

市政排水管网水力水质条件对底泥微生物组多样性的影响

丁国平¹, 陈浩², 朱弈³, 孙晓楠¹, 刘辉², 马长文¹, 叶建锋^{2*}

1. 上海第二工业大学工学部, 上海 201209

2. 上海市环境科学研究院, 上海 200233

3. 东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620

摘要: 为阐释不同水力水质工况对市政排水管网底泥微生物在门和属水平多样性的影响, 应用微生物 16S rRNA 基因测序技术, 探讨了底泥微生物组 Alpha 和 Beta 多样性、样本组间差异及其与不同环境因子之间的统计学关系及可能原因。结果表明: ①底泥中优势菌门 Bacteroidetes、Chloroflexi、Firmicutes、Acinetobacter 等均为有机物降解类细菌, 并且随着外源性碳浓度的增加, 同种微生物的丰度越高; 随着色氨酸类有机物种类越多, 微生物群落多样性越高。②在一定范围内, 剪切力越高, 底泥中呈显著差异 ($P \leq 0.001$) 的 *Dechloromona*(5.5%)、*norank_f_Anaerolineaceae*(2.3%)、*Longilinea*(2.8%) 等厌氧细菌 (主要功能是分解蛋白、碳水化合物) 的丰度越高。③在一定范围内, 温度越高, 底泥微生物组的丰度越高。在 41 °C 环境下, 呈显著差异 ($P \leq 0.001$) 的优势菌门 Chloroflexi(11.1%) 和优势菌属 *Defluviococcus*(4.9%)、*Candidatus_Cometibacter*(3.8%) 的相对丰度最高, 而 Proteobacteria、Bacteroidetes 等菌门可能因微生物蛋白质活性受温度影响, 丰度降低。④在碱性环境中, 只有 Proteobacteria(49.4%)、Chloroflexi(10.1%) 等杆状菌丰度最高, 没有丝状菌。⑤ SO_4^{2-} 浓度对底泥微生物影响较小, 但较高 SO_4^{2-} 浓度提高了上覆水中 *Methylocystis*、*Zavarzinia* 等微生物丰度, 抑制了 *Methylocystis* 等厌氧微生物的生长。研究显示, 重力流排水管道底泥微生物组多样性变化与水力剪切力、温度、pH、 SO_4^{2-} 及外源性碳这 5 个环境因子相关。

关键词: 重力流排水管道; 16S rRNA 基因测序; 底泥微生物; 水力水质工况

中图分类号: X835

文章编号: 1001-6929(2022)03-0740-10

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2021.09.09

Effect of Hydraulic and Water Quality Conditions on Sediment Microbiota Diversity in Municipal Drainage Network

DING Guoping¹, CHEN Hao², ZHU Yi³, SUN Xiaonan¹, LIU Hui², MA Changwen¹, YE Jianfeng^{2*}

1. College of Engineering, Shanghai Polytechnic University, Shanghai 201209, China

2. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China

3. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China

Abstract: In order to explain the specific impact of different hydraulic and water quality conditions on the diversity of microbial phylum and genus in the municipal drainage network sediment, this paper uses the microbial 16S rRNA gene sequencing technology to explore the Alpha and Beta diversity of the sediment microbiome, the sample groups, differences and their statistical relationships with different environmental factors and possible causes. The results show that: (1) The dominant bacteria in the bottom silt, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Acinetobacter, etc., are all organic matter-degrading bacteria. As the concentration of exogenous carbon increases, the abundance of the same bacteria is higher. The more types of acidic organic matter, higher the diversity of bacterial communities. (2) Within a certain range, the higher the shear force, the higher the abundance of anaerobic bacteria (mainly used to decompose proteins and carbohydrates) such as *Dechloromona* (5.5%), *Norrank_f_Anaerolineaceae* (2.3%) and *Longilinea* (2.8%) with significant difference ($P \leq 0.001$) in sediment. (3) Within a certain range, the higher the temperature, the higher the abundance of the sediment microbiome. At 41 °C, the relative abundance of dominant phylum Chloroflexi (11.1%), dominant phylum *Defluviococcus* (4.9%) and

收稿日期: 2021-05-15 修订日期: 2021-09-17

作者简介: 丁国平(1997-), 男, 江苏南通人, dingping2020@163.com.

* 责任作者, 叶建锋(1976-), 男, 浙江衢州人, 高级工程师, 博士, 主要从事城市污水处理与资源化研究, yejf99@gmail.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No.2018YFD1100502-02); 上海市科研计划项目 (No.19DZ1204500); 上海市自然科学基金项目 (No.19ZR1443800)

Supported by National Key Research and Development Plan of China (No.2018YFD1100502-02); Shanghai Scientific Research Project, China (No.19DZ1204500); Shanghai Natural Science Foundation Project, China (No.19ZR1443800)

Candidatus_Compitor (3.8%) with significant difference ($P \leq 0.001$) is the highest, while Proteobacteria, Bacteroidetes and other phylum may be affected by temperature due to microbial protein activity. (4) In an alkaline environment, only Proteobacteria (49.4%), Chloroflexi (10.1%) and other rod-shaped bacteria have the highest abundance and no filamentous bacteria. (5) SO_4^{2-} concentration has little effect on sediment microorganisms, but higher SO_4^{2-} concentration increases the abundance of *Methylocystis*, *Zavarzinia* and other microorganisms in the overlying water. It inhibits the growth of anaerobic microorganisms such as *Methylocystis*. The research shows that the diversity of microbiome in the sediments of gravity flow drainage pipes is related to five environmental factors: hydraulic shear, temperature, pH, SO_4^{2-} and exogenous carbon.

Keywords: gravity drainage pipe; 16S rRNA gene sequencing; sediment microorganism; hydraulic and water quality conditions

市政重力流排水管网中存在着较大的碳排放现象,污水和雨水中大量有机物在管网输送过程中被微生物降解消耗^[1],这直接导致了下游污水厂普遍出现进水碳源不足的现象^[2-3]. Mclellan 等^[4]认为,管网底泥中的微生物是其碳转化的重要执行者,多样的微生物利用管网缺氧环境对有机物进行水解发酵、产甲烷、硫酸盐还原,并完成自身菌体的繁殖生长与代谢。因此,研究重力流管网中底泥微生物菌群结构的变化规律具有重要意义。

目前对城市排水系统底泥微生物多样性的研究多集中于污水处理厂和河道,且其均受不同水力水质条件的影响。而重力流排水管网内水力水质条件的变化是否会影响底泥微生物组的多样性,进而影响微生物碳转化的策略与效率,却鲜见报道。污水处理厂和河道的底泥微生物通过选择性地消耗特定的底物,进行不同的生长和碳分配,其底物的性质受化学因素(如 pH、不同碳的来源、 SO_4^{2-} 浓度等)影响。另外,一些物理因素(如温度、剪切力等)大多会通过影响有机物组成和微生物群落状态,造成碳转化的差异。例如,已有研究发现,河流 pH 的变化可以引起藻细胞膜电荷的变化以及影响代谢过程中酶的活性^[5],当 pH 为 10 时,对细菌群落产生更多的挥发性脂肪酸(VFA)有缓冲作用^[6]; Schulz 等^[7]研究发现,康斯坦斯湖底泥中温度每升高 10 °C,细菌代谢速率将增加 2~3 倍,这表明温度是影响微生物细胞内某些酶活性的重要因素,进而影响微生物的生长速率和微生物对基质的代谢速率; Liu 等^[8]对高海拔湖泊有机物的研究发现,较大的剪切力有利于促进有机物在底泥中的渗透,对碳的转化效率有显著的影响。不同碳源可能会影响微生物的丰度,在污水处理厂相似的污染进水源中,微生物群落具有相似性^[9],而不同的进水源会影响活性污泥菌群组成和多样性^[10]。尽管早在 1992 年就有少数研究团队已经注意到了重力流管网底泥中的一些生物行为^[11],但对底泥生物的研究却主要集中在生物作用下底泥的形成过程和管道腐蚀等方面^[12-13],很少有研究致力于不同水力水质工况对底

