

DOI: 10.13476/j.cnki.nsbqk.2022.0110

张柏桓, 丁宁, 孙昊田, 等. 城市河流沉积物微生物群落对污水处理厂排放的响应: 以西安市皂河为例[J]. 南水北调与水利科技(中英文), 2022, 20(6): 1117-1127. ZHANG B H, DING N, SUN H T, et al. Response of microbial communities to sewage treatment plant discharge in urban river sediments: A case study of Zao River in Xi'an[J]. South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology, 2022, 20(6): 1117-1127. (in Chinese)

城市河流沉积物微生物群落对污水处理厂排放的响应

——以西安市皂河为例

张柏桓, 丁宁, 孙昊田, 田雨露, 樊荣, 宋进喜, 郭家骅

(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, 西安 710127)

摘要:以西安市皂河为例, 采用 16S rRNA 测序技术等生物信息学分析手段, 解析城市河流沉积物微生物群落对污水处理厂排放的响应规律。结果表明: 变形菌为皂河的优势关键物种; 皂河群落的丰富度和多样性随着排污的汇入逐渐降低, 受西安市第二污水处理厂排放影响的中游河段与其他河段的差异性较为显著, 标志物种为衣原体(chlamydiae), 不同河段间微生物群落结构改变会进而导致功能差异; 亚硝态氮和温度是影响最显著的环境因子, 受西安市第九污水处理厂排放影响的河段与磷元素呈正相关, 而受西安市第二污水处理厂排放影响的河段与氮元素呈正相关。综上, 污水处理厂排放影响下河流水质的变化对纳污河流沉积物微生物群落结构和功能会产生一定影响, 其中沉积物与上覆水之间污染物的季节性迁移转化规律还需更进一步研究。

关键词:皂河; 16S rRNA; 微生物群落; 沉积物; 污水处理厂

中图分类号: TV212; X522 文献标志码: A 开放科学(资源服务)标识码(OSID):



污水处理厂出水直接排入水环境中, 会增加河流环境容量负荷, 对受纳水生态系统的结构和功能产生影响^[1]。沉积物是城市河流系统中的重要组成成分, 是城市河流内源污染的重要来源, 特殊的环境条件使其具有多样的微生物群落^[2]。沉积物在城市内河流沉积物污染物释放和物质循环中起重要作用, 因为其相对稳定的结构可以反映环境因子对其种群的长期影响^[3-4]。

近年来, 分子生物学方法逐渐取代分离培养等传统的环境微生物研究方法, 其数据量大、灵敏度高、准确性高等优点使其能够在研究领域得到广泛应用。一些学者使用高通量测序技术对渭河和琉璃河的微生物群落进行了结构变化分析^[5-6], 但以具有外源污染如污水处理厂受纳功能的河流为对象

的研究较少。张崇森等^[7]探究了污水处理厂排放对河流微生物耐药性的影响; 霍旻等^[8]探究了污水处理厂出水对受纳水体微生物群落结构的影响; 赵琛等^[9]探究了污水处理厂对河流水体生物膜群落的影响。此类研究多集中于揭示微生物群落多样性, 而缺少对于群落之间相互关系、功能差异及其对环境因子的响应的探究。基于此, 利用 16S rRNA 测序技术, 基于应用生物信息学分析平台(QIIME 2), 研究皂河在西安市第九污水处理厂和第二污水处理厂(以下简称九污和二污)排水的影响下的河流沉积物中微生物群落的组成多样性和微生物群落的关联网络, 并将群落结构指标与水质理化指标进行冗余分析, 全面揭示皂河微生物群落结构特征及其对环境因子的响应, 可为今后评价污水处理厂对受

收稿日期: 2022-05-23 修回日期: 2022-09-16 网络出版时间: 2022-12-08

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/13.1430.TV.20221207.1125.001.html>

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(42101077); 陕西省青年千人计划(334041900007); 陕西省重点研发计划(2020SF-387)

作者简介: 张柏桓(1998—)男, 陕西汉中, 从事流域污染生态研究。Email: 1183580164@qq.com

通信作者: 郭家骅(1989—)男, 陕西渭南人, 教授, 博士, 从事环境地理学研究。Email: jiahua_guo@nwu.edu.cn

纳河流微生物群落的影响提供科学依据与数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域及采样点布设

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,同时也是西安市内最大的过境河流^[10]。皂河是渭河的一条支流,发源于长安县灃河北侧,流经韦曲、杜城、申店进入西安市区,之后经丈八沟街道、北石桥村、三桥镇、六村堡至草滩汇入渭河。河流总长 36.46 km,流域面积达 120 km²。

皂河是一条人工建造的河流,在城市的发展和建设过程中,主要承担了泄洪和纳污的功能,它接纳了西安市主城区 60%~70% 的生活污水,是西安市主要的纳污河流^[11]。本研究的主要研究区域位于皂河上游的西安市第九污水处理厂和位于皂河中游的西安市第二污水处理厂,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。在九污排污口处(S₄)及其上中下游(S₁~S₃为上游, S₄~S₆为中游, S₇为下游)共布设 7 个采样点,在二污排水口上中下游(S₈~S₉为上游, S₁₀~S₁₁为中游, S₁₂为下游)共布设 5 个采样点, S₁ 到 S₁₂ 的位置分布见图 1。

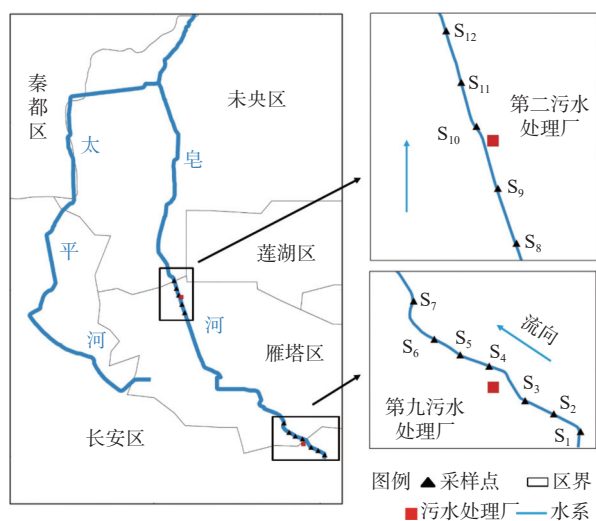


图 1 皂河采样点布设

Fig. 1 Location of sampling sites of Zao River

1.2 样品采集与保存

沉积物样品:2021 年 1 月 13 日在全部 12 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 °C 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:在其中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 °C 低温保存。一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);使用 YD-1H 笔式盐度计测量水样的盐度(Salinity);使用 JBP-607A 溶解氧分析仪来测量水样的溶解氧含量(DO);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);使用力辰科技笔式电导率仪/TDS 笔测量水样的电导率(Conductivity)和溶解性总固体(TDS)。

