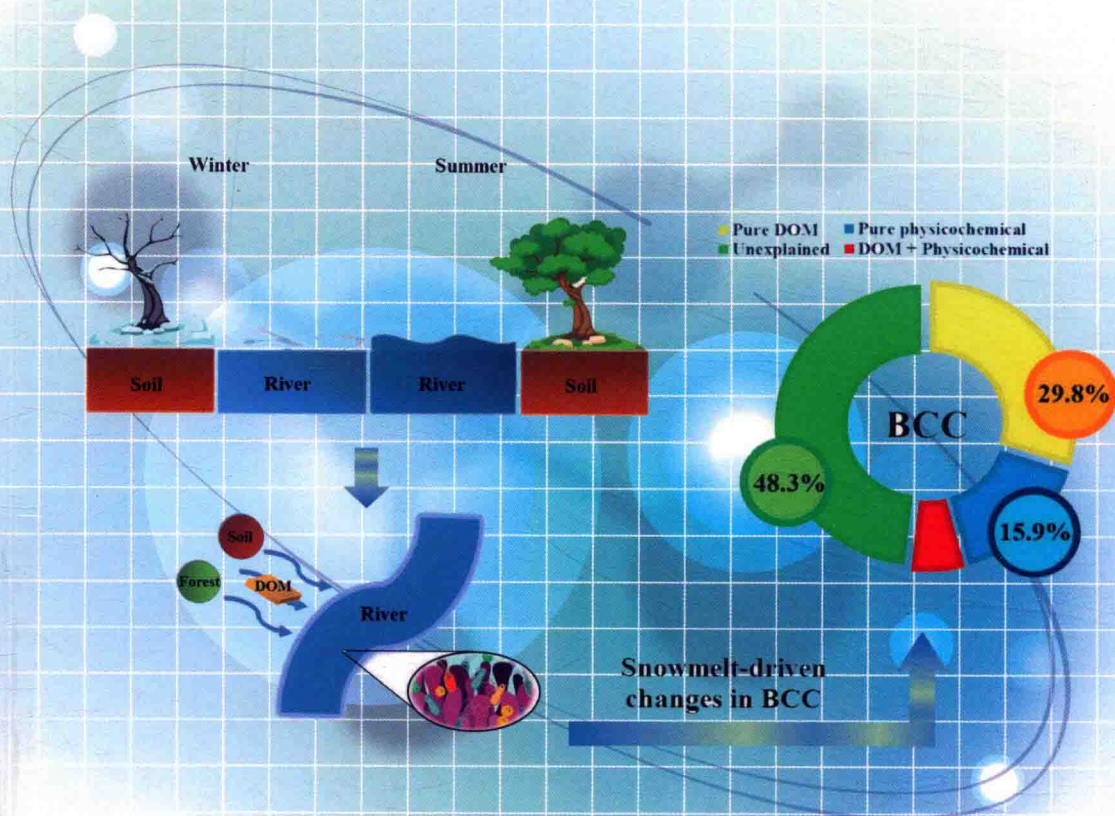


黑龙江水体水溶性有机物组成 及微生物利用特性

魏自民 贾立明 杨天学
李英军 张旭 赵越 主编



黑龙江水体水溶性有机物 组成及微生物利用特性

魏自民 贾立明 杨天学 李英军 张旭 赵越 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

水溶性有机物 (DOM) 是水体中由各种有机分子构成的复杂混合物, 对水生生态环境具有重要作用。本书以黑龙江流域水体 DOM 微生物利用特性为研究对象, 探讨了黑龙江流域 DOM 的组成及复杂化特征, 证实了黑龙江流域 DOM 组分均为类腐殖质物质, 揭示了黑龙江流域浮游细菌群落组成和理化变量、DOM 及地理因素之间的关系, 构建了 DOM 组分与浮游细菌群落结构的响应关系。结合室内模拟, 开展了 DOM 生物利用特性研究, 阐明了 DOM 中 C、N、P 组分转化特性; 基于最小二乘法构建了有机碳、有机氮、有机磷矿化动力学模型; 通过冗余分析, 揭示了 DOM 生物利用特性、DOM 组成与水体优势微生物的响应特性。