泥微生物多样性变化的影响。

该研究通过控制上覆水的剪切力、温度、 SO_4^{2-} 、pH、外源性碳这 5 个水质水力工况进行批次试验,应用微生物 16S rRNA 基因测序分析方法,对微生物的相对丰度、多样性结构和微生物组间差异显著性检验进行分析,并结合三维荧光光谱法(EEM)以及底泥 COD 降幅,探究不同环境因子对底泥中微生物多样性的影响,以期通过控制水力水质工况减少市政重力流排水管网中微生物碳转化的现象。

1 材料与方法

1.1 采样点布设

该研究所用污水和雨水管网底泥分别于旱季来自上海某排水系统 a、b 管网。其中 a 管网为生活小区污水管支管,承接完全的生活污水。径流雨水采自 b 管网沿管雨水篦,为完全的路面雨水径流。底泥于旱季采集自 c、d、e 管网。生活污水、径流雨水和初始底泥间隙水经 0.22 μm 聚醚砜滤膜后,测定其 COD、TN 和 SO_4^{2-} 浓度(见表 1)。

表 1 初始水样和底泥中的指标浓度

Table 1 Index concentration in initial water sample and sediment

项目	pH	COD浓度/ (mg/L)	TN浓度/ (mg/L)	SO_4^{2-} 浓度/ (mg/L)
径流雨水1	7.60	46.0±6.0	10.0±3.0	16.5±2.5
径流雨水2	7.30	51.0±9.0	12.4±2.4	27.5±3.5
上覆水				
生活污水	7.10	106.0±15.0	28.9±3.4	50.5±6.5
超纯水	7.20	0	0	0
葡萄糖源水	7.39	176.0	0	0
底泥				
底泥1#	7.40	338.0±8.0	52.3±11.0	7.3±0.8
底泥2#	7.20	366.5±12.5	121.3±5.1	4.0±0.7
底泥3#	7.20	345.0±11.0	111.3±6.5	3.0±0.4

1.2 批次试验

为模拟重力流排水管道内黑暗厌氧环境和泥液分层的环境,该研究采用文献[14]的设计理念,设计了直径为 140 mm、高度为 210 mm 反应器(见图 1)。该反应器上部密封盖设有气体出入口、水样采集口、

温度计和搅拌器. 试验前先将底泥用 0.4 mm 筛滤去石头、树枝等大型固体物, 再将 0.6 L 底泥和 2.3 L 上覆水置入反应器中. 待泥水分层后 (约 4 h), 用锡纸包裹住反应器表面, 模拟黑暗环境, 引入氮气以保持顶空厌氧, 并控制搅拌器转速来调整水力剪切力. 同时, 依据底泥微生物生长周期 (约为 6 d^[15]) 及上海重力流排水管网水力停留时间 (旱季为 4~6 d), 设定反应时间为 6 d. 最后取上覆水和泥水交界面的上层底泥进行 16S rRNA 基因测序分析.



图1 市政重力流排水管网模拟反应器示意

Fig.1 Schematic diagram of simulated reactor for municipal gravity flow drainage pipe network

为模拟不同水力水质工况, 该研究进行批次试验. 其中, 为避免雨污水中微生物对底泥中微生物多样性的影响, 所有的雨污水样本均通过 0.22 μm 聚醚砜滤膜, 滤去绝大多数的微生物. 因不同碳源试验组的需要, 分别设计以超纯水、在超纯水中添加葡萄糖 ($\geq 99.5\%$)、径流雨水以及生活污水为上覆水的试验组, 其超纯水和葡萄糖源水水质指标见表 1; 设计烘干污泥, 以研究灭活了绝大部分微生物活性的底泥与不同碳源的上覆水在反应后微生物的变化情况. 此外, 不同转速对应不同的剪切力, 其剪切力计算方法根据 Blasius 方程计算. 批次试验设计及样本编号如表 2 所示.

1.3 化学分析

上覆水及底泥的化学指标包括 COD、TN、 SO_4^{2-} . 底泥的化学指标定义为其间隙水的化学指标, 通过将底泥在 8 000 r/min 下离心, 取上清液获得. 根据国家标准方法测定上覆水和间隙水中 TN、COD 和 SO_4^{2-}

表2 模拟重力流排水管网批次试验的设计

Table 2 Batch experimental design of simulated gravity drainage pipe network

样本编号	含义
AI_Sediment	初始底泥1#(剪切力为0.283 N/m ²)
A1_EU	反应后底泥(烘干底泥1#, 超纯水)
A2_EU	反应后底泥(烘干底泥1#, 过0.22 μm 滤膜后的生活污水)
A3_EU	反应后底泥(新鲜底泥1#, 超纯水1#)
A4_EU	反应后底泥(新鲜底泥1#, 过0.22 μm 滤膜后的生活污水2#)
A5_EU	反应后底泥(新鲜底泥1#, 葡萄糖源水)
BI_Sediment	初始底泥2#(生活污水, 剪切力为0.283 N/m ² , 温度为25 $^{\circ}\text{C}$, pH为7.3, SO_4^{2-} 浓度为44 mg/L)
B1_EU	反应后底泥(新鲜底泥2#, 生活污水, 剪切力为0.732 N/m ²)
B2_EU	反应后底泥(新鲜底泥2#, 生活污水, 温度为41 $^{\circ}\text{C}$)
B3_EU	反应后底泥(新鲜底泥2#, 生活污水, pH为8.8)
B4_EU	反应后底泥(新鲜底泥2#, 径流雨水1#)
B5_EU	反应后底泥(新鲜底泥2#, 生活污水)
CI_Sediment	初始底泥3#(径流雨水2#, 剪切力为0.283 N/m ² , 温度为25 $^{\circ}\text{C}$, pH为7.3, SO_4^{2-} 浓度为24 mg/L)
C1_ES	反应后上覆水(新鲜底泥3#, SO_4^{2-} 浓度为24 mg/L)
C1_EU	反应后底泥(新鲜底泥3#, SO_4^{2-} 浓度为24 mg/L)
C2_ES	反应后上覆水(新鲜底泥3#, SO_4^{2-} 浓度为72 mg/L)
C2_EU	反应后底泥(新鲜底泥3#, SO_4^{2-} 浓度为72 mg/L)

注: A、B、C代表3个批次试验; I代表初始样本; 试验批次后面的数字代表试验分组; E代表反应结束样本; S代表上覆水; U代表底泥. 反应后底泥含义中未提及变量均与该批次初始样本相同.

的浓度.

结合荧光光谱 (EEM)(F-7 100, 日本日立公司) 分析上覆水和底泥中 DOM 的组成. 反应前生活污水中主要为色氨酸类有机物 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=270\sim 290\text{ nm}/320\sim 350\text{ nm}$), 其多为氨基酸类、肽类及蛋白类物质, 一般为新近产生^[16]. 径流雨水中主要为腐殖酸及难降解腐殖酸成分 ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}\leq 250\text{ nm}/380\text{ nm}$), 但微生物对这些成分的转化效率并不高^[17]. 因此在控制变量的条件下, 通过分析底泥中类色氨酸荧光强度峰值的变化, 判断沉积物中的微生物对碳转化效率的不同. 该研究底泥样本中类色氨酸荧光强度峰值见表 3.