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(NH₄⁺-N)、浊度(Turbidity)、悬浮物(TSS)、硝态氮(NO₃⁻-N)、总磷(TP)、总氮(TN)、COD、亚硝态氮(NO₂⁻-N)进行测定和记录。

1.4 沉积物样品中微生物高通量测序

采用 Illumina 测序方法,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:ACTCCTACGGGCAGCA,反向引物为:R:TCGGACTACHVGGGTWTCTAAT。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(600 cycles)进行 2 × 250 bp 的双端测序。每个样品重复 3 次,以保证测序结果准确性,并将初始测序结果上传至 NCBI 库,登录号为:SRP392799。

1.5 生物信息学分析

1.5.1 物种分类学注释

通过分类学注释到的物种占比情况,可初步验证本研究测序的精确性。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,获得特征序列(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

分类学组成分析可以很好地实现各样本在门、纲、目、科、属、种 6 个分类水平上的组成分布的可视化,便于讨论物种在不同样本间的分布情况。采用 QIIME2 和自编 pre 脚本统计各样本的分类单元数,并采用 R 语言(ggraph、ggplot、ggtree 和 phyloseq 包)对抽平后的 ASVs 数据进行统计,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

用 Alpha 多样性来评价物种在局部均匀生境下的多样性、丰富度、均匀度等,是生态学研究的常用方法^[12]。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。以 2 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。

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,并进一步验证测序的精确性;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

Beta 多样性也称生境间多样性,在本研究中用以研究受不同污水处理厂排放影响的不同河段沉积物微生物群落间的差异。采用 QIIME2 和 R 语言(ape、vegan、ggtree 包)计算距离矩阵,进行非量度多维尺度分析(NMDS),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

在群落间差异分析的基础上,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。已有研究^[13]证明这一算法能够对微生物群落样本进行有效、稳健且准确的分类。

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

通过统计学分析可以明确沉积物中微生物群落之间的关联性,揭示微生物群落中的关键物种,并预测微生物群落可能承载的功能。在此基础上,结合水环境数据,分析微生物群落对不同环境因子的响应规律。采用 R 语言软件包 igraph 构建全部样品 ASVs 的关联网络数据并绘制关联网络图。使用指示关键物种的拓扑指数 ZI 值和 PI 值进行分析,将两个值可视化,便于寻找关键物种;使用 PICRUST2 软件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皂河上下游的微生物群落功能差异。使用 R 语言软件包 vegan 将数据标准化,进行冗余分析(RDA),以三序图的形式呈现微生物群落与环境因子之间的关系,以确定对水质环境变化具有最大解释能力的最小变量^[14]。

2 结果分析

2.1 微生物的群落组成

对皂河沉积物进行了 16S rRNA 测序,经过质量筛选后,得到了 1772081 对高质量序列,平均每个点 93267 对,平均长度为 419 bp。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 0%、3%、7%、16%、24%、37% 和 13%。

将丰度小于 1% 的物种进行合并,Others 表示合并物种相对总丰度,微生物群落门水平组成见图 2,皂河沉积物中优势菌种为变形菌门(Proteobacteria),占有所有样本的 42.94%,丰度占比超过 1% 的物种依次为蓝细菌门(Cyanobacteria)(36.15%)、拟杆菌门(Bacteroides)(8.45%)、厚壁菌门(Firmicutes)(5.18%)、放线菌门(Actinobacteria)(1.89%)、绿弯菌门(Chloroflexi)(1.85%)和酸杆菌门(Acidobacteria)(1.19%)。从 S_1 到 S_6 (S_7 除外),变形菌门为皂河群落的优势物种,每个点的平均丰度占比 64.48%;在 S_7 、 S_{10} 、 S_{11} 和 S_{12} 中,蓝细菌门成为优势物种,平均占比 79.17%,拟杆菌门在 S_6 和 S_7 中丰度较高,厚壁菌门在 S_9 中丰度较高。

2.2 微生物的群落多样性

用以表征 Alpha 多样性的 Chao 1 指数反映草

海沉积物微生物群落的丰富度, Shannon 指数评价微生物群落的多样性(图 3)。从九污上游到下游, 皂河群落 Chao 1 指数逐渐升高, 最高值为 5 132.85, 随着二污排放废水汇入河流, Chao 1 指数骤降至最低值 727.12, 表明此时群落丰富度大幅减少。Shannon 指数则呈逐渐下降趋势, 从九污上游到二污下游, Shannon 指数从 6.91 下降到 3.89, 表明皂河微生物群落的多样性在污水处理厂排出废水后逐渐减少。系数曲线见图 4, 每一个样本的曲线都在抽平深度 30 000~40 000 bp 趋于平缓。物种累积曲线也得到相似的结果, 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。