本书可供从事流域水环境、湖泊科学、水质标准、环境科学与工程、生态学、生物学等多个学科的科研和管理人员阅读。

图书在版编目 (CIP) 数据

黑龙江水体水溶性有机物组成及微生物利用特性/魏自民等主编. —北京: 科学出版社, 2018.6

ISBN 978-7-03-057597-5

I. ①黑… II. ①魏… III. ①黑龙江-水溶性-有机物-水生微生物-研究 IV. ①X143 ②Q938.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 124934 号

责任编辑: 罗 静 岳漫宇 田明霞 / 责任校对: 王晓茜
责任印制: 张 伟 / 封面设计: 北京图阅盛世文化传媒有限公司

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京虎彩文化传播有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 6 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2018 年 6 月第一次印刷 印张: 15 1/2

字数: 302 000

定价: 128.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《黑龙江水体水溶性有机物组成及微生物利用特性》

编辑委员会

主编 魏自民 贾立明 杨天学 李英军 张 旭 赵 越

编委 (按姓氏汉语拼音排序)

崔洪洋 东北农业大学

贾立明 黑龙江省环境监测中心站

李英军 北京农业职业学院

庞 燕 中国环境科学研究院

邱琳琳 东北农业大学

时俭红 东北农业大学

汤 玉 东北农业大学

魏自民 东北农业大学

吴俊秋 东北农业大学

许秋瑾 中国环境科学研究院

杨天学 中国环境科学研究院

张 旭 东北农业大学

赵昕宇 中国环境科学研究院

赵 越 东北农业大学

朱龙吉 东北农业大学

前 言

水溶性有机物 (dissolved organic matter, DOM) 是水体中十分活跃的组分, 可通过其生物利用特性影响水生生态系统的理化性质, 参与生态系统的物质和能量循环, 在水生生态系统中发挥着重要的作用。浮游细菌作为淡水生态系统的重要组成部分, 参与催化重要的生物地球化学反应, 并在水生食物网的微食物环中起重要作用。随着浮游细菌群落组成评价方法的进步, 越来越多的关注点聚焦在影响群落结构的决定性因素上。水生生态系统中 DOM 是生物圈有机碳的最大存储库, 它和浮游细菌群落组成的联系最为密切。黑龙江流域地处我国的最北端, 当春季融雪发生时, 来源于植物残体和表层土壤的水溶性有机物进入水体中, 对黑龙江流域的水生环境产生重要影响。因此, 研究黑龙江流域水体 DOM 组成及微生物利用特性, 可为该流域分区、分类管理提供重要的科学依据。

本书研究成果是在东北生态屏障区生态环境监测预警与管控技术研究 (201509040)、国家水污染控制专项专题东北平原与山地湖区湖泊基本特征调查及富营养化现状和趋势分析 (2009ZX07106-001-001-001)、兴凯湖富营养化控制标准应用研究 (2009ZX07106-001-006-005)、国际环境监测与信息 2111101 (2013) “中俄界河 (黑龙江和乌苏里江) 本底、有机污染现状及浓度水平调查” 等联合资助下完成的, 同时也参考收录了大量国内外相关专家学者专著或论文的最新内容, 作者也从中获得了很大的教益与启发, 在此向他们表示衷心的感谢。

本书分3章,其中第1章系统分析了黑龙江流域水体氮磷组分、叶绿素a季节性变化规律及区域分布特性。采用紫外光谱、荧光光谱分析方法,探讨了黑龙江流域DOM的组成及腐殖化特征;发现了黑龙江流域DOM组分均为类腐殖酸物质,证实了DOM组分对黑龙江流域 COD_{Mn} 、 BOD_5 贡献率较小。第2章采用变性梯度凝胶电泳对黑龙江流域各季节浮游细菌的多样性和群落组成进行分析,并结合多元统计分析方法探究了黑龙江流域浮游细菌群落组成和理化变量、DOM及地理因素之间的关系;证实了黑龙江流域的主要优势浮游细菌隶属于 α 变形菌纲、 β 变形菌纲、拟杆菌纲及放线菌纲;阐明了水体理化特性时空变化对浮游细菌群落结构的影响,构建了DOM组分与浮游细菌群落结构的响应关系。第3章采用室内模拟的方法,开展了DOM生物利用特性研究,阐明了DOM中C、N、P组分转化特性,基于最小二乘法构建了有机碳、有机氮、有机磷矿化动力学模型。结合荧光特性分析,探讨了矿化过程中DOM荧光组分变化规律,揭示了DOM组分碳固定与释放的互动关系。通过冗余分析,揭示了DOM生物利用特性、DOM组成与水体优势微生物的响应特性。