表3 底泥样本中类色氨酸荧光强度峰值

Table 3 Kurtosis value of tryptophan-like in sediment sample

样本编号	荧光强度峰值/a.u.	
	反应前	反应后
B1_EU	260	1 025
B2_EU	260	506
B3_EU	260	784
B4_EU	260	449
B5_EU	260	631

1.4 微生物 16S rRNA 基因相对定量测序与分析方法

试验前取约 20 mL 管网底泥或 1 L 污水, 污水过 0.22 μm Whatman GF/F 滤膜, 至膜上有明显覆盖物后装于离心管, -20 °C 保存 (并在一周内测定), 用于基因组 DNA 提取. DNA 提取采用试剂盒 Fast DNA Spin Kit (MP bio), 提取后以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测. 采用 PCR 仪 (ABI GeneAmp®9700, Applied Biosystems, 德国) 进行 PCR 扩增. 参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量, IlluminaMiSeq 测序后以 silva123/16s_bacteria 数据库进行分类学分析^[18].

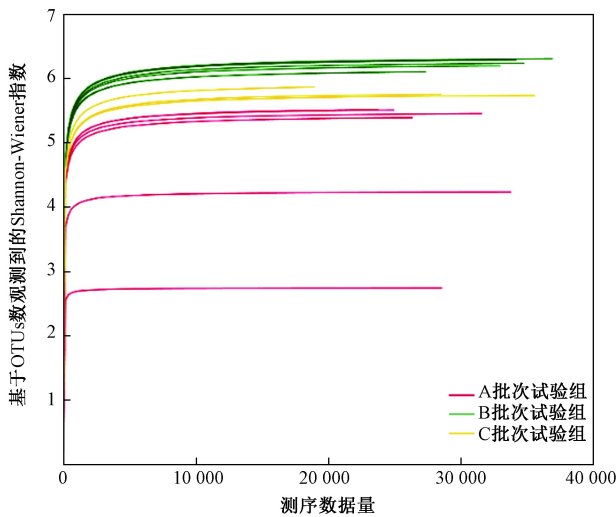
结合微生物的 Alpha 多样性分析, 利用 Shannon-Wiener、Simpson、Chao 1 和 Coverage 指数估计环境

群落的物种丰度和多样性; 用微生物的 Beta 多样性对底泥微生物群落间的物种多样性进行组间相对定量比较分析. 同时, 通过 Wilcox 秩和检验对组间微生物进行差异显著性分析, 判断两样本中微生物的分布是否存在差异, 并通过 *P* 值判断其显著性.

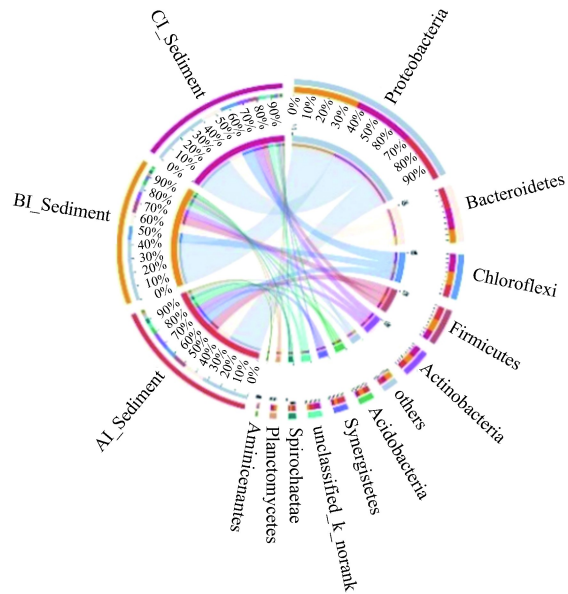
2 结果与讨论

2.1 微生物 Alpha 和 Beta 多样性分析

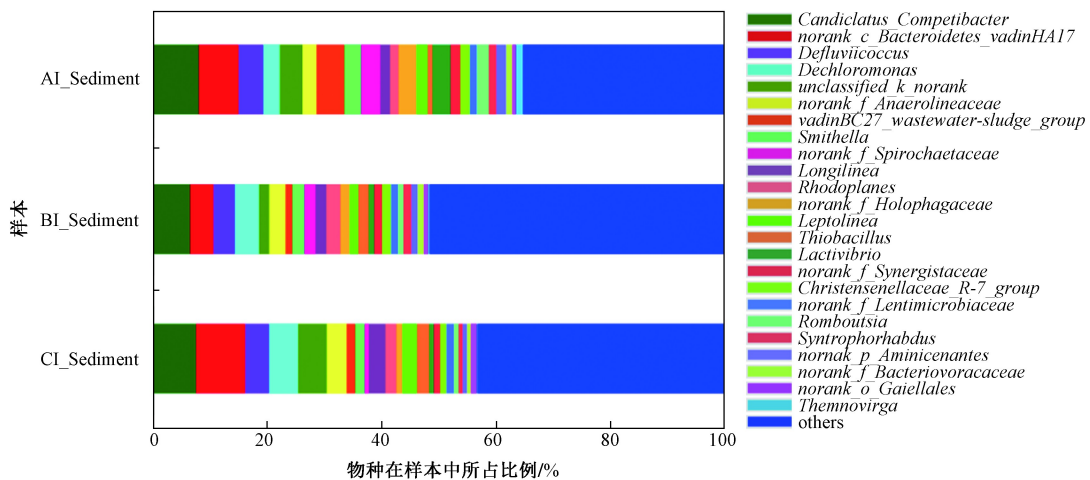
该研究基于 OTU 水平, 进行 Alpha 多样性分析, 绘出 Shannon-Wiener 曲线[见图 2(a)], 曲线坡度随测序深度增加趋于平坦, 测序数量足够大, 可反映测序样本微生物种群多样性的真实情况. 在 16S rRNA 测序中共得到 651 958 条有效序列和 28 516 个 OTUs 数. OTUs 数以及物种多样性如表 4 所示.



(a) 微生物种群多样性的Shannon-Wiener曲线



(b) 基于门水平下样本与物种的关系



(c) 基于属水平下的底泥群落组成

图 2 初始底泥微生物的 Alpha 和 Beta 多样性分析

Fig.2 Analysis of Alpha and Beta diversity of microorganisms in initial sediment

表 4 细菌多样性指数分析
Table 4 Bacterial diversity index analysis

样本编号	OTUs数(97%)	Shannon-Wiener指数	Simpson指数	Chao 1指数	Coverage指数
A1_Sediment	1 585	5.508	0.014	2 337.695	0.974
A1_EU	174	2.731	0.123	217.875	0.999
A2_EU	623	4.225	0.040	839.000	0.995
A3_EU	1 635	5.447	0.014	2 578.060	0.980
A4_EU	1 593	5.502	0.016	2 435.322	0.975
A5_EU	1 534	5.383	0.016	2 228.784	0.978
B1_Sediment	2 403	6.279	0.006	3 290.582	0.977
B1_EU	1 963	6.085	0.008	3 031.334	0.965
B2_EU	2 331	6.230	0.006	3 200.366	0.978
B3_EU	1 985	6.095	0.007	2 946.189	0.972
B4_EU	2 313	6.188	0.007	3 140.831	0.976
B5_EU	2 438	6.301	0.006	3 326.465	0.979
C1_Sediment	1 850	5.859	0.011	2 712.555	0.961
C1_ES	2 166	4.247	0.054	1 982.225	0.978
C1_EU	1 268	5.747	0.015	3 024.220	0.973
C2_ES	394	2.316	0.187	857.269	0.992
C2_EU	2 261	5.728	0.015	3 098.433	0.978