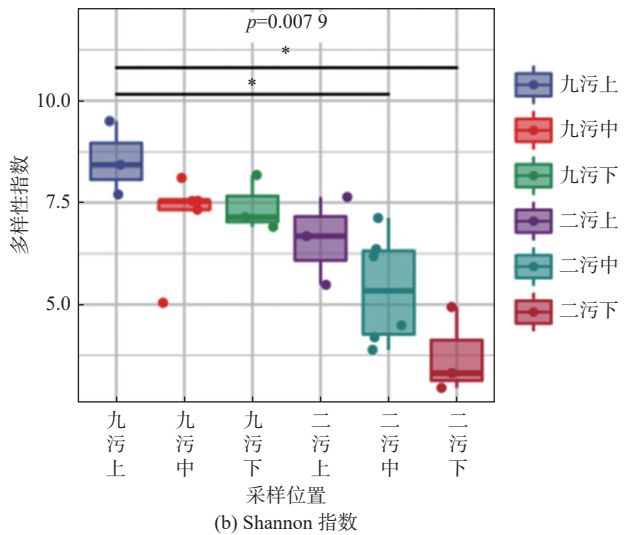
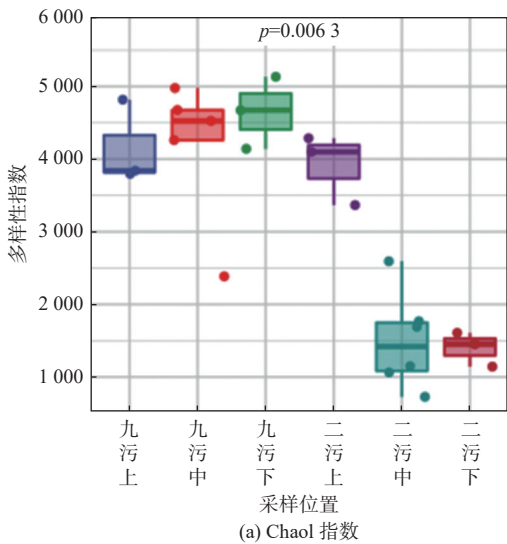


图 3 Alpha 多样性指数检验
Fig. 3 Alpha diversity index test

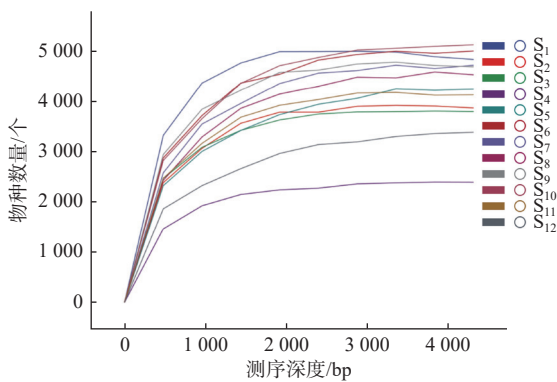


图 4 系数曲线
Fig. 4 Rarefaction curve

用以表征 Beta 多样性的 NMDS 分析结果见图 5, Stress 值为 NMDS 结果的应力值, 一般认为当该值小于 0.2 时, NMDS 分析的结果较可靠。在 NMDS 的两个维度上, 九污河段之间的差异都较小, 而二污河段之间的差异较大, 主要体现在二污

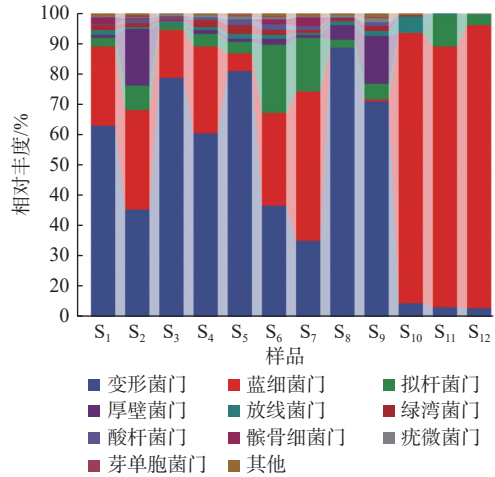


图 2 基于门水平的分类学组成分析
Fig. 2 Taxonomy composition analysis based on phylum level

上下游与中游之间的差异。对所有样本使用随机森林算法进行分析, 以寻找引起所有样本间差异的标志物种(图 6)。引起差异最重要的物种是衣原体门(*Chlamydiae*) (重要程度 0.077), 主要集中在二污中游样本中。重要程度较高的物种还包括: 蓝细菌(0.075), 主要分布在二污中下游样本中; 拟杆菌门(0.074), 主要分布在九污下游样本中; 放线菌门(0.071), 主要分布在二污中游样本中; 变形菌门(0.064), 主要分布在九污中上游和二污上游样本中。

2.3 微生物群落的相互关系及功能差异

将所有样品的物种模块进行网络构建, 提取丰度大小前 15 的物种模块进行可视化分析, 以推断群落之间的相互关系。蓝细菌之间呈共现关系, 拟杆菌与放线菌和大部分蓝细菌呈共现关系, 与小部分蓝细菌呈互斥关系, 放线菌与部分蓝细菌呈强共现关系, 和部分蓝细菌呈弱共现关系。将 ZI 值和 PI

值可视化,在门水平上探究皂河微生物群落中的关键物种(图7),根据取值的不同,将此图分为4个区间,分别为非关键物种(peripherals)、近似关键物种(connectors)、关键物种(module hubs)和超级关键物种(network hubs),结果得到关键物种为变形菌。

