环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社

2019

Vol.40 No.3

第40卷 第3期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第40卷 第3期
2019年3月15日

目 次

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第40卷 第3期 2019年3月
Vol. 40, No. 3 Mar., 2019

基于微生物生物完整性指数的城市河道生态系统健康评价

苏瑶, 许育新*, 安文浩, 王云龙, 何振超, 楼颖雯, 沈阿林
(浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所, 杭州 310021)

摘要: 生物完整性指数(index of biotic integrity, IBI)已被广泛运用于河流生态系统的健康评价. 然而, 目前基于微生物的IBI评价方法很少, 针对城市河道的相关研究更是缺乏. 本研究采用Illumina高通量测序技术, 对浙江省内5条城市河道的微生物群落多样性及组成进行了分析. 通过典型相关分析(canonical correlation analyses, CCA)和Spearman相关性分析水质对微生物组成的影响, 明确受水质变化影响显著的微生物类群,与特定功能菌群一并作为备选指标. 对备选指标进行分布范围、判别能力及Pearson相关性分析, 筛选出香农多样性指数、微生物分类单元数、疣微菌门相对丰度、绿菌门相对丰度和分支杆菌属相对丰度等参数指标, 初步构建了适合浙江城市河道的微生物生物完整性指数(microbiome index of biotic integrity, M-IBI)指标体系. 采用比值法对生物指标计分, 评价结果显示:总计22个样点中, 9个样点为"健康"等级, 占总样点的40.9%; 10个样点为"亚健康"等级, 占总样点的45.5%; 2个样点为"一般"等级, 占总样点的9.1%; 1个样点为"较差"等级, 占总样点的4.5%. 各采样点M-IBI值可有效反映水体受干扰程度, 且与水质状况基本吻合($R=0.753$, $P<0.01$), 表明M-IBI可以较合理地评价城市河道生态系统健康状况.

关键词:城市河道; 微生物群落; 生物完整性指数(IBI); 生态系统健康评价; 微生物生物完整性指数(M-IBI)
中图分类号: X826 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2019)03-1270-10 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201808032

Assessment of Ecosystem Health of an Urban River Based on the Microbe Index of Biotic Integrity (M-IBI)

SU Yao, XU Yu-xin*, AN Wen-hao, WANG Yun-long, HE Zhen-chao, LOU Ying-wen, SHEN A-lin
(Environmental Resources and Soil Fertilizer Research Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: The index of biotic integrity (IBI) has been widely used in river ecosystem health assessment. However, few studies have reported the application of microbial communities in ecosystem health assessment so far, especially for urban rivers. In this study, the Illumina high-throughput sequencing technique was applied to analyze the microbial community diversity and composition of five urban rivers selected in Zhejiang Province. Canonical correlation analyses (CCA) and Spearman correlation analysis were used to evaluate the relationship between each taxonomic group and the water quality properties to select the most sensitive taxonomic groups as candidate indexes. The functional metrics, including the relative abundance of pathogenic bacteria, pollutant-degrading bacteria, and nutrient cycling bacteria were also selected as candidate indexes. Based on the distribution range, discriminatory power, and Pearson's correlation analysis for candidate indexes, five metrics, including the Shannon-index, the number of microbial phyla, the relative abundance of Verrucomicrobia, Chlorobi, and *Mycobacterium* were selected to establish a biotic integrity index of microbes (M-IBI) evaluation system. A ratio score system was used to get metrics into a uniform score for all sampling points, and the results showed that among the urban river samples studied, most of them (40.9%) were at "Great" level, 45.5% were at "Good" level, 9.1% were at "Moderate" level, and 4.5% were at "Bad" level. The index of M-IBI effectively discriminated the least, medium, and highly impaired sampling points and provided a good match with the water quality ($R=0.753$, $P<0.01$), indicating that the M-IBI has potential as an index to evaluate the health of urban river ecosystems.

Key words: urban rivers; microbial community; index of biotic integrity (IBI); ecosystem health assessment; microbiome index of biotic integrity (M-IBI)

美国的《清洁水法》于1972年首次提出了河流健康的概念, 该法案认为物理、化学和生物的完整性是河流健康的标准, 其中完整性指维持生态系统的自然结构和功能的状态[1]. 水生物群落具有整合不同时间尺度上化学、物理和生物影响的功能, 利用生物评价水生态系统健康, 能反映多种生态胁迫对水环境的累积效应, 是人们认识水环境特点、预测环境质量变化的重要手段[2~4]. 近年来, 应用生物完整性指数(index of biotic integrity, IBI)已成为定量评价水生态健康的热门方法[4~6].

随着我国城市化进程的加快和经济的高速

收稿日期: 2018-08-03; **修订日期**: 2018-09-07
基金项目: 浙江省重点研发计划项目(2015C03004); 浙江省农业科学院扶持学科项目
作者简介: 苏瑶(1989~), 女, 博士, 主要研究方向为环境微生物生态, E-mail: stellasu@sina.com
* 通信作者, E-mail: lux_xu@sina.com

发展，城市河道生态系统受到来自人为干扰的压力日趋增强，其生态系统健康状况受到了严重影响，已成为制约城市可持续发展的瓶颈[7,8]. 因此，构建准确有效的城市河道生态系统健康评价指标体系和评价方法，将有助于城市河道生态系统功能现状的诊断和管理，进而实现城市河道的有效治理.

IBI 评价法是由多项度量指标复合而成，主要从生物类群的组成、多样性、结构和功能稳态能力等来反映生态系统的健康状况，定量描述生物特性与非生物因子的关系，建立对环境干扰敏感的生物参数，通过比较参数值与参考系统的标准值对生态系统健康水平进行评价[2,4~6]. 最初，IBI 是以鱼类[9~11]为研究对象建立的，随后扩展到底栖无脊椎动物[12~14]、着生藻类[15]、浮游生物[16~19]. 由于各个生物指标在获取和鉴定的难易程度、对水质干扰的响应敏感性等方面存在差异，影响了相关生物完整性指数的研究进展与应用. 目前，鱼类完整性指数和底栖无脊椎动物完整性指数的构建相对更为成熟，且被广泛应用于水生态健康研究中. 关于着生藻类和浮游植物完整性指数的应用近年来也在逐步兴起. 然而，作为水生态系统中数量最大和功能最多的群体——微生物，目前对其完整性指数评价体系的研究却非常有限. 实际上，微生物群落对环境干扰更为敏感[12,20]，其结构特征和功能状态可以充分反映水生态系统对污染输入胁迫的恢复力[3,6]. Carlisle 等[20]用试验证明了微生物群落的丰富度对水生态系统的干扰非常敏感. Kondratieff 通过在美国弗吉尼亚州长达一年的研究也发现，微生物群落会明显受到污水以及工业活动的影响，在参考点微生物以自养型为主，而在干扰点异养型微生物明显增加[12]. Lau 等[21]首次通过构建细菌群落指数对新西兰溪流生态系统健康进行了评价. 安新丽等[22]、Li 等[23]和 Niu 等[24]通过 Illumina 高通量测序技术，分析关键环境因子及耐受微生物分类属，构建了微生物生物完整性指数(microbe-index of biological integrity，M-IBI)的指标体系，成功应用于地下水、秦淮河和太湖流域生态系统健康状况评价. 这些研究表明 M-IBI 在水生态系统健康评价中的极大潜力，但相关研究仍十分缺乏，尤其是针对城市河道生态系统的 M-IBI 指数评价方法仍鲜有报道. 鉴于此，本文以城市河道为研究对象，通过构建 M-IBI 评价指标体系，探讨基于 M-IBI 的评价方法在城市河道生态系统健康评价中应用的可行性，以期为今后的相关研究提供科学依据，也为城市河道管理和整治提供支撑.