编写此书的主要人员和分工是:第1章,魏自民、赵越、张旭、崔洪洋、朱龙吉;第2章,贾立明、汤玉、李英军、庞燕、邱琳琳;第3章,杨天学、许秋瑾、时俭红、赵昕宇、吴俊秋。全书由魏自民和赵越完成统稿及校稿工作。

本书是作者多年来在水环境领域研究与实践的结晶,但还有许多研究工作需要不断的补充和完善。限于作者水平和经验,虽经努力,书中仍难免有不妥之处,在此恳请读者不吝指教。

作者

2017年8月于东北农业大学

目 录

第 1 章 黑龙江水体水溶性有机物结构组成特性	1
1.1 水溶性有机物生态学意义	1
1.1.1 黑龙江流域概况	1
1.1.2 DOM 研究现状	4
1.1.3 DOM 的研究方法	7
1.1.4 对黑龙江水体 DOM 研究的意义	14
1.2 水体 DOM 样品采集及测试方法	15
1.2.1 样品采集及处理	15
1.2.2 水体理化指标的测定	16
1.2.3 水体 DOM 吸收光谱测定	17
1.2.4 水体 DOM 荧光光谱测定	18
1.2.5 数据处理	18
1.3 黑龙江水体 DOM 特性研究	18
1.3.1 黑龙江流域水体理化特性	18
1.3.2 黑龙江流域 DOM 紫外吸收特性研究	24
1.3.3 黑龙江流域 DOM 荧光光谱特性研究	33
1.3.4 基于 DOM 荧光组分 Ex loadings 的相关光谱分析	57
1.3.5 黑龙江流域 DOM 荧光组分、紫外指标及理化因子 互作关系	72
1.3.6 黑龙江水体 DOM 特性研究展望	79
1.4 本章小结	85

参考文献	87
第 2 章 黑龙江水体浮游细菌群落组成特性	94
2.1 引言	94
2.1.1 现代分子生物学技术在细菌群落结构研究中的应用	94
2.1.2 水体中 DOM 来源	96
2.1.3 黑龙江水体浮游细菌研究意义	104
2.2 水体样品采集及测试方法	105
2.2.1 样品采集及处理	105
2.2.2 水体 DOM 的光谱测定	105
2.2.3 水体理化指标的测定	105
2.2.4 水体浮游细菌群落分布研究	106
2.2.5 数据处理	110
2.3 黑龙江流域水体浮游细菌群落结构特性	112
2.3.1 黑龙江流域水体浮游细菌群落组成分析	112
2.3.2 黑龙江流域浮游细菌群落结构与理化变量响应关系 研究	124
2.3.3 黑龙江流域浮游细菌群落与 DOM 组分的响应关系 研究	127
2.3.4 融雪对黑龙江流域 DOM 和浮游细菌群落的影响评价	130
2.3.5 黑龙江流域浮游细菌组成与环境要素响应关系探讨	140
2.4 本章小结	144
参考文献	146
第 3 章 黑龙江水体 DOM 中碳、氮、磷微生物利用特性	150
3.1 引言	150
3.1.1 黑龙江流域 DOM 生物利用特性研究现状	150

