



· 污染治理 ·

污水处理厂排放废水对受纳河段 沉积微生物群落结构的影响 ——以太平河为例

田雨露^{1,2}, 张柏桓², 鄢仕伟², 孙昊田², 宋进喜², 郭家骅²

(1. 陕西省河流湿地生态与环境重点实验室, 陕西 渭南 714099;

2. 西北大学 城市与环境学院/陕西省地表系统与环境承载力重点实验室, 陕西 西安 710127)

摘要 污水处理厂排放的废水对河流微生物群落有较大影响。为了解其影响程度以及微生物群落对环境因子的响应规律,使用 16S rRNA 技术和生物信息学分析以及统计学分析等方法,分析了太平河沉积物中微生物群落演变特征及其对西安市第六和第七污水处理厂废水排放的响应规律。研究发现,微生物群落丰富度随排水口距离的增加逐渐升高,蓝细菌门(cyanobactria)为太平河微生物群落差异的标志物种, α 变形菌(alphaproteobacteria)为太平河群落功能的关键物种,微生物群落对温度(t)、溶解氧(DO)和盐度(salinity)的响应最为显著。受纳河流沉积物中微生物群落结构的变化可以反映污水处理厂排放废水对河流水质的影响,进而可以表征河流生态系统的健康情况。

关键词 16S rRNA;微生物群落;沉积物;污水处理厂;环境因子;太平河

中图分类号:X703;X172 **DOI**:10.16152/j.cnki.xdxbr.2023-04-010

Effect of wastewater discharged from sewage treatment plant on microbial community structure of sediments in receiving reach: Taking Taiping River as an example

TIAN Yulu^{1,2}, ZHANG Baihuan², YAN Shiwei², SUN Haotian²,
SONG Jinxi², GUO Jiahua²

(1. Key Laboratory for Ecology and Environment of River Wetlands in Shaanxi Province, Weinan 714099, China;

2. College of Urban and Environmental Sciences, Shaanxi Key Laboratory of Earth Surface System and
Environmental Carrying Capacity, Northwest University, Xi'an 710127, China)

Abstract The wastewater discharged from the sewage treatment plant has a greater impact on the river microbial community. In order to understand the degree of its influence and the response of microbial communities to environmental factors, 16S rRNA technology, bioinformatics analysis and statistical analysis were used to analyze the evolution characteristics of microbial communities in the sediments of the Taiping River and the response law on the wastewater from the sixth and seventh sewage treatment plants in Xi'an. The study found

收稿日期:2023-01-23

基金项目:国家自然科学基金青年项目(42101077,42201109);陕西省河流湿地生态与环境重点实验室开放基金项目(SXSD202002);陕西省青年千人计划(334041900007)

第一作者:田雨露,男,博士,副教授,从事流域生态研究,tianyulu@nwu.edu.cn。

通信作者:郭家骅,男,博士,教授,从事环境地理学研究,jiahua_guo@nwu.edu.cn。

that the abundance of the microbial community gradually increased with the increase of the distance from the drainage outlet. Cyanobacteria was the biomarker in the microbial community of the Taiping River, and α -proteobacteria (alphaproteobacteria) was a key species for the community function of the Taiping River. Microbial community had the most significant response to dissolved oxygen (DO), temperature and salinity. The change of microbial community structure in the sediments of receiving rivers can reflect the impact of wastewater discharged from sewage treatment plants on river water quality, and then characterize the health of river ecosystem.

Keywords 16S rRNA; microbial community; sediment; sewage treatment plants; environmental factors; Taiping River

随着我国城市化进程的加快与人口的飞速增长,污水处理厂的日处理量与负荷也逐渐增大^[1]。这导致污水处理厂出水被直接排入水环境中,从而增加了河流水环境容量负荷^[2]。尽管污水处理厂会将污水经过一定处理后达标排放,但是污水处理厂的废水排放依然会对受纳水生态系统的结构和功能产生影响。

沉积物是城市河流系统的重要组成成分,是流域陆源污染物的“汇”,也是水体各种污染物的“源”和“汇”^[3]。相较于浮游微生物,沉积微生物受水体流动的影响较小,其群落的结构也相对稳定,能够较好地反映出环境因子对沉积微生物种群的长期影响^[4]。近些年,随着高通量测序技术的不断发展,人们可以快捷地获取环境样品中的16S rRNA等基因序列,这些基因序列信息通过与数据库中的已知信息进行比对,可揭示不同环境介质中微生物群落的特点^[5]。Xie等基于DNA元条形码技术研究原生生物群落演变特征,可为生态压力源的监测和评估提供有效支撑^[6];Yang等基于生态基因组技术对沉积物中有毒压力源进行生态风险评估,发现此技术可高效监测环境微生物群落的组成变化^[7];Guo等基于高通量测序技术研究藻类生长,得到了绿藻群落结构对抗生素的响应机制^[8];Xie等使用eDNA技术研究石油污染下沉积物中微生物群落结构的变化,发现此技术可有效地评估人为因素对环境的影响^[9];杨琴等使用16S rRNA技术揭示了陕北地区石油污染和未污染土壤中细菌群落结构的差异^[10]。

目前,关于污水处理厂废水排放对河流沉积物中微生物群落影响的相关研究较少,杨思航等探究了不同气候类型对污水处理厂排放废水的影响,发现污水处理厂排放废水中微生物群落对温度、pH和电导率的响应最为显著^[11];赵琛研究了受纳河流微生物群落对污水处理厂排放废水的响

应,发现水体中的微生物群落存在空间性差异^[12];Wang等对比了不同污染源对太湖沉积物中微生物群落的影响,发现污水处理厂排放污染对其影响最为显著^[13]。由此可见,当前研究多集中于揭示微生物群落多样性,而缺少微生物之间相互关系的网络推断分析和菌群的功能潜能预测分析。因此,在特定的时空变化和环境过程的驱动下,微生物之间的相关性尚不清楚,无法准确获取微生物群落在河流生态系统中的生态功能。本研究利用16SrRNA测序技术,基于应用生物信息学分析平台(QIIME 2),并结合多种统计学分析,研究太平河在西安市第六污水处理厂和第七污水处理厂(以下简称“六污”和“七污”)排水的影响下,河流沉积微生物群落的组成多样性、微生物群落的关联网络和功能潜能预测。在此基础上,揭示显著影响河流沉积微生物群落的环境因子。本研究结合微生物群落、河流水质的理化性质与环境因子,可更为全面地探究污水处理厂排放废水对河流造成的复合效应,同时可为评价西安市其他污水处理厂对受纳河流水生态系统的影响提供科学依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况和采样点布设

