生物膜群落可对湿地恢复工程的主要干扰产生不同程度的响应,进而可利用生物膜对湿地恢复工程进行监测评价。

3.2 生物膜群落对水质因子的响应

由于邳海水体以营养元素和耗氧有机污染为主,因此选取包括 pH 值、T、Trans、COD、NH₄ - N、BOD₅、DO、F⁻ 和 TSI 共 9 个水质因子进行 RDA 分析,以确定生物膜群落特征与各水质因子的关系。由表 2 可见,水质因子对生物膜群落具有显著影响($P < 0.05$)。RDA 分析的前 2 个排序轴特征值分别为 0.407 和 0.344,共解释了 75.1% 的生物膜群落特征变化。

表 2 生物膜群落与主要水质因子关系的 RDA 排序结果

因子	第 1 排序轴	第 2 排序轴
pH 值	-0.676 3	0.477 8
T	0.066 8	0.795 0
Trans	-0.109 9	-0.925 8
COD	0.319 0	0.302 0
NH ₃ - N	-0.535 8	-0.025 0
BOD ₅	0.251 9	-0.121 2
DO	-0.006 5	-0.069 3
F ⁻	-0.081 3	-0.221 0
TSI	-0.021 1	0.353 6
特征值	0.407	0.344

从图 8 可见,对于第 1 排序轴 (Axis1),水质因子中 COD、BOD₅ 与生物膜群落呈正相关,而 pH、NH₄ - N、TSI 与 Axis1 呈负相关,这些水质因子都与营养状况有关,说明该特征轴反映邳海湿地的水质营养污染状况。其中叶绿素 a、蓝藻比例 (CYA) 受 pH、NH₄ - N、TSI 的影响较大,磷酸酶活性 (APA)、多糖含量 (PSC)、叶绿素 b、叶绿素 c 受有机物污染影响较大。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泛使用,在本研究中,叶绿素 a 浓度与水体营养指标呈正相关关系,硅藻比例与水体营养指标呈负相关关系,这与许多相关研究结果相同。第 2 排序轴 (Axis2) 与 T、pH 呈正相关,与 Trans、DO、F⁻ 呈负相关,该特征轴主要反映邳海湿地的物理因子。在高透明度 (Trans) 的条件下硅藻比例 (BAC)、其他藻类比例 (Others) 和叶绿素 c/叶绿素 a 会相对较高,而绿藻比例 (CHL)、AFDW 和 AI 与受温度影响显著。其中溶解氧 (DO) 与生物膜群落特征的相关性较弱。生物膜群落可以对各种污染物质产生响应,而在天然水体中加上有光照、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。在本研究中选定的水质因子可以解释生物膜群落变化的 75.1%,说明生物膜群落能够很好地响应水质因子的变化。

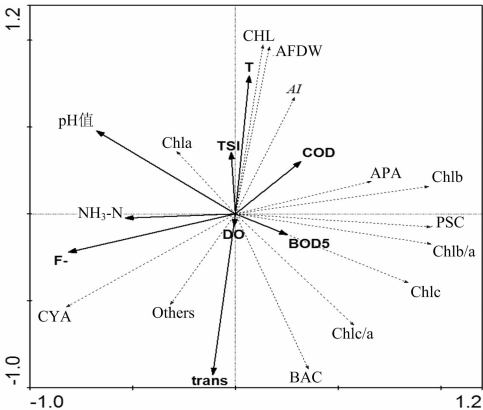


图 8 生物膜群落与水质因子的二维排序

4 结论

生物膜的结构和功能指标受湿地恢复工程的影响产生变化,其中叶绿素 a 浓度、硅藻比例和磷酸酶活性受建设影响出现显著降低,其他指标也有不同程度变化,可见湿地恢复工程

对藻类结构和细菌胞外酶活性影响最大,生物膜群落对于湿地恢复具有很好地响应。RDA 分析生物膜群落特征各指标与水质指标显著相关 ($P < 0.05$),生物膜群落能够很好地响应水质因子的变化。综上可见生物膜是湿地监测评价的适宜工具,可进一步筛选指标建立评价体系,应用到湿地恢复的监测评价中。本研究仅对区域湿地恢复工程进行了短期监测分析,邳海湿地恢复工程巨大,目前六期工程已基本全部完工,可为其分阶段长期通过生物膜法评价恢复效果提供依据。

参考文献:

[1] 崔丽娟,张曼胤,张 岩,等. 湿地恢复研究现状及前瞻[J]. 世界林业研究,2011,30(2):226-236.

[2] 王明春,杨月伟. 黄河三角洲湿地恢复对湿地鸟类群落的效应研究[D]. 曲阜:曲阜师范大学,2010.

[3] 崔丽娟,张曼胤,赵欣胜,等. 湿地恢复监测与管理方法探讨[J]. 世界林业研究,2011,24(3):1-5.

[4] 黄 翀,刘高焕,傅 新,等. 黄河三角洲刁口河流路湿地恢复遥感监测与评价[J]. 地理科学进展,2012,31(5):570-576.

[5] 毋兆鹏,金海龙,王范霞. 艾比湖退化湿地的生态恢复[J]. 水土保持学报,2012,26(3):211-215.

[6] 王慧亮,王学雷,莫明浩,等. 基于生态健康的洪湖湿地恢复评价[J]. 武汉大学学报:理学版,2010(5):557-563.

[7] 婧 玮,赵文武. 生态恢复评价研究进展与展望:第 5 届国际生态恢复学会大会会议述评[J]. 中国应用生态学报,2014,25(9):2716-2722.

[8] 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.

[9] Nocker A, Lepo J E, Martin L L, et al. Response of estuarine biofilm microbial community development to changes in dissolved oxygen and nutrient concentrations[J]. Microbial Ecology, 2007, 54(3):532-542.

[10] 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.

[11] 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.

[12] 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.

[13] 王雪梅. 白洋淀流域复合污染的生物膜监测方法适用性分析[J]. 农业环境科学学报,2014,33(9):1802-1809.

[14] 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.

[15] 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):275-80.

[16] Findlay S, Sinsabaugh R L. Large-scale variation in subsurface stream biofilms: a cross-regional comparison of metabolic function and community similarity[J]. Microbial Ecology, 2006, 52(3):491-500.

[17] 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.