3.1.2	水体 DOM 中碳、氮、磷组成及其生物利用特性研究 现状.....	151
3.1.3	DOM 生物利用特性与其影响因素响应关系研究现状....	155
3.1.4	黑龙江水域 DOM 微生物利用特性研究意义.....	157
3.2	水体样品采集及测试方法	158
3.2.1	样品采集及处理.....	158
3.2.2	水体中各指标的浓度测定和计算.....	159
3.2.3	DOM 的荧光光谱测定	160
3.2.4	DOM 累积矿化量动力学模型及其参数.....	160
3.2.5	分析方法.....	160
3.3	黑龙江流域水体 DOM 矿化特性研究.....	161
3.3.1	水体 DOC 的变化规律及动力学特征	161
3.3.2	矿化过程中各形态氮指标变化规律及动力学特征.....	169
3.3.3	矿化实验中水体各形态磷指标的变化规律及动力学 特征.....	184
3.3.4	矿化实验中水体 DOM 荧光光谱特性.....	195
3.3.5	BDOM 的影响因素.....	218
3.3.6	浮游细菌优势种群对 BDOM、DOM 各组分 $F_{\max}$ 的 影响.....	221
3.3.7	黑龙江流域 DOM 微生物可利用特性探讨.....	222
3.4	本章小结	229
	参考文献	230

第 1 章 黑龙江水体水溶性有机物 结构组成特性

1.1 水溶性有机物生态学意义

1.1.1 黑龙江流域概况

黑龙江是一条非常重要的国际河流，它流经蒙古国、中国和俄罗斯三个国家。其全长约为 5498 km，中国境内长度约为 4440 km，是中国的四大河流^①之一；流域面积约为 $185.5 \times 10^4 \text{ km}^2$ ，在中国境内可达 $89.34 \times 10^4 \text{ km}^2$ ，约占全流域的 48%^[1]。黑龙江是由南源的额尔古纳河和北源的石勒喀河于黑龙江省漠河以西的洛古河村进行汇合后形成的。沿途接纳俄罗斯境内的结雅河、布列亚河和中国境内的呼玛河、逊河、松花江和乌苏里江等支流，最终在俄罗斯境内注入鞑靼海峡。黑龙江干流大致可分为三段，上游为洛古河到黑河市流域，其长约为 905 km；中游为黑河市到乌苏里江口流域，其长约为 982 km；下游为乌苏里江口到黑龙江入海口流域，其长约为 934 km。黑龙江上游流经大兴安岭余脉与阿马札尔岭山坡之间的山谷，属于山区性河流，两岸山地很多，山岩陡峭，森林覆盖率可达 70%，水流较急，涨落变幅较大，流态杂乱。中游流入结雅河—布列亚河盆地，左坡与平原融为一体，右坡与小兴安岭毗连，

① 中国的四大河流为黑龙江、黄河、长江和珠江。

该段以平原区为主,兼有山区性河流特征,属于河流过渡段,两岸植被大多为柳、桦、杨等杂树和草原耕地等^[2]。

在黑龙江流域,主要为季风气候。全年平均气温为 $-8\sim 6^{\circ}\text{C}$,具有显著的时空分布差异,该流域年降水量平均可达 $400\sim 600\text{ mm}$,上游流域降水量要低于下游流域,且全年降水分布不均,主要集中在夏季,可达全年降水量的 $60\%\sim 70\%$ 。该流域由于充沛的降水,较好的植被覆盖,以及永久冻层的存在,具有良好的径流条件,地表径流较为丰富。径流量季节差异显著,夏季径流量最大,可占全年径流量的 70% ,冬季径流量很小,仅占 2% 左右^[2,3]。

黑龙江流域具有丰富的自然资源。该流域主要有大兴安岭、小兴安岭、长白山和张广才岭等山脉,森林覆盖率较大,以兴安落叶松等寒带针叶林和针阔混交林为主。由于位于几个生物地理区的重叠地带,这里的生物也是极其多样的,据统计,维管植物可达 5000 多种,鸟类有 400 多种,东北虎等哺乳动物有 70 多种,还有 120 多种鱼类生活在该流域。该流域也具有丰富的土壤资源,包括肥力较高、适合农作物生长的黑土和黑钙土,森林覆盖区的暗棕壤,以及盐渍化草甸土。黑龙江两岸土壤多为具有大量腐殖质的黑土,流经黑龙江的水流冲刷岸边的土壤,使黑土沉入江中,沉积在江底,使得黑龙江水体看起来是黑色的^[3]。