西安市位于关中平原中部,北濒渭河,南依秦岭,属于暖温带半湿润大陆性季风气候,春季风多干燥,夏季炎热多雨,秋季天高气爽,冬季寒冷干燥,四季分明但春秋较短,降水分布不均。西安市内地形平坦,河流众多,自古以来素有“八水绕长安”之称。其东西走向的河流有泾河和渭河,南北走向的河流有涝河、沣河、皂河、浐河、灞河等。作为西安市内最大的过境河流,渭河发源于甘肃省渭源县鸟鼠山,于陕西潼关汇入黄河,是黄河最

大支流^[11,14]。其支流皂河发源于长安区杜曲街道,河流长度为 35 km,依次流过长安区、雁塔区、高新区、未央区,于渭河城市运动公园处汇入渭河,是一条主要接纳污水的排污渠。

太平河是皂河的主要支流,全长约 26 km,始于西安市第七污水处理厂,流经长安区、高新区、雁塔区、莲湖区、未央区,于未央区八兴滩村附近汇入皂河^[15]。太平河是一条人工河渠,主要接纳河流沿岸污水处理厂排水、工业排水、雨水,具有

接纳污水,防洪蓄水等功能。本研究以太平河在七污和六污排水口附近的河段为研究对象,根据《水质采样方案设计技术规范(HJ 495—2009)》进行采样点的布设。在七污排水口处(S1)及中下游(S2、S3 为中游,S4、S5 为下游)共布设 5 个采样点,在六污排水口上中下游(S6、S7 为上游,S8、S9 为中游,S10、S11 为下游)共布设 6 个采样点,S1 到 S11 的位置分布如图 1 所示。

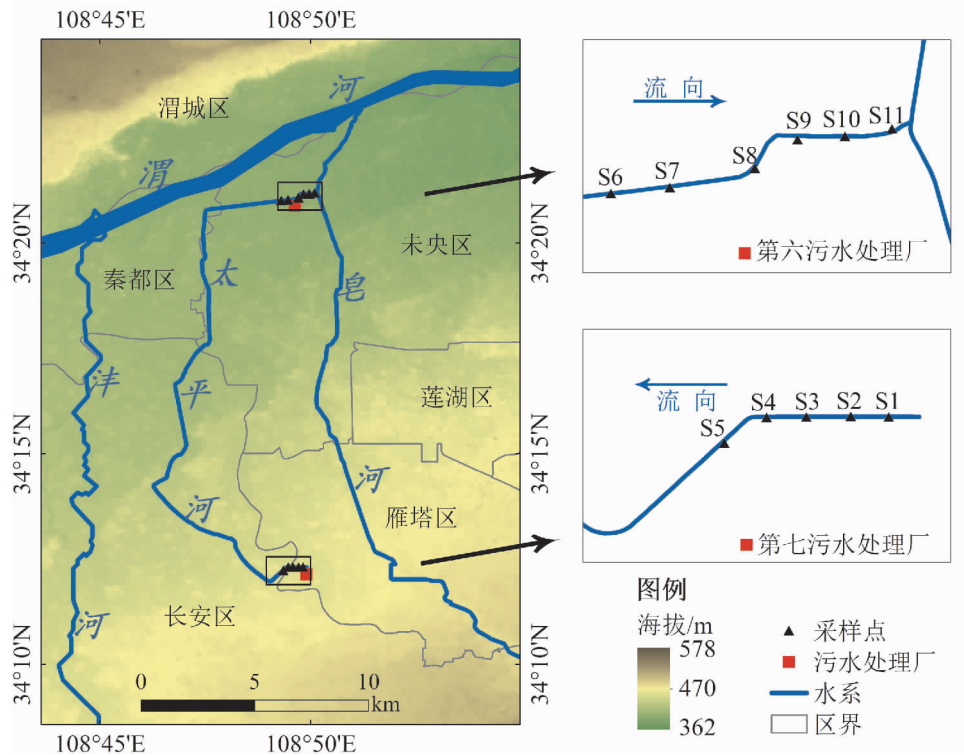


图 1 太平河采样点布设图

Fig. 1 Location of sampling sites of Taiping River

1.2 河流沉积物和水样的采集与保存

沉积物样品:本次研究于 2021 年 1 月 13 日在全部 11 个采样点采集沉积物样品,并使用 GPS 记录了每一个采样点的经纬度坐标。在河道中使用采泥斗和不锈钢铲来采集表层 5 cm 的沉积物样品,在 1 m² 的区域随机抽取 3 个子样本进行混合,作为一个样品,将混合之后的沉积物装入已清洗干净并贴有编号标签的 25 mL 离心管中。运回实验室之后,于 -80 ℃ 低温保存。24 h 内将样品低温(干冰)运送至派森诺生物公司进行高通量测序和微生物群落分析。

水样:在沉积物采样点处,同时采集距沉积物表面 5 ~ 10 cm 水样,将其装入已清洗干净并贴有编号标签的 500 mL 采样瓶中。运回实验室之后,

于 -20 ℃ 低温保存。1 周内完成水样化学分析。

1.3 水样的化学分析

在采样现场,使用川步 tp101 工业温度计测量水样温度(t ,单位:℃);使用 YD-1H 笔式盐度计测量水样的盐度(salinity,单位: 10^{-6});使用 JBP-607A 溶解氧分析仪来测量水样的溶解氧含量(DO,单位:mg/L);使用 pH-100 型 pH 计来测量水样的 pH 值;使用 ORPscan10 笔式 ORP 计测量水样的氧化还原电位(ORP,单位:mV);使用力辰科技笔式电导率仪/TDS 笔测量水样的电导率(conductivity,单位:S/m)和溶解性总固体(TDS,单位: 10^{-6})。

在实验室,使用便携式水质快速测定仪(MI-200B)对水样的水质指标氨氮(NH_4^+-N ,单位:

mg/L)、浊度(turbidity,单位:NTU)、悬浮物(TSS,单位:mg/L)、硝酸盐氮(NO_3^- -N,单位:mg/L)、总磷(TP,单位:mg/L)、总氮(TN,单位:mg/L)、高锰酸盐指数(COD_{Mn} ,单位:mg/L)、亚硝酸盐氮(NO_2^- -N,单位:mg/L)进行测定和记录。