1　材料与方法

1.1　采样点设置

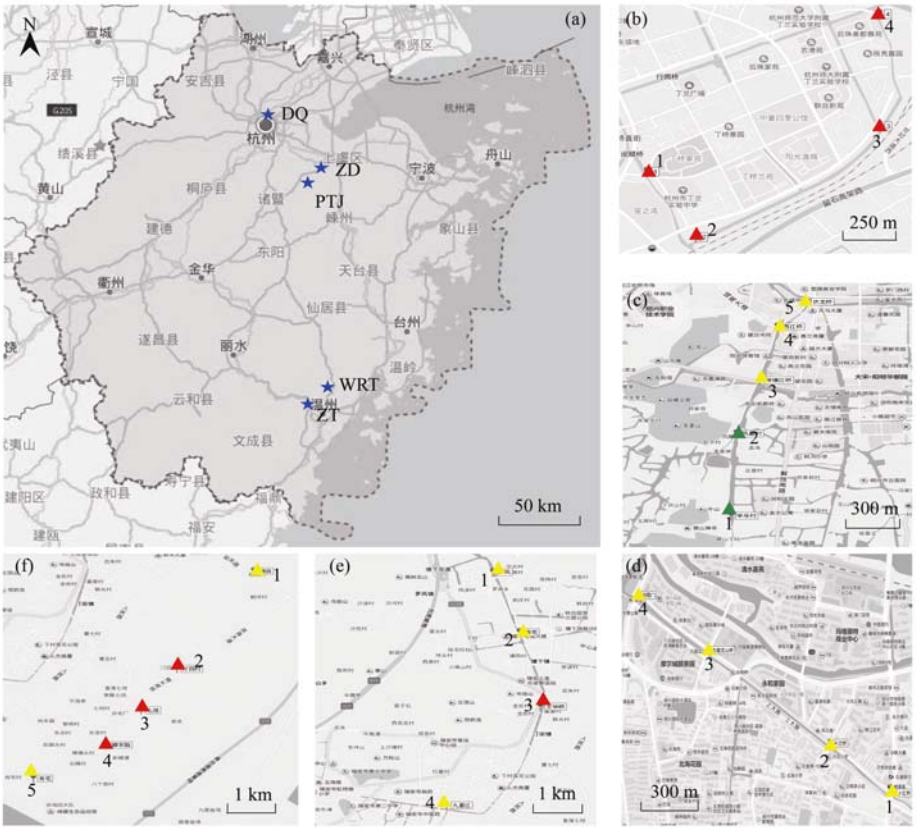
在浙江省杭州市、绍兴市和温州市共选择 5 条城市河道作为研究对象，并根据其河流流向在河道布设采样点. 其中，DQ 位于杭州市江干区(120°13′27″~120°14′19″ E，30°20′44″~30°21′36″ N)，设 4 个采样点；PTJ(120°34′12″~120°34′41″ E，29°56′39″~29°59′23″ N)和 ZD(120°31′1″~120°34′39″ E，30°0′29″~30°0′53″ N)均位于绍兴市越城区，各设 5 个和 4 个采样点；WRT(120°38′26″~120°41′25″ E，27°46′28″~29°49′58″ N)和 ZT(120°40′35″~120°44′16″ E，27°44′25″~27°48′34″ N)均位于温州市瑞安市，分设 4 个和 5 个采样点. 河道及采样点分布如图 1 所示.

1.2　样品采集与分析

2017 年 6~7 月对河道水样进行采集，每个采样点采集水样 2 L. 其中 1 L 水样密封装于塑料瓶，加氯仿低温保存，带回实验室进行水质指标分析，包括氨氮(NH_4^+-N)、总磷(TP)、高锰酸盐指数(MnO_4^-)和化学需氧量(COD)，测定方法参照文献[25]. 另外 1 L 装于无菌采样袋中，置于冰盒运回实验室，每个样品取 100 mL 水样经过 0.22 μm 的微孔滤膜进行抽滤，将抽滤后的膜保存于 −20℃冰箱备用. 此外，使用便携式 pH 仪、溶氧仪(YSI，Pro ODO，美国)现场测定水样的 pH、温度和溶解氧(DO).

将冷冻保存的 0.22 μm 的滤膜置于含玻璃珠的无菌离心管中，采用 MOBIO PowerWater® DNA 提取试剂盒，按操作说明步骤进行水样 DNA 的提取. 得到的 DNA 样品采用带有 barcode 序列的引物对(27 F 和 533 R)对细菌 16S rRNA 基因 V1~V3 区片段进行 PCR 扩增，经纯化后的 PCR 产物，采用 Illumina MiSeq PE300 高通量测序平台进行测序. PCR 及测序均由上海美吉生物医药科技有限公司完成.

测序结果利用 Mothur 软件进行处理，包括检测序列中引物和测序标签的匹配度、数据初步筛选、删除冗余序列、与 NCBI 数据库进行比对、删除非目标序列、检查和去除含有嵌合体的序列，处理完成后得到目标基因的高质量序列. 将所有高质量序列按照操作分类单元(operational taxonomic units，OTU)序列相似度 97% 进行聚类. 从序列中抽取每个 OTU 的代表序列，与已知的微生物的相关序列进行比对，确定微生物群落结构与组成. 利用 Mothur 软件计算 Shannon、Simpson、Chao 1、ACE 等 α 多



(a)为采样河道的整体分布；(b)、(c)、(d)、(e)和(f)分别为河道 DQ、PTJ、ZD、WRT 和 ZT 的各采样点分布，其中，绿色、黄色和红色三角分别表示干扰强度为低、中、高的采样点

图 1 采样河道整体分布及其采样点的布设

Fig. 1 Distribution of the studied rivers and the sampling points

样性指数.

1.3 M-IBI 评价体系的构建

1.3.1 参考点与污染点的区分

采用评分法选取参考点，将水样 DO、pH、NH_4^+-N、TP、COD、MnO_4^- 这 6 项因子，参照《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)，换算为无量纲水质得分，即达到 I、II、III、IV 和 V 类水标准，分别记为 5、4、3、2、1 分，未达 V 类水标准，计为 0 分，然后取各指标对应的等级分数的平均值作为采样点对应的水质得分. 水质得分大于 95% 分位数的点为低干扰强度点，即参考点，其他采样点设定为污染点. 其中，得分在 50% 与 95% 分位数之间的点为中等干扰强度点，得分小于 50% 分位数的点为较高干扰强度点.

