

目次

“大气十条”实施期间南京市 PM _{2.5} 化学组成与来源的演变特征	陈培林, 郭蓉, 王勤耕 (1)
河南省北部区域霾污染过程中城市和农村点位 PM _{2.5} 组分差异	王申博, 王玲玲, 范相阁, 王楠, 马双良, 张瑞芹 (11)
廊坊市秋冬季大气细颗粒物污染特征及来源解析	朱淑贞, 佟洁, 鲍丰, 孙浩 (20)
天津市采暖季不同气团来向 PM _{2.5} 中重金属污染特征及健康风险评价	李立伟, 邓小文, 肖致美, 元洁, 杨宁, 郭小龙, 白宇 (30)
基于多属性决策方法的太原市冬季街道尘土中潜在有害元素关键来源解析	邓文博, 刘文娟 (38)
北京市 PM _{2.5} -O ₃ 复合污染数值响应解析	刘添强 (48)
长三角区域人为源活性挥发性有机物高分辨率排放清单	田俊杰, 丁祥, 安静宇, 李曼, 王鑫, 黄成 (58)
南京北郊工业乡村混合区秋季边界层 VOCs 垂直分布特征	王泰, 朱彬, 施双双, 安俊琳, 唐贵谦, 徐家平 (66)
广西柳城县 VOCs 组分特征、来源及其对臭氧生成的敏感性	吴影, 莫招育, 吴琴琴, 陆嘉晖, 毛敬英, 陈雪梅, 栗少丽, 覃纹, 刘慧琳, 韦敏 (75)
城市臭氧污染特征与高影响气象因子:以苏州为例	何琰, 林惠娟, 曹舒娅, 宋璟璐, 孙伟, 熊宇 (85)
华北平原周县人为源氨排放清单及分布特征	康嘉慧, 孟凡磊, 刘学军, 许稳 (94)
WRF 模式最优参数化方案在不同空气质量模式的应用	杨景朝, 蒋兴文, 伯鑫, 王刚, 冯勇 (104)
西安市春季生物气溶胶的分布特征和健康影响	魏军强, 杨柳, 沈振兴, 王秀茹 (118)
青岛近海不同天气下生物气溶胶中细菌浓度及存活率分布特征	魏文淑, 祁建华, 常成 (127)
中国沉积物多环芳烃的时空分布及驱动因子	黄柱良, 蔡家伟, 王儒威 (138)
长江口近岸地区抗生素抗性基因与微生物群落分布特征	徐秋鸿, 刘曙光, 姜厦, Larisa Dorzhieva Radnaeva, Elena Nikitina, Makhinov Aleksei Nikolavich, Araruna José Tavares, 金字辰, 李鑫 (158)
人类活动影响下的高原湿地四环素类抗生素抗性基因赋存与微生物群落共现性	秦荣, 喻庆国, 刘振亚, 王行 (169)
我国东南地区饮用水源地多种农药的赋存特征及健康风险评估	何姝, 董慧岭, 任南琪 (180)
珠海市中部主要供水水库沉积物重金属时空分布与风险评价	王思瑞, 张坤峰, 昌盛, 张茉莉, 付青 (189)
苏州水网地区河道底泥的重金属分布特征与污染风险	郑敏慧, 白冬锐, 张涛, 陈坦, 王洪涛, 杨婷, 张冰, 金军 (198)
长三角典型城郊流域生物可降解性有机质的分布及影响因素	吴文雨, 马菁晨, 杨磊, 李敏, 唐剑锋 (210)
过水性湖泊水质长期演变趋势及驱动因素:以骆马湖为例	黄雪滢, 高鸣远, 王金东, 王明明, 陈思恩, 龚志军, 王腊春, 蔡永久 (219)
渭河微塑料污染现状与风险评价	山泽萱, 张妍, 张成前, 时鹏, 张鑫 (231)
不同颜色聚碳酸酯塑料对附着藻类生长和群落结构的影响	王梦雪, 尹思成, 王振方, 陈锦贤, 张玮, 王丽卿 (243)
苦草叶表附和和水体浮游细菌群落多样性格局及其影响因素	张梅婷, 刘晋仙, 苏嘉贺, 柴宝峰 (252)
基于 16S rRNA 测序技术的青藏高原河流细菌群落多样性	璩伟卿, 张博美, 黄雪, 任泽, 高红凯 (262)
基于 eDNA 的硅藻群落时空异质性及生态健康评价	姜山, 张颜, 李飞龙, 张效伟 (272)
三峡库区澎溪河河段间水华程度差异及其机制	罗晓佼, 张钊, 黄伟, 胡鹏飞, 谭炳圆, 张磊 (282)
自然降雨下蔬菜地土壤侵蚀及氮素流失特征	宁嘉丽, 黄艳芸, 李桂芳, 陈钊柱, 王坚桦 (293)
绿色、蓝色和蓝-绿屋顶径流水质特征	章孙逊, 张守红, 闫婧, 王恺, 杨航, 王任重远, 张文龙, 李华林 (303)
基于地理探测器的山西省 2000 ~ 2020 年 NPP 时空变化特征及驱动力分析	邵嘉豪, 李晶, 闫星光, 马天跃, 张瑞 (312)
2000 ~ 2020 年西南地区植被 NDVI 时空变化及驱动机制探究	徐勇, 戴强玉, 黄雯婷, 盘钰春, 郑志威, 郭振东 (323)
青海湖周边地区表层土壤重金属含量和抗性基因丰度及相关性	胡石磊, 瞿剑里, 章丽, 赵美蓉 (336)
四川盆地典型农耕地土壤重金属含量、污染及其影响因素	刘属灵, 吴梅, 刘志远, 刘双燕, 刘永林, 赵家宇, 刘怡 (347)
宁夏引黄灌区农田土壤重金属生态风险评价及来源解析	陈林, 马琨, 马建军, 王金保, 李虹, 贾彪, 倪锦炉, 马进鹏, 梁翔宇 (356)
铜冶炼场地周边土壤重金属污染特征与风险评价	彭驰, 刘旭, 周子若, 姜智超, 郭朝晖, 肖细元 (367)
西南地区典型土壤酸化特征及其与重金属形态活性的耦合关系	凌云, 刘汉燧, 张小婷, 魏世强 (376)
外源 Cd 在不同类型土壤中的稳定化特征	王港, 余海英, 黄化刚, 张路, 左洪菊 (387)
基于有效硒的富硒土壤阈值及有效硒的影响因素	王莹, 马彦斌, 王泽晶 (395)
基于成土母质分区的土壤-作物系统重金属累积特征与健康风险评价	陈子万, 许晶, 侯召雷, 彭敏, 杨帆, 陈杰, 徐永强, 杨树云, 李家云, 于林松 (405)
贵州省旱地土壤和玉米 As 含量特征及其种植安全性评估	黄凤艳, 周浪, 宋波, 虎瑞, 吴勇, 王佛鹏, 张云霞 (415)
象草与苦楝/构树间作修复矿区重金属污染土壤潜力	王小慧, 肖细元, 郭朝晖, 彭驰, 王小燕 (426)
1 株高耐性肠杆菌的筛选及对铜、砷同步钝化	尹雪斐, 刘玉玲, 伍德, 黄薪铭, 张朴心, 铁柏清 (436)
黄土丘陵区人工刺槐林土壤有机碳矿化特征及其与有机碳组分的关系	朱玉帆, 刘伟超, 李佳欣, 苏玉博, 简俊楠, 杨改河, 任成杰, 冯永忠, 任广鑫, 王晓妍, 韩新辉 (444)
设施农业土壤磷素累积迁移转化及影响因素	方兵, 陈林, 王阳, 祝亚飞, 王瑞, 宋桂芳, 刘俊, 杨斌, 张世文 (452)
优化秸秆管理提高玉米农田碳氮效率与经济效益	王良, 钱欣, 高英波, 张慧, 刘开昌, 陈国庆, 李宗新 (463)
缓控释肥深施对黏性土壤麦田氮素去向的影响	侯朋福, 薛利祥, 袁文胜, 曹帅, 刘颖多, 薛利红, 杨林章 (473)
黄河下游冲积平原轮作休耕农田土壤真菌群落结构与功能	南镇武, 刘柱, 孟维伟, 代红翠, 徐杰, 王娜, 刘灵艳, 王旭清, 刘开昌 (482)
红壤区退化林地表土真菌群落结构对土壤改良措施的响应	管鸿智, 黄荣珍, 王金平, 朱丽琴, 邹显花, 姬绍晖, 林丽靖, 房焕英, 杨梦佳, 廖迎春 (494)
半干旱-亚湿润干旱沙区樟子松根内真菌群落结构和功能时空动态特征	赵珮杉, 郭米山, 高广磊, 丁国栋, 张英, 任悦 (502)
基于 QMEC 分析的青藏高原不同类型冰川前缘地土壤微生物功能潜力	张洁洁, Anders Priemé, 陈显轲, 周汉昌, 张沁唯, 庄绪亮, 秦翔, 庄国强, 马安周 (512)
中国主粮作物生物炭产量效应的 Meta 分析	于滨杭, 姬建梅, 王丽学, 刘静, 高欢, 刘丹 (520)
生物炭影响抗生素在土壤中环境行为的 Meta 分析	李经涵, 张建强, 夏丽琼, 郑世界, 杨红薇, 何杨 (531)
不同农作物秸秆原料制备生物炭特性及重金属浸出行为	李家康, 邱春生, 赵佳奇, 王晨晨, 刘楠楠, 王栋, 王少坡, 孙力平 (540)
中国县城碳排放时空演变与异质性	宋苑震, 曾坚, 王森, 梁晨 (549)
近 20 年重庆市主城区碳排放的时空动态演进及其重心迁移	向书江, 杨春梅, 谢雨琦, 王丹, 王子芳, 高明 (560)
中国 1991 ~ 2018 年突发环境事件时空特征及影响因素	余光辉, 王非凡, 刘贤赵, 李文慧, 向云波 (572)
季铵盐抗菌剂在环境中的迁移转化行为及其毒性效应	张利兰, 覃存立, 钱瑶, 易美玲 (583)

基于 eDNA 的硅藻群落时空异质性及生态健康评价

姜山¹, 张颜¹, 李飞龙¹, 张效伟^{1,2*}

(1. 南京大学环境学院, 污染控制与资源化国家重点实验室, 南京 210023; 2. 江苏省生态环境保护化学品安全与健康风险研究重点实验室, 南京 210023)