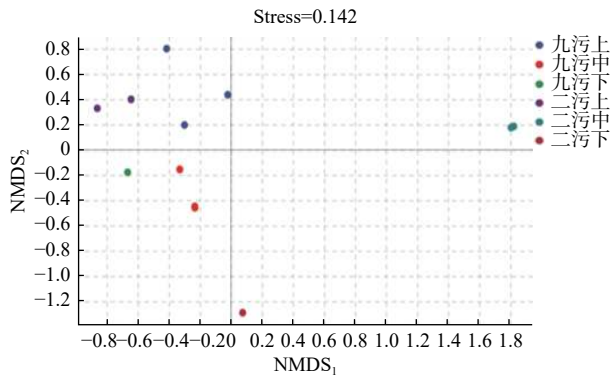


图5 NMDS分析结果
Fig. 5 Analysis result of NMDS

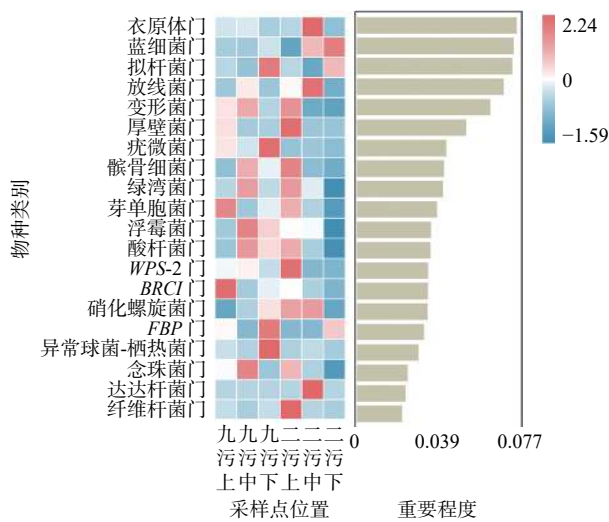


图6 随机森林分析结果
Fig. 6 Random forest analysis results

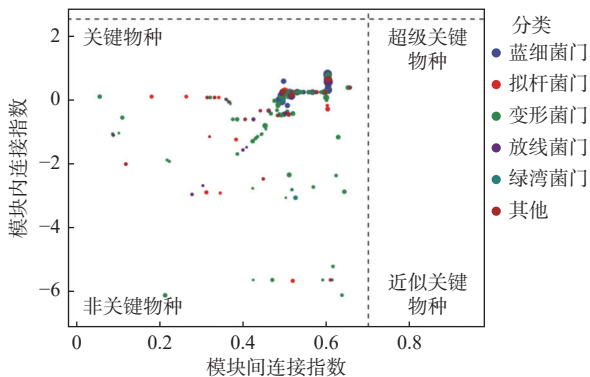


图7 微生物群落 ZIPI 图
Fig. 7 ZIPI map of microbial community

为了探究微生物群落承担功能的时空分布,使用 PICRUS2 软件预测所有样本的功能单元,

并对其进行 PCoA 分析。得到结果与 NMDS 分析结果类似,九污河段之间的差异较小,二污的上游与中游、上游与下游的差距较大。分别将二污上游与中游和下游做对比,以探究导致差异的功能,进行代谢通路差异分析,通过对比 KEGG 数据库得到:皂河上游显著功能为能量代谢中的光合作用(ko00196);中游显著功能为霍乱弧菌感染(ko05110);下游显著功能为次生胆汁酸的生物合成(ko00121)。

2.4 微生物群落与环境因子的关系

使用 RDA 来解释沉积物中微生物群落结构变化的物理化学因素的贡献,为了消除特定变量及群落之间的共线性,结果中只展示部分理化指标和物种群落,见图8。轴一和轴二分别解释了总量的49.38%和28.03%,表明环境因子在很大程度上能够解释微生物群落的结构变化。亚硝态氮解释了22.9%的变化,对微生物群落的影响最为显著($P=0.036$)(表1),温度和COD(Chemical Oxygen Demand)分别解释了17.4%和14.5%的变化,其余因子一共解释了45.1%的变化。在贡献率较高的轴一上,与物质组成分析相似,九污及二污上游采样点与变形菌门和厚壁菌门等呈正相关,二污中下游采样点与蓝细菌门呈正相关。变形菌门与盐度、总磷、COD和pH等因子呈正相关,与温度、总氮、氨氮等呈负相关;蓝细菌门则相反,与温度、氧化还原电位呈正相关,与pH、硝态氮、总磷等呈负相关;厚壁菌门与变形菌门相似,主要与盐度呈正相关,与温度呈负相关;拟杆菌门和疣微菌门主要与总磷和COD呈正相关,与氨氮、总氮等呈负相关。

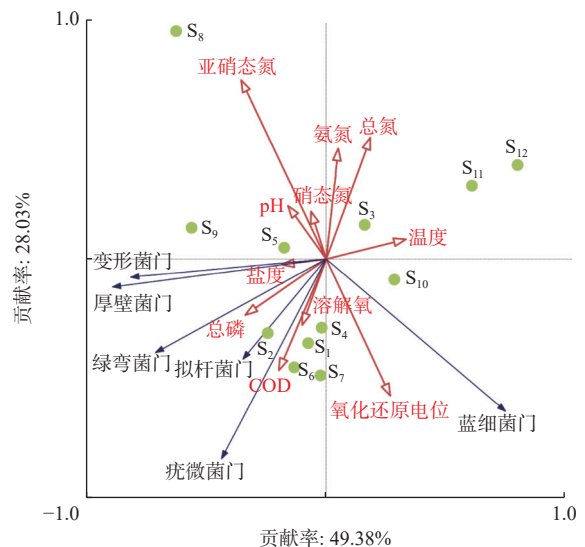


图8 采样点微生物群落与环境因子的关系
Fig. 8 Relationship between microbial community and environmental factors at sampling sites

表 1 显著影响微生物群落的环境因子的解释率

Tab. 1 Explained variation of the environmental variables that significantly affected the microbial community

环境因子	解释率/%	贡献率/%	pseudo-F	P
亚硝态氮	22.9	22.9	3.0	0.036
COD	14.5	14.5	2.1	0.124
总磷	8.0	8.0	1.2	0.320
温度	17.4	17.4	3.3	0.022
pH	8.1	8.1	1.7	0.184
总氮	3.7	3.7	0.7	0.578
溶解性总固体	3.2	3.2	0.6	0.680
氨氮	3.3	3.3	0.5	0.726
溶解氧	6.0	6.0	0.9	0.514
电导率	5.2	5.2	0.7	0.550
硝态氮	7.6	7.6	<0.1	1.000

3 讨论

3.1 皂河微生物群落组成

变形菌门是皂河微生物群落的优势物种,也是承担群落功能的关键物种,在北运河^[15]、十五里河^[16]沉积物中也为优势物种,这表明皂河与这些河流的生态环境具有相似特征。变形菌是城市污水的指示细菌之一,在河流沉积物生态系统中发挥着重要作用^[17],其中不同纲的菌种丰度在沉积物微生物的研究中也是一项重要指标^[18]: δ -变形菌纲主要生存在厌氧环境中,其丰度随沉积物含氧量的升高而降低,对沉积物的物质循环具有重要作用^[19-20]; β -变形菌纲主要生存在受污染的环境中,可以利用有机质分解产生的营养物质,提高沉积物的固氮能力^[21-22]; γ -变形菌纲主要生存在湖泊海洋环境中,在沉积物中参与厌氧氨氧化作用^[23]。蓝细菌门具有一定耐高温和耐原油的性质,适宜生存于营养物质含量较高的水环境中^[24-25],这也解释了其在二污中下游样本中丰度较高的原因是二污排放废水的磷含量较高。拟杆菌门通常存在于人体肠道中,在河流沉积物中对有机物的分解和发酵起着重要作用^[26],九污下游区域存在居民区,含氨、粪便污染的生活废水排入皂河中,可能是导致此处样本拟杆菌丰度较高的原因。厚壁菌门常与人类活动有关,广泛分布于有机和无机污染的建筑工地中^[27],在沉积物中对营养物质有较强的分解作用,在二污上游 S₉ 中丰度较高的原因可能是此处存在一定的水体富营养化。