注: OTUs 数是在 97% 的相似水平下进行划分; Shannon-Wiener 指数用来估算样本中微生物多样性; Simpson 指数是从一个群落中连续两次抽样所得到的个体数属于同一种的概率; Chao 1 指数在生态学中常用来估计物种总数, 表征菌群丰度; Coverage 指数指各样本文库的覆盖率。

根据 OTUs 数以及物种多样性 (见表 4) 可知: 不同外源性碳组中, A1_EU 微生物群落相对丰度和多样性较反应前降低; A2_EU 微生物群落相对丰度和多样性相对 A1_EU 增大; A3_EU 微生物群落多样性低于 A4_EU. 此外, B4_EU 微生物群落相对丰度和群落多样性均低于 B5_EU. 剪切力组中, B1_EU 微生物群落多样性略低于 B5_EU, 且 B1_EU 微生物群落相对丰度更为明显较低. 温度组中, B2_EU 和 B5_EU 微生物群落多样性相似, 但 B2_EU 微生物群落相对丰度较低. pH 组中, B3_EU 微生物群落多样性略低于 B5_EU, 但 B3_EU 微生物群落相对丰度显著较低. SO_4^{2-} 组中, C2_EU 微生物群落多样性和相对丰度与 C1_EU 相似, 但上覆水中 C2_ES 微生物群落多样性和相对丰度远低于 C1_ES.

通过 Beta 多样性分析可知, 底泥 1#、2#、3# [见图 2(b)] 微生物在门水平上的优势种主要为 Proteobacteria (变形菌门, 占比为 29% ~ 37%)、Bacteroidetes (拟杆菌门, 占比为 24% ~ 39%)、Chloroflexi (绿弯菌门, 占比为 28% ~ 41%)、Firmicutes (厚壁菌门, 占比为 26% ~ 38%) 等. 其中, Proteobacteria、Bacteroidetes 及 Firmicutes 作为管网底泥在门水平上的优势种, 是厌氧消化系统中最为重要的发酵菌门^[19], 可见排水管网内的生化反应过程以发酵作用为主.

属水平上优势种主要为 *Candidatus_Cometibacter* (聚糖菌属, 占比为 6.5%~8.0%)、*norank_c_Bacteroidetes_vadinHA17* (无分类拟杆菌门属, 占比为 4.0%~8.6%)、*Defluviicoccus* (占比为 4.7%~3.2%)、*Dechloromonas* (脱氯单胞菌, 占比为 2.8%~5.0%)、*vadinBC27_wastewater-sludge_group* (占比为 1.1% ~ 4.9%) 等 [见图 2(c)]. 其中, *Candidatus_Cometibacter* 在管网厌氧过程中产生并积累聚-β 羟基-链烷酸酯 (PHA), 再以硝酸盐和亚硝酸盐作为电子受体在缺氧段还原 PHA, 随后在好氧条件下可以将聚羟基脂肪酸氧化成二氧化碳或转化成糖原^[20]; *norank_c_Bacteroidetes_vadinHA17* 是一种厌氧杆菌, 可分解蛋白胨或葡萄糖, 产生乙酸、乳酸和丙酸等^[21], 与 *Candidatus_Accumulibacter* 类似, 具有 PHA 与脂肪酸合成功能^[22], 是降解管网中有机碳的重要菌属.

2.2 不同水力水质工况对微生物组多样性的影响

2.2.1 外源性碳

在外源性碳的影响下, 通过门水平的相对丰度分析 [见图 3(a)] 可知, A1_EU 中仅有 Proteobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes, 而 A2_EU 除这三类细菌门外, 还发现相对丰度较低的 Actinobacteria (放线菌门, 0.38%)、Synergistetes (互养菌门, 0.5%) 和 Spirochaetae (螺旋菌门, 0.4%). 烘干底泥在没有外源性碳源和微生物补充的情况下, 原底泥中 *vadinBC27_wastewater-*

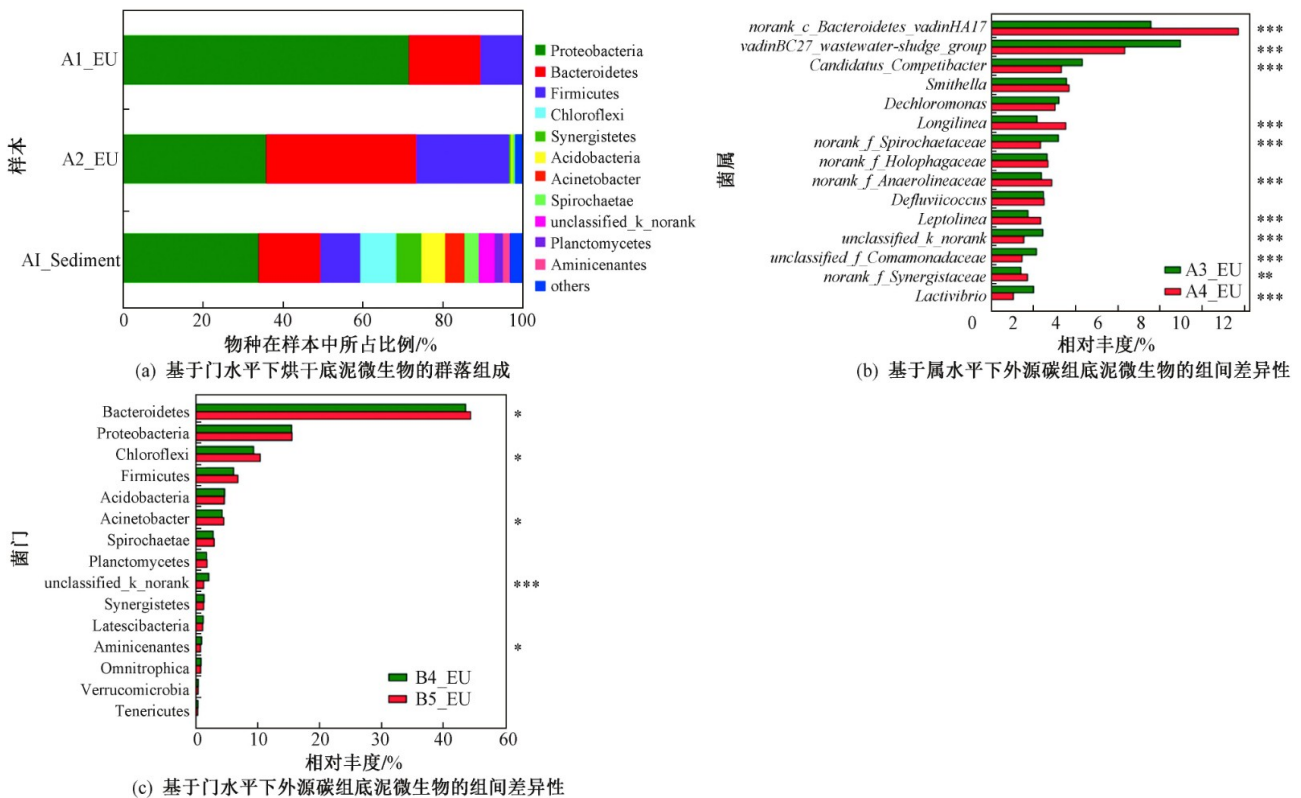
sludge_group、*norank_c_Bacteroidetes_vadinHA17* 等厌氧消化的菌属几乎消失. 而过膜后的污水虽滤去大多微生物, 但仍留有大量溶解性有机物, 为底泥补充了适量的碳源, 因此 A2_EU 中厌氧发酵菌丰度得到提高, 出现 *Synergistete*、*Spirochaetae* 等产甲烷阶段的新增菌群. 对 A3_EU 和 A4_EU 进行属水平的组间差异性分析[见图 3(b)], 发现优势菌属在有外源性碳补充的底泥中相对丰度更高, 其中厌氧杆菌 *norank_c_Bacteroidetes_vadinHA17* 差异性最显著($P \leq 0.001$), 在样本中相对丰度分别为 7.6% 和 11.7%.