摘要: 近年来, 环境 DNA 技术广泛应用于水生生态生物多样性监测, 如何基于环境 DNA 数据建立河流生态健康评价方法是当前研究的热点. 拟开发基于环境 DNA 的分子硅藻指数来指示人类活动影响下的河流生态健康状况. 首先通过环境 DNA 技术监测了沙颍河流域春秋两季硅藻群落组成和结构变化, 解析了春、秋两季群落的驱动环境因子; 进一步比较了 4 种基于环境 DNA 宏条形码数据的计算策略 (OTU-分类、OTU-无分类、ASV-分类和 ASV-无分类), 构建了适合于评估沙颍河流域生态健康状况的分子硅藻指数. 结果表明: ①硅藻群落结构存在季节性差异, 其中 *Discostella pseudostelligera*、*Nitzschia amphibia* 和 *Diatoma vulgare* 等类群是区分春、秋季硅藻群落季节差异的主要因素; ②重金属 Mn、Fe 和 TN (总氮) 是影响春季硅藻群落结构变化的主要环境因子, COD 和 Cu 是影响秋季硅藻群落结构变化的主要环境因子; ③在 4 种计算策略中, 基于 OTU-无分类数据计算的硅藻指数更好地反映了环境梯度变化; 硅藻指数显示, 沙颍河流域生态健康状况在时间上秋季优于春季, 而在空间上上游优于下游. 综上, 通过 eDNA 技术监测了沙颍河春、秋两季硅藻群落, 构建了沙颍河流域分子硅藻指数, 促进了环境 DNA 技术在河流生态健康评价中的应用.

关键词: 环境 DNA (eDNA); 硅藻指数; 无分类数据; 河流生态健康; 生物多样性

中图分类号: X171; X826 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2023)01-0272-10 DOI: 10.13227/j.hjxx.202204019

Spatial and Temporal Heterogeneity and Ecological Health Evaluation of Diatom Community Based on eDNA

JIANG Shan¹, ZHANG Yan¹, LI Fei-long¹, ZHANG Xiao-wei^{1,2*}

(1. State Key Laboratory of Pollution Control & Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Chemical Safety and Health Risk of Eco-Environmental Protection, Nanjing 210023, China)

Abstract: In recent years, environmental DNA (eDNA) has been widely used in aquatic biodiversity monitoring, and how to establish a river ecological health assessment method based on eDNA has become a hot topic. This study was intended to develop a molecular diatom index based on eDNA to indicate the ecological health status of rivers under the influence of human activities. Firstly, the diatom community composition and structural changes in the Shaying River basin in spring and autumn were monitored through eDNA, and the driving environmental factors of the diatom community were diagnosed. Further, four strategies (OTU-taxonomy, OTU-free, ASV-taxonomy, and ASV-free) based on eDNA metabarcoding data were compared, and a molecular diatom index suitable for ecological health assessment in the Shaying River basin was constructed. The results showed that: ① there were seasonal differences in diatom community structure, and *Discostella pseudostelligera*, *Nitzschia amphibia*, *Diatoma vulgare*, and other groups were the main factors to distinguish the seasonal differences. ② Mn, Fe, and TN were the main environmental factors affecting diatom community structure in spring, whereas COD and Cu were the main environmental factors affecting diatom community structure in autumn. ③ Among the four strategies, the diatom index calculated based on OTU-free data better reflected the environmental gradient change; the diatom index showed that the ecological health status of the Shaying River Basin was better in autumn than that in spring in time and better in the upstream than that in the downstream in space. In conclusion, this study monitored diatom community in Shaying River in spring and autumn through eDNA and constructed the molecular diatom index in the Shaying River basin, which promoted the application of eDNA to evaluate river ecological health.

Key words: environmental DNA (eDNA); diatom index; taxonomy-free data; river ecological health; biodiversity

生物监测与评价是流域水生态环境保护和治理的重要管理工具. 河流是淡水资源的主要组成部分, 为人类生活用水、农业用水和工业用水等提供了保障^[1]. 水生生物监测利用生物个体、种群或群落对水生态环境污染或变化所产生的反应阐明污染状况, 从生物学的角度为流域水生态环境保护和评价提供依据, 有助于水环境管理目标从“污染防治”向“水生态健康”转变. 20 世纪 80 年代开始, 国外水资源保护政策从物理化学角度的水质监测转向综合性的生物监测, 其中评价体系比较完善的有: ①基于生物完整性指数 (IBI) 的美国环保部快速生物评价方案 (RBP); ②欧盟水框架指令 (WFD). 中国生态

环境部“十四五”规划中指出水环境保护要更加注重“人水和谐”和生态要素, 建立统筹水资源、水生态和水环境的规划指标体系. 水环境保护指标体系的建立是目前亟待解决的首要任务之一, 尽管近年在长江^[2]、黄河^[3]和珠江^[4]等多条河流进行了水生态健康评价方法的探索, 但是适合我国水环境保护的生物指标还需要进一步确定. IBI 和 WFD 评价

收稿日期: 2022-04-01; 修订日期: 2022-04-21

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFC3201003); 江苏省环保科研课题项目 (2021002)

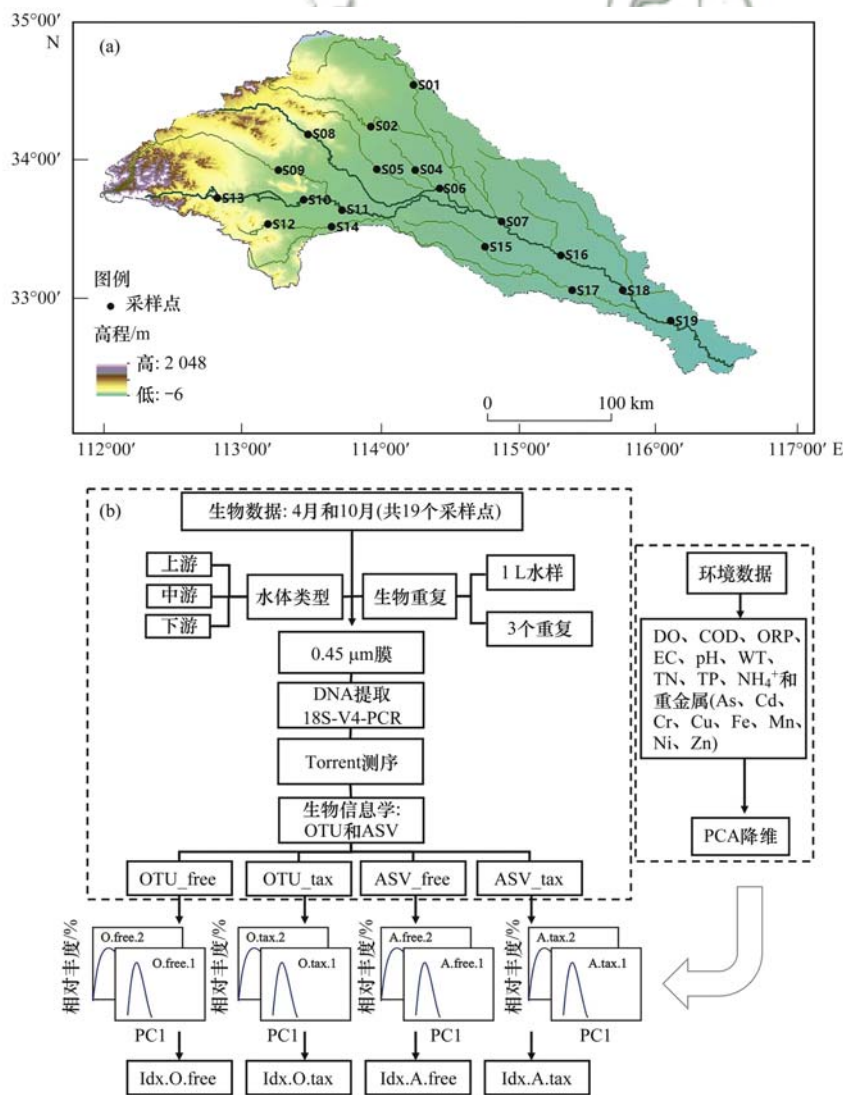
作者简介: 姜山 (1997 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为底栖硅藻生物多样性监测与评价, E-mail: js772689974@163.com

* 通信作者, E-mail: zhangxw@nju.edu.cn

体系中生物类群包含鱼类、底栖动物和着生藻类,其中,硅藻反映水生态健康状况最敏感.由于底栖硅藻的生长和繁殖可以敏感地反映本地水环境的健康状况^[5],因此硅藻在河流和溪流中被广泛用作环境条件的生物指标^[6,7].传统的生物监测手段费时费力,有可能破坏原始生态状况,环境 DNA 技术的出现改进了传统监测的不足,但是目前国内环境 DNA (environmental DNA, eDNA) 技术识别浮游植物^[8-10]等水生生物研究较多,硅藻群落监测和分子硅藻指数的相关研究较少^[11].

近年来,环境 DNA 技术广泛应用于水生和陆地生物多样性监测,而如何通过分子数据构建生物指数评价河流生态健康是新的研究热点.环境 DNA 技术与传统方法在监测底栖硅藻^[12]、鱼类^[13]、无脊椎动物^[14]和两栖动物^[15]等类群存在显著的正相关关系,同时,环境 DNA 具备高通量和时间成本低的

特点,对环境样本进行宏条形码检测可以有效降低形态学对检测隐性分类群或者受损样本的模糊程度^[16].20 世纪初,自 Van Dam^[17]提出第一个硅藻指数后,相继发展出多种适合于不同河流污染类型的硅藻指数,例如生物硅藻指数(BDI)^[18]和硅藻营养化指数(TDI)^[19]等.但是目前用于计算传统硅藻指数的硅藻数据存在形态学鉴定费时和分辨率低等问题^[20].随着 eDNA 技术监测硅藻群落^[21]的发展,基于 eDNA 宏条形码获取的硅藻数据与环境因子之间直接计算每一个硅藻物种的灵敏度和耐受值,通过建立训练集和测试集从而构建基于 Zelinka-Marvan 方程(1961 年)的分子硅藻指数[图 1(b)].已有研究表明分子硅藻指数与基于形态学的传统硅藻指数存在显著相关性^[22],但是随着生物信息学的不断发展,分子数据计算策略对分子指数构建的影响有待深入研究.