3.2 皂河微生物群落多样性及其功能

Alpha 多样性指数分析结果表明,二污河段微

生物群落的 Chao 1 指数和 Shannon 指数都显著低于九污河段,即皂河流经二污河段后,沉积物微生物群落的丰富度和多样性都显著减少。根据水质指标结果,从 S₁~S₁₂,溶解氧从 15.1 mg/L 下降到 6.7 mg/L(表 2),微生物群落生长繁殖所需求的氧气逐渐减少,这可能是导致微生物群落丰富度和多样性逐渐减少的原因,与 Li 等^[28]和池玉蕾等^[29]的研究结果相同,即溶解氧指数与微生物群落的丰富度和多样性呈正相关。Chao 1 指数在二污中游处骤降,可能是因为中游采样点距离排污口较近,此处河流流速较快,水流量大,沉积物周围环境不稳定,难以形成较为丰富的微生物群落,唐旖^[30]的研究也得到了类似结果。城市排污也是河流微生物群落丰富度快速下降的原因之一^[31],二污地处雁塔区,城市化程度较高,每日需处理的城市污水量较大,这也导致皂河微生物群落丰富度和多样性在二污河段出现了显著减少。Beta 多样性分析结果表明:二污中游与上下游间微生物群落有显著差异,可能是中游河段受二污和居民生活污水排放的影响,污染物不断沉积到沉积物中,进而改变沉积物中微生物群落的生存环境^[32],导致此河段微生物群落与上下游河段的差异;而中游样本中营养元素含量迅速增加(总磷从 0.02 mg/L 增加到 2.28 mg/L、总氮从 1.73 mg/L 增加到 8.05 mg/L、硝态氮从 5.30 mg/L 增加到 10.12 mg/L),促进蓝细菌的生长繁殖,也是此河段微生物群落差异性的可能原因之一。功能单元分析与 NMDS 分析结果相似,在菌落功能层面,二污中游也与上下游间有显著差异,这表明在沉积物环境改变导致的微生物群落结构改变的同时,群落功能也随之改变。随机森林分析结果表明,引起群落差异的标志物种衣原体和蓝细菌,主要都分布在二污中游样本中,这也解释了二污中游与上下游间的显著差异。二污上游与下游的显著功能都与微生物自身的生物合成和代谢有关,是为了适应沉积物环境的改变,而中游样本的显著功能为霍乱弧菌感染,这可能与该河段附近医院的排放处理有关。医用废水往往会通过污水处理厂处理后排放,然而传统的污水处理厂并不能够有效地去除医用废水中的部分病菌和污染物^[33-34],进而导致沉积物中微生物群落结构和功能显著变化,这也可能是在此处 Chao 1 指数骤降的原因之一。

表2 采样点水质理化特征

Tab. 2 Physical and chemical characteristics of water quality at sampling points

样品	电导率/ ($S \cdot m^{-1}$)	盐度/ 10^{-6}	总固体/ 10^{-6}	pH	氧化还 原电位/ mV	温度/ $^{\circ}C$	浊度/ NTU	含量/($mg \cdot L^{-1}$)							
								溶解氧	氨氮	悬浮物	硝态氮	总磷	总氮	COD	亚硝 态氮
S ₁	0.296	245	244	7.10	140	3.8	0.8	15.1	0.03	8.7	4.07	0.07	3.93	28.8	0.20
S ₂	0.512	255	259	7.04	164	4.3	3.0	15.4	0.32	9.6	5.97	0	4.43	52.1	0.20
S ₃	1.424	925	707	6.64	278	14.6	1.0	8.9	0.08	8.9	3.88	0	7.22	32.8	0.20
S ₄	1.565	1098	801	6.72	206	16.5	1.1	8.1	0.8	13.0	9.40	0.47	13.00	28.4	0.14
S ₅	1.595	1098	797	6.82	125	16.7	5.1	7.8	0.82	20.0	7.24	0.55	11.26	50.7	0.11
S ₆	0.550	804	612	6.59	181	16.5	3.6	7.7	0.66	14.5	9.18	0.49	13.07	28.5	0.13
S ₇	1.158	805	554	6.61	259	16.8	2.2	8.5	0.64	13.1	5.76	0.64	8.14	40.8	0.15
S ₈	1.103	787	533	6.67	303	16.1	2.2	6.7	0.38	7.2	5.24	0.90	1.87	9.3	0.23
S ₉	1.102	619	558	6.96	145	10.1	5.0	6.8	0.32	6.8	5.30	0.02	1.73	11.5	0.22
S ₁₀	1.025	621	528	6.90	150	10.6	3.4	7.0	0.28	10.6	10.12	2.28	8.05	25.7	0.05
S ₁₁	1.073	653	571	6.77	149	10.4	1.9	7.8	0.28	7.1	10.69	0.17	12.20	18.1	0.04
S ₁₂	1.068	655	563	6.53	154	10.8	3.3	6.7	0.31	13.4	9.85	0.15	7.75	15.1	0.03

3.3 皂河微生物群落对环境因子的响应

RDA 分析结果表明,亚硝态氮($P = 0.036$)和温度($P = 0.022$)的影响显著高于其他因子对皂河沉积物微生物群落的影响,这与石大钧^[35]、Wang 等^[36]得到的结果相同。亚硝态氮是硝化作用的中间产物,与负责氨氧化作用的氨氧化细菌(AOA)和古菌(AOB)的丰度有关^[36],其在 S₈ 中含量最高(0.23 mg/L)的原因可能是该点环境导致的 AOA 和 AOB 丰富度增加,从而促进了硝化作用的进行。温度是决定河流微生物群落的一个指示性因素^[37],在本研究中也与微生物群落最显著相关的环境因子,本研究采样时间为冬季,沉积物温度普遍高于上覆水温度,这有利于微生物群落的生长。之后的研究可以在不同季节下对比环境因子的影响,可进一步揭示微生物群落对温度的响应。变形菌、拟杆菌、厚壁菌等主要的菌落都与总磷呈正相关,表明总磷是驱动皂河微生物群落的一个重要因子,磷是河流生物代谢的重要驱动因素,易导致城市河流富营养化^[38],因此,减少磷元素的排放,有益于皂河水生态系统的健康。相比之下,微生物群落对浓度更高的硝态氮的响应并不显著,这可能是由于皂河微生物群落对硝态氮的富集具有一定抵抗能力^[39]。关键物种对环