1.3.2 备选生物指标的确定与筛选

本研究选取与微生物群落丰富度、结构、组成和功能相关的参数作为计算 M-IBI 的备选指标. 其中，与群落组成相关的参数选择，主要涉及优势种分布及与水质变化密切相关的微生物组成；与功能相关的微生物主要包括致病菌、污染物降解菌和参与营养物质代谢循环的菌属[23]. 通过采用典型相关分析(canonical correlation analyses, CCA)和 Spearman 相关性分析，明确显著影响河道微生物群落组成的水质指标及其与各类微生物间的相关系数及显著性. 其中，与关键水质指标显著相关的微生物组成可作为备选指标. 参照文献[8, 22]的方法，对备选指标进行干扰反应、判别能力分析和相关性分析，筛选出用以计算 M-IBI 的生物参数指标. 其中，判别能力分析根据各候选指标在参照点和污染点的 25% ~75% 分位数范围，比较箱体重叠情况，剔除中位数值在对方箱体范围内的指标；相关性分析中，采用 SPSS 20.0 对候选指标进行 Pearson 相关性分析，若两参数相关性指数 $|R| \geqslant 0.70$，表明二者所反映的信息重叠性较大，选择其中之一用于构建 M-IBI 评价体系.

1.3.3 M-IBI 指标的计分及评价标准

本研究采用比值法计算 M-IBI 值. 其中，对随干扰减小的指标，各指标的分值等于指标值除以所有点的 95% 分位数值；对随干扰增大的指标，以所有点的 5% 分位数值为最佳期望值进行计算，方法为：(最大值 - 指数值)/(最大值 - 5% 分位数值). 该法规定，经计算后的分值的分布范围为 0 ~ 1，若大于 1，则记为 1.

以参考点 IBI 值的 95% 分位数作为健康评价的

最佳值，低于该值的分布范围进行5 等分，靠近95%分位数的1 等分代表被测样点处于健康状态，随后依次是亚健康、一般、较差和极差的划分标准[22].

2　结果与分析

2.1　水质变化敏感的微生物

研究区各样点微生物信息通过高通量测序分析共获得833 574条序列，各样点微生物多样性及主要组成结果如表1 所示. 各河道样点之间存在明显差异，其中 DQ 的微生物多样性指数及 OTU 数量相对于其他河道较低.

各河道样点主要水质指标测定及得分计算结果如表2 所示. 22 个采样点的水质综合得分在 1.83 ~4.17，50% 和 95% 分位数分别为 3.00 和 4.16. 因此，水质综合得分 >4.16 的采样点 PTJ1 和 PTJ2 为低干扰点，即参考点；水质得分 3.00 ~4.16 和 <3.00的采样点分别为中等(12 个)和较高(8 个)干扰强度点，均为污染点，如图1 所示.

表1　各采样点水体微生物多样性及组成

Table 1　Microbial community diversity and composition in the studied urban river samples

采样点		Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao 指数	PD 指数	OTU	门类	群落组成(相对丰度)/%					
									变形菌门	放线菌门	拟杆菌门	蓝细菌门	疣微菌门	绿菌门
DQ	1	4.386	0.028	573.586	598.122	56.892	445	18	65.67	13.84	13.48	5.09	0.64	0.01
	2	4.017	0.037	477.815	492.500	43.619	356	16	51.60	14.55	22.84	10.49	0.12	0.00
	3	3.392	0.136	485.653	503.000	50.756	373	16	19.39	14.02	11.88	51.43	1.19	0.00
	4	2.700	0.256	452.741	452.068	44.453	335	13	21.02	12.11	7.54	55.59	0.36	0.00
PTJ	1	3.468	0.134	633.530	620.042	63.795	481	14	20.42	19.39	11.48	37.76	4.52	0.89
	2	2.762	0.293	607.620	615.571	62.525	472	16	10.82	17.09	6.87	58.42	1.31	0.98
	3	3.274	0.155	693.940	722.400	67.297	534	16	22.00	21.4	8.6	42.17	2.19	0.26
	4	3.666	0.119	776.045	764.111	80.625	593	20	28.40	20.89	6.78	38.19	1.00	0.19
	5	3.834	0.113	899.038	923.209	87.793	710	19	32.46	15.34	6.24	37.57	0.95	0.25
ZD	1	4.537	0.039	977.543	998.098	100.262	785	23	36.36	19.68	12.76	19.62	2.03	0.37
	2	4.445	0.033	821.991	796.143	81.811	641	21	45.73	19.9	13.47	13.09	1.67	0.25
	3	4.364	0.034	757.466	746.523	70.229	593	17	45.98	24.58	9.74	12.00	1.88	0.37
	4	4.391	0.033	1 004.805	862.821	79.733	647	20	47.85	24.91	8.64	10.52	1.88	0.14
WRT	1	4.371	0.044	778.236	776.034	68.121	605	17	55.57	27.04	3.34	6.26	1.40	0.46
	2	4.463	0.036	897.831	911.523	78.014	666	18	54.96	26.98	3.63	4.98	1.49	0.45
	3	4.308	0.046	825.395	824.229	78.135	601	18	64.28	23.33	3.45	3.26	1.01	0.24
	4	4.700	0.023	921.945	891.709	78.653	696	18	53.31	30.56	3.13	5.35	0.87	0.30
ZT	1	4.682	0.023	823.107	828.118	72.706	649	17	49.73	32.47	4.52	4.65	1.16	0.16
	2	4.977	0.015	881.885	882.567	83.806	709	19	40.36	34.67	6.39	4.43	0.71	0.11
	3	4.872	0.016	841.600	852.034	79.168	679	18	40.51	31.93	7.01	5.21	1.24	0.25
	4	4.514	0.027	779.787	778.444	68.795	633	17	44.30	30.22	12.50	3.79	2.23	0.01
	5	4.972	0.015	914.492	930.495	83.116	729	19	44.58	31.75	5.17	5.58	1.17	0.22

采用 CCA 分析微生物群落结构变化与水质指标间的关系，结果显示 CCA-1 轴和 CCA-2 轴对微生物群落分布的解释率分别为 33.12% 和 17.41%(图2). 蒙特卡罗置换检验表明水样 pH、DO、NH_4^+-N、TP、MnO_4^- 和 COD 含量均与微生物群落分布具有显著相关关系($P<0.05$).