此外, 径流雨水和生活污水中因所携带的有机物种类不同, 使得微生物对其作用效率不同, 所以不同的外源性碳对底泥中微生物组的多样性也有影响. 通过对 B4_EU 和 B5_EU 中微生物的门水平组间差异性分析[见图 3(c)], 优势菌门均为 *Bacteroidetes*、*Chloroflexi*、*Firmicutes*、*Acinetobacter* 等有机物降解类相关菌门, 但在污水组底泥中相对丰度更高. *Bacteroidetes* 能分解底泥中蛋白胨或葡萄糖, 产生乙酸、乳酸和丙酸等; *Chloroflexi* 作为一种严格的厌氧微生物, 能利用一系列的短链脂肪酸产生 H_2 、 CO_2 及乙酸, 并且能与氢营养的产甲烷菌共生参与有机化合

物的降解; *Firmicutes* 可以水解蛋白、脂肪和碳水化合物等大分子物质, 在厌氧发酵过程中对挥发酸的产生具有重要作用. 这些优势菌门可快速分解底泥中部分蛋白质及有机酸等简单小分子物质, 完成自身的微生物呼吸及代谢过程^[23], 因此这些优势菌门在得到污水中大量有机物的补充后, 相对丰度显著高于雨水组 ($0.01 < P \leq 0.05$). 同时通过 EEM 分析, 反应后污水组底泥中类色氨酸荧光峰强度较反应前的增幅 (142.7%) 大于雨水组 (72.6%) (见表 3), 可侧面证明污水组底泥中有机物降解类微生物相对丰度更高, 微生物作用产物更多.

2.2.2 剪切力

不同剪切力对底泥表层生物环境和微生物群落结构影响较大. 剪切力的增大有利于 DOM 在底泥中的渗透, 促进底泥中微生物的生长和碳降解效率. 基于门水平下剪切力组底泥微生物的组间差异性[见图 4(a)], 发现 *Proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 在 B5_EU 中相对丰度分别为 44.4% 和 8.9%, 在 B1_EU 中相对丰度分别为 46.5% 和 10.9%, 呈显著性差异 ($P \leq 0.001$), 因此反应后较高剪切力组的底泥 COD 降幅 (81.1%) 大于对照组 (74.0%) [见图 4(c)], 且反应后类色氨酸



注: *表示 $0.01 < P \leq 0.05$, **表示 $0.001 < P \leq 0.01$, ***表示 $P \leq 0.001$. 下同.

图3 外源碳组底泥微生物的群落分析和组间差异性分析

Fig.3 Analysis of sediment microbial community and inter-group difference in exogenous carbon group

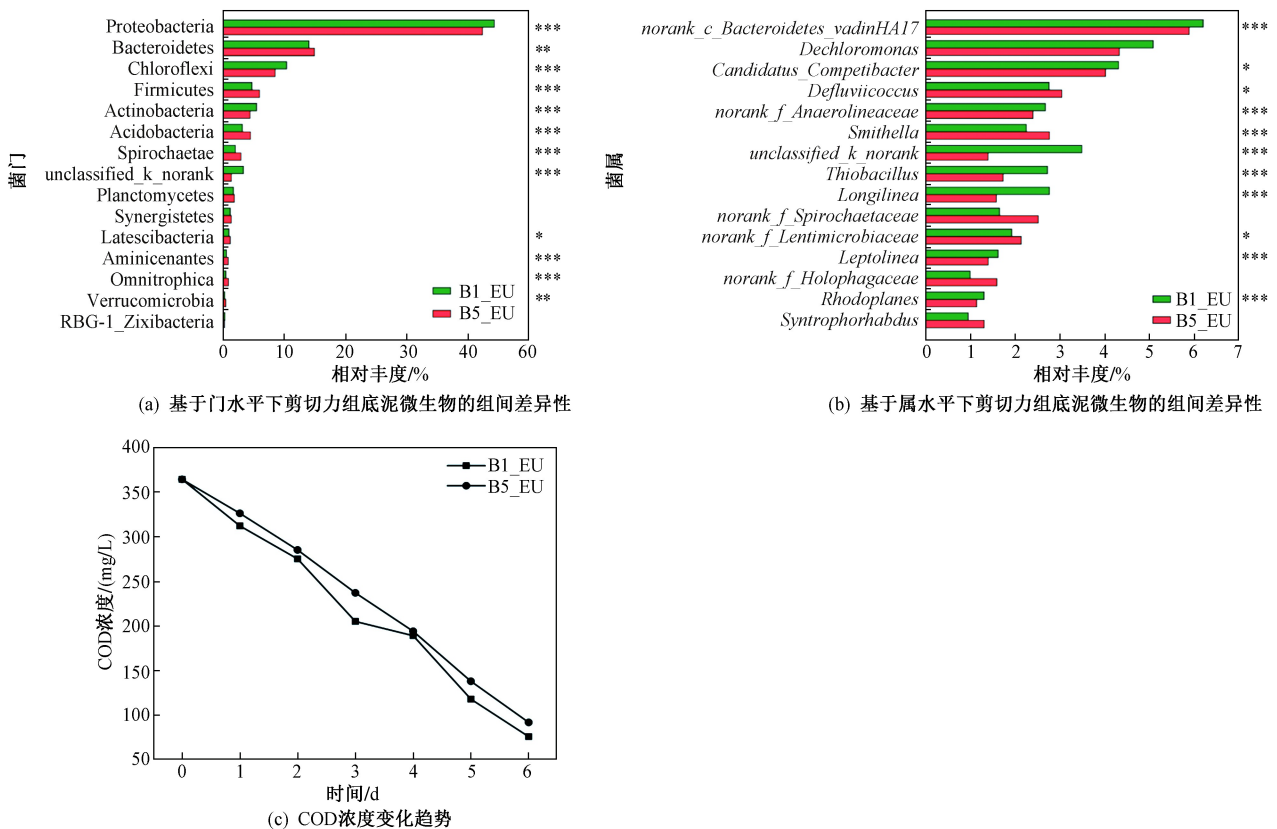


图4 剪切力组底泥微生物的组间差异性分析和 COD 浓度变化趋势

Fig.4 Analysis of the difference between microbial groups in the sediment of shear stress group and the change trend of COD concentration