(a) 研究区域, (b) 分析流程

图 1 本研究技术路线示意

Fig. 1 Flow chart for this study

随着环境 DNA 生物监测的普及和标准化,研究不同的生物信息学流程对生物指数的影响对于建立标准化的生物评价方法至关重要^[23]. 2013 年有学者沿用 16S rRNA 基因 97% 的相似阈值进行 OTU 聚类^[24],发表了 UPARSE 和 UCHIME 算法. 随后, DADA2 和 unoise2 算法相继出现,这种聚类方式相当于以 100% 相似度进行聚类^[25,26],此外还有 Deblur 等方法. 随着 DNA 条形码技术的广泛应用,使用直观统一框架的衡量标准变得尤为重要,以便于解释和比较不同的生态问题^[27]. 但是目前尚未系统地比较基于 OTU(97% 聚类)和 ASV(unoise 3)两种主流分析流程对分子硅藻指数构建的影响.

本文以淮河-沙颍河流域为例开展研究. 沙颍河是淮河最大的支流,其生态健康状况对淮河具有重要影响^[28]. 沙颍河是高强度人类活动影响下的平原河流,历史上曾经出现过严重的水生态环境污染问题^[29]. 近年来开展了大规模的环境治理和生态修复工作,开展系统的生态生物监测和评价有重要的意义^[30,31]. 本研究通过 eDNA 技术解析沙颍河流域硅藻生物群落,并构建分子硅藻指数,以评价沙颍河不同季节和流域的生态健康状况. 主要研究内容包括以下 3 个方面:①比较沙颍河流域春、秋两季硅藻群落组成和结构的时空变化;②诊断影响硅藻生物多样性的主导因素;③通过比较 4 种分子数据(OTU-分类、OTU-无分类、ASV-分类和 ASV-无分类),构建适合于评估沙颍河流域生态健康状况的分子硅藻指数.

1 材料与方法

1.1 采样区域

淮河发源于河南省桐柏山区,由西向东,全长约 1 000 km. 沙颍河是淮河最大的支流,主线西起河南省伏牛山东麓,东至安徽省正阳关入淮,全长 624 km,流域面积 39 880 km²,约为淮河流域总面积的 1/7. 研究区域[图 1(a)]流经河南、安徽两省,共设置 19 个点位,上游采样点分布在干、支流区域,下游交汇在干流.

1.2 数据分析

1.2.1 数据来源

2018 年 4 月和 10 月,根据采样点的布设,每个位点选取上、中和下游这 3 个监测位点,在每个位点收集 1 L 水样和半露出水面的石块、树枝和泡沫板等生物膜样品,使用牙刷刷取生物膜样品,纯净水冲洗并收集至 50 mL 离心管中(离心管内水的体积 < 40 mL). 所有样品野外 -20℃ 保存,于实验室 -80℃ 保存.

水体物化指标利用 AP-2000 便携式多参数水质仪,在现场进行溶解氧(DO)、氧化还原电位(ORP)、电导率(EC)、pH 和水温(WT)等参数测定. 采集的 1 L 地表水带回实验室后进行总氮(TN)、总磷(TP)、氨氮(NH₄⁺)、化学需氧量(COD)和重金属(As、Cd、Cr、Cu、Fe、Mn、Ni、Zn)等水质参数分析,具体的方法如下:

① TP 采用钼酸铵分光光度法(GB 11893289).

② NH₄⁺ 采用纳氏试剂比色法, TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894289).

③ COD: 水样经浓硫酸消解后,采用草酸钠滴定法测量.

④ 重金属: 样品消化预处理后,采用原子吸收分光光度法检测.

1.2.2 DNA 提取、PCR 扩增和测序

生物膜样品使用 DNeasy PowerWater Kit (Qiagen)提取,利用通用引物 DIV4F 和 DIV4R 进行 PCR 以扩增硅藻 18S rDNA 基因的 V4 区域^[32]. 扩增引物 DIV4F: 5'-GCGGTAATTCCAGCTCCAATAG-3', DIV4R: 5'-CTCTGACAATGGAATACGAATA-3'.

PCR 扩增体系为 30 μL: 15 μL Phanta 聚合酶(诺唯赞),上游和下游引物各 1 μL, 2 μL 的模板 DNA 和 11 μL 的无酶水. 为了减小 PCR 的偏好性,每个样品分别设置 3 个 PCR 反应并将产物合并. 每个样品的 PCR 产物稀释到 10 ng·μL⁻¹ 等体积混合建库,保证样本间序列数大致相同. 混库样品 Agencourt AMPure XP kit (Beckman Coulter, 德国)和 Ion Plus Fragment Library kit 试剂盒 (Life Technologies, 美国)纯化测序文库. 纯化后的测序文库使用 Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, 美国)检测文库质量. 最后将测序文库稀释至 100 pmol·L⁻¹, 利用试剂盒 Ion PGM Template OT2 400 kit (Life Technologies, 美国)中 Ion Sphere Particles (ISPs) 富集测序文库,在 Ion PGM 测序仪 (Life Technologies, 美国)进行测序.

1.2.3 生物信息学分析

硅藻注释数据库采用 R-Syst (V7)^[32]. 利用 Mothur 软件将 fastq 文件转为 fasta,使用 Qiime 对原始测序文件进行修剪、分类和样品划分^[33]并按照 UPARSE7 方法将相似性大于 97% 的 DNA 序列进行 OTUs 聚类^[34]. 为了减少假阳性,去除总丰度小于 10 且在少于 5 个样品中被检出的 OTUs. 使用“syntax_cutoff”命令对硅藻群落中的每个 OTU 进行分类注释. 在 vsearch 中使用“derep_fulllength”命令识别唯一序列,使用 usearch 命令“unois3”将测序错误和嵌合体从复杂的 fasta 文件中删除,以产生扩增子序列

变体 (ASVs)^[26], 注释流程与 OTU 相同. 分子数据通过分析得到: ①采用 97% 相似阈值聚类 OTU-无分类 (OTU_free); ②对 OTU_free 进行物种筛选的 OTU-分类 (OTU_tax); ③采用 unois3 算法提供的精确序列变异得到的 ASV-无分类 (ASV_free); ④对 ASV_free 进行物种筛选的 ASV-分类 (ASV_tax).

1.3 硅藻指数计算

硅藻指数基于 Zelinka-Marvan 方程^[35], 以同一个采样点为基础, 直接利用其分子数据, 构建了 4 个评价河流生态状况的硅藻指数.

$$S = \frac{\sum_{j=1}^n a_j s_j v_j}{\sum_{j=1}^n a_j v_j} \quad (1)$$

式中, a_j 为 OTU_free/OTU_tax/ASV_free/ASV_tax 的相对丰度; s_j 为 OTU_free/OTU_tax/ASV_free/ASV_tax 的灵敏度; v_j 为样品中 OTU_free/OTU_tax/ASV_free/ASV_tax 的指标值. 利用它们的丰度值与环境因子的 PC1 值的函数关系, 计算每种指标的灵敏度 s_j (每个筛选后的 OTU 相对丰度和 PC1 之间的加权平均数) 和指标值 v_j (1 除以每个筛选后的 OTU 相对丰度和 PC1 之间的标准差).

硅藻指数计算随机进行 100 次, 具体的指数构建过程^[20,22,36,37]如下: ①对环境因子进行降维分析, 通过皮尔逊相关性检验 PC1 和环境因子之间的相关性; ②将 75% 样本量作为训练集, 25% 样本量作为测试集; ③去除训练集中相对丰度低于 5% 的 OTUs 和 ASVs, 进一步计算每一个 OTU 和 ASV 的 s_j 和 v_j ; ④通过公式 (1) 和训练集的 s_j 和 v_j , 计算测试集中每个样品的硅藻指数, 最终取 100 次计算结果的平均值.

1.4 统计分析

本研究使用公式 (2) 选取优势种:

$$Y = (n_i/N) \times f_i \quad (2)$$

式中, n_i 为 i 种的物种序列数, N 为所有种类的总序列数, f_i 为该种出现的频率, Y 值大于 0.02 的种类为优势种.

进行排序分析之前先对 17 种环境因子相关性检验, 两两之间相关性大于 0.7 的因子保留其一, 4 月指标 Cr、EC 和 WT 这 3 个因子剔除后进行后续排序分析, 同理, 10 月指标 Ni、Cd、EC 和 NH_4^+ 这 4 个因子剔除后进行后续分析. DCA 分析显示最大的 Axis lengths 分别为 2.782 和 2.904, 故本研究选择 RDA (redundancy analysis) 研究不同季节硅藻群落与环境因子的关系. RDA 等数据处理和绘图在 R 软件 (R Version 4.0.3) 和 Prism 9 下完成.

2 结果与分析

2.1 硅藻群落结构组成和时空变化

2.1.1 流域底栖硅藻群落组成

沙颍河流域春秋两季硅藻群落分别在 OTUs 和 ASVs 数据集注释结果的生物分类数量上呈现一致性 (表 1). 2018 年沙颍河流域 4 月和 10 月共 34 个 eDNA 样品, OTUs 分析流程共保留 118 046 条序列, 其中, 4 月和 10 月分别为 240 个和 310 个 OTUs, 均被注释为 4 个纲、19 个目、35 个科、65 个属和 99 个种 (表 1); ASVs 分析流程共保留 76 493 序列, 其中, 4 月和 10 月分别为 287 个和 298 个 ASVs, 均被注释为 4 个纲、16 个目、27 个科、45 个属和 76 个种 (表 1). OTUs 和 ASVs 注释到相同种水平的数量是 65, 占总检出种水平数的 59.1%, 只被 OTUs 注释到种水平的占比为 30.9% (34 种), 只被 ASV 注释到种水平的占比为 10%.