进一步地，分析这些水质指标与各个微生物类群之间的 Spearman 相关性，如图3 所示，结果表明 Bacteroidetes(拟杆菌门)和 Cyanobacteria(蓝细菌门)的相对丰度与 DO、MnO_4 和 COD 含量呈显著正相关($P<0.05$)，而 Actinobacteria(放线菌门)和 Chloroflexi(绿弯菌门)相对丰度则与 DO、MnO_4^- 和 COD 含量呈显著负相关关系($P<0.05$). 此外，Verrucomicrobia(疣微菌门)和 Chlorobi(绿菌门)则与NH_4^+-N和 TP 含量呈显著负相关关系($P<0.05$)；Firmicutes(厚壁菌门)则与水体 pH 呈显著负相关关

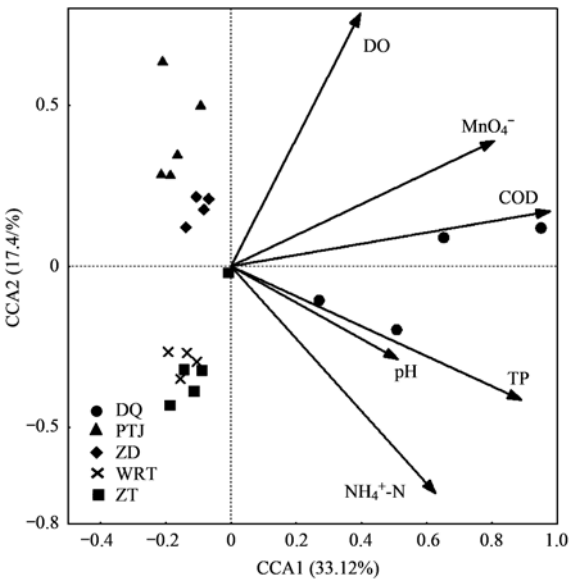


图2　微生物群落分布变化与环境因子相关的 CCA 分析

Fig. 2　Canonical correlation analysis of microbial community distribution variation and environmental factors

表 2 各采样点主要水质参数及得分

Table 2 Main chemical and physical properties and scores of each sampling point

采样点		水质参数						水质得分						
		pH	DO /mg·L^{-1}	NH_4^+-N /mg·L^{-1}	TP /mg·L^{-1}	MnO_4^- /mg·L^{-1}	COD /mg·L^{-1}	pH	DO	NH_4^+-N	TP	MnO_4^-	COD	综合得分
DQ	1	7.85	6.60	2.98	0.41	4.00	26.00	5.00	4.00	0.00	0.00	4.00	2.00	2.50
	2	7.69	6.10	4.04	0.53	4.80	33.00	5.00	4.00	0.00	0.00	3.00	1.00	2.17
	3	7.71	6.70	3.09	0.50	5.30	39.00	5.00	4.00	0.00	0.00	3.00	1.00	2.17
	4	8.14	7.20	4.41	0.63	8.00	44.00	5.00	4.00	0.00	0.00	2.00	0.00	1.83
PTJ	1	7.72	6.62	0.27	0.07	4.12	15.00	5.00	4.00	4.00	4.00	3.00	5.00	4.17
	2	7.73	9.70	0.59	0.06	4.44	13.00	5.00	5.00	3.00	4.00	3.00	5.00	4.17
	3	7.74	4.70	0.39	0.04	3.04	11.00	5.00	2.00	4.00	4.00	4.00	5.00	4.00
	4	7.51	6.68	0.51	0.11	3.42	14.00	5.00	4.00	3.00	3.00	4.00	5.00	4.00
	5	7.46	6.39	0.68	0.11	3.34	12.00	5.00	4.00	3.00	3.00	4.00	5.00	4.00
ZD	1	7.48	4.30	0.61	0.19	4.48	13.00	5.00	2.00	3.00	3.00	3.00	5.00	3.50
	2	7.40	4.50	0.65	0.19	4.52	14.00	5.00	2.00	3.00	3.00	3.00	5.00	3.50
	3	7.50	4.60	0.67	0.21	4.54	11.00	5.00	2.00	3.00	2.00	3.00	5.00	3.33
	4	7.45	5.30	0.68	0.20	4.62	13.00	5.00	3.00	3.00	3.00	3.00	5.00	3.67
WRT	1	7.82	3.66	2.22	0.22	2.90	8.00	5.00	2.00	0.00	2.00	4.00	5.00	3.00
	2	7.71	3.34	2.10	0.27	2.60	10.00	5.00	2.00	0.00	2.00	4.00	5.00	3.00
	3	7.69	2.93	2.30	0.25	2.90	11.00	5.00	1.00	0.00	2.00	4.00	5.00	2.83
	4	7.74	3.19	2.42	0.22	2.80	10.00	5.00	2.00	0.00	2.00	4.00	5.00	3.00
ZT	1	7.89	4.98	2.85	0.21	4.00	14.00	5.00	2.00	0.00	2.00	4.00	5.00	3.00
	2	7.82	2.96	2.93	0.26	3.40	10.00	5.00	1.00	0.00	2.00	4.00	5.00	2.83
	3	7.65	2.56	3.30	0.27	3.50	6.00	5.00	1.00	0.00	2.00	4.00	5.00	2.83
	4	7.65	2.71	2.92	0.22	2.90	9.00	5.00	1.00	0.00	2.00	4.00	5.00	2.83
	5	7.82	3.80	3.06	0.30	3.20	10.00	5.00	2.00	0.00	2.00	4.00	5.00	3.00

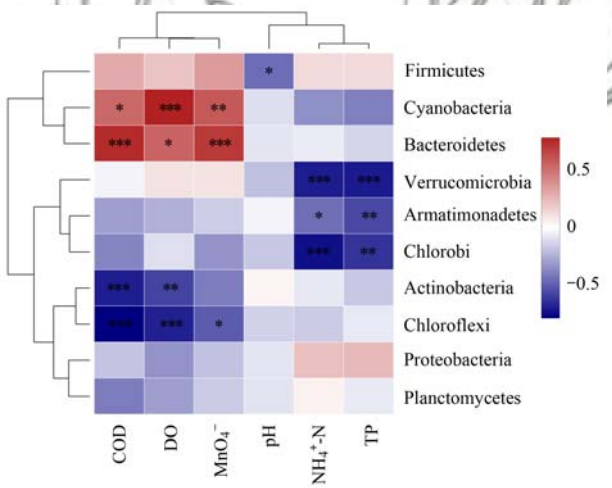


图 3 微生物门水平组成(前 10 个)与水质指标的 Spearman 相关性分析

Fig. 3 Spearman correlation analysis between microbial community phylum composition (top 10) and water quality index

系($P<0.05$). 因此, 将这些与主要水质指标呈显著相关性的微生物组成纳入后续评价的备选指标.

2.2 备选指标的筛选

本研究选用可以反映河道微生物群落多样性、结构和功能, 同时可反映水质变化的相关微生物组成作为河道微生物的生物完整性指数(M-IBI)备选参数, 共确立备选参数 22 个, 如表 3 所示. 通过对备选参数进行敏感性和独立性检验, 获得可以参与计算 M-IBI 的 5 个生物参数(图 4 和表 4), 即 Shannon 指数(M1)、微生物分类单元数(M6)、疣微菌门相对丰度(M11)、绿菌门相对丰度(M14)和分支杆菌属相对丰度(M17).