荧光强度的增幅 (294.2%) 高于对照组 (142.7%) (见表 3)。

剪切力一方面影响了上覆水中碳源向底泥的渗透, 另一方面造成水流湍动加大溶解氧逸散。基于属水平下剪切力组底泥微生物的组间差异性 [见图 4(b)], 发现优势菌属 *Dechloromona*、*norank_f_Anaerolineaceae* (厌氧绳菌属)、*Longilinea* (长绳菌属) 在 B1_EU 中相对丰度显著 ($P \leq 0.001$) 高于 B5_EU 中的相对丰度, 其在 B1_EU 相对丰度分别为 5.5%、2.3% 和 2.8%, 而在 B5_EU 中的相对丰度分别为 4.3%、2.3% 和 1.5%。因此高剪切力为这些主要功能是分解蛋白、碳水化合物的底泥厌氧微生物提供了良好的厌氧环境, 使厌氧类微生物的丰度增加。此外, 低剪切力下可富集更多微生物, 形成紧密的活性高的生物膜^[24], 0.732 N/m² 的剪切力可能影响了管网中泥水分层的界面, 破坏了上层底泥的环境, 因此使得微生物群落多样性降低。

2.2.3 温度

在不同温度的影响下, 底泥中主要优势菌门 *Proteobacteria*、*Bacteroidetes* 和 *Chloroflexi* 的相对丰

度 [见图 5(a)] 均呈现显著性差异 ($P \leq 0.001$)。因温度会影响微生物蛋白质活性, 同时较高温度会降低底泥中溶解氧浓度, 所以在 25 °C 环境下, B5_EU 中 *Proteobacteria*、*Bacteroidetes* 等菌门相对丰度更高; 而 *Chloroflexi* (11.1%) 可适应温度较广, 可在 41 °C 环境下的底泥中进行厌氧反应, 所以在 B2_EU 中相对丰度更高。结合 EEM 分析, B5_EU 中类色氨酸荧光强度的增幅 (142.7%) 高于对照组 (94.6%) (见表 3), 可侧面证明 25 °C 环境中微生物组相对丰度更大, 微生物作用产物更多。

从属水平 [见图 5(b)] 分析, 优势菌属 *Candidatus_Cometibacter*、*Defluviicoccus* 等相对丰度较高且呈显著性差异 ($P \leq 0.001$), 且在 B2_EU 中相对丰度更高 (分别为 4.9% 和 3.8%)。 *Defluviicoccus* 适宜温度较高, 在厌氧阶段吸收并储存糖类有机物, 为厌氧代谢提供能源^[25]; *Candidatus_Cometibacter* 的厌氧最适温度为 35 °C 左右, 合成 PHA 的速率随温度的升高而降低, 而好氧温度最高不超过 30 °C, 因此相比于 25 °C, 41 °C 更有利于 *Candidatus_Cometibacter* 生存。

2.2.4 pH

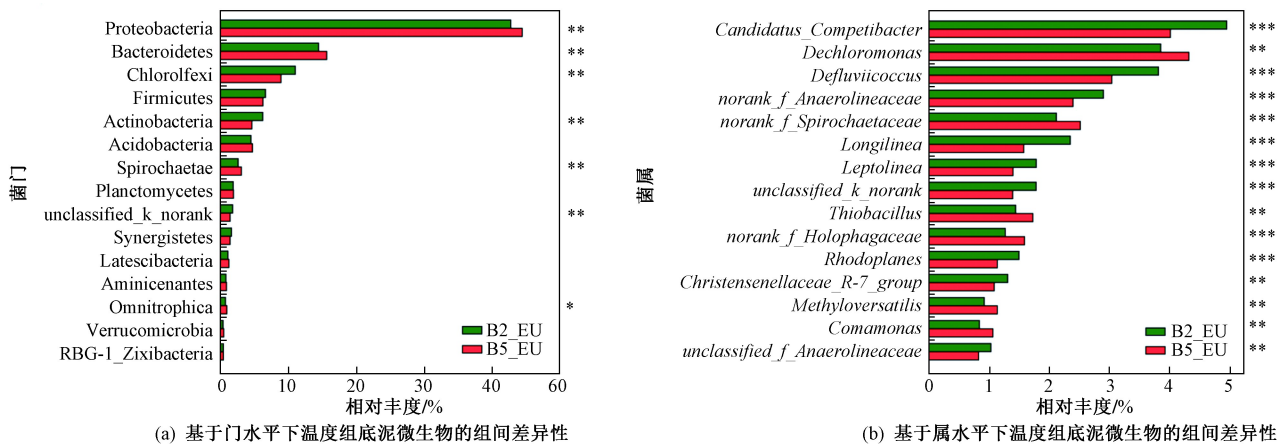


图5 温度组底泥微生物的组间差异性分析

Fig.5 Analysis on the differences of the bottom mud microorganisms of the temperature group

微生物生长有最适的 pH 范围, 不同的 pH 会改变营养物质的供给状态, 影响菌体细胞膜的带电荷性质和稳定性, 还会影响对物质的吸收能力, 最终影响微生物群落和丰度.

通过门水平的组间差异分析[见图 6(a)]可知, 只有优势菌门 Proteobacteria、Chloroflexi 在 B3_EU 中的相对丰度分别为 49.4% 和 10.1%, 显著 ($P \leq 0.001$) 大于在 B5_EU 中的相对丰度 (分别为 44.4% 和 8.9%). 在 B3_EU 的碱性环境中, 这两个优势菌门均为杆状菌, 没有过量的丝状菌, 这与朱哲等^[26] 研究结果一致. 而其余呈显著性差异的优势菌门 ($P \leq 0.001$) 在 B5_EU

中相对丰度更高, 如 Bacteroidetes、Firmicutes 等. 这些细菌因胞外聚合物多带负电荷, 在碱性环境下, 胞外聚合物中酸性基团发生了裂解, 使多糖和蛋白质流出^[27], 且优势种在有充足碳源的情况下产生并积累有机酸, 使 B3_EU 的 COD 降幅 (75.7%) 低于 B5_EU 的 COD 降幅 (54.6%)[见图 6(b)]. 这与黄健等^[28] 研究在碱性环境下, 大量细胞裂解和累积的有机酸, 使得类色氨酸荧光强度的增幅 (201.5%) 高于中性环境下的 (142.7%)(见表 3) 的结果一致, 因此 B3_EU 中微生物的相对丰度较低, 但微生物种类却略少于 B5_EU 中的微生物种类.

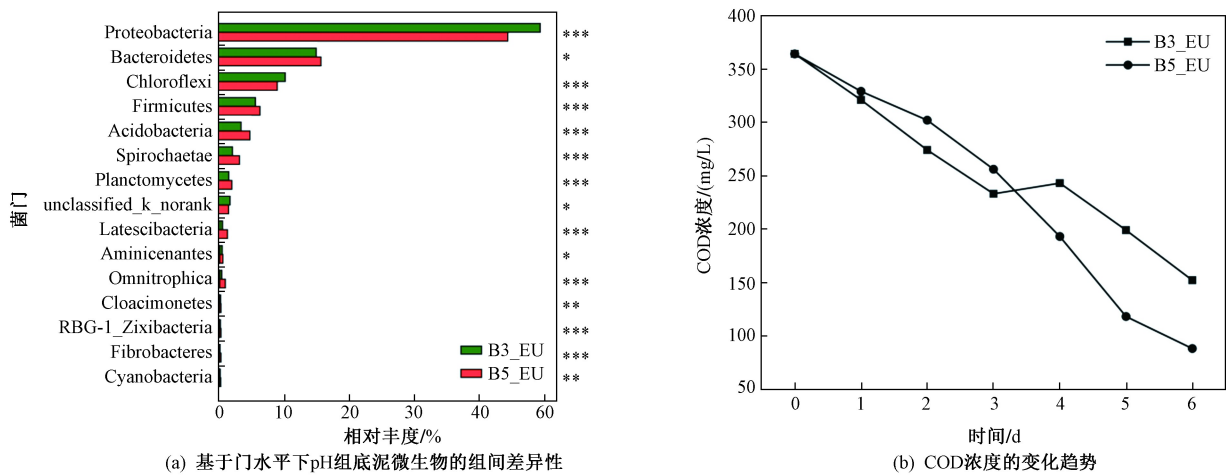


图6 pH 组底泥微生物的组间差异性分析和 COD 浓度的变化趋势

Fig.6 Analysis of difference between microflora and change trend of COD concentration in sediment of pH group