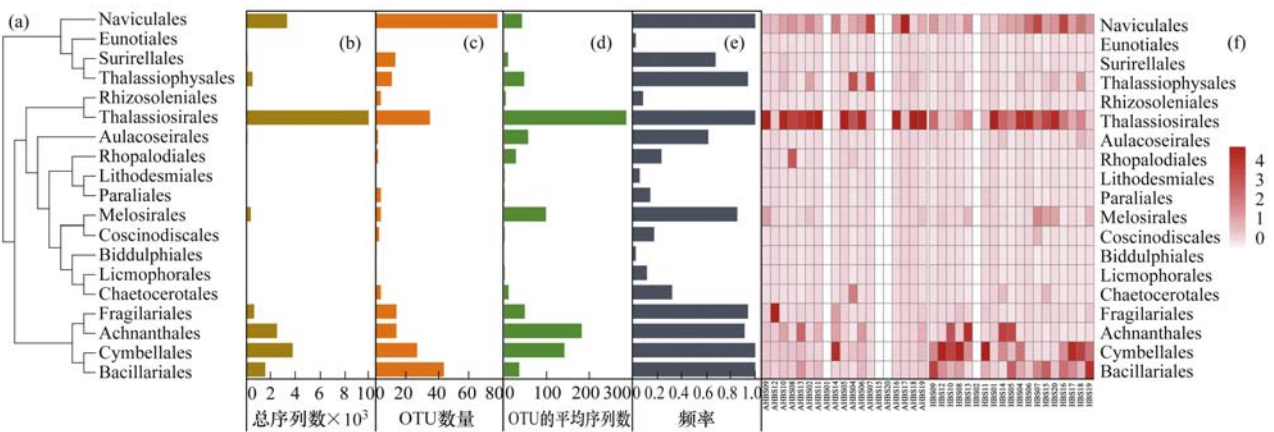
表 1 不同季节硅藻群落 OTUs 和 ASVs 生物分类注释结果
Table 1 Annotation results of OTU and ASV bioclassification of diatom communities in different seasons

生物分类	OTUs		ASVs	
	4 月	10 月	4 月	10 月
门	1	1	1	1
纲	4	4	4	4
目	19	19	16	16
科	35	35	27	27
属	65	65	45	45
种	99	99	76	76

沙颍河流域春秋两季硅藻群落 (OTUs) 硅藻目的相对丰度存在显著季节性差异, 其中 Achnanthales、Cymbellales 和 Bacillariales 等硅藻目是区分硅藻群落季节差异的主要因素 (图 2). 环境 DNA 宏条形码获取了沙颍河流域春秋两季 19 个硅藻目的序列信息 [图 2(a)], Thalassiosirales 的总序列数最多, 为 10027 条 [图 2(b)]; Naviculales 的 OTUs 数量最多, 为 78 个 [图 2(c)]; Naviculales、Thalassiosirales、Thalassiosirales、Fragilariiales、Achnanthales、Cymbellales 和 Bacillariales 这 7 个硅藻目检出频率大于 0.9, 在两个月份大部分点位之间均有分布 [图 2(e)]. 硅藻目 Achnanthales、Cymbellales 和 Bacillariales 显示了两个月份之间的差异, 10 月的相对丰度较高, 4 月较低; Thalassiosirales (海链藻目) 在两个季节各个点位均有较高的相对丰度; Naviculales (舟形藻目) 在两个季节各个点位的分布一致 [图 2(f)].

2.1.2 硅藻物种组成的季节差异

沙颍河流域硅藻群落 (OTUs) 在 4 月和 10 月的



(a) 基于 18S 序列目水平的系统进化,进化距离依据 K2P 模型计算,进化树构建基于 Neighbor-Joining 模型; (b) 每个目对应的序列数; (c) 每个目对应的 OTUs; (d) 平均每个 OTUs 含有的序列数; (e) 硅藻目在淮河流域两季节的检出频率; (f) 硅藻在淮河流域每个点位的季节分布热图,白色条带对应样品弃用(测序深度不够)

图 2 eDNA 宏条形码表征的硅藻群落 (OTUs)

Fig. 2 Diatom community (OTUs) characterized using eDNA metabarcoding

前 5 个优势种群完全不同(表 2). SIMPER 分析表明 *Discostella pseudostelligera*、*Nitzschia amphibia* 和 *Diatoma vulgare* 是造成季节差异的主要硅藻优势种. 沙颍河流域 4 月硅藻群落优势种是 *Discostella pseudostelligera*、*Mayamaea atomus* var. *permitis*、*Diatoma vulgare*、*Fistulifera saprophila*、*Gomphonema pumilum* var. *pumilum* 和 *Cyclotella meneghiniana*, 占比分别为 37.1%、19.5%、6.6%、5.3%、5.2% 和 2.4%. 沙颍河流域 10 月硅藻群落优势种是 *Cyclotella meneghiniana*、*Cymbella excisa*、*Thalassiosira guillardii*、*Nitzschia amphibia*、*Discostella* sp. 和 *Nitzschia palea*, 占比分别为 28.9%、14.1%、10.9%、8.9%、6.8% 和 3.0%. 只有梅尼小环藻在 4 月和 10 月均是优势种,4 月的优势种梅尼小环藻相对丰度为 2.37%,而 10 月其相对丰度为 28.89%.

表 2 不同季节硅藻群落优势种/%

月份	优势种	相对丰度
4 月	假具星碟星藻 <i>Discostella pseudostelligera</i>	37.13
	原子麦尔藻特变种 <i>Mayamaea atomus</i> var. <i>permitis</i>	19.49
	普通片藻 <i>Diatoma vulgare</i>	6.58
	管状藻属 <i>Fistulifera saprophila</i>	5.30
	异极藻属 <i>Gomphonema pumilum</i> var. <i>pumilum</i>	5.16
	梅尼小环藻 <i>Cyclotella meneghiniana</i>	2.37
10 月	梅尼小环藻 <i>Cyclotella meneghiniana</i>	28.89
	切断桥弯藻 <i>Cymbella excisa</i>	14.09
	海链藻属 <i>Thalassiosira guillardii</i>	10.90
	双头菱形藻 <i>Nitzschia amphibia</i>	8.85
	碟星藻属 <i>Discostella</i> sp.	6.76
	谷皮菱形藻 <i>Nitzschia palea</i>	3.01

2.1.3 硅藻生物多样性时空变化规律

沙颍河流域春季硅藻群落 (OTUs) 3 种生物多样性指数在空间上的均值小于秋季[图 3(a) 和 3

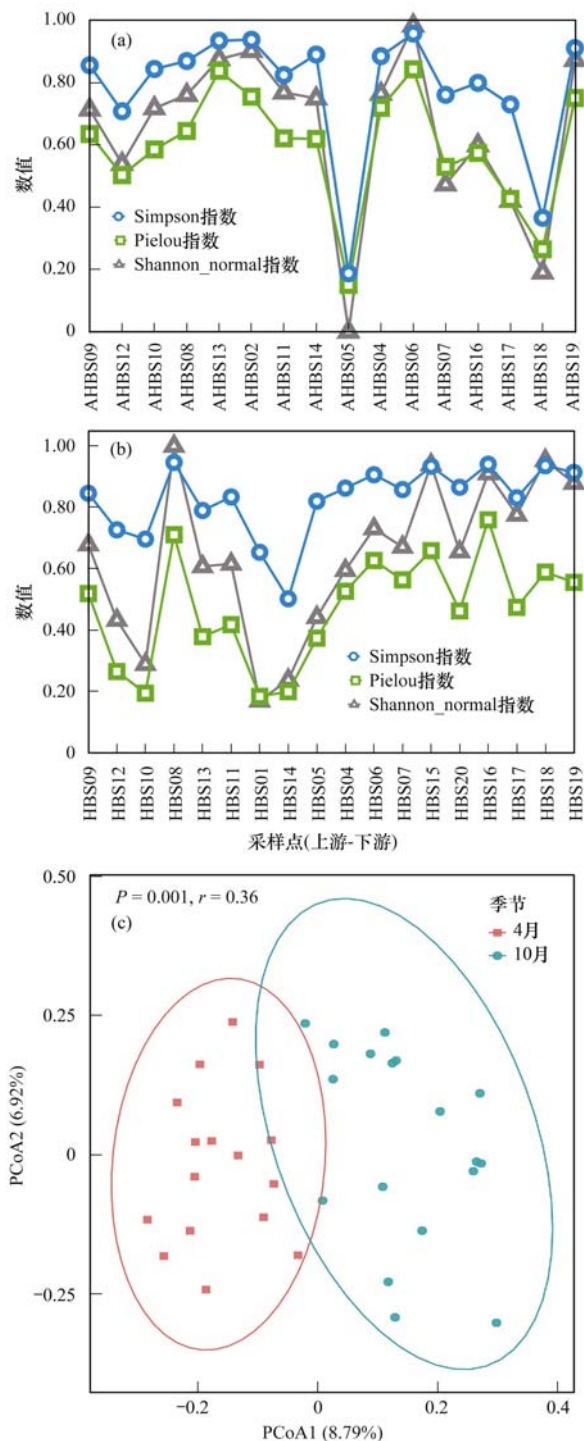
(b)]. 沙颍河流域春季硅藻香农、辛普森和均匀度指数均值分别为 0.65、0.78 和 0.59; 沙颍河中游清颍河 (S05) 和下游泉河 (S18) 生物多样性指数值较低[图 3(a)]. 沙颍河流域秋季硅藻香农、辛普森和均匀度指数均值分别为 0.79、0.90 和 0.68; 颍河 (S08) 的生物多样性指数较高[图 3(b)].

沙颍河流域春、秋两季硅藻群落 (OTUs) β 多样性存在显著性差异[图 3(c)]. 基于 Jaccard 距离的非限制性主坐标轴分析 (PCoA) 表明,群落在 4 月和 10 月明显形成两大类 ($P = 0.001$, $r = 0.36$), 4 月硅藻群落之间的相似性程度高于 10 月,且在第一主轴分开,表明季节差异是沙颍河流域硅藻群落 β 多样性变化的主要影响因素.

2.2 春、秋季硅藻群落与环境因子的关系

Fe、Mn 和 TN 是影响沙颍河流域春季硅藻群落 (OTUs) 结构变化的主要环境因子[图 4(a)]. 春季硅藻群落和环境因子之间的 RDA 模型总解释度 (constrained proportion) 为 81.62%, 其中环境因子的解释度 36.31%. RDA 结果表明显著影响沙颍河春季硅藻群落的环境因子有重金属 Mn ($r^2 = 0.69$, $P = 0.001$), Fe ($r^2 = 0.68$, $P = 0.003$), 营养元素 TN ($r^2 = 0.66$, $P = 0.004$). 沙颍河上游澧河 (S14 和 S12) 受到重金属 Mn 的影响较大,沙颍河中游清颍河、清流河 (S4 和 S5) 和贾鲁河下游 (S6) 受到重金属 Fe 的影响较大. 同时,对比地表水环境质量标准 (GB 3838-2002), 沙颍河流域重金属 Mn 浓度处在安全水平,Fe 和总氮浓度超标. 因此,沙颍河流域春季硅藻群落最大的污染因素是重金属 Fe 和营养元素 TN.