黑龙江是中国的第三大河^[4],也是中俄界河,其流域生态环境的变化会直接影响两岸居民的生产生活。黑龙江水资源是重要的战略资源,对其进行整治和保护可对保护黑龙江流域黑土地、湿地、森林等重要自然资源发挥重要作用,防止流域生态环境退化,保证黑龙江流域的可持续发展。其水资源的保护对边境地区的稳定及国土

生态安全也具有重要意义。所以,黑龙江的环境保护问题一直受到有关部门和社会各界的广泛关注。近些年,人们针对黑龙江流域地理环境、地表水和水环境等方面进行了大量的研究^[1,3]。

在地理环境研究方面,易卿等对黑龙江—阿穆尔河流域研究发现,气候变暖使得该流域生态环境发生了变化^[5]。满卫东采用统计分析、定量分析和对比分析等方法对研究区内湿地动态变化特征进行了研究^[6]。于灵雪等通过研究发现黑龙江流域积雪覆盖面积具有显著的季节变化^[7]。

在地表水研究方面,也有研究者对中国境内黑龙江流域的自然地理概况、降水、蒸发及水文观测等方面进行了论述,并对气候变化和冻土对产流方式的影响等水文研究成果进行了完善^[1]。郭敬辉对黑龙江干流和重要支流的水道网分布、分段特征和径流的年变化规律等进行了论述,并科学地分析了洪水、冰凌、干旱等水文现象,对黑龙江的水文状况作出了经济评价^[8]。赵锡山对2013年8月黑龙江干流造成洪水的原因进行了分析,并计算出了结雅水库和布列亚水库对黑龙江中下游洪水的影响程度^[4]。

在地表水环境研究方面,郭锐等采用有机污染综合评价法分析了黑龙江干流水质,发现黑龙江水体主要污染指标是高锰酸钾指数,但水质总体较好^[9]。李玮等对松花江流域水污染进行了研究,并提出注重水污染的风险管理等相应的调控对策^[10]。

近些年,虽然针对黑龙江流域的研究较多,但对黑龙江水体水溶性有机物(DOM)的生物有效性,以及DOM的来源、组成和演化过程的研究很少,所以,有必要针对以上几个方面对黑龙江水体进行研究,帮助人们更好地了解黑龙江水体DOM的来源、组成和演

化过程, 以及 DOM 通过其生物有效性在氮、磷等营养元素的生物地球化学循环过程中所发挥的重要作用。

1.1.2 DOM 研究现状

1.1.2.1 DOM 概述

DOM 为自然水体的组成成分, 其中含有水体中微生物分泌和降解产物及陆源动植物腐烂分解产物, 且具有不同的分子质量和复杂的结构, 是非常重要的生物地球化学载体^[11]。有色 DOM 为 DOM 组成的一部分, 俗称黄质, 但近期研究中, 学者多倾向采用有色 DOM 统一表征 DOM 中的光吸收组分。但也有研究者按照 DOM 对光的吸收能力将其分为有色水溶性有机物 (CDOM) 和非发色水溶性有机物 (UDOM)。在不同水体中, UDOM 和 CDOM 在 DOM 中所占的比例也不同。CDOM 是水溶性有机碳中最为活跃的部分之一, 对全球碳循环及气候变化具有不可忽视的调节作用; 同时也是影响海洋光场的主要因素之一, 具有吸收紫外光和可见光后发射荧光的性质。通过其荧光性质的差异, 可以反映出 CDOM 组成的差异, 进而反映出水环境下物理、生物和化学过程^[12, 13]。目前, CDOM 的紫外及荧光光谱学特性已经被用来研究海湾、河口、河流及海洋水体中 CDOM 的来源、沉降及海水混合过程, 对水环境的研究意义重大^[12, 14]。