2.3 M-IBI 指标体系评价及评价结果

将筛选出的指标采用比值法计算各指标分值, 计算如表 5 所示.

确定比值法的 M-IBI 指标体系评价标准(表 6), 进而得出本次试验所有采样点微生物生物完整性评分及健康评价(表 7), 结果显示根据水质得分选定的参考点 PTJ-1 和 PTJ-2 均为"健康"状态, 其他污染点评价结果为 7 个样点的水生态系统为"健康"状态, 10 个样点为"亚健康", 2 个样点为"一般", 1 个样点为"较差". 采样河道 M-IBI 值结果显示, 河流上游采样点 M-IBI 值均高于下游采样点, 上游水质健康等级也相对更高.

2.4 M-IBI 对于干扰的灵敏性

根据各采样点的水质得分, 对其干扰强度进行了划分. 其中, 干扰强度较低的点为采样点 PTJ-1 和 PTJ-2; 干扰强度为中等的点总共 12 个, 包括 PTJ-3、PTJ-4、PTJ-5、ZD-1、ZD-2、ZD-3、ZD-4、WRT-1、WRT-2、WRT-4、ZT-1 和 ZT-4; 其余采样点为水质干扰较强的点(图 1). M-IBI 评价结果显

表 3　M-IBI 备选指标描述及对干扰的反映

Table 3　Description of candidate metrics for M-IBI and their expected direction of response to disturbance

指标代码	备选指标	对干扰的反映	指标代码	备选指标	对干扰的反映
M1	Shannon 指数	下降	M12	绿弯菌门相对丰度	下降
M2	Simpson 指数	下降	M13	装甲菌门相对丰度	下降
M3	Ace 指数	下降	M14	绿菌门相对丰度	下降
M4	Chao 指数	下降	M15	*Methyloversatilis* 相对丰度	上升
M5	PD 指数	下降	M16	*Anaerolinea*(厌氧绳菌属)相对丰度	上升
M6	微生物分类单元数(门)	下降	M17	*Mycobacterium*(分支杆菌属)相对丰度	上升
M7	微生物物种总数(OTU)	下降	M18	*Nitrosomonas*(亚硝化单胞菌属)相对丰度	上升
M8	放线菌门相对丰度	下降	M19	*Nitrospira*(硝化螺菌属)相对丰度	上升
M9	蓝细菌门相对丰度	上升	M20	*Sulfurimonas*(硫单胞菌属)相对丰度	上升
M10	拟杆菌门相对丰度	上升	M21	*Clostridium*(梭菌属)相对丰度	上升
M11	疣微菌门相对丰度	下降	M22	*Salmonella*(沙门氏菌属)相对丰度	上升

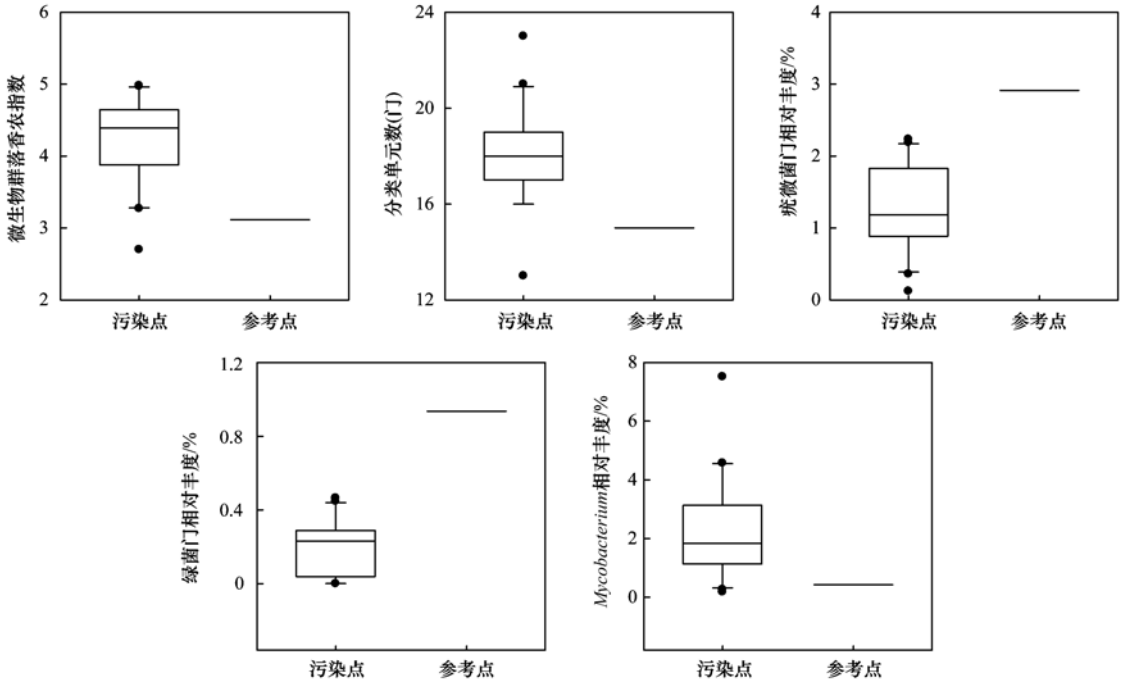


图 4　M-IBI 指标在参考点与污染点的箱线图

Fig. 4　Discriminatory power of selected metrics for reference and impaired sites using box and whisker plots

表 4　M-IBI 指标的 Pearson 相关性分析[1)]

Table 4　Pearson's coefficient of correlation between nine candidate biological metrics

备选指标	M1	M6	M11	M14
M1	1			
M6	0.594 **	1		
M11	−0.032	−0.017	1	
M14	−0.497 *	−0.396	0.528 *	1
M17	−0.051	−0.061	−0.285	−0.327

1) * 表示 $P<0.05$，* * 表示 $P<0.01$

表 5　5 个 M-IBI 指标在采样点中的分布及其生物指数计算公式

Table 5　Distribution of the five metrics at all sampling points and formulas for calculating their relative scores

指标	5% 分位数	95% 分位数	最大值	计算公式
M1	2.786	4.853	4.980	M1/4.853
M6	14	20	23	M3/20
M11	0.37%	2.17%	4.52%	M8/2.17%
M14	0.00%	0.46%	0.98%	M12/0.46%
M17	0.26%	4.56%	7.51%	(7.51% − M17)/(7.51% − 0.26%)

1) M1 和 M6 表示 Shannon 指数和分类单元数；M11、M14 和 M17 分别表示疣微菌门、绿菌门和分支杆菌属的相对丰度

示干扰强度较低的点均为“健康”等级；中度干扰的点中包括 7 个“健康”和 5 个“亚健康”状态；干扰强度高的点中包括 1 个“较差”，2 个“一般”，5 个“亚健康”状态. 将不同干扰程度的采样点的 M-IBI 值分布范围进行分析，结果显示 M-IBI 值可有效区分干扰强度低、中、高的采样点(图 5)，表明本研究构建的 M-IBI 指数可较为灵敏地反映水体承受的环境压力. 此外，采用线性回归分析 M-IBI 值与水质得分间的关系，结果显示各采样点 M-IBI 指数与其水质得分匹配度较高($R = 0.753$，$P < 0.01$)(图 6)，表明 M-IBI 指数可较准确地反映水质情况.