Cu 和 COD 是影响沙颍河流域秋季硅藻群落 (OTUs) 结构变化的主要污染因素[图 4(b)]. 秋季

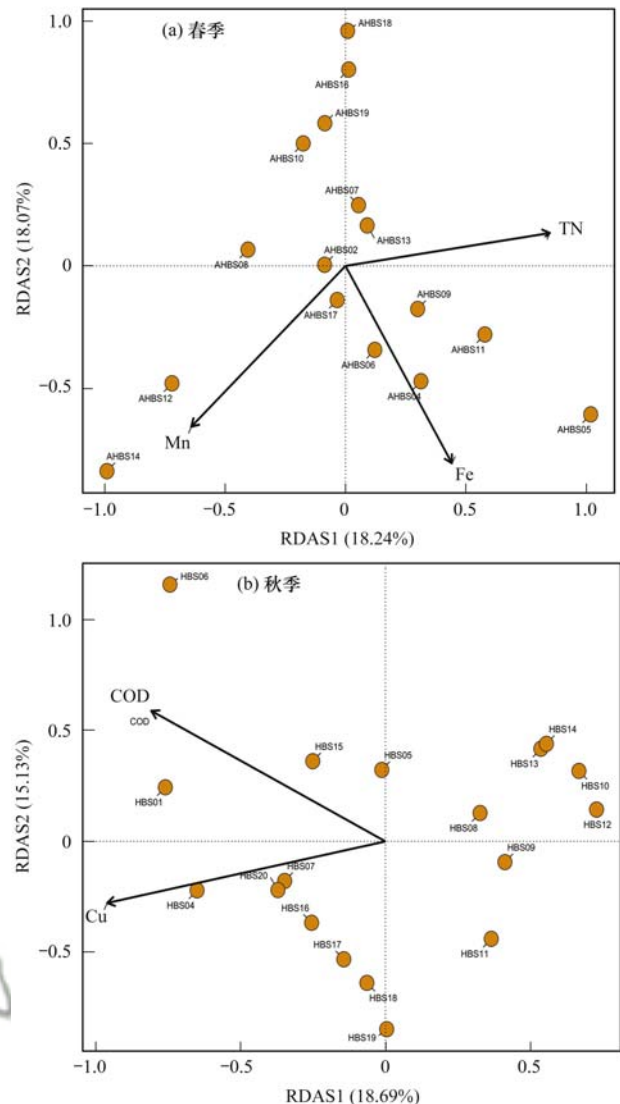


(a) 和 (b) 分别为 4 月和 10 月硅藻 α 多样性指数空间变化;
(c) 为 β 多样性, 基于 Jaccard 距离的主坐标轴
分析 (PCoA) 和 Anisim 检验

图 3 硅藻群落 (OTUs) 生物多样性时间变化

Fig. 3 Temporal variation in diatom community (OTUs) biodiversity

硅藻群落和环境因子之间 RDA 模型总解释度为 75.74%, 其中环境因子的解释度为 33.82%。RDA 结果表明营养元素 COD ($r^2 = 0.48$, $P = 0.005$) 和重金属 Cu ($r^2 = 0.46$, $P = 0.015$) 对秋季硅藻群落结构影响显著, 贾鲁河支流的硅藻群落受到 COD 影响最大, 同时与地表水环境质量标准相比, 沙颍河流域 COD 和 Cu 浓度超标。



黑色箭头表示环境因子和其对硅藻群落的相对影响,
黄色点表示采样点, 仅显示 $P < 0.05$ 的环境因子

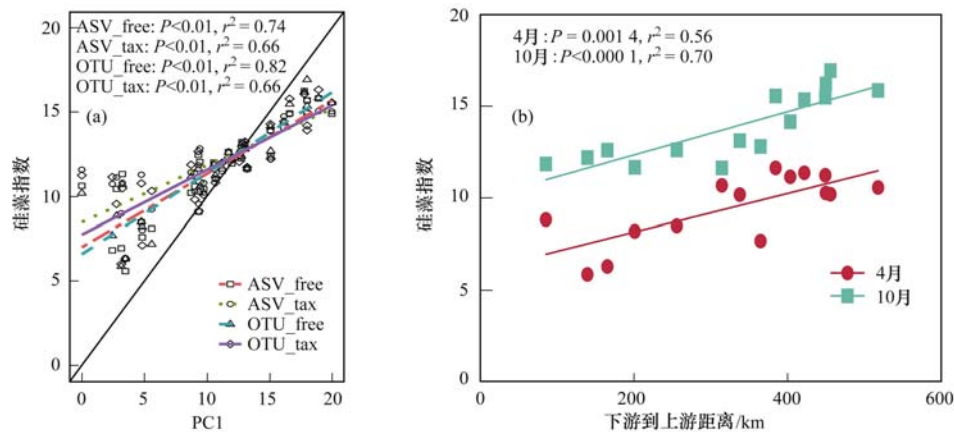
图 4 不同季节硅藻群落 (OTUs) 和环境因子之间的 RDA 分析

Fig. 4 RDA analysis between diatom community (OTUs)
and environmental factors in different seasons

2.3 生态健康评价

在 4 种计算策略中, 基于 OTU-free 计算的硅藻指数可以更好地反映沙颍河流域生态健康状况 [图 5(a)]. 线性模型^[38]评估了沙颍河流域硅藻群落 4 种计算策略与环境因子的拟合情况, 4 种指数 (ASV-free、ASV-tax、OTU-free 和 OTU-tax) 和环境因子 PC1 的 r^2 分别为 0.74、0.66、0.82 和 0.66, $P < 0.01$, 基于 ASV-分类和 OTU-分类的指数在 r^2 结果上是等效的, 基于 OTU-无分类的分子硅藻指数与环境因子的拟合响应最高 ($r^2 = 0.82$, $P < 0.01$). 因此, 使用无分类分子数据揭示同一采样点硅藻序列的生态信息优于分类分子数据。

硅藻指数显示, 沙颍河流域生态健康状况在时间上秋季优于春季, 而在空间上上游优于下游 [图 5



(a) 环境梯度 (PC1) 与 4 种硅藻指数之间的线性回归关系, 点表示 100 次训练重复的平均偏差和标准偏差的平均值, 黑线表示 PC1 和指数之间的完美等价性; (b) 基于 OTU_free 数据的硅藻指数随上下游关系的线性拟合, 横坐标表示采样点距离下游河口的网络距离

图 5 硅藻指数和环境因子相关性和上下游分析

Fig. 5 Correlation between diatom index and environmental factors and upstream and downstream analysis

(b)]. 沙颍河流域 10 月硅藻指数整体高于 4 月, 空间上从上游采样点到下游, 硅藻指数值逐渐降低, 生态健康状况逐渐变差. 其中可以发现, 4 月沙颍河中游清漯河 (S05) 和下游泉河 (S17 和 S18) 的硅藻指数较低, 沙颍河上游甘江河 (S13)、澧河 (S12) 和沙河 (S10 和 S11) 等上游点位硅藻指数值较高; 10 月贾鲁河下游 (S6) 和泉河 (S17) 最低, 北汝河 (S09) 和颍河 (S08) 点位的硅藻指数值较高.

3 讨论

环境 DNA 在流域尺度上识别出沙颍河硅藻群落结构的显著春、秋季季节性差异. 本研究发现从春季到秋季, 沙颍河流域除了梅尼小环藻, 优势硅藻种群组成完全不同. 赵杨^[39]通过硅藻形态学鉴定发现梅尼小环藻在哈尔滨市不同河段 (松花江、呼兰河、阿什河和拉林河) 春、秋两季均是优势种, 但是春、秋两季的硅藻优势种组成差异很大. 本研究进一步发现沙颍河流域秋季 α 多样性指数高于春季, 这与张珊等^[40]和王东伟等^[41]等基于形态学研究的结论一致. 同时, 环境 DNA 还识别出硅藻目 Achnanthes、Cymbellales 和 Bacillariales 是区分春、秋季硅藻群落季节差异的主要因素.

联合环境 DNA 生物群落和环境污染因素分析揭示了沙颍河流域水生生态系统主要的环境驱动因子. 通过 RDA 分析得到 Fe、Mn 和 TN 是影响春季硅藻群落结构变化的因素, 重金属 Cu 和 COD 是影响秋季硅藻群落最大的环境因素. 城市工业和生活污水、农业用水是造成水体污染的重要因素^[42,43]. 沙颍河流域属于温带季风气候, 冬季寒冷干燥, 夏季高温多雨. 根据真实采样天气情况, 4 月降雨较多, 地表径流较大, 河流受到农田等面源污染, 这可能是

TN 显著影响硅藻群落的原因. 10 月水量较小, 天气少雨, 河流生态状况主要受点源污染影响, 因此秋季硅藻群落受 COD 影响更为显著. 本研究结论与胡建成等^[44]的研究结论一致. 同时, 大部分研究也得到了 TN 和 COD 是影响硅藻群落的主要因素, 这与本研究结果是相似的^[45-48]. 在全国其他流域也发现了其他因素 (溶解氧和水温等) 影响硅藻群落更为显著^[49,50], 这可能是因为不同流域河流污染情况和地理条件不同导致的. 硅藻的生长状况与水体的重金属浓度有关^[51]. Pandey 等^[52]提出重金属 Cu 的浓度与硅藻异常形态在统计学上有显著关系, 并提出通过硅藻来对水体中重金属进行生物监测. Corcoll 等^[53]发现 Fe 可以通过光合作用影响硅藻生物量的累积. 同时基于环境 DNA 硅藻群落识别的 Cu、Fe 和 Mn 等重金属元素在水中的浓度已经超过国家标准 (GB 3838-2002), 表明硅藻群落具有识别水环境中重金属污染特征的潜力.