1.1.2.2 DOM 的光谱学性质

1. DOM 的荧光性质

荧光是水体中的 DOM 在特定的激发或发射波长的照射下, 激发

DOM 中的电子使其从基态跃迁到空轨道至激发态,电子从激发态跃迁回到基态的过程中所发出的光即为荧光。DOM 中含有大量拥有不同官能团的芳香结构及不饱和脂肪链^[15],因为 DOM 的发色团中含有较低能量的 $\pi-\pi^*$ 跃迁的芳香结构 (及共轭生色团),所以 DOM 具有发荧光的特性。多年来,许多科研工作者均利用荧光光谱技术研究不同环境水体中 DOM 的来源和迁移转化。三维荧光光谱 (EEM) 技术可同时提供 DOM 不同激发和发射波长荧光特性的详尽信息,同时通过 EEM 指纹图谱峰也可识别不同来源 DOM,是一种非常灵敏的光谱学指纹技术,因此受到越来越多的国内外相关学者的关注。

2. DOM 的紫外吸收性质

一般情况下,DOM 的相对浓度可以利用紫外光谱某一波长下的吸收系数来表示,常用的吸收系数有 α_{375} ^[11]、 α_{355} ^[16]、 α_{350} ^[17]和 α_{280} ^[18]。吸收系数 α 的计算方法如下:

$$\alpha(\lambda) = \alpha(\lambda_0) \times e^{S(\lambda_0 - \lambda)}$$

式中, S 为光谱斜率系数; $\alpha(\lambda)$ 为在 λ 波长下的吸收系数; $\alpha(\lambda_0)$ 为在参考波长 λ_0 下的吸收系数。

通常情况下,通过非线性回归拟合出的光谱斜率 S 的数值为 DOM 的一个重要的定性指标,能够反映出 DOM 的芳香碳含量的变化,对 275~290 nm 及 350~400 nm 两个波段的紫外数据用 Origin2015 数据处理软件进行非线性拟合即可得到光谱斜率比值 $S_{275\sim 295}$ 和 $S_{350\sim 400}$,即可更加准确地表征 DOM 中芳香碳的相对含量。

1.1.2.3 DOM 组成及其来源

1. DOM 的组成

(1) 类蛋白质物质: DOM 中类蛋白质物质的荧光发色团主要为水体中游离态或结合态的芳香环氨基酸物质^[19]。同时 DOM 的类蛋白发色团中类色氨酸和类酪氨酸也是其主要的成分^[20]。

(2) 类腐殖质物质: 自然水体中类腐殖质物质是复杂分子的混合物, 其中包括富里酸和胡敏酸等^[21], 腐殖质物质的来源不同其组成成分也有所不同。有研究表明, 胡敏酸的芳构化程度高于富里酸^[22]。同时研究表明, 胡敏酸荧光峰 (Ex/Em) 位置相比富里酸有红移现象, 且很难将两种物质的荧光峰位置区分开^[23, 24]。

2. DOM 的来源

(1) 陆源输入: 自然水体中 DOM 的来源主要为水体自身、污水、生物活动及沉积物。此外, DOM 的组分分布还受到光漂白、生物活动降解等的影响^[18]。研究表明, 自然水体表层水主要受到陆源河流和污水输入的影响, 底层水体主要受到生物活动和微生物降解的影响^[25]。同时, 自然因素 (环流、沿岸流、底层流、潮汐作用、冷水团和强风暴等)、水体底部栖息动物扰动和人为因素等也可导致 DOM 在自然水体中的再分配^[15, 26]。研究表明, 雨水中的 DOM 也可对自然水体中的 DOM 产生影响^[27]。

(2) 生物活动: 研究表明, 水体生物活动严重影响着自然水体中的 DOM^[13, 28], Hátún 等研究发现, 水体中类蛋白质物质的荧光强度与叶绿素 a 的含量具有较强的相关性^[29]。Sierra 等研究发现, 强

的类蛋白质荧光信号可在发生赤潮的水体 DOM 中被检测到^[14]。Coble 等发现 DOM 的荧光强度与营养盐含量存在正相关关系,该结果可解释海域中层水体中,DOM 的主要来源为微生物活动的产物^[30]。也有研究表明,水体中 DOM 类蛋白质物质的一个重要来源是细胞衰老和死亡的破解产物^[31]。