2.2.5 SO_4^{2-} 浓度

在不同 SO_4^{2-} 条件下, C1_EU 和 C2_EU 中微生物群落相似且相对丰度变化不明显, 但上覆水中微生物组成和相对丰度变化明显, 且属水平组间差异显著 (见图 7), 优势种主要为 Zavarzinia(扎瓦尔金氏菌属)、

Methyloparacoccus 和 Kerstersia (克斯特菌属). C2_ES 中 Zavarzinia (25.9%)、Methyloparacoccus (30.5%)、Kerstersia (18.4%) 相对丰度均大于 C1_ES 中的相对丰度 (依次分别为 12.6%、2.3% 和 7.5%). 同样作为上覆水优势种的 Methylocystis (甲基孢囊菌属) 也呈显

著性差异 ($P \leq 0.001$), 但 C1_ES 的 *Methylocystis* (10.7%) 的相对丰度远大于 C2_ES 中的相对丰度 (3.2%)。这是因为高 SO_4^{2-} 浓度为嗜酸菌、酸杆菌、硫酸盐还原菌等菌属提供了良好的生存环境, 对厌氧反应类的微生物有较大抑制性。但改变 SO_4^{2-} 浓度对底泥中微生物影响不大, 这不仅是因为 SO_4^{2-} 渗透有限, 也是因为产硫过程只发生在底泥表面 0~1 cm 处^[21]。同时, *Methylocystis* 和其他嗜酸甲烷氧化菌一样, 无法在有有机酸或糖中生长^[29], 能够利用甲烷和甲醇, 又能够利用一些含 C—C 键的多碳有机物作为其生长底物^[30]。

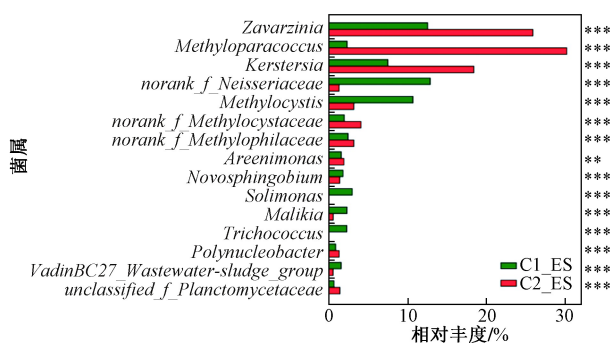


图7 基于属水平下 SO_4^{2-} 组上覆水微生物的组间差异性分析

Fig.7 Analysis of the differences between groups of SO_4^{2-} overlying water microorganisms based on the genus level

上覆水 SO_4^{2-} 浓度对上覆水中微生物产生了较大的影响, 尤其高浓度的 SO_4^{2-} 会对厌氧微生物产生强烈的抑制作用, 且 SO_4^{2-} 浓度越大, 厌氧发酵气体产排量越低, 这与 Jeong 等^[31] 研究甲烷菌在含 SO_4^{2-} 污泥中受抑制的结果一致。上覆水中优势菌 *Zavarzinia*, 对酸性条件有较高的耐受能力, 可在 pH 小于 5 的酸性环境中生长。新鲜的径流雨水含大量的溶解氧, 且 SO_4^{2-} 浓度为 72 mg/L, 这为严格好氧的优势种 *Zavarzinia* 提供了良好的生存环境。大量 *Zavarzinia* 将乙醇氧化成醋酸, 减少了碳的转化。同样是优势种且适宜生存在酸性和有溶解氧环境中的 *Methyloparacoccus*, 可利用 CH_4 或甲醇这类 C1 化合物作为其生长底物^[32], 直接或间接地减少 CH_4 的产生。

3 结论

a) 市政重力流排水管网底泥中优势菌门 Bacteroidetes、Chloroflexi、Firmicutes、Acinetobacter 等均为有机物降解类细菌。当混接的污染源越多, 类色氨酸类有机物就越多, 细菌群落多样性就越高; 当外源性碳浓度越高, Bacteroidetes、Chloroflexi、

Firmicutes、Acinetobacter 等菌门丰度就越高。因此整治管网混接, 实行分流制排水系统, 有利于控制底泥微生物的多样性, 减少碳的转化。

b) 在一定范围内, 剪切力越高, 底泥中 *Dechloromona*、*norank_f_Anaerolineaceae*、*Longilinea* 等厌氧微生物 (其主要功能是分解蛋白、碳水化合物) 的丰度就越高。而过高的剪切力, 可能会破坏泥水分界面, 减少生物膜的形成, 降低微生物群落的多样性。

c) 在一定范围内, 温度越高, 底泥微生物组丰度就越高。在 41 °C 环境下, 适应温度较广的优势菌门 Chloroflexi 和优势菌属 *Defluviococcus*、*Candidatus_Cometibacter* 丰度最高, 其合成大量有机物, 存在 CH_4 排放的潜势; 而 Proteobacteria、Bacteroidetes 等菌门因微生物蛋白质活性受温度影响, 微生物组丰度降低。

d) 在碱性环境中, 微生物胞外聚合物中酸性基团发生了裂解, 只有 Proteobacteria、Chloroflexi 等杆状菌丰度较高, 没有过量的丝状菌, 且可能因累积的大量有机酸, 从而产生了大量类色氨酸。而 pH 为中性的环境中, Bacteroidetes、Firmicutes 等菌门丰度更高。

e) SO_4^{2-} 浓度对底泥微生物影响较小, 但较高 SO_4^{2-} 浓度提高了上覆水中 *Methylocystis*、*Zavarzinia* 等微生物丰度, 抑制了 *Methylocystis* 等厌氧微生物的生长, 有利于抑制 COD 的降解, 但可能会造成 H_2S 浓度的提高, 这个问题还需进一步研究。

参考文献 (References):

- [1] 黄乃先, 齐一凡, 金伟, 等. 排水管道沉积物控制的研究进展[J]. 环境工程技术学报, 2021, 11(3): 507-513.
HUANG N X, QI Y F, JIN W, et al. Research progress of sediment control in drainage pipeline[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2021, 11(3): 507-513.
- [2] GUIASOLA A, SHARMA K R, KELLER J, et al. Development of a model for assessing methane formation in rising main sewers[J]. Water Research, 2009, 43(11): 2874-2884.
- [3] 张怡蕾, 操家顺, 薛朝霞, 等. 城市排水管道内污染物迁移转化规律研究进展[J]. 环境科学研究, 2020, 33(1): 111-121.
ZHANG Y L, CAO J S, XUE Z X, et al. Research progress on the pollutants migration and transformation in municipal sewer[J]. Research of Environmental Sciences, 2020, 33(1): 111-121.
- [4] MCLELLAN S L, DE-ROGUET A. The unexpected habitat in sewer pipes for the propagation of microbial communities and their imprint on urban waters[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2019, 57: 34-41.
- [5] 康小虎, 冷艳, 曾小英, 等. 污水处理活性污泥微生物群落研究进展[J]. 环境科学与技术, 2020, 43(5): 49-54.
KANG X H, LENG Y, ZENG X Y, et al. Review on activated sludge microbial community in sewage treatment[J]. Environmental Science & Technology (China), 2020, 43(5): 49-54.