联合环境 DNA 生物群落和环境污染因素的分子硅藻指数评估了沙颍河流域生态健康状况, 结果表明沙颍河流域上游生态健康状况优于下游. 徐伟义等^[54]和殷守敬等^[55]分别从物理化学和遥感方面评估发现沙颍河水质从上游到下游逐步恶化, 这从一定程度上体现了生物监测和传统水质监测结果的一致性, 但是分子硅藻指数结合生物和物理化学等指标可以更精准地指示河流生态健康状况和识别水环境生态环境健康最差的河段, 比如春季清漯河 (S05) 和泉河 (S17 和 S18) 等河段硅藻生物多样性指数和分子硅藻指数较低. 本研究首次通过环境 DNA 技术在国内流域尺度进行了硅藻群落监测和分子硅藻指数构建, 突破了传统硅藻指数依赖国外数据库和形态学鉴定困难等难题, 进一步比较了基

于 OTUs 和 ASVs 两种主流分析流程对分子硅藻指数构建的影响,发现基于 OTU-无分类的分子硅藻指数可更好地指示河流生态健康。

4 结论

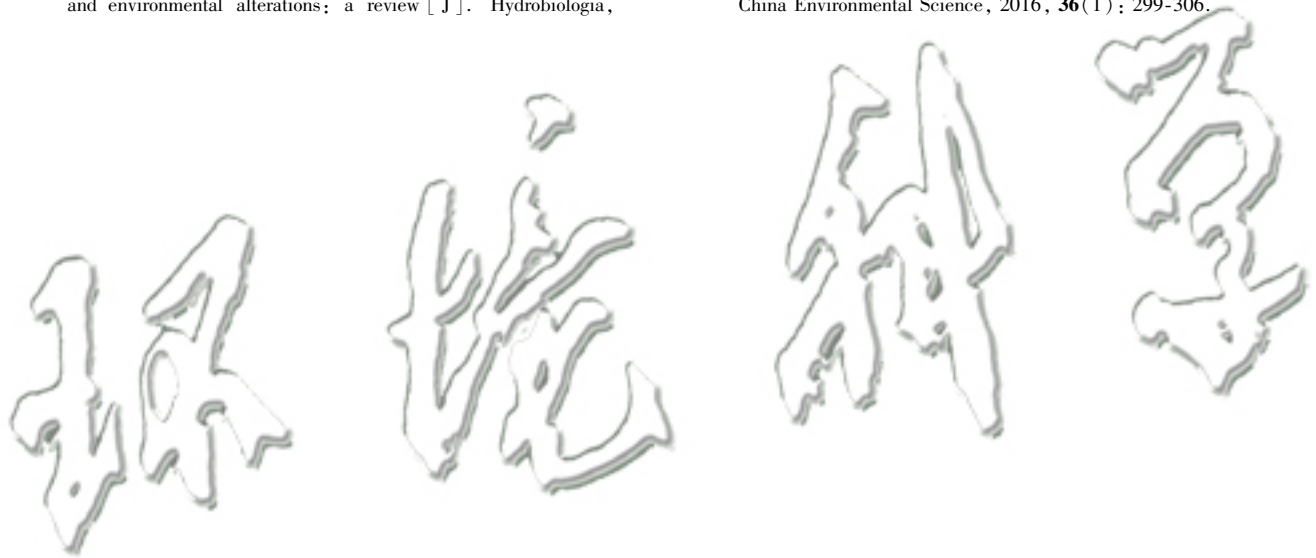
本研究首次通过环境 DNA 技术在国内流域尺度开展了硅藻群落监测和分子硅藻指数构建,揭示出沙颍河底栖硅藻群落的时空异质性。首先,春、秋两季硅藻群落组成结构存在差异,其中 Achnanthes、Cymbellales 和 Bacillariales 等硅藻目和 *Discostella pseudostelligera*、*Nitzschia amphibia* 和 *Diatoma vulgare* 等优势硅藻种的相对丰度变化是区分硅藻群落季节差异的主要因素。其次,重金属 Mn、Fe 和 TN 是影响春季硅藻群落结构变化的主要环境因子,COD 和 Cu 是影响秋季硅藻群落结构变化的主要环境因子。最后,4 种基于环境 DNA 宏条形码的硅藻指数计算策略突破了传统硅藻指数依赖国外数据库和形态学鉴定困难等难题,其中基于 OTU-无分类数据计算的硅藻指数更好地反映了环境梯度变化。结果表明,时间上,秋季沙颍河流域分子硅藻指数优于春季,空间上,生态健康状况随着上游至下游逐渐变差。

参考文献:

- [1] Carpenter S R, Stanley E H, Zanden M J V. State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes [J]. Annual Review of Environment and Resources, 2014, **36**(1): 75-99.
- [2] 李金京, 李卫明, 粟一帆, 等. 长江支流桥边河大型底栖动物群落结构及水质生物评价[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(8): 3020-3027.
Li J J, Li W M, Su Y F, et al. Community structure of macroinvertebrates and water quality bioassessment in Qiaobian River, a tributary of Yangtze River [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, **40**(8): 3020-3027.
- [3] 丁一桐, 潘保柱, 赵耿楠, 等. 黄河干流全河段浮游植物群落特征与水质生物评价[J]. 中国环境科学, 2021, **41**(2): 891-901.
Ding Y T, Pan B Z, Zhao G N, et al. Phytoplankton in the mainstem of the Yellow River: community characteristics and bioassessment of water quality [J]. China Environmental Science, 2021, **41**(2): 891-901.
- [4] 王旭涛, 谢昭, 刘威, 等. 珠江重要河流底栖动物水质生物学评价[J]. 水资源保护, 2016, **32**(3): 94-98, 136.
Wang X T, Xie Z, Liu W, et al. Bioassessment of water quality using benthic macroinvertebrates in major rivers of Pearl River Basin [J]. Water Resources Protection, 2016, **32**(3): 94-98, 136.
- [5] Li L, Zheng B H, Liu L S. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends [J]. Procedia Environmental Sciences, 2010, **2**: 1510-1524.
- [6] Rimet F. Recent views on river pollution and diatoms [J]. Hydrobiologia, 2012, **683**(1): 1-24.
- [7] Smol J P, Stoermer E F. The diatoms: applications for the environmental and earth sciences (2nd ed.) [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
- [8] 张丽娟, 徐杉, 赵峥, 等. 环境 DNA 宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性[J]. 环境科学, 2021, **42**(2): 796-807.
Zhang L J, Xu S, Zhao Z, et al. Precision of eDNA metabarcoding technology for biodiversity monitoring of eukaryotic phytoplankton in lakes [J]. Environmental Science, 2021, **42**(2): 796-807.
- [9] 王靖淇, 王书平, 张远, 等. 高通量测序技术研究辽河真核浮游藻类的群落结构特征[J]. 环境科学, 2017, **38**(4): 1403-1413.
Wang J Q, Wang S P, Zhang Y, et al. Community structure characteristics of eukaryotic planktonic algae in Liaohe River through high-throughput sequencing [J]. Environmental Science, 2017, **38**(4): 1403-1413.
- [10] 张宛宛, 谢玉为, 杨江华, 等. DNA 宏条形码 (metabarcoding) 技术在浮游植物群落监测研究中的应用[J]. 生态毒理学报, 2017, **12**(1): 15-24.
Zhang W W, Xie Y W, Yang J H, et al. Applications and prospects of metabarcoding in environmental monitoring of phytoplankton community [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, **12**(1): 15-24.
- [11] 夏桢妍, 高桂青, 计勇, 等. 河湖生态演变过程中硅藻的环境指示作用及研究进展[J]. 南昌工程学院学报, 2019, **38**(3): 58-64.
Xia Z Y, Gao G Q, Ji Y, et al. Environmental indication and research progress of diatom in process of ecological evolution of river and lake [J]. Journal of Nanchang Institute of Technology, 2019, **38**(3): 58-64.
- [12] Zimmermann J, Glöckner G, Jahn R, et al. Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies [J]. Molecular Ecology Resources, 2015, **15**(3): 526-542.
- [13] Hänfling B, Handley L L, Read D S, et al. Environmental DNA metabarcoding of lake fish communities reflects long-term data from established survey methods [J]. Molecular Ecology, 2016, **25**(13): 3101-3119.
- [14] Gardham S, Hose G C, Stephenson S, et al. DNA metabarcoding meets experimental ecotoxicology: advancing knowledge on the ecological effects of copper in freshwater ecosystems [J]. Advances in Ecological Research, 2014, **51**: 79-104.
- [15] Lacoursière-Roussel A, Dubois Y, Normandeau E, et al. Improving herpetological surveys in eastern north America using the environmental DNA method [J]. Genome, 2016, **59**(11): 991-1007.
- [16] Deiner K, Bik H M, Mächler E, et al. Environmental DNA metabarcoding: transforming how we survey animal and plant communities [J]. Molecular Ecology, 2017, **26**(21): 5872-5895.
- [17] Van Dam H. On the use of measures of structure and diversity in applied diatom ecology [J]. Hydrobiological Bulletin, 1982, **16**(2), doi: 10.1007/BF02255385.
- [18] Coste M, Boutry S, Tison-Rosebery J, et al. Improvements of the biological diatom index (BDI): description and efficiency of the new version (BDI-2006) [J]. Ecological Indicators, 2009, **9**(4): 621-650.
- [19] Kelly M G, Whitton B A. The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers [J]. Journal of Applied Phycology, 1995, **7**(4): 433-444.
- [20] Apothéoz-Perret-Gentil L, Bouchez A, Cordier T, et al.