境因子的响应决定了微生物群落的变化情况^[40],二污河段氮元素的增加,对与之呈负相关的关键物种变形菌产生消极作用,因而导致该河段微生物群落结构与功能发生显著变化。几乎所有九污河段的采样点都与总磷呈正相关(S₃ 据排污口较近,受环境因子的影响较为复杂),而二污河段的采样点都与氮元素环境因子呈正相关。这可能是由污水处理厂排放和不同河段沉积物中氮磷的二次释放等过程共同影响导致的,其过程机制还需更进一步研究,以确保更少地为皂河输入营养物质元素,提高皂河微生物群落的丰富度和多样性。

4 结论

探究在污水处理厂排放废水的影响下皂河沉积物微生物群落的结构、功能的变化及其对环境变化的响应,对类似受污水处理厂排放影响的城市纳污河流沉积物的研究具有一定借鉴意义。微生物群落的丰富度和多样性都随着排放废水的汇入而逐渐降低,群落结构的变化也导致了群落功能的变化,受不同污水处理厂排放影响的不同河段沉积物的群落对环境因子的响应也各不相同。综上,皂河沉积物微生物群落通过调整群落组成结构以适应环

境变化,导致群落丰度、多样性和功能发生改变,在河流水生生态系统中发挥着物质转化和水体净化的功能,进而减缓污水处理厂污染对皂河水生生态系统的影响。今后的研究应在季节性对比的同时,监测废水中可能存在的新污染物(药物与个人护理产品等)以更全面地评估城市纳污河流生态系统对污水处理厂排放的响应。

参考文献(References):

- [1] 钱磊,颜志娇,朱江,等.污水处理厂出水接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. (in Chinese)) DOI: [10.13671/j.hjkxxb.2020.0193](https://doi.org/10.13671/j.hjkxxb.2020.0193).
- [2] 杨长明,吴亚琼,王育来,等.南淝河表层沉积物细菌群落结构特征及驱动因素[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(9): 3552-3561. (YANG C M, WU Y Q, WANG Y L, et al. Microbial community structure characteristics and its key driving factors in surface sediments along Nanfei River[J]. *China Environmental Science*, 2018, 38(9): 3552-3561. (in Chinese)) DOI: [10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2018.0384](https://doi.org/10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2018.0384).
- [3] 沈烁,杨长明,成水平. PCR-DGGE 分析合肥市塘西河表层沉积物细菌群落结构空间分布特征[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(1): 80-87. (SHEN S, YANG C M, CHENG S P. Spatial characteristics analysis by PCR-DGGE for bacterial communities in spatial characteristics analysis by PCR-DGGE for bacterial communities in surface sediments of Tangxi River, Hefei city[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, 21(1): 80-87. (in Chinese)) DOI: [10.3724/SP.J.1145.2014.07002](https://doi.org/10.3724/SP.J.1145.2014.07002).
- [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. Comparative study of the modern flood slackwater deposits in the Hanjiang and Weihe River valleys[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, 26(1): 101-105. (in Chinese)) DOI: [10.13870/j.cnki.stbcxb.2012.01.005](https://doi.org/10.13870/j.cnki.stbcxb.2012.01.005).
- [5] 万甜,何梦夏,任杰辉,等.渭河流域水体细菌群落的环境响应及生态功能预测[J]. *环境科学*, 2019, 40(8): 3588-3595. (WAN T, HE M X, REN J H, et al. Environmental response and ecological function prediction of aquatic bacterial communities in the Weihe River basin[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(8): 3588-3595. (in Chinese)) DOI: [10.13227/j.hjkx.201810072](https://doi.org/10.13227/j.hjkx.201810072).
- [6] 李军,蓝芙宁,邹胜章,等.琉璃河地区地下水化学特征对微生物群落结构影响[J]. *南水北调与水利科技*, 2019, 17(3): 97-104. (LI J, LAN F N, ZOU S Z, et al. Effects of chemical characteristics of groundwater on microbial community structures in the Liuli River[J]. *South-to-North Water Transfers and Water Science & Technology*, 2019, 17(3): 97-104. (in Chinese)) DOI: [10.13476/j.cnki.nsbdkq.2019.0064](https://doi.org/10.13476/j.cnki.nsbdkq.2019.0064).
- [7] 张崇森,王燕,杜聪.城市河流异养菌耐药状况及微生物群落结构特征[J]. *环境科学研究*, 2015, 28(5): 713-719. (ZHANG C M, WANG Y, DU C. Antibiotic resistance of heterotrophic bacteria and characteristics of microbial community structure in urban rivers in China[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2015, 28(5): 713-719. (in Chinese)) DOI: [10.13198/j.issn.1001-6929.2015.05.07](https://doi.org/10.13198/j.issn.1001-6929.2015.05.07).
- [8] 霍旸,柏耀辉,曲久辉.污水处理厂出水对接纳河流微生物群落结构功能影响研究[C]. 2016: 16-16. (HUO Y, BAI Y H, QU J H. Effect of effluent from sewage treatment plant on microbial community structure and function of receiving river[C]. 2016: 16-16. (in Chinese))
- [9] 赵琛,路达,柏耀辉,等.污水处理厂排水对接纳水体着生生物膜的影响[J]. *煤炭与化工*, 2018, 41(12): 145-148. (ZHAO C, LU D, BAI Y H, et al. Influence of effluent from sewage treatment plants on the biofilm of receiving rivers[J]. *Coal and Chemical Industry*, 2018, 41(12): 145-148. (in Chinese)) DOI: [10.19286/j.cnki.cci.2018.12.044](https://doi.org/10.19286/j.cnki.cci.2018.12.044).
- [10] 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. (in Chinese)) DOI: [10.13671/j.hjkxxb.2015.0017](https://doi.org/10.13671/j.hjkxxb.2015.0017).
- [11] 胡卫星,刘晓宇,陈贝,等.渭河流域西安段水体中DBP污染特征及生态风险评价[J]. *环境保护科学*, 2020, 46(1): 84-90. (HU W X, LIU X Y, CHEN B, et al. Pollution characteristics and ecological risk as-