表 6 研究区基于 M-IBI 指数的城市河道生态系统健康评价标准

Table 6 Urban river ecosystem health assessment criteria based on the M-IBI index

M-IBI 指数值	健康等级
3.472 ~ 4.339	健康
2.604 ~ 3.472	亚健康
1.736 ~ 2.604	一般
0.868 ~ 1.736	较差
< 0.868	极差

表 7 各采样点 M-IBI 法评价结果

Table 7 M-IBI results for the sampling points

采样点		单个生物指数值					M-IBI	健康状况
		M1	M6	M11	M14	M17		
DQ	1	0.884 2	0.859 2	0.287 8	0.012 5	0.923 4	2.967	亚健康
	2	0.809 7	0.763 7	0.054 5	0.005 6	0.888 2	2.522	一般
	3	0.682 8	0.763 7	0.535 1	0.000 0	0.406 4	2.388	一般
	4	0.543 8	0.620 5	0.161 5	0.000 0	0.000 0	1.326	较差
PTJ	1[1)]	0.698 9	0.668 3	1.000 0	1.000 0	0.997 4	4.365	健康
	2[1)]	0.555 9	0.763 7	0.586 1	1.000 0	0.957 4	3.863	健康
	3	0.658 6	0.763 7	0.981 3	0.295 7	1.000 0	3.699	健康
	4	0.739 2	0.954 7	0.446 0	0.218 8	1.000 0	3.359	亚健康
	5	0.771 4	0.906 9	0.426 1	0.294 3	0.777 0	3.176	亚健康
ZD	1	0.914 4	1.000 0	0.909 0	0.427 2	0.625 8	3.876	健康
	2	0.896 3	1.000 0	0.749 7	0.289 0	0.684 2	3.619	健康
	3	0.878 1	0.811 5	0.843 5	0.423 2	0.603 7	3.560	健康
	4	0.884 2	0.954 7	0.843 6	0.161 1	0.424 8	3.268	亚健康
WRT	1	0.880 2	0.811 5	0.629 2	0.536 4	0.836 7	3.694	健康
	2	0.898 3	0.859 2	0.665 9	0.516 7	0.788 4	3.728	健康
	3	0.868 1	0.859 2	0.451 0	0.280 8	0.895 4	3.354	亚健康
	4	0.946 6	0.859 2	0.387 7	0.347 6	0.793 4	3.335	亚健康
ZT	1	0.908 4	0.811 5	1.000 0	0.015 5	0.857 3	3.593	健康
	2	0.980 9	0.859 2	0.555 0	0.291 5	0.737 4	3.424	亚健康
	3	0.942 6	0.811 5	0.518 5	0.190 2	0.793 7	3.256	亚健康
	4	1.000 0	0.906 9	0.316 4	0.132 8	0.491 4	2.847	亚健康
	5	1.000 0	0.906 9	0.522 6	0.253 9	0.607 7	3.291	亚健康

1)表示根据水质得分选定的参考点

3 讨论

3.1 参考点的选择依据

参考点的选择是影响 IBI 评价结果的主要影响因素之一[4~6, 26]. 在参考点的确定上，应选择未受人类活动干扰或干扰极小的样点，但在具体操作过程中并无统一的标准. 目前，常采用专家经验法[9]、两两比较法[27]、评分法[28]和采用历史状态作为参照[29]等方法. 相较而言，专家经验法具有较大的主观性和随机性，且不适用于人类活动频繁的区域；两两比较法指在确保位点形态学(如地形地貌、河流类型、气候等)可比性的基础上，对每个候选指标，将两两位点的参数相比较，优者靠前排序计分，所有候选指标分数最低位点作为参考位点，即将在现实中状态相对最佳的点作为参照，更强调调研对象之间的相对健康状态的差距；评分法则受确定的评分标准的影响较大.

综合比较现有的参考点设定方法，本研究采用评分法选取参考位点. 通过参照《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)中的水质等级标准，对各个采样点主要水质指标进行 1 ~ 5 分的赋值(得分越高，水质越好)，平均得分在 95% 分位数以上的样点作为参考点. 类似地，Li 等[23]在研究中选择以 75% 分位数得分作为划分中低干扰点的标准，即水质得分高于 75% 分位数的点定位参考点. 相较而言，本文对于参考点的选取相对更为严格，能有效

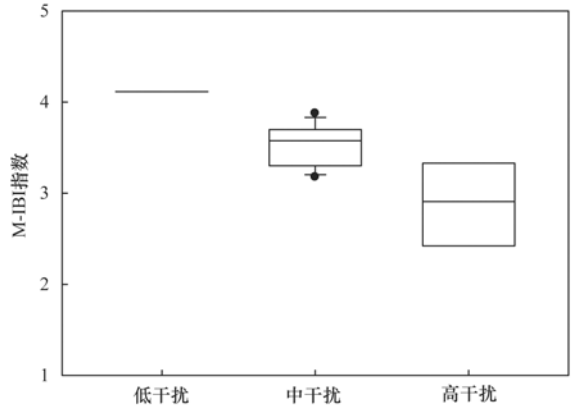


图 5　M-IBI 值区分采样点受干扰程度的敏感性

Fig. 5　Sensitivity of the M-IBI to discriminate the least, medium and highly impaired sampling points

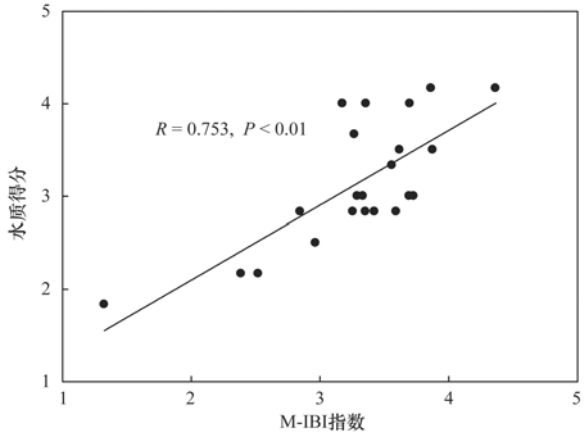


图 6　M-IBI 与水质等级指数间的线性回归分析

Fig. 6　Analysis of linear regression for M-IBI and the water quality index

区分采样点的受干扰程度. 但是, 由于本研究中采集样点数有限, 得到的参考点数量较少, 在一定程度上对于评价标准的制定仍存在一定影响. 因此, 后续在针对城市河道健康评价过程中, 应在河道上游, 即人为干扰相对较少的河段多布设采样点, 以确保参考点的数量, 提高定性评价的准确性.