- Monitoring the ecological status of rivers with diatom eDNA metabarcoding: a comparison of taxonomic markers and analytical approaches for the inference of a molecular diatom index [J]. *Molecular Ecology*, 2021, **30**(13): 2959-2968.
- [21] Jahn R, Mann D G, Evans K M, *et al.* The identity of *Sellaphora bacillum* (Ehrenberg) D. G. Mann [J]. *Fottea*, 2008, **8**(2): 121-124.
- [22] Visco J A, Apothéloz-Perret-Gentil L, Cordonier A, *et al.* Environmental monitoring: inferring the diatom index from next-generation sequencing data [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(13): 7597-7605.
- [23] Bailet B, Apothéloz-Perret-Gentil L, Baričević A, *et al.* Diatom DNA metabarcoding for ecological assessment: comparison among bioinformatics pipelines used in six European countries reveals the need for standardization [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **745**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140948.
- [24] Shokralla S, Spall J L, Gibson J F, *et al.* Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research [J]. *Molecular Ecology*, 2012, **21**(8): 1794-1805.
- [25] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, *et al.* DADA2: high-resolution sample inference from illumina amplicon data [J]. *Nature Methods*, 2016, **13**(7): 581-583.
- [26] Edgar R C. UNOISE2: improved error-correction for illumina 16S and ITS amplicon sequencing [J]. *bioRxiv*, 2016, doi: 10.1101/081257.
- [27] Alberdi A, Gilbert M T P. A guide to the application of hill numbers to DNA-based diversity analyses [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2019, **19**(4): 804-817.
- [28] 丁婷婷, 李强, 杜士林, 等. 沙颍河流域水环境重金属污染特征及生态风险评价 [J]. *环境化学*, 2019, **38**(10): 2386-2401.
- Ding T T, Li Q, Du S L, *et al.* Pollution characteristics and ecological risk assessment of heavy metals in Shaying River Basin [J]. *Environmental Chemistry*, 2019, **38**(10): 2386-2401.
- [29] 田进宽, 吴青松, 左其亭, 等. 沙颍河流域水生态监控框架体系及建设内容 [J]. *水电能源科学*, 2021, **39**(4): 56-59.
- Tian J K, Wu Q S, Zuo Q T, *et al.* Framework system and construction content of water ecological monitoring of Shaying River Basin [J]. *Water Resources and Power*, 2021, **39**(4): 56-59.
- [30] Li F L, Peng Y, Fang W D, *et al.* Application of environmental DNA metabarcoding for predicting anthropogenic pollution in rivers [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **52**(20): 11708-11719.
- [31] Li F L, Zhang Y, Altermatt F, *et al.* Consideration of multitrophic biodiversity and ecosystem functions improves indices on river ecological status [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(24): 16434-16444.
- [32] Rimet F, Chaumeil P, Keck F, *et al.* R-Syst: diatom: an open-access and curated barcode database for diatoms and freshwater monitoring [J]. *Database*, 2016, **2016**, doi: 10.1093/database/baw016.
- [33] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature Methods*, 2010, **7**(5): 335-336.
- [34] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, **10**(10): 996-998.
- [35] Zelinka M, Marvan P. Zur prazisierung der biologischen klassifikation der reinheid fliessender gewasser [J]. *Archiv für Hydrobiologie*, 1961, **57**: 389-407.
- [36] Tapolczai K, Vasselon V, Bouchez A, *et al.* The impact of OTU sequence similarity threshold on diatom-based bioassessment: a case study of the rivers of Mayotte (France, Indian Ocean) [J]. *Ecology and Evolution*, 2019, **9**(1): 166-179.
- [37] Apothéloz-Perret-Gentil L, Cordonier A, Straub F, *et al.* Taxonomy-free molecular diatom index for high-throughput eDNA biomonitoring [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2017, **17**(6): 1231-1242.
- [38] Chambers J, Hastie T, Pregibon D. Statistical models in S [A]. *Proceedings of the 9th Symposium on Computational Statistics* [C]. Dubrovnik: Springer, 1990.
- [39] 赵杨. 城市河段底栖硅藻多样性格局及其环境相关性初步研究——以哈尔滨市 4 条河流为例 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2020.
- [40] 张珊, 商乃萱, 张金羽, 等. 淮河流域西淝河浮游植物群落结构特征 [J]. *水生生态学杂志*, 2020, **41**(4): 81-89.
- Zhang S, Shang N X, Zhang J Y, *et al.* Phytoplankton community structure in Xifei river of Huai River Basin [J]. *Journal of Hydroecology*, 2020, **41**(4): 81-89.
- [41] 王东伟, 龚江, 杨晓曦, 等. 淮河荆涂峡鲤、长吻鲩国家级水产种质资源保护区浮游植物群落结构时空格局及影响因素 [J]. *大连海洋大学学报*, 2022, **37**(4): 658-667.
- Wang D W, Gong J, Yang X X, *et al.* Spatio-temporal pattern and influencing factors of phytoplankton community structure in the national aquatic germplasm resources reserve of cyprinus carpio and leiocassis longirostris in Huaihe River [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2022, **37**(4): 658-667.
- [42] 付小峰. 淮河流域水环境现状和防治建议 [J]. *陕西水利*, 2019, (11): 83-85.
- Fu X F. Present situation of water environment in Huaihe River basin and its suggestions for prevention and control [J]. *Shaanxi Water Resources*, 2019, (11): 83-85.
- [43] 王谦, 高红杰. 我国城市黑臭水体治理现状、问题及未来方向 [J]. *环境工程学报*, 2019, **13**(3): 507-510.
- Wang Q, Gao H J. Current situation, problems and future direction for governance of black and odorous water bodies in Chinese cities [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019, **13**(3): 507-510.
- [44] 胡建成, 郭姝含, 唐涛, 等. 基于着生硅藻多参数指标评价赤水河生态状况 [J]. *中国环境监测*, 2020, **36**(3): 94-104.
- Hu J C, Guo S H, Tang T, *et al.* Using benthic diatom-based multi-metric indices to assess ecological conditions of the Chishui River [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2020, **36**(3): 94-104.
- [45] 孙世鹏, 孔超, 陆欣鑫, 等. 暴雨期前后库里泡底栖硅藻群落结构变化及其环境因子相关性 [J]. *海洋与湖沼*, 2021, **52**(1): 162-174.
- Sun S P, Kong C, Lu X X, *et al.* Changes in community structure of benthic diatom and the environmental factors before and after rainstorm season in the Kulipao lake [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2021, **52**(1): 162-174.
- [46] 杨佳星, 蔡德所, 姚文婷, 等. 基于 GAM 模型的硅藻群落与环境因子相关性分析 [J]. *人民长江*, 2020, **51**(6): 43-48.
- Yang J X, Cai D S, Yao W T, *et al.* Analysis on correlation of diatom community and environmental factors in Longjiang River based on GAM model [J]. *Yangtze River*, 2020, **51**(6): 43-48.
- [47] 陈瑜, 景明, 高昕, 等. 太湖(苏州辖区)出入湖水体着生硅藻群落分布特点 [J]. *环境科技*, 2020, **33**(5): 59-64.
- Chen Y, Jing M, Gao X, *et al.* Distribution characteristics of

- diatom communities in Taihu Lake watercourse (Suzhou area) [J]. Environmental Science and Technology, 2020, **33**(5): 59-64.
- [48] 孙世鹏. 安肇新河流域底栖硅藻群落构建机制及其多样性格局[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2021.
- [49] 秦斌, 兰晶晶, 王浩, 等. 北运河城区段着生硅藻群落结构及水质分析[J]. 北京水务, 2021, (4): 28-34.
- Qin B, Lan J J, Wang H, *et al.* Community structure of benthic diatom and water quality analysis in the city section of the North Canal [J]. Beijing Water, 2021, (4): 28-34.
- [50] 张纪晖, 周成旭, 李冬玲, 等. 福建敖江口表层沉积硅藻空间分布特征[J]. 热带亚热带植物学报, 2021, **29**(6): 597-604.
- Zhang J H, Zhou C X, Li D L, *et al.* Diatom distribution in surface sediments of Aojiang River estuary in Fujian, China [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2021, **29**(6): 597-604.
- [51] Falasco E, Bona F, Badino G, *et al.* Diatom teratological forms and environmental alterations: a review [J]. Hydrobiologia, 2009, **623**(1): 1-35.
- [52] Pandey L K, Kumar D, Yadav A, *et al.* Morphological abnormalities in periphytic diatoms as a tool for biomonitoring of heavy metal pollution in a river [J]. Ecological Indicators, 2014, **36**: 272-279.
- [53] Corcoll N, Bonet B, Morin S, *et al.* The effect of metals on photosynthesis processes and diatom metrics of biofilm from a metal-contaminated river: a translocation experiment [J]. Ecological Indicators, 2012, **18**: 620-631.
- [54] 徐伟义, 王志强, 张桐菓. 淮河流域河南段水环境空间异质性分析[J]. 湿地科学, 2017, **15**(3): 425-432.
- Xu W Y, Wang Z Q, Zhang T G. Spatial heterogeneity analysis of water environment in the Huaihe River Basin of Henan Province [J]. Wetland Science, 2017, **15**(3): 425-432.
- [55] 殷守敬, 吴传庆, 王晨, 等. 淮河干流岸边带生态健康遥感评估[J]. 中国环境科学, 2016, **36**(1): 299-306.
- Yin S J, Wu C Q, Wang C, *et al.* Remote sensing assessment of ecological health of the riparian buffer along Huaihe River [J]. China Environmental Science, 2016, **36**(1): 299-306.