1.4 沉积物样品中微生物测序

本文采用 Illumina 测序^[16]方法,对沉积物样品进行基因组 DNA 抽提,抽提完成后,利用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA,利用紫外分光光度计对 DNA 进行定量分析。PCR 采用 NEB Q5 DNA 高保真聚合酶,选用细菌 16S rDNA V3-V4 区特异性引物,正向引物为 F: ACTCCTACGGCAGCA,反向引物为 R: TCGGAC-TACHVGGGTWTCTAAT。PCR 反应过程见表 1。利用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 进行文库构建。对合格的文库,在 4 MiSeq 机器上利用 MiSeq Reagent Kit V3 (600cycles)进行 2 × 250 bp 的双端测序。

表 1 PCR 扩增过程

Tab. 1 PCR amplification process

过程	反应温度/℃	反应时间/s
预变性	98	30
模板变性	98	15
退火	50	30
合成 DNA 片段	72	30
完整延伸	72	300

1.5 生物信息学分析

1.5.1 物种分类学注释

对于原始测序数据,首先进行初步筛查,对问题样本进行重测、补测,随后将初步筛查完成后的样本进行文库和样本划分,并去除 barcode 序列,按照 QIIME2 dada2 分析流程对序列进行去噪处理,获得 ASVs。采用 QIIME2 的 classify-sklearn 算法对每个 ASV 特征序列进行物种分类学水平注释;采用 QIIME2 对 ASVs 特征序列进行抽平处理,便于后续分析。

1.5.2 分类学组成分析

采用 QIIME2 和自编 pre 脚本统计各样本的分类单元数,并进行分类学组成分析,采用 R 语言(ggraph、ggplot、ggtree 和 phyloseq 包)对抽平后的 ASVs 数据进行统计,可以实现各样本在门、纲、目、科、属、种 6 个分类水平上组成分布的可视化。本研究基于门水平进行分类学组成分析,并以柱状图的形式展现结果。

1.5.3 Alpha 多样性分析

采用 QIIME2 和 R 语言(ggplot 包)计算 Alpha 多样性指数,使用 R 语言脚本绘制箱线图,直观地呈现出不同样本间 Alpha 多样性指数的差异。本研究以 7 种不同的 Alpha 指数来表征微生物群落不同的指标。多样性指数标签下的数字为 Kruskal-Wallis 检验的 p 值,当 $p \leq 0.05$ 时,代表其具有较高的统计学差异可信度^[17]。

使用 R 语言的 vegan 包,绘制稀疏曲线与物种累积曲线。通过绘制稀疏曲线的方式来探究 Alpha 多样性指数与抽平深度的关系,绘制物种累积曲线以探究样本数量是否能够有效反映群落丰富度。

1.5.4 Beta 多样性分析

采用 QIIME2 和 R 语言(ape、vegan、ggtree 包)计算距离矩阵,进行主座标(PcoA)分析,并将结果绘制成散点图,以表征 Beta 多样性。

1.5.5 物种差异与标志物种分析

采用 Python LEfSe 包进行 LEfSe (LDA effect size)分析,通过分类学分支图的形式,对所有分类水平同时进行差异分析,以快速找出引起组内差异的物种。使用基于多组学数据的机器学习方法,进行随机森林分析,通过热图与柱状图组合的形式呈现引起组建差异的标志物种。

以上生物信息学分析均在派森诺基因云平台上进行(www.genescloud.cn)。

1.6 统计学分析

1.6.1 关联网络分析

将相关阈值(r)和卡方检验值(p)构建相关性矩阵,使用随机矩阵理论确定阈值,再采用 igraph^[18]构建关联网络数据,并绘制丰度大小前 15 的物种模块关联网络图。使用指示关键物种的拓扑指数 Z_i 值(within-module connectivity,节点与其所属模块内其他节点的连接情况)和 P_i 值(among-module connectivity,节点与其他模块内节点的连接情况)进行分析,将 2 个值可视化,便于寻找关键物种。

1.6.2 功能潜能预测

使用 PICRUST2 软件^[19]对微生物群落的代谢通路(pathways)进行比较分析。通过柱状图的形式展现太平河上下游的微生物群落功能差异。再使用分层的样本代谢通路丰度表进行通路的物种组成分析,探究承担差异功能的菌种。

1.6.3 RDA 冗余分析

RDA 能够有效地对多个指标进行统计学检验,并确定对水质环境变化具有最大解释能力的最小变量^[20]。本研究使用 R 语言软件包 vegan

对 ASVs 的丰度数据(门水平)和水样的水质指标数据进行线性回归整合(见表 2),以三序图的形式呈现微生物群落与环境因子之间的关系。

表 2 样本测序量统计表
Tab.2 Sample sequencing volume statistics

样品	input	filtered	denoised	merged	nonchimeric	nonsingleton
S1	124 107	112 680	104 351	83 701	65 312	61 132
S2	119 618	107 604	101 354	86 546	65 087	61 991
S3	349 533	314 038	303 923	281 428	228 273	225 353
S4	328 728	294 145	285 963	268 406	219 645	217 128
S5	119 973	107 932	100 797	84 004	69 572	66 497
S6	108 937	97 006	90 675	75 924	57 701	54 712
S7	338 491	306 897	301 166	288 111	253 160	251 754
S8	330 723	294 247	282 680	258 250	175 971	167 614
S9	333 574	300 767	284 101	238 315	173 419	165 122
S10	117 347	107 179	103 276	95 393	72 826	70 169
S11	132 282	119 434	113 834	99 003	62 252	582

2 结果与讨论

2.1 微生物的测序结果

本次测序一共得到 2 403 313 对序列,去除低质量序列之后得到 2 161 929 对序列,去噪处理后得到有效序列 2 072 120 对,经过拼接和去除嵌合体后得到 1 443 218 对高质量序列,再将序列中样本丰度为 1 的单元去除,得到 1 399 712 对序列(见表 2)。本次测序共得到 23 个门、51 个纲、113 个目、181 个科、276 个属和 86 个种,经过处理得到的 ASVs 中,物种分类学注释能够注释到的域、门、纲、目、科、属、种的占比分别为 1%、0%、4%、3%、27%、59% 和 6%(见图 2)。