3.2　构建 M-IBI 指数的技术支撑

随着城市化进程的加快, 城市河道中生产者和消费者, 如浮游植物、鱼类和底栖动物等的生物多样性大幅下降[30], 限制了以这类生物完整性指数进行城市河道健康评价的应用[23]. 相较而言, 水体生态系统中的微生物, 作为水体自我净化的基础, 其组成更为丰富[23]. 过去, 传统的微生物学分析手段只能简单地统计真菌、细菌和放线菌等三大类微生物群体, 无法统计不可培养的微生物群落结构, 而这类未培养微生物占据环境微生物总量的 99% 以上. 目前, 随着现代分子生物学技术的发展, 相较于其他大型生物指标的获取, 更丰富和完整的水环境微生物信息可更省时省力地获取与分析, 这使得基于微生物群落的 M-IBI 评价水生态系统健康成为可能[21, 22].

此外, 微生物群落特性与水生态环境具有高度相关性, 微生物的变化比水文地球化学指标的变化更为敏感, 其结构特征和功能状态可以反映水体生态系统对污染输入胁迫的恢复力[3, 6, 12, 20, 22]. 安新丽等[22]、Li 等[23] 和 Niu 等[24] 借助 Illumina 高通量测序技术, 通过分析关键环境因子及耐受微生物类群, 构建了 M-IBI 指标体系, 成功应用于评价地下水、秦淮河和太湖流域生态系统的健康状况. 本研究结合 Illumina 高通量技术, 通过 CCA 分析和 Spearman 相关性分析, 量化水质主要指标与微生物类群的关联, 进而确定 M-IBI 指标体系和评价标准. 评价结果表明采样河道上游水质评价结果基本较下游好, 主要与河道下游更强的人为干扰有关. 分布分析和回归分析结果显示, M-IBI 值能较为灵敏地反映水体受干扰程度及水质情况. 有关 M-IBI 值对于采样点受干扰程度的敏感性的结果显示, 2 个低干扰点均为健康状态; 12 个中度干扰点中, 7 个点为健康状态, 5 个点为亚健康状态; 8 个较强干扰点中包含了 1 个较差、2 个一般、5 个亚健康, 表明部分水质干扰为中等或较强的点, M-IBI 评价结果仍显示为健康或亚健康状态, 主要原因包括: ①评价河流生态系统健康的指标除水质方面外, 还包括水文、地貌、其他水生生物等方面; ②水质指标是瞬时数据, 微生物群落对水体环境压力的响应往往相对滞后; ③微生物作为河道生态系统中的一个生物类群, 并不能准确反映河流生态系统健康状况, 仍需结合河道水文、地貌、水质等参数和其他生物完整性指数等, 以期更准确地把握生态系统健康状况. 此外, 水质无量纲处理方法相对较为粗放, 导致干扰程度划分的准确性受到影响; 而 M-IBI 健康等级划分中以 95% 分位数作为标准, 采用 5 段平均分配的方法可能较为宽松, 后续还需进一步优化水质评分的方法及基于 M-IBI 指数的健康等级标准划分方法.

3.3　M-IBI 指数的计算方法

目前, 国内外应用 M-IBI 进行水生态系统健康评价的研究还非常缺乏, 可参考的资料非常少. 本研究将 M-IBI 引入城市河道生态系统健康评价, 从参考点和评价指标的确定, 及评分方法和评价标准的划分等方面均需要进一步地探究.

IBI 研究中应用较多的指数计算方法有 1、3、5 赋值法、连续赋值法和比值法. 利用底栖动物评价水体生态系统多采用 3 分制法和 4 分制法[13]. 谭巧等[19] 在应用浮游植物生物完整性指数评价长江上

游河流健康中发现，4 分制法和比值法在划分评价等级上相对 3 分制法更为细致，评价结果也相对更精确. 根据对河流健康状况的期望不同，可选择不同的计算方法，但总体上比值法的使用最多，且具有较高的准确度. 安新丽等[22]采用比值法进行了 M-IBI 指数的计算和评价标准的划分，得到的结果能准确反映研究区域的健康状况. 本研究采用比值法计算 M-IBI 值，以 95% 分位数为评价标准进行的采样河道健康状况评价结果表明该计算方法和评价标准基本能较准确反映采样河道的实际状况，但后续还需进一步优化健康等级划分方法，以更准确反映水体受到干扰的强弱.

目前，在 M-IBI 评价指标的确定过程中，多是基于微生物群落多样性和组成等参数，但由于存在更大部分的微生物组成的功能还尚不清楚，因此，很难判断具体的微生物类群在水生态环境自净过程中的作用. 本研究通过分析水质指标与各类微生物组成间的相关性来确定评价指标，尽管为基于 M-IBI 评价水生态系统健康提供了思路，但后续仍需进一步优化生物参数和评价方法，并通过宏基因组测序等更先进的分子生物学技术，从基因水平进一步明确各项指标的地球生物化学意义，为城市河道的监管、治理等提供理论和技术支撑.

4 结论

通过 CCA 和 Spearman 相关性分析、生物参数分布范围、判别能力和 Pearson 相关性分析，构建了适合浙江城市河道健康评价的 M-IBI 指标体系，即 Shannon 多样性指数、微生物分类单元数、疣微菌门相对丰度、绿菌门相对丰度和分支杆菌属相对丰度 5 个指标. 根据参考点 M-IBI 的 95% 分位数作为健康评价标准，确定 M-IBI 评价等级，即 M-IBI 值为 3.472 ~ 4.339、2.604 ~ 3.472、1.736 ~ 2.604、0.868 ~ 1.736 和 <0.868 时，分别为健康、亚健康、一般、较差和极差水平. 结合对各河道理化参数基础上的水质情况分析，发现 M-IBI 可以较合理地评价城市河道生态系统健康状况，但仍需在未来研究中进一步的优化完善.

参考文献：

[1] Karr J R. Defining and measuring river health[J]. Freshwater Biology, 1999, **41**(2): 221-234.

[2] Karr J R. Defining and assessing ecological integrity: beyond water quality[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1993, **12**(9): 1521-1531.

[3] 廖静秋，黄艺. 应用生物完整性指数评价水生态系统健康的研究进展[J]. 应用生态学报，2013，**24**(1)：295-302.
Liao J Q, Huang Y. Research progress on using index of biological integrity to assess aquatic ecosystem health[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, **24**(1): 295-302.

[4] Barbour M T, Gerritsen J, Snyder B D, *et al*. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish (2nd ed.)[M]. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, 1999. 1-8.

[5] 孔红梅，赵景柱，姬兰柱，等. 生态系统健康评价方法初探[J]. 应用生态学报，2002，**13**(4)：486-490.
Kong H M, Zhao J Z, Ji L Z, *et al*. Assessment method of ecosystem health[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002, **13**(4): 486-490.