CONTENTS

Evolution of PM _{2.5} Chemical Composition and Sources in Nanjing During the Implementation of the APPCAP	CHEN Pei-lin, GUO Rong, WANG Qin-geng (1)
Differences in PM _{2.5} Components Between Urban and Rural Sites During Heavy Haze Event in Northern Henan Province	WANG Shen-bo, WANG Ling-ling, FAN Xiang-ge, <i>et al.</i> (11)
Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric Fine Particles in Langfang in Autumn and Winter	ZHU Shu-zhen, TONG Jie, BAO Feng, <i>et al.</i> (20)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in PM _{2.5} of Different Air Masses During Heating Season in Tianjin	LI Li-wei, DENG Xiao-wen, XIAO Zhi-mei, <i>et al.</i> (30)
Analysis of Critical Source of Potentially Harmful Elements in Urban Road Dust During Winter in Taiyuan Based on Multiple Attribute Decision Making Method	DENG Wen-bo, LIU Wen-juan (38)
Numerical Response Analysis of PM _{2.5} -O ₃ Compound Pollution in Beijing	LIU Tian-qiang (48)
High-resolution Emission Inventory of Reactive Volatile Organic Compounds from Anthropogenic Sources in the Yangtze River Delta Region	TIAN Jun-jie, DING Xiang, AN Jing-yu, <i>et al.</i> (58)
Vertical Distribution Characteristics of Boundary Layer Volatile Organic Compounds in Autumn in the Mixed Industrial and Rural Areas over the Northern Suburb of Nanjing	WANG Tai, ZHU Bin, SHI Shuang-shuang, <i>et al.</i> (66)
Characterization of Ambient Volatile Organic Compounds, Source Apportionment, and the Ozone-NO _x -VOC Sensitivities in Liucheng County, Guangxi	WU Ying, MO Zhao-yu, WU Qin-qin, <i>et al.</i> (75)
Characteristics of Ozone Pollution and High-impact Meteorological Factors in Urban Cities: A Case of Suzhou	HE Yan, LIN Hui-juan, CAO Shu-ya, <i>et al.</i> (85)
Emission Inventory and Distribution Characteristics of Anthropogenic Ammonia in Quzhou County, North China Plain	KANG Jia-hui, MENG Fan-lei, LIU Xue-jun, <i>et al.</i> (94)
Application of WRF Optimal Parameterization Scheme for Different Air Quality Models	YANG Jing-chao, JIANG Xing-wen, BO Xin, <i>et al.</i> (104)
Distribution Characteristics and Health Effects of Bioaerosols in Spring over Xi'an City	WEI Jun-qiang, YANG Liu, SHEN Zhen-xing, <i>et al.</i> (118)
Distribution of Bacterial Concentration and Viability in Atmospheric Bioaerosols Under Different Weather Conditions in the Coastal Region of Qingdao	WEI Wen-shu, QI Jian-hua, CHANG Cheng (127)
Spatiotemporal Distribution and Driving Factors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Inland Sediments of China	HUANG Zhu-liang, CAI Jia-wei, WANG Ru-wei (138)
Distributions of Antibiotic Resistance Genes and Microbial Communities in the Nearshore Area of the Yangtze River Estuary	XU Qiu-hong, LIU Shu-guang, LOU Sha, <i>et al.</i> (158)
Co-occurrence of Tetracycline Antibiotic Resistance Genes and Microbial Communities in Plateau Wetlands Under the Influence of Human Activities	QIN Rong, YU Qing-guo, LIU Zhen-ya, <i>et al.</i> (169)
Occurrence and Health Risk Assessment of Multiple Pesticides in Drinking Water Sources of Southeast China	HE Shu, DONG Hui-yu, REN Nan-qi (180)
Spatiotemporal Distribution and Pollution Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments of Main Water Supply Reservoirs in Central Zhuhai City	WANG En-rui, ZHANG Kun-feng, CHANG Sheng, <i>et al.</i> (189)
Distribution Characteristics and Pollution Risk of Heavy Metals in River Sediment of Suzhou Water Network Area, China	ZHENG Min-hui, BAI Dong-rui, ZHANG Tao, <i>et al.</i> (198)
Distribution of Biodegradable Dissolved Organic Matter and Its Affecting Factors in a Typical Peri-urban Watershed in Yangtze River Delta	WU Wen-yu, MA Jing-sheng, YANG Lei, <i>et al.</i> (210)
Long-term Succession Patterns and Driving Factors of Water Quality in a Flood-pulse System Lake: A Case Study of Lake Luoma, Jiangsu Province	HUANG Xue-ying, GAO Ming-yuan, WANG Jin-dong, <i>et al.</i> (219)
Microplastic Pollution Status and Ecological Risk Evaluation in Weihe River	SHAN Ze-xuan, ZHANG Yan, ZHANG Cheng-qian, <i>et al.</i> (231)
Effects of Different Colored Polycarbonate Plastics on Growth and Community Structure of Periphytic Algae	WANG Meng-xue, YIN Si-cheng, WANG Zhen-fang, <i>et al.</i> (243)
Diversity Patterns and Influencing Factors of Epibiotic in <i>Vallisneria natans</i> and Planktonic Bacteria Communities	ZHANG Mei-ting, LIU Jin-xian, SU Jia-he, <i>et al.</i> (252)
Bacterial Community and Diversity of River Ecosystems on the Qinghai-Tibet Plateau Based on 16S rRNA Gene Sequencing	QU Wei-qing, ZHANG Bo-mei, HUANG Xue, <i>et al.</i> (262)
Spatial and Temporal Heterogeneity and Ecological Health Evaluation of Diatom Community Based on eDNA	JIANG Shan, ZHANG Yan, LI Fei-long, <i>et al.</i> (272)
Severity Differences and Mechanisms of Algal Blooms Among Sections in Pengxi River of the Three Gorges Reservoir	LUO Xiao-jiao, ZHANG Xing, HUANG Wei, <i>et al.</i> (282)
Characteristics of Soil Erosion and Nitrogen Loss in Vegetable Field Under Natural Rainfall	NING Jia-li, HUANG Yan-hui, LI Gui-fang, <i>et al.</i> (293)
Effects of Green, Blue, and Blue-green Roofs on Runoff Quality	ZHANG Sun-xun, ZHANG Shou-hong, YAN Jing, <i>et al.</i> (303)
Analysis of Spatiotemporal Variation Characteristics and Driving Forces of NPP in Shanxi Province from 2000 to 2020 Based on Geodetector	SHAO Jia-hao, LI Jing, YAN Xing-guang, <i>et al.</i> (312)
Spatio-temporal Variation in Vegetation Cover and Its Driving Mechanism Exploration in Southwest China from 2000 to 2020	XU Yong, DAI Qiang-yu, HUANG Wen-ting, <i>et al.</i> (323)
Heavy Metal Content and Resistance Gene Abundance and Related Properties in the Surface Soil around Qinghai Lake	HU Shi-lei, QU Jian-li, ZHANG Li, <i>et al.</i> (336)
Soil Heavy Metal Content, Pollution, and Influencing Factors in Typical Farming Area of Sichuan Basin	LIU Shu-ling, WU Mei, LIU Zhi-yuan, <i>et al.</i> (347)
Risk Assessment and Sources of Heavy Metals in Farmland Soils of Yellow River Irrigation Area of Ningxia	CHEN Lin, MA Kun, MA Jian-jun, <i>et al.</i> (356)
Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in the Soil Around Copper Smelting Sites	PENG Chi, LIU Xu, ZHOU Zi-ruo, <i>et al.</i> (367)
Characteristics of Typical Soil Acidification and Effects of Heavy Metal Speciation and Availability in Southwest China	LING Yun, LIU Han-yi, ZHANG Xiao-ting, <i>et al.</i> (376)
Stabilization Characteristics of Exogenous Cd in Different Types of Soil	WANG Gang, YU Hai-ying, HUANG Hua-gang, <i>et al.</i> (387)
Threshold of Se-rich Soil Based on Available-Se and Influencing Factors of Available-Se	WANG Ying, MA Yan-bin, WANG Ze-jing (395)
Accumulation Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soil-Crop System Based on Soil Parent Material Zoning	CHEN Zi-wan, XU Jing, HOU Zhao-lei, <i>et al.</i> (405)
Characteristics and Planting Safety Assessment of As Content in Dryland Soil and Maize in Guizhou Province	HUANG Feng-yan, ZHOU Lang, SONG Bo, <i>et al.</i> (415)
Potential of Intercropping <i>Pennisetum purpureum</i> Schum with <i>Melia azedarach</i> L. and <i>Broussonetia papyrifera</i> for Phytoremediation of Heavy-metal Contaminated Soil around Mining Areas	WANG Xiao-hui, XIAO Xi-yuan, GUO Zhao-hui, <i>et al.</i> (426)
Inactivation of Cd and As by an <i>Enterobacter</i> Isolated from Cd and As Contaminated Farmland Soil	YIN Xue-fei, LIU Yu-ling, WU De, <i>et al.</i> (436)
Mineralization Characteristics of Soil Organic Carbon and Its Relationship with Organic Carbon Components in Artificial <i>Robinia pseudoacacia</i> Forest in Loess Hilly Region	ZHU Yu-fan, LIU Wei-chao, LI Jia-xin, <i>et al.</i> (444)
Accumulation, Migration, and Transformation of Soil Phosphorus in Facility Agriculture and Its Influencing Factors	FANG Bing, CHEN Lin, WANG Yang, <i>et al.</i> (452)
Optimizing Straw Management to Enhance Carbon and Nitrogen Efficiency and Economic Benefit of Wheat-Maize Double Cropping System	WANG Liang, QIAN Xin, GAO Ying-bo, <i>et al.</i> (463)
Effect of Deep Fertilization with Slow/Controlled Release Fertilizer on N Fate in Clayey Soil Wheat Field	HOU Peng-fu, XUE Li-xiang, YUAN Wen-sheng, <i>et al.</i> (473)
Structure and Function of Soil Fungal Community in Rotation Fallow Farmland in Alluvial Plain of Lower Yellow River	NAN Zhen-wu, LIU Zhu, MENG Wei-wei, <i>et al.</i> (482)
Response of Topsoil Fungal Community Structure to Soil Improvement Measures in Degraded Forest of Red Soil Region	GUAN Hong-zhi, HUANG Rong-zhen, WANG Jin-ping, <i>et al.</i> (494)
Temporal and Spatial Variations in Root-associated Fungi Associated with <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongolica</i> in the Semi-arid and Dry Sub-humid Desertified Regions of Northern China	ZHAO Pei-shan, GUO Mi-shan, GAO Guang-lei, <i>et al.</i> (502)
QMEC-based Analysis of the Soil Microbial Functional Potentials across Different Tibetan Plateau Glacier Forelands	ZHANG Jie-jie, Anders Priemé, CHEN Xian-ke, <i>et al.</i> (512)
Meta Analysis on Yield Effect of Biochar for Staple Crops in China	YU Bin-hang, JI Jian-mei, WANG Li-xue, <i>et al.</i> (520)
Effects of Biochar on Antibiotic Environmental Behaviors in Soil: A Meta-analysis	LI Jing-han, ZHANG Jian-qiang, XIA Li-qiong, <i>et al.</i> (531)
Properties of Biochars Prepared from Different Crop Straws and Leaching Behavior of Heavy Metals	LI Jia-kang, QIU Chun-sheng, ZHAO Jia-qi, <i>et al.</i> (540)
Spatial-temporal Evolution and Heterogeneity of Carbon Emissions at County-level in China	SONG Yuan-zhen, ZENG Jian, WANG Sen, <i>et al.</i> (549)
Spatiotemporal Dynamic Evolution and Gravity Center Migration of Carbon Emissions in the Main Urban Area of Chongqing over the Past 20 Years	XIANG Shu-jiang, YANG Chun-mei, XIE Yu-qi, <i>et al.</i> (560)
Spatiotemporal Characteristics and Influencing Factors of Environment Emergency Incident in China from 1991 to 2018	YU Guang-hui, WANG Fei-fan, LIU Xian-zhao, <i>et al.</i> (572)
Migration, Transformation, and Toxicity of Quaternary Ammonium Antimicrobial Agents in the Environment	ZHANG Li-lan, QIN Cun-li, QIAN Yao, <i>et al.</i> (583)