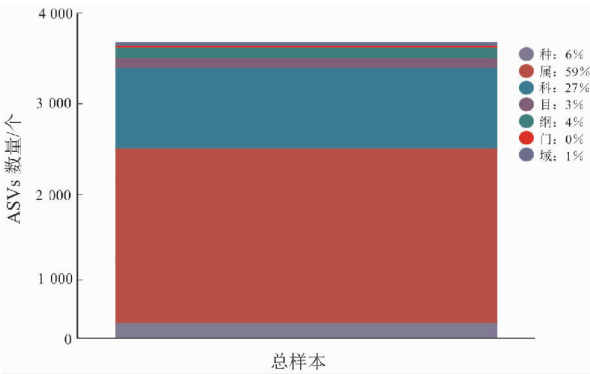


图 2 物种分类学注释
Fig.2 Species taxonomy notes

2.2 微生物群落多样性分析

2.2.1 微生物群落的物种组成

图 3 为基于门水平的微生物群落的物种组成,由图可知,太平河中优势菌种为变形菌门(proteobacteria)。变形菌种类繁多,在污水处理厂的活性污泥中有较高丰度^[21],可以作为河流中的优势菌种。在 S1 点发现蓝细菌门(cyanobacteria),且丰度很高,这是由于 S1 点距离七污排污口很近,废水排出导致此处溶解氧和营养物质含量较高(溶解氧 8.8 mg/L,总磷 1.92 mg/L,均为所有样本中最高含量,见表 3),适合蓝细菌的生长^[22]。

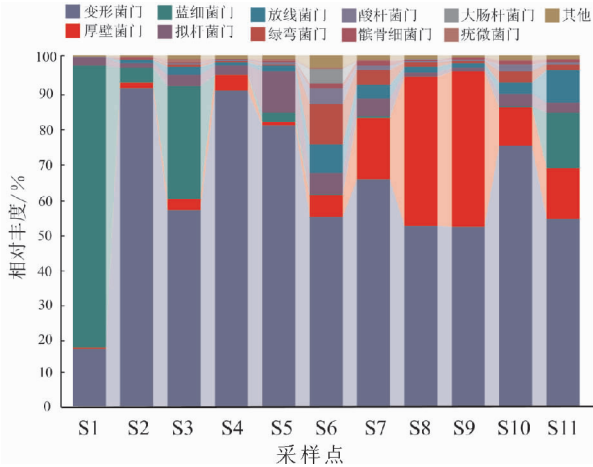


图 3 基于门水平的分类学组成分析
Fig.3 Taxonomy composition analysis based on phylum level

表 3 水样的水质指标数据
Tab. 3 Water quality index data of water samples

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
电导率	1.10	1.03	1.073	1.06	1.12	1.14	0.862	0.890	0.891	0.910	0.015
盐度	619	621	653	655	683	700	867	654	649	647	638
总固体	558	528	571	563	582	601	477	461	439	463	461
pH	6.96	6.90	6.77	6.53	6.73	6.45	6.81	6.60	6.98	6.75	7.24
氧化还原电位	145	150	149	154	152	153	208	195	550	176	170
溶解氧	8.80	7.00	7.80	6.70	6.60	6.10	7.00	7.80	8.00	7.70	7.60
温度	10.1	10.6	10.4	10.8	11.6	12.1	17.3	17.5	15.9	15.9	15.9
氨氮	1.26	1.24	1.08	1.11	0.85	0.82	3.07	4.33	4.03	4.39	3.80
浊度	8.10	5.90	7.70	9.70	8.20	7.90	7.50	14.1	7.70	6.30	8.20
悬浮物	15.4	13.9	15.2	19.5	15.5	14.0	18.5	14.5	13.5	11.4	16.3
硝酸盐氮	6.60	8.99	7.23	8.42	7.36	7.97	5.68	4.87	4.90	6.63	4.69
总磷	1.92	0.150	0.150	0.130	0.150	0.120	0.400	0.48	0.470	0.500	0.450
总氮	8.74	6.09	12.7	18.9	22.1	13.5	13.9	17.1	22.3	6.89	15.5
COD	9.30	20.0	23.6	28.1	13.5	2.80	30.5	37.3	21.8	30.3	28.4
亚硝酸盐氮	0.590	0.550	0.570	0.580	0.570	0.580	0.350	0.610	0.610	0.610	0.4

2.2.2 微生物群落的 Alpha 多样性

图 4 为 7 种 Alpha 多样性指数的变化情况,其中 Goods-coverage 指数与其他指数变化趋势相反,是因为其表征覆盖度,被检测出的物种随着它的值降低而增加^[23]。综合 7 个指数,发现从七污排污口到六污上游,微生物群落丰富度在逐渐升高,从 S1 到 S5, DO 分别为 8.80、7.00、7.80、6.70、6.60 mg/L,总体呈下降趋势,而 NH₄⁺-N 分别为 1.26、1.24、1.08、1.11、0.85 mg/L,总体也

呈下降趋势,由此可以推断,微生物群落随河流流动消耗掉了水中的 DO 和 NH₄⁺-N,从而使群落丰富度逐渐上升。从六污上游到中游之间,随着六污废水进入河流,微生物群落丰富度出现了骤降,Zhang 等研究渭河干流咸阳西安段,得到城市排污是该河段微生物群落多样性下降的主要原因^[24],六污地处六村堡工业园区,大量城市污水经过六污排放到太平河中,导致此河段微生物群落丰富度相较上游出现了大幅度减少。