- essment of Dibutyl Phthalate in Xi'an section of the Wei River basin[J]. *Environmental Protection Science*, 2020, 46(1): 84-90. (in Chinese) DOI: [10.16803/j.cnki.issn.1004-6216.2020.01.015](https://doi.org/10.16803/j.cnki.issn.1004-6216.2020.01.015).
- [12] WHITTAKER R H. Evolution and measurement of species diversity[J]. *Taxon*, 1972, 21(2/3): 213-251.
- [13] YASTUNENKO T, REY F E, MANARY M J, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486: 222-227. DOI: [10.1038/nature11053](https://doi.org/10.1038/nature11053).
- [14] 尹锴, 崔胜辉, 赵千钧, 等. 基于冗余分析的城市森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. (in Chinese)) DOI: [10.3321/j.issn:1000-0933.2009.11.041](https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-0933.2009.11.041).
- [15] YANG Y Z, GAO Y C, HUANG X N, et al. Adaptive shifts of bacterioplankton communities in response to nitrogen enrichment in a highly polluted river[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 245: 290-299.
- [16] 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. (in Chinese)) DOI: [10.13671/j.hjkxxb.2019.0378](https://doi.org/10.13671/j.hjkxxb.2019.0378).
- [17] NEWTON RYAN J et al. A microbial signature approach to identify fecal pollution in the waters off an urbanized coast of Lake Michigan.[J]. *Microbial ecology*, 2013, 65(4): 1011-23. DOI: [10.1007/s00248-013-0200-9](https://doi.org/10.1007/s00248-013-0200-9).
- [18] 王晓丽, 其勒格尔. 黄河内蒙古段表层沉积物细菌多样性及群落结构类型[J]. *生态学报*, 2020, 40(2): 578-589. (WANG X L, Qilegeer. Bacterial diversity and community structure in surface sediments of Yellow River from Inner Mongolia section[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(2): 578-589. (in Chinese)) DOI: [10.5846/stxb201806261405](https://doi.org/10.5846/stxb201806261405).
- [19] 姜磊, 涂月, 侯英卓, 等. 植被恢复的岩溶湿地沉积物细菌群落结构和多样性分析[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(1): 200-209. (JIANG L, TU Y, HOU Y Z, et al. Bacterial community structure and diversity of sediments in a karst vegetation restoration wetland[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(1): 200-209. (in Chinese)) DOI: [10.13198/j.issn.1001-6929.2019.04.17](https://doi.org/10.13198/j.issn.1001-6929.2019.04.17).
- [20] ZHANG J X, YANG Y Y, ZHAO L, et al. Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau freshwater lakes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(7): 3291-3302.
- [21] BRÜMMER I H M, FELSKE A, WANGER-DÖBLER I. Diversity and seasonal variability of β -proteobacteria in biofilms of polluted rivers: Analysis by temperature gradient gel electrophoresis and cloning[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(8): 4463-4473.
- [22] 王鹏, 肖汉玉, 张华, 等. 鄱阳湖入湖河口沉积物细菌群落特征[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(4): 1481-1489. (WANG P, XIAO H Y, ZHANG H, et al. Bacterial communities in the estuarine sediment of Poyang Lake[J]. *China Environmental Science*, 2018, 38(4): 1481-1489. (in Chinese)) DOI: [10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2018.0179](https://doi.org/10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2018.0179).
- [23] FREITAG T E, PROSSER J I. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria within anoxic marine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(3): 1359-1371. DOI: [10.1128/AEM.69.3.1359-1371.2003](https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1359-1371.2003).
- [24] 解翠晓, 张凯, 孙永革, 等. 微宇宙模拟溢油条件下沉积物中蓝细菌多样性[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1579-1588. (XIE C X, ZHANG K, SUN Y G, et al. The impact of oil on the diversity of cyanobacteria in the sediments of a laboratory microcosm[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1579-1588. (in Chinese)) DOI: [10.13344/j.microbiol.china.170166](https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.170166).
- [25] 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. (in Chinese))
- [26] ONI O E, SCHMIDT F, MIYATAKE T, et al. Microbial communities and organic matter composition in surface and subsurface sediments of the Helgoland Mud Area, North Sea[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(168): 635-644.
- [27] ZHENG G, YAMPARA-IQUISE H, JONES J E, et al. Development of faecalibacterium 16S rRNA gene marker for identification of human faeces[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 106(2): 634-