(3)沉积物来源:沉积物与接触面的水体在一定的水域中其 DOM 的含量也会相对较高,该水体中沉积物成为 DOM 的主要来源。这不仅影响水体中 DOM 的平面及垂直分布,而且研究表明,在成岩过程中沉积物附近水体会产生活性 DOM (氨基酸类物质)^[26],此外颗粒性有机物 (POC) 的矿化也成为水体 DOM 的主要来源^[32]。

1.1.2.4 DOM 的环境行为

水体 DOM 一般分为两个去向:光解反应、微生物降解反应。光解作用为 DOM 降解的主要反应^[18]。光解 DOM 可产生许多无机 C、N 等营养物质,同时也可产生分子质量较小的有机质以满足水体中微生物生长,使水体中微生物活性增强。

1.1.3 DOM 的研究方法

1.1.3.1 三维荧光光谱分析方法

三维荧光光谱 (EEM) 的原理是在激发和发射波长范围内同时扫描样品,将激发和发射各波长处的荧光强度提取绘制三维图,建立 DOM 样品的空间光学图谱,如图 1-1 所示,通过三维荧光光谱得出荧光组分的荧光峰并进行归类,荧光峰位置以及所代表的荧

光类型如表 1-1 所示。荧光光谱相对紫外-可见吸收光谱的敏感性更强，荧光光谱与紫外-可见吸收光谱相比可输出更多关于化学组成的细节信息。因为不能准确地确定水体中单个荧光化，所以研究人员将三维荧光矩阵进行分解，将其分解成 5 个区域，各区域的位置以及代表的物质如图 1-1 所示。

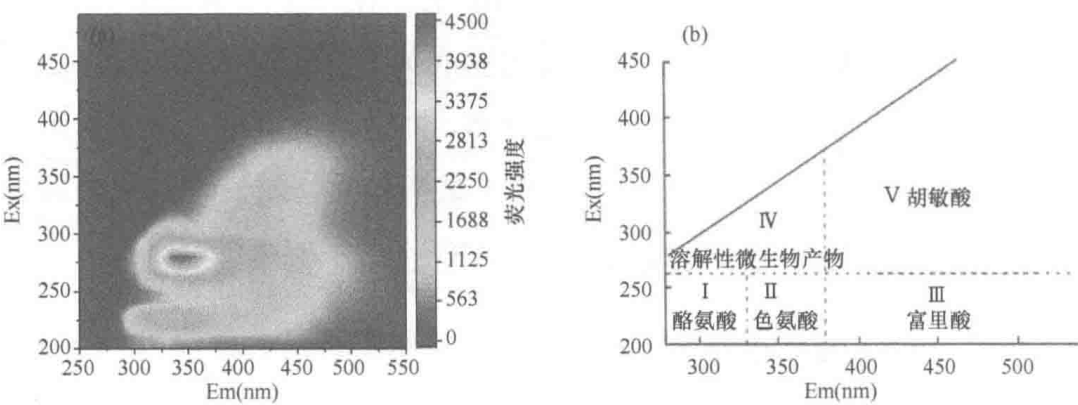


图 1-1 常见水体三维荧光光谱图 (a) 及各区域的代表物质 (b) (彩图请扫描封底二维码)

Figure 1-1 Excitation-emission 3-D fluorescence spectra of water (a); the substances that each region represent in regional integration analysis (b)

表 1-1 三维荧光光谱中各荧光基团所代表的物质

Table 1-1 The substances that each fluorescence peak represent for in exciation-emission 3-D fluorescence spectra

荧光基团	性质描述	Ex/Em (nm) 位置
A	类腐殖质	237~260/300~500
C	类腐殖质	300~370/400~500
Q	海洋类腐殖质	290~310/370~410
B	类蛋白 (类酪氨酸)	225~237/309~321 与 275/310
T	类蛋白 (类色氨酸)	225~237/348~381 与 275/340

应用 EEM 技术研究 DOM，是基于其分子结构中大量的带有