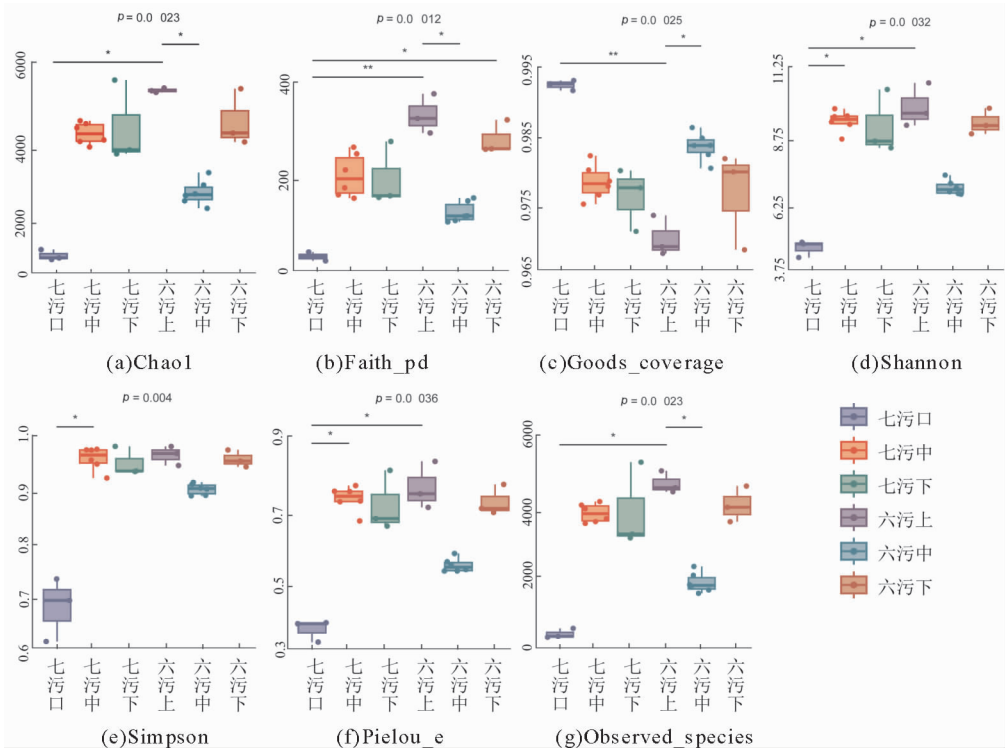


图 4 Alpha 多样性指数检验
Fig. 4 Alpha diversity index test

图 5 为物种稀疏曲线,由图可知,每一个样本的曲线都在抽平深度 30 000 ~ 40 000 bp 趋于平缓。图 6 为物种累积曲线,由图可知,随着样本数量的增加,曲线逐渐趋于平缓。由此可见,本次测序深度和样本数量都足够反映微生物群落的丰富度变化情况。

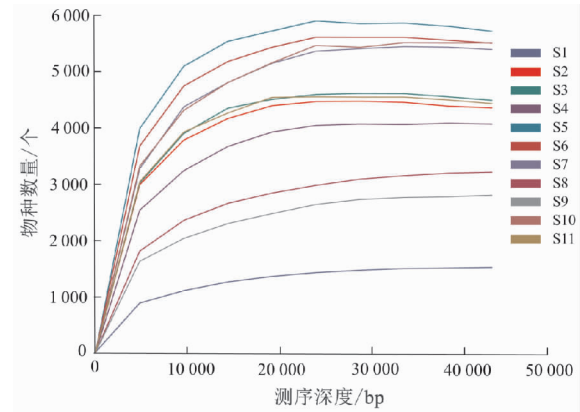


图 5 稀疏曲线
Fig. 5 Rarefaction curve

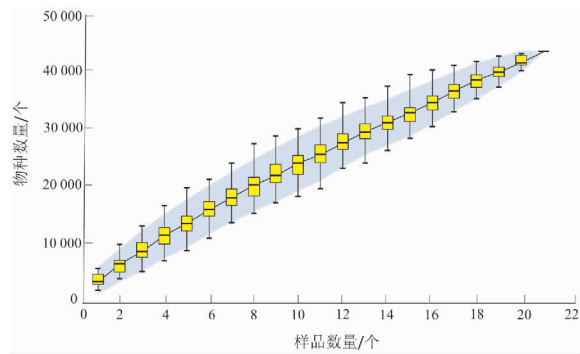


图 6 物种累积曲线
Fig. 6 Species accumulation curves

2. 2. 3 微生物群落的 Beta 多样性

图 7 为 PCoA 分析结果,由图可知,在置信度

较高的 PCo1 维度上(置信度 35.3%, 大于 PCo2 维度的 14.8%),受七污影响的河段与受六污影响的河段微生物群落之间有明显的差异,以七污排污口和中游与六污中下游的差异最为明显。

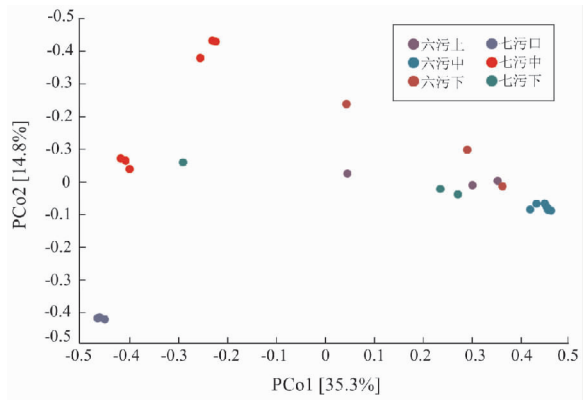


图 7 PCoA 分析结果

Fig. 7 Analysis result of PCoA

2. 3 物种差异与标志物种分析

图 8 为 LEfSe 分析结果,可以看出,受七污影响引起差异的物种为蓝细菌门、 α -变形菌门 (alphaproteobacteria) 和变形菌门;受六污影响的河段引起差异的物种为酸杆菌门 (acidobacteria)、厚壁菌门 (firmicutes) 和放线菌门 (actinobacteria)。

图 9 为随机森林分析结果,可以看出,引起样本之间差异最显著的物种为蓝细菌门和厚壁菌门。蓝细菌门在七污口处尤为显著,是因为七污口处溶解氧和营养元素含量较高;而厚壁菌门在六污影响河段中最为显著,六污以改良型 AAO 工艺为主,陈重军等研究发现厚壁菌常存在于厌氧氨氧化反应器的污泥中^[25],厚壁菌随着六污工艺的废水排放进入太平河中。