- 641.
- [28] LI J, LI H, BING S, et al. Effect of non-point source pollution on water quality of the Weihe River[J]. *International Journal of Sediment Research*, 2011, 26(1): 50-61. DOI: [10.1016/S1001-6279\(11\)60075-9](https://doi.org/10.1016/S1001-6279(11)60075-9).
- [29] 池玉蕾, 石焯, 任童, 等. 溶解氧对低碳源城市污水处理系统脱氮性能与微生物群落的影响[J]. *环境科学*, 2021, 42(9): 4374-4382. (CHI Y L, SHI X, REN T, et al. Effects of dissolved oxygen on nutrient removal performance and microbial community in low carbon/nitrogen municipal wastewater treatment process[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(9): 4374-4382. (in Chinese)) DOI: [10.13227/j.hjcx.202012261](https://doi.org/10.13227/j.hjcx.202012261).
- [30] 唐旖. 九龙江口及台湾海峡沉积物中细菌和古菌群落结构分析[D]. 上海大学, 2021. (TANG Y. Community structure analysis of bacteria and archaea in sediments of the Jiulong River estuary and the Taiwan Strait[D]. Shanghai University, 2021. (in Chinese)) DOI: [10.27300/d.cnki.gshau.2021.000191](https://doi.org/10.27300/d.cnki.gshau.2021.000191).
- [31] ZHANG Z, 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(C): 1271-1282.
- [32] 石国强. 浑河底泥中甲烷相关微生物群落结构时空分布及与环境关系研究[D]. 西安建筑科技大学, 2016. (SHI G Q. Study on the spatial and temporal distribution and community structure of related microbial methane cycle in the sediment of Hun River and correlation with its environmental factors[D]. Xi'an University of Architecture and Technology, 2016. (in Chinese)) DOI: [10.27393/d.cnki.gxazu.2016.000259](https://doi.org/10.27393/d.cnki.gxazu.2016.000259).
- [33] SCOTT T M, PHILLIPS P J, KOLPIN D W, et al. Pharmaceutical manufacturing facility discharges can substantially increase the pharmaceutical load to U. S. wastewaters[J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 636: 69-79. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.04.160](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.160).
- [34] 陆素颖. 城市河流沉积物中超广谱-β-内酰胺酶耐药多样性研究[D]. 广州, 南方医科大学, 2010. (LU S Y. Diversity of extended-spectrum-β-lactamase type antimicrobial resistance in an urban sediment habitat[D]. Guangzhou, Southern Medical University, 2010. (in Chinese)) DOI: [10.7666/d.y1769800](https://doi.org/10.7666/d.y1769800).
- [35] 石大钧. 富营养化城市湖泊微生物群落结构及影响因素研究[D]. 包头: 内蒙古科技大学, 2021. (SHI D J. Microbial community structure of eutrophic urban lake and influence factors[D]. Baotou: Inner Mongolia University of Science & Technology, 2021.) DOI: [10.27724/d.cnki.gnmkg.2021.000355](https://doi.org/10.27724/d.cnki.gnmkg.2021.000355)
- [36] WANG H J, LIU X C, WANG Y L, et al. Spatial and temporal dynamics of microbial community composition and factors influencing the surface water and sediments of urban rivers[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2023, 124: 187-197. DOI: [10.1016/j.jes.2021.10.016](https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.10.016).
- [37] LI Y, CHAPMAN S J, NICOL G W, et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 116: 290-301. DOI: [10.1016/j.soilbio.2017.10.023](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.023).
- [38] LINDSTROM E S, AGTERVELD K V, ZWART G. Distribution of typical freshwater bacterial groups is associated with pH, temperature, and lake water retention time[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8201-8206. DOI: [10.1128/AEM.71.12.8201-8206.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8201-8206.2005).
- [39] LAN W, JING Z, LI H, et al. Shift in the microbial community composition of surface water and sediment along an urban river[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627(JUN.15): 600-612.
- [40] 李鹏洋, 安启睿, 王新皓, 等. 辽河四平段流域河流沉积物微生物群落多样性和结构分析[J]. *环境科学*, 2022, 43(5): 2586-2594. (LI P Y, AN Q R, WANG X H, et al. Analysis on diversity and structure of microbial community in river sediment of Siping section of Liaohe River[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(5): 2586-2594. (in Chinese)) DOI: [10.13227/j.hjcx.202107032](https://doi.org/10.13227/j.hjcx.202107032).

Response of microbial communities to sewage treatment plant discharge in urban river sediments: A case study of Zao River in Xi'an

ZHANG Baihuan, DING Ning, SUN Haotian, TIAN Yulu, FAN Rong, SONG Jinxi, GUO Jiahua

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

Abstract: Wastewater discharged from sewage treatment plants (STPs) may affect the structure and function of microbial communities in the sediment of receiving water body. The response of sediment microbial community in Zao River (Xi 'an, China) to STPs discharge was investigated by 16S rRNA sequencing technology and bioinformatic analysis. The results revealed that Proteobacteria , Cyanobacteria , Bacteroides , Firmicutes , Actinobacteria , Chloroflexi and Acidobacteria were the dominant communities in the sediments of Zao River. The obtained sparse curve and species accumulation curve indicated that the sequencing depth and the number of samples were enough to reflect the changes in microbial community richness. The richness and diversity of Zao River community decreased gradually with the inflow of sewage. The difference in microbial community structure between the reaches near the 2nd STP sewage outlet and other river reaches was significant with the marker species being chlamydia . Furthermore, the metabolic pathways enriched in the up-middle-down reaches of the 2nd STP sewage outlet were photosynthesis in energy metabolism (ko00196), *bibrio cholerae* infection (ko05110), and the biosynthesis of secondary bile acids (ko00121), respectively. In general, nitrite nitrogen and temperature were the most significant environmental factors, accounting for 40.3% of the changes in the whole community. Proteobacteria was positively correlated with salinity, total phosphorus, COD, and pH, and negatively correlated with temperature, total nitrogen and ammonia-nitrogen. Likewise, cyanobacteria was primarily positively correlated with temperature and redox potential, and negatively correlated with pH, nitrate-nitrogen, and total phosphorus. In particular, the microbial communities near 2nd and 9th STP sewage outlets were determined by phosphorus and nitrogen levels, respectively. In conclusion, the altered microbial community structure in the sediments of sewage-receiving rivers can reflect the fluctuation in river water quality and the health of aquatic ecosystems influenced by sewage discharge.

Key words: Zao River; 16S rRNA; microbial community; sediment; sewage treatment plant

(上接第 1083 页)

The results showed that there was a significant correlation between groundwater level and river stage. The partial correlation coefficients of Songhuajiang River and Wusulijiang River were 0.88 and 0.511, respectively, which showed the correlation between the groundwater level of Jianshe street groundwater level observation station and the river stage of Songhuajiang River was closer than that of Haiqing groundwater level observation station and the river stage of Wusulijiang River. There were temporal and spatial differences in the lag level of groundwater level to precipitation near the Songhuajiang River and Wusulijiang River in the study area, and the lag time of groundwater level to precipitation near Songhuajiang River and Wusulijiang River was 21.65 d and 2.17 d, respectively. In addition, the dynamic variations of groundwater level and river stage showed that the river water was generally recharged by groundwater from 2007 to 2016.

Combined with the results of partial correlation analysis and the dynamic variations of groundwater level and river stage over the years, the river stage significantly affected the response of groundwater level near the river to precipitation, and the correlation between the river stage of Songhuajiang River and the nearby groundwater level was closer. The interaction between the river water in Songhuajiang River and the nearby groundwater was stronger than that in Wusulijiang River and the nearby groundwater, which showed that the river stage in Songhuajiang River had a greater impact on the response relationship between groundwater level and precipitation, so the lag time of adjacent groundwater level in Songhuajiang River to precipitation was longer. The results show that the conversion among precipitation, groundwater and river water has an important effect on the variation of groundwater level, and the river stage plays an important role in the response of groundwater level to precipitation in this area.

Key words: groundwater level; precipitation; river stage; correlation analysis; lag time