[6] 王为木，蔡旺炜. 生物完整性指数及其在水生态健康评价中的应用进展[J]. 生态与农村环境学报，2016，**32**(4)：517-524.
Wang W M, Cai W W. Index of biotic integrity and its application to aquatic ecological health assessment[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2016, **32**(4): 517-524.

[7] 宋庆辉，杨志峰. 对我国城市河流综合管理的思考[J]. 水科学进展，2002，**13**(3)：377-382.
Song Q H, Yang Z F. Thinking of integrated management of urban rivers in China[J]. Advances in Water Science, 2002, **13**(3): 377-382.

[8] 姜文超，饶碧华，张智，等. 山地城市河流健康内涵及评价[J]. 土木建筑与环境工程，2009，**31**(3)：104-108.
Jiang W C, Rao B H, Zhang Z, *et al*. Mountainous urban river health: the concept and its assessment[J]. Journal of Civil, Architectural & Environmental Engineering, 2009, **31**(3): 104-108.

[9] Karr J R. Assessment of biotic integrity using fish communities[J]. Fisheries, 1981, **6**(6): 21-27

[10] 朱迪，陈锋，杨志，等. 基于鱼类生物完整性指数的水源地评价[J]. 水生态学杂志，2012，**33**(2)：1-5.
Zhu D, Chen F, Yang Z, *et al*. Assessment of drinking water source with fish index of biotic integrity (F-IBI)[J]. Journal of Hydroecology, 2012, **33**(2): 1-5.

[11] 朱迪，杨志. 鱼类生物完整性指标在河流健康管理中的应用[J]. 人民长江，2013，**44**(15)：65-68.
Zhu D, Yang Z. Application of fish index of biotic integrity in river health management[J]. Yangtze River, 2013, **44**(15): 65-68.

[12] Kondratieff P F, Matthews R A, Buikema A L Jr. A stressed stream ecosystem: macroinvertebrate community integrity and microbial trophic response[J]. Hydrobiologia, 1984, **111**(2): 81-91.

[13] 王备新. 大型底栖无脊椎动物水质生物评价研究[D]. 南京：南京农业大学，2003.
Wang B X. Water quality bioassessment using benthic macroinvertebrates[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003.

[14] 陈凯，于海燕，张汲伟，等. 基于底栖动物预测模型构建生物完整性指数评价河流健康[J]. 应用生态学报，2017，**28**(6)：1993-2002.
Chen K, Yu H Y, Zhang J W, *et al*. Predictive model based multimetric index of macroinvertebrates for river health assessment[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, **28**(6): 1993-2002.

[15] Jungwirth M, Muhar S, Schmutz S. Assessing the ecological integrity of running waters, proceedings of the international conference[J]. Hydrobiologia, 2000, **422-423**: 245-256.

[16] Griffith M B, Hill B H, McCormick F H, *et al*. Comparative application of indices of biotic integrity based on periphyton,

macroinvertebrates, and fish to southern Rocky Mountain streams [J]. Ecological Indicators, 2005, **5**(2): 117-136.

[17] Kane D D, Gordon S I, Munawar M, *et al*. The planktonic index of biotic integrity (P-IBI): an approach for assessing lake ecosystem health[J]. Ecological Indicators, 2009, **9**(6): 1234-1247.

[18] 沈强, 俞建军, 陈晖, 等. 浮游生物完整性指数在浙江水源地水质评价中的应用[J]. 水生态学杂志, 2012, **33**(2): 26-31.
Shen Q, Yu J J, Chen H, *et al*. Planktonic index of biotic integrity (P-IBI) for water source assessment[J]. Journal of Hydroecology, 2012, **33**(2): 26-31.

[19] 谭巧, 马芊芊, 李斌斌, 等. 应用浮游植物生物完整性指数评价长江上游河流健康[J]. 淡水渔业, 2017, **47**(3): 97-104.
Tan Q, Ma Q Q, Li B B, *et al*. Ecological health assessment of the upper reaches of the Yangtze River, based on biotic integrity index of phytoplankton[J]. Freshwater Fisheries, 2017, **47**(3): 97-104.

[20] Carlisle D M, Clements W H. Sensitivity and variability of metrics used in biological assessments of running waters[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, **18**(2): 285-291.

[21] Lau K E M, Washington V J, Fan V, *et al*. A novel bacterial community index to assess stream ecological health [J]. Freshwater Biology, 2015, **60**: 1988-2002.

[22] 安新丽, 陈廷廷, 赵晗, 等. 基于微生物生物完整性指数的地下水生态系统健康评价: 以包钢稀土尾矿库周边地下水生态系统为例[J]. 环境科学, 2016, **37**(9): 3413-3422.
An X L, Chen T T, Zhao H, *et al*. Assessment of ecosystem health of Baogang tailings groundwater based on microbiome index of biotic integrity (M-IBI)[J]. Environmental Science, 2016, **37**(9): 3413-3422.

[23] Li J, Li Y, Qian B, *et al*. Development and validation of a bacteria-based index of biotic integrity for assessing the ecological status of urban rivers: a case study of Qinhuai River basin in Nanjing, China [J]. Journal of Environmental Management, 2017, **196**: 161-167.

[24] Niu L H, Li Y, Wang P F, *et al*. Development of a microbial community-based index of biotic integrity (MC-IBI) for the assessment of ecological status of rivers in the Taihu Basin, China [J]. Ecological Indicators, 2018, **85**: 204-213.

[25] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.

[26] Stoddard J L, Larsen D P, Hawkins C P, *et al*. Setting expectations for the ecological condition of streams: the concept of reference condition[J]. Ecological Applications, 2006, **16**(4): 1267-1276.

[27] Böhmer J, Rawer-Jost C, Zenker A. Multimetric assessment of data provided by water managers from Germany: assessment of several different types of stressors with macrozoobenthos communities[J]. Hydrobiologia, 2004, **516**(1-3): 215-228.

[28] Pont D, Hugueny B, Beier U, *et al*. Assessing river biotic condition at a continental scale: a European approach using functional metrics and fish assemblage[J]. Journal of Applied Ecology, 2006, **43**(1): 70-80.

[29] 朱迪, 常剑波. 长江中游浅水湖泊生物完整性时空变化[J]. 生态学报, 2004, **24**(12): 2761-2767.
Zhu D, Chang J B. Evaluation on temporal and spatial changes of biological integrity for shallow lakes in the middle reach of the Yangtze River[J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, **24**(12): 2761-2767.

[30] McKinney M L. Urbanization, biodiversity, and conservation: the impacts of urbanization on native species are poorly studied, but educating a highly urbanized human population about these impacts can greatly improve species conservation in all ecosystems [J]. BioScience, 2002, **52**(10): 883-890.

HUANJING KEXUE Vol. 40 No. 3
Environmental Science (monthly) Mar. 15, 2019

CONTENTS