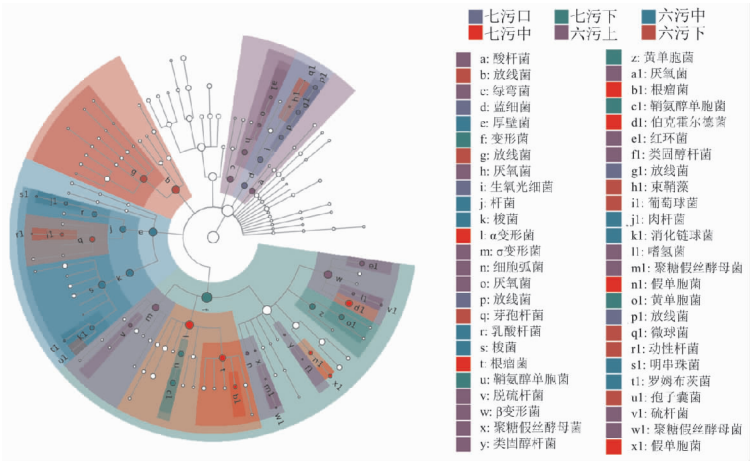


图 8 LEfSe 分析结果
Fig. 8 Analysis result of LEfSe

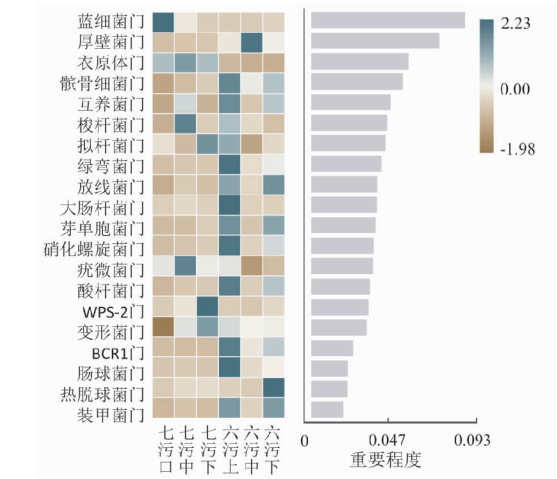


图 9 随机森林分析结果

Fig. 9 Random forest analysis results

2.4 关联网路分析

图 10 为关联网路绘制图,由图可知,蓝细菌门与大部分的变形菌门呈正相关关系,与小部分呈负相关关系;拟杆菌门与蓝细菌门呈较强的负相关关系;衣原体门与绝大部分变形菌门呈负相关关系;小部分变形菌门模块与其他变形菌门模块呈负相关关系。图 11 将 Z_i 值和 P_i 值可视化,得到太平河微生物群落中的关键物种为变形菌门中的 α -变形菌纲。

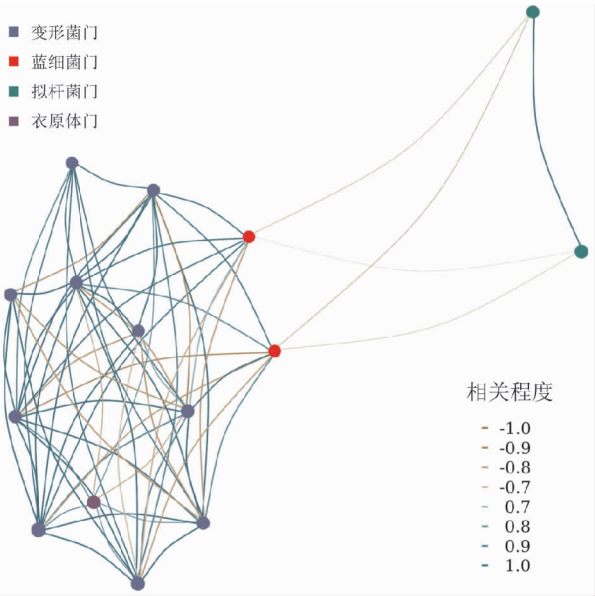


图 10 关联网路绘制图

Fig. 10 Network analysis plot

2.5 功能潜能预测

图 12 为太平河上下游代谢通路的差异,通过对比 KEGG 数据库得到太平河上游显著代谢通路为 L-赖氨酸发酵醋酸盐和丁酸盐 (P163-

PWY);下游显著代谢通路为 dTDP-N-乙酰托莫胺生物合成(PWY-7315)。图 13 为代谢通路物种组成分析的结果,由图可知,承担太平河上游微生物群落功能的主要物种为生氧光细菌 (oxyphotobacteria);承担下游微生物群落功能的主要物种为放线菌 (actinobacteria)。

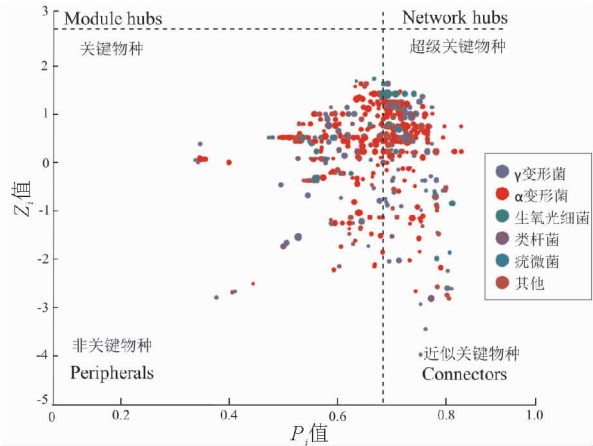


图 11 纲水平 Z_i - P_i 图

Fig. 11 Class-based map of Z_i - P_i

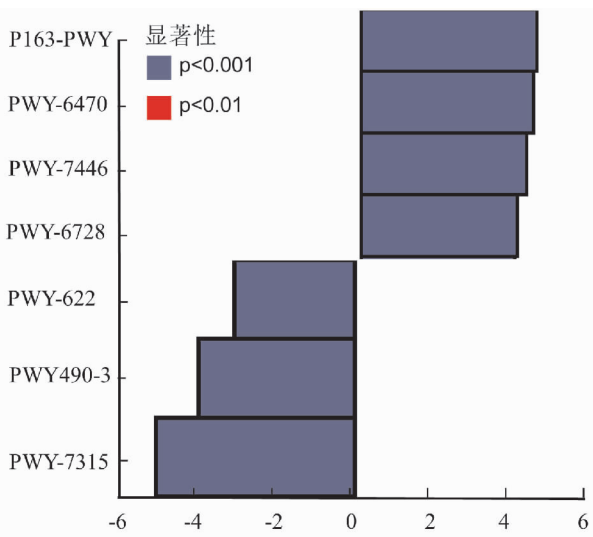


图 12 代谢通路差异分析

Fig. 12 Difference analysis of metabolic pathway

2.6 环境因子与微生物群落的相关性

图 14(a) 为采样点微生物群落与环境变量之间的关系,受七污排水影响的河段与受六污排水影响的河段在轴 1 上具有显著差异,其中:受七污排水影响的河段对总磷、溶解氧和总固体等因子的响应最显著;受六污排水影响的河段对氨氮、氧化还原电位、温度等因子的响应较为显著。从物种角度来看,蓝细菌门与总磷和溶解氧呈正相关,而与盐度和温度呈负相关;厚壁菌门与温度、氧化还原电位、氨氮等呈正相关,与硝酸盐氮、溶解氧

等呈负相关。表 4 为不同环境因子的解释率,其中温度 (30.2%)、溶解氧 (25.3%) 和盐度 (9.8%) 为解释率最高的环境因子,本次采样时间在冬季,排污口排出的废水温度会随着河流流动而迅速降低,所以温度因子的影响最为显著。

图 14(b) 为它们与微生物群落之间的关系,由图可知,总固体 (2.5%)、总氮 (1.4%)、COD_{Mn} (0.8%) 等环境因子对于整个太平河微生物群落的影响不显著。