- [6] ATASOY M,EYICE O,SCHNÜRER A,et al.Volatile fatty acids production via mixed culture fermentation:revealing the link between pH,inoculum type and bacterial composition[J]. *Bioresource Technology*,2019,292:121889.
- [7] SCHULZ S,CONRAD R.Influence of temperature on pathways to methane production in the permanently cold profundal sediment of Lake Constance[J]. *FEMS Microbiology Ecology*,1996,20(1):1-14.
- [8] LIU Y Q,CONRAD R,YAO T D,et al.Change of methane production pathway with sediment depth in a lake on the Tibetan Plateau[J]. *Palaeogeography,Palaeoclimatology,Palaeoecology*,2017,474:279-286.
- [9] CAO J S,ZHANG T,WU Y,et al.Correlations of nitrogen removal and core functional genera in full-scale wastewater treatment plants:Influences of different treatment processes and influent characteristics[J]. *Bioresource Technology*,2020,297:122455.
- [10] 张晓红,姜博,张文武,等.京津冀区域市政污水厂活性污泥种群结构的多样性及差异[J]. *微生物学通报*,2019,46(8):1896-1906. ZHANG X H,JIANG B,ZHANG W W,et al.Microbial community diversity of activated sludge from municipal wastewater treatment plants in Beijing-Tianjin-Hebei Region[J]. *Microbiology China*,2019,46(8):1896-1906.
- [11] SCHMITT F,SEYFRIED C F.Sulfate reduction in sewer sediments[J]. *Water Science and Technology*,1992,25(8):83-90.
- [12] MENG D Z,WU J,CHEN K L,et al.Effects of extracellular polymeric substances and microbial community on the anti-scourability of sewer sediment[J]. *Science of the Total Environment*,2019,687:494-504.
- [13] OUALIT M,JAUBERTHIE R.Corrosion of concrete pipes in a sewer environment-two case studies[J]. *Water and Environment Journal*,2020,34(4):600-610.
- [14] LIU Y W,SHARMA K R,NI B J,et al.Effects of nitrate dosing on sulfidogenic and methanogenic activities in sewer sediment[J]. *Water Research*,2015,74:155-165.
- [15] WHITMAN W B,BOWEN T L,BOONE D R.The methanogenic bacteria[M].Berlin,Heidelberg:Springer Berlin Heidelberg,2014:123-163.
- [16] 张欢,崔康平,张强,等.派河水体中DOM的光谱分析及其来源解析[J]. *环境科学研究*,2019,32(2):227-234. ZHANG H,CUI K P,ZHANG Q,et al.Spectral analysis and source analysis of DOM in Paihe River[J]. *Research of Environmental Sciences*,2019,32(2):227-234.
- [17] FASCHING C,BEHOUNEK B,SINGER G A,et al.Microbial degradation of terrigenous dissolved organic matter and potential consequences for carbon cycling in brown-water streams[J]. *Scientific Reports*,2014,4:4981.
- [18] FIERER N,JACKSON R B.The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. *PNAS*,2006,103(3):626-631.
- [19] LUO J H,LIANG H,YAN L J,et al.Microbial community structures in a closed raw water distribution system biofilm as revealed by 454-pyrosequencing analysis and the effect of microbial biofilm communities on raw water quality[J]. *Bioresource Technology*,2013,148:189-195.
- [20] SEVIOUR T W,LAMBERT L K,PIJUAN M T,et al.Selectively inducing the synthesis of a key structural exopolysaccharide in aerobic granules by enriching for Candidatus 'Competibacter phosphatis'[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*,2011,92(6):1297-1305.
- [21] SONG T W,LI S S,YIN Z C,et al.Hydrolyzed polyacrylamide-containing wastewater treatment using ozone reactor-upflow anaerobic sludge blanket reactor-aerobic biofilm reactor multistage treatment system[J]. *Environmental Pollution*,2021,269:116111.
- [22] 刘旭,王继华,车琦,等.AOA-SBR系统运行效能及高效聚磷菌的特性研究[J]. *环境科学研究*,2019,32(8):1427-1436. LIU X,WANG J H,CHE Q,et al.Operational efficiency of an AOA-SBR system and the characteristics of high-efficiency phosphorus-accumulating bacteria[J]. *Research of Environmental Sciences*,2019,32(8):1427-1436.
- [23] 闫彩红,王圣瑞,薛南冬,等.不同氮氨填加量下沉水植物对沉积物DOM荧光特性的影响[J]. *环境科学研究*,2011,24(7):740-747. YAN C H,WANG S R,XUE N D,et al.Effects of submerged plants on fluorescent characteristics of DOM in sediments under different doses of NH₃-N[J]. *Research of Environmental Sciences*,2011,24(7):740-747.
- [24] LAU Y L,LIU D.Effect of flow rate on biofilm accumulation in open channels[J]. *Water Research*,1993,27(3):355-360.
- [25] 常烁,曾薇.EBPR系统中聚糖菌及其反硝化代谢机理的研究进展[J]. *工业水处理*,2019,39(9):8-13. CHANG S,ZENG W.Glycogen accumulating organisms and its denitrifying metabolic mechanism in enhanced biological phosphorus removal systems:a review[J]. *Industrial Water Treatment*,2019,39(9):8-13.
- [26] 朱哲,李涛,王东升,等.pH对活性污泥表面特性和形态结构的影响[J]. *环境工程学报*,2008,2(12):1599-1604. ZHU Z,LI T,WANG D S,et al.Effect of pH on surface properties and physical structure of activated sludge flocs[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*,2008,2(12):1599-1604.
- [27] WANG R D,PENG Y Z,CHENG Z L,et al.Understanding the role of extracellular polymeric substances in an enhanced biological phosphorus removal granular sludge system[J]. *Bioresource Technology*,2014,169:307-312.
- [28] 黄健,吴兆亮,张华,等.pH值对AOA-SBR处理污水过程中COD三维荧光法表征的影响[J]. *生态与农村环境学报*,2017,33(12):1146-1152. HUANG J,WU Z L,ZHANG H,et al.Effect of pH on characterization of COD with three-dimensional fluorescence in the process of AOA-SBR treating wastewater[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*,2017,33(12):1146-1152.
- [29] BELOVA S E,KULICHEVSKAYA I S,BODELIER P L E,et al. *Methylocystis bryophila* sp.nov.,a facultatively methanotrophic bacterium from acidic *Sphagnum* peat,and emended description of the genus *Methylocystis* (ex Whittenbury et al.1970) Bowman et al.1993[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,2013,63:1096-1104.
- [30] LAZIC M,SUGDEN S,SAUVAGEAU D,et al.Metabolome profiles of the alphaproteobacterial methanotroph *Methylocystis* sp. rockwell in response to carbon and nitrogen source[J]. *FEMS Microbiology Letters*,2021,368(2):219.
- [31] JEONG T Y,CHUNG H K,YEOM S H,et al.Analysis of methane production inhibition for treatment of sewage sludge containing sulfate using an anaerobic continuous degradation process[J]. *Korean Journal of Chemical Engineering*,2009,26(5):1319-1322.
- [32] ZHAO T T,XING Z L,ZHANG L J.Research progress and discovery process of facultative methanotrophs:a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*,2013,53(8):781-789.