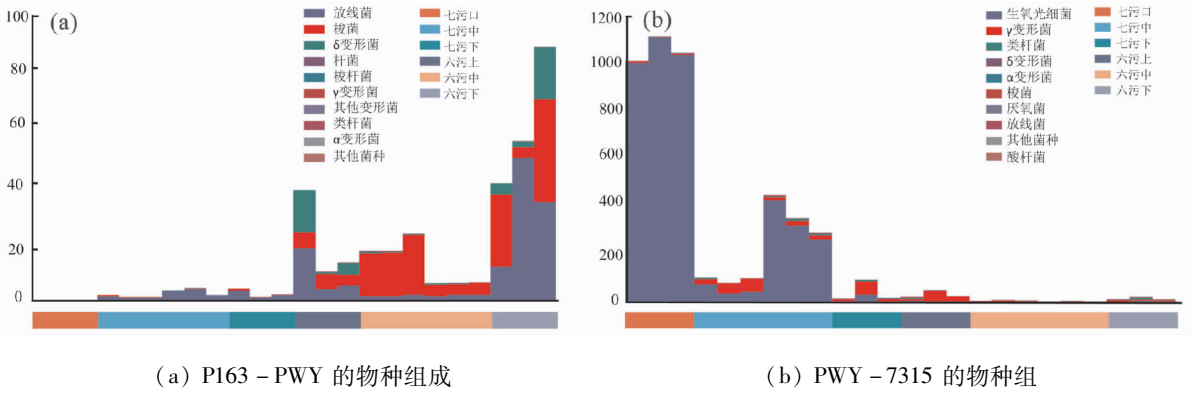
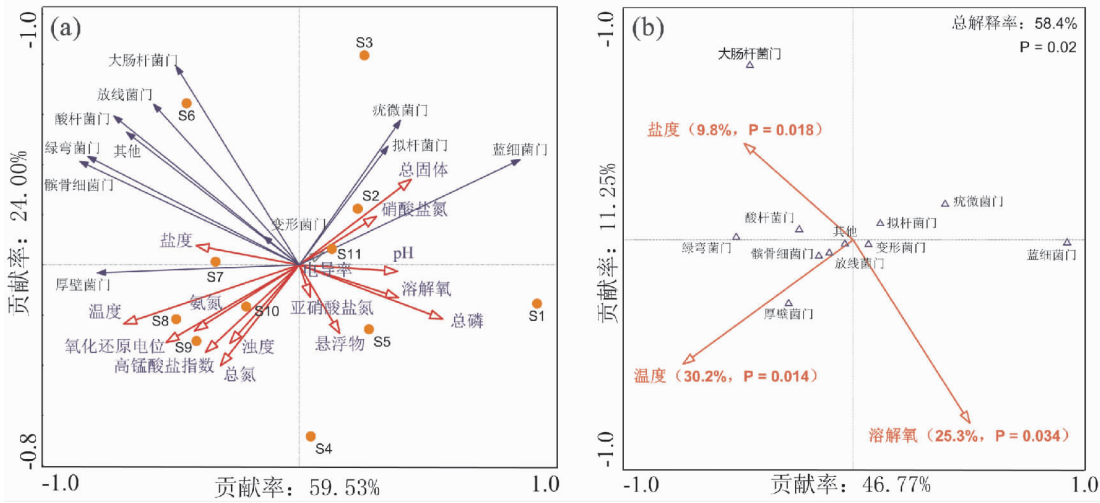


图 13 代谢通路物种组成分析成

Fig. 13 Species composition analysis of metabolic pathway



(a) 采样点微生物群落与环境因子的关系 (b) 微生物群落与起显著影响环境因子的关系

图 14 RDA 分析结果

Fig. 14 Analysis result of RDA

表 4 显著影响微生物群落的环境因子的解释率

Tab. 4 Explained variation of the environmental variables that significantly affected the microbial community

环境因子	解释率/%	贡献率/%	pseudo- <i>F</i>	<i>p</i>
温度	30.2	30.2	3.9	0.014
溶解氧	25.3	25.3	4.5	0.034
盐度	9.8	9.8	6.1	0.018
亚硝酸盐氮	8.7	8.7	1.7	0.182
pH	7.9	7.9	1.9	0.184
氧化还原电位	6.7	6.7	1.8	0.222
悬浮物	6.6	6.6	1.4	0.262
总固体	2.5	2.5	2.2	0.162
总氮	1.4	1.4	1.7	0.460
高锰酸盐指数	0.8	0.8	<0.1	1.000

3 结论

本次测序共得到 1 443 218 对高质量序列,有多半的 ASVs 可以注释到属以上,证明了本次测序的准确性。在物种组成上,太平河沉积微生物群落优势种为变形菌,随着采样点与排污口距离的增加,微生物群落的丰富度逐渐增加,说明了污水处理厂排放的废水对河流沉积微生物群落存在消极的影响,引起差异的标志物种为蓝细菌门和厚壁菌门。承担群落功能的关键物种为变形菌门中的 α -变形菌纲。太平河上游与下游的差异功能是 L-赖氨酸发酵醋酸盐和丁酸盐和 dTDP-N-乙酰托莫胺生物合成,它们分别是由生氧光细菌和放线菌来承担的。温度、盐度和溶解氧是对菌群影响程度最大的环境因子,其中,蓝细菌门分别和总磷与盐度呈正相关与负相关,厚壁菌门则分别和温度与溶解氧呈正相关与负相关。

综上所述,污水处理厂排放废水会改变河流沉积微生物群落结构,而河流沉积微生物群落结构的变化可以用来反映污水处理厂废水对河流水质的影响,进而可以表征受纳河流生态系统的健康状况。

参考文献

[1] 魏亮,陈滢,刘敏,等. 城镇污水处理厂的综合绩效评价[J]. 环境工程学报,2016,10(1):490-494.
WEI L, CHEN Y, LIU M, et al. Comprehensive performance evaluation of municipal wastewater treatment plants[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(1): 490-494.

[2] 钱磊,颜志娇,朱江,等. 污水处理厂出水受纳水体浮游植物群落结构及水质评价[J]. 环境科学学报, 2020,40(9):3287-3297.
QIAN L, YAN Z J, ZHU J, et al. Phytoplankton community structure and the evaluation of water quality in receiving river of wastewater treatment plant effluents [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, 40(9): 3287-3297.

[3] 于小彦,张平究,张经纬,等. 城市河流沉积物微生物量分布和群落结构特征[J]. 环境科学学报, 2020,40(2):585-596.
YU X Y, ZHANG P J, ZHANG J W, et al. Characteristics of distribution patterns of microbial biomass and community structures in the sediments from urban river[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, 40

(2): 585-596.

[4] 张玉柱,黄春长,庞奖励,等. 汉江与渭河大洪水滞流沉积物性质对比分析[J]. 水土保持学报,2012, 26(1):101-105.
ZHANG Y Z, HUANG C C, PANG J L, et al. Soil and water conservation benefit of different localization shrub mode for highway side slope[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2012, 26(1): 101-105.

[5] 刘驰,李家宝,芮俊鹏,等. 16S rRNA 基因在微生物生态学中的应用[J]. 生态学报,2015,35(9):2769-2788.
LIU C, LI J B, RUI J P, et al. The applications of the 16S rRNA gene in microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(9): 2769-2788.

[6] XIE Y W, FLOEHR T, ZHANG X W, et al. In situ microbiota distinguished primary anthropogenic stressor in freshwater sediments[J]. Environmental Pollution, 2018, 239: 189-197.

[7] YANG J H, JEPPE K, PETTIGROVE V, et al. Environmental DNA metabarcoding supporting community assessment of environmental stressors in a field-based sediment microcosm study[J]. Environmental science & Technology, 2018, 52(24): 14469-14479.

[8] GUO J H, BAI Y, CHEN Z, et al. Transcriptomic analysis suggests the inhibition of DNA damage repair in green alga *Raphidocelis subcapitata* exposed to roxithromycin[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 201:110737.

[9] XIE Y W, ZHANG X W, YANG J H, et al. eDNA-based bioassessment of coastal sediments impacted by an oil spill[J]. Environmental Pollution, 2018, 238: 739-748.

[10] 杨琴,赵敏,朱妍. 陕北榆林定边县采油区土壤微生物群落结构的分子生态学研究[J]. 西北大学学报(自然科学版),2014,44(6):943-946.
YANG Q, ZHAO M, ZHU Y. Molecular ecological research on microbial community structure of soil from oil fields of Dingbian, Yulin, Northern Shaanxi[J]. Journal of Northwest University (Natural Science Edition), 2014, 44(6): 943-946.

[11] 杨思航,秦泽生,梁漫春. 不同气候类型下污水厂活性污泥中微生物群落比较[J]. 环境科学,2021,42(10):4844-4852.
YANG S H, QIN Z S, LIANG M C. Meta-analysis of microbial communities in the activated sludge of wastewater treatment plants under different climate types[J]. Environmental Science, 2021, 42(10): 4844-4852.

- [12] 赵琛. 污水处理厂排水对受纳水体微生物群落的影响[D]. 保定:河北大学,2019.
- [13] WANG J, LI Y, WANG P F, et al. Response of bacterial community compositions to different sources of pollutants in sediments of a tributary of Taihu Lake, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(14): 13886-13894.
- [14] 张台凡,宋进喜,杨小刚,等. 渭河陕西段沉积物中总磷、总氮时空分布特征及其影响因素研究[J]. *环境科学学报*, 2015, 35(5): 1393-1399.
ZHANG T F, SONG J X, YANG X G, et al. Study on the temporal-spatial distribution characteristics and influencing factors of TP and TN in river sediments for the Weihe River of Shaanxi Province[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(5): 1393-1399.
- [15] 雷鸣,赵荣娜,吴卫东,等. 皂河污染现状调查及防治对策研究[J]. *广州化工*, 2013, 41(21): 110-112.
LEI M, ZHAO R N, WU W D, et al. Investigation of the Zao River pollution status and research the control strategies[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2013, 41(21): 110-112.
- [16] ZHANG Z S, WANG X M, HAN S W, et al. Effect of two seaweed polysaccharides on intestinal microbiota in mice evaluated by illumina PE250 sequencing[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 796-802.
- [17] 胡宏昌,陈璐. p -范分布的参数假设检验[J]. *武汉大学学报(理学版)*, 2021, 67(2): 173-178.
HU H C, CHEN L. Parametric hypothesis test of p -Norm distribution[J]. *Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)*, 2021, 67(2): 173-178.
- [18] 杨雄,李晓芳,谢光前,等. 基于 igraph 的网络数据挖掘实验建设方案[J]. *电脑知识与技术*, 2019, 15(21): 29-31.
YANG X, LI X F, XIE G Q, et al. An experimental construction scheme of network data mining based on igraph[J]. *Computer Knowledge and Technology*, 2019, 15(21): 29-31.
- [19] 闫冰,付嘉琦,夏嵩,等. 厌氧氨氧化启动过程细菌群落多样性及 PICRUSt2 功能预测分析[J]. *环境科学*, 2021, 42(8): 3875-3885.
YAN B, FU J Q, XIA S, et al. Diversity and PICRUSt2-based predicted functional analysis of bacterial communities during the start-up of ANAMMOX[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(8): 3875-3885.
- [20] 尹锴,崔胜辉,赵千钧,等. 基于冗余分析的城市森林林下层植物多样性预测[J]. *生态学报*, 2009, 29(11): 6085-6094.
YIN K, CUI S H, ZHAO Q J, et al. Understory diversity prediction of urban forest based on the redundancy analysis (RDA)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(11): 6085-6094.
- [21] 王猛,李如刚,肖毅宏,等. 城市生活污水处理厂活性污泥中细菌群落结构组成研究[J]. *化学与生物工程*, 2013, 30(8): 28-31.
WANG M, LI R G, XIAO Y H, et al. Bacterial community structures in activated sludge of municipal sewage treatment plants[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2013, 30(8): 28-31.
- [22] 范立民,陈家长,吴伟,等. 水葫芦栽培对池塘浮游细菌群落结构影响初探[J]. *上海海洋大学学报*, 2015, 24(4): 513-522.
FAN L M, CHEN J Z, WU W, et al. Effect of water hyacinth planting on microbial community structures in water of a tilapia cultural pond[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2015, 24(4): 513-522.
- [23] GOOD I J. The population frequency of species and the estimation of the population parameters[J]. *Biometrics*, 1958, 40: 237-246.
- [24] ZHANG Z M, WANG X, ZHANG Y, et al. The over polluted water quality assessment of Weihe River based on kernel density estimation[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2012, 13: 1271-1282.
- [25] 陈重军,张海芹,汪瑶琪,等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. *环境科学*, 2016, 37(7): 2652-2658.
CHEN C J, ZHANG H Q, WANG Y Q, et al. Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on high-throughput sequencing[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(7): 2652-2658.

(编辑 李波)