

高原高寒污水处理系统的微生物群落特征

方德新¹,吉芳英^{1*},许晓毅^{1,2},熊京忠³ (1.重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045; 2.苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏 苏州 215009; 3.中国民航机场建设集团公司西南分公司,四川 成都 610202)

摘要:为研究高原高寒污水处理系统活性污泥的微生物群落结构及多样性,以拉萨、云南、四川的3座高原污水厂作为实验组,同时以重庆2座非高原污水厂作为对照,采用PCR-DGGE技术对比分析了高原与非高原污水厂的微生物特性。研究表明:高原污水厂样品与非高原样品在聚类中展现出了较为疏远的关系,微生物群落区别明显。受强紫外线辐射的抑制,高原高寒污水处理系统微生物多样性的平均水平显著低于非高原污水厂,较低的微生物多样性是导致高原高寒地区污染物去除效果不佳的一项重要原因。群落构成方面,共鉴定出16个优势菌属,对应Proteobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes、Verrucomicrobia 4个门。组间差异分析结果发现,高原组中丰度显著偏高的菌属只有 *Prosthecobacter*,该菌在污水厂内分布广泛,且能够适应高原低温的条件。对于大多数活性污泥微生物而言,高原强紫外线是不利的生存条件。因此,减少高原露天污水处理系统的紫外辐照,是提升污水处理效能的一个潜在措施。

关键词:高原高寒;污水处理;微生物多样性;群落结构;紫外线

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2020)03-1081-08

Microbial community characteristics of wastewater treatment systems in high-altitude and cold regions. FANG De-xin¹, JI Fang-ying^{1*}, XU Xiao-yi^{1,2}, XIONG Jing-zhong³ (1.State Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 2.School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 3.China Airport Construction Group Corporation Southwest Branch, Chengdu 610202, China). *China Environmental Science*, 2020,40(3): 1081~1088

Abstract: To investigate the microbial structure and diversity of the wastewater treatment systems in plateau and cold regions, three plateau wastewater treatment plants (WWTPs) in Lhasa, Yunnan and Sichuan were chosen as experimental group, and two non-plateau WWTPs in Chongqing were used for comparison. Polymerase chain reaction-Denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) was adapted to reveal the microbial characteristics of plateau and non-plateau WWTPs. The cluster results showed that plateau samples exhibited far distances from non-plateau samples, and the microbial community displayed an apparent difference. The average diversity of plateau WWTPs was lower than that of non-plateau WWTPs, which might be due to the significant inhibitory effect of ultraviolet (UV) radiation in plateau regions. As a result, the pollutant removal efficiency in plateau WWTPs was not satisfied as expected. For community composition, a total of 16 genera were identified, which belong to the phyla of *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Verrucomicrobia*. The difference analysis between groups showed that there was only one genus, *Prosthecobacter*, significantly enriched in plateau group, which is widely distributed in WWTPs and can adapt to the low temperature in the plateau. But for most activated sludge bacteria, high altitude and UV irradiation is an unfavorable living condition. Therefore, shading the UV radiation for the open WWTPs is a potential way to improve the wastewater treatment performance in plateau and cold regions.

Key words: high altitude and cold; wastewater treatment; microbial diversity; community structure; ultraviolet

研究发现^[1-2],进入高寒时期后,高原污水处理系统的处理效能会出现明显下降的现象。目前关于高原高寒污水厂的研究多集中在强化措施(如池体隔热、污水加温、增强曝气等)与污水处理效果提升的关系上^[3-4],对系统内部的微生物群落变化却少有关注。由于污水处理过程是由一系列复杂的微生物代谢活动完成的,而微生物的生理活性与污水厂所处的海拔、温度等自然条件直接相关^[5]。因此高原高寒环境下污水处理效能的降低很可能是内在微生物

群落变化导致的。有学者^[6]分析了海拔对污水厂脱氮细菌群落的影响,发现在海拔1500m以上时,脱氮细菌的丰度随着海拔的升高而显著下降,与水质参数相比,海拔因素对于脱氮菌群变化的影响更大。其他学者^[7-10]也发现,不同区域污水厂活性污泥的微

收稿日期: 2019-08-14

基金项目: 国家重点研发资助项目(2018YFD1100501); 重庆大学研究生科研创新基金资助项目(CYB18040)

* 责任作者, 教授, jfy@cqu.edu.cn

生物群落呈现出清晰的地域特征。然而,这些研究所关注的大多为低海拔的污水处理系统,对高原高寒地区污水处理系统的微生物群落特征却少有研究。考虑到高原高寒地区独特的气候特征会在一定程度上抑制微生物活性,因此高原地区的活性污泥系统中微生物群落特征可能有别于常规海拔区域的污水处理系统。

由于活性污泥中多数微生物是不可培养的^[11],采用传统纯培养方法来研究群落整体结构十分困难。聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)以样品DNA为研究对象,能直观有效地揭示微生物群落结构及多样性,具有可靠性强、重现性高等优点^[12],该技术已经被应用于活性污泥^[13-14]、湖库沉积物^[15-16]、土壤^[17-18]、水体^[19]等微生物群落结构的研究。本研究利用PCR-DGGE技术,以我国高原高寒地区3座污水厂为研究对象,同时以2座非高原污水厂作为对照,旨在探明我国高原高寒污水处理系统的微生物群落结构特征,为提升高原高寒区域污水处理效能,加深对高原污水处理系统群落微生态的理解提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 样品来源及采集方法

试验样品的采集工作于高寒期(2015年12月~2016年1月)进行,本次采样共涉及5座污水处理厂,如表1所示。其中NLH、JZH和KGA分别代表云南宁蒗污水厂、四川九寨黄龙污水厂和西藏拉萨贡嘎污水厂,均为高原污水处理厂,分别位于云南高原、川西北高原、青藏高原,是本研究的实验组。其中NLH污水厂采用的是“生物接触氧化+人工湿地”的处理工艺,JZH和KGA污水厂均采用“厌氧-好氧接触氧化”工艺,3座高原污水厂的出水标准均为一级B标.YC和HC分别为重庆永川和合川污水处理厂,是本研究的非高原对照组.YC采用AAO工艺,HC采用“厌氧-Orbal氧化沟”工艺,其出水标准均执行一级A标。本研究中5座污水厂处理对象均为当地生活污水。

用有机玻璃采样器采集水面以下0.5m左右处的悬浮污泥,静置3~5min,在污泥沉淀之后将其平稳地转移到经反复润洗的500mL无菌聚乙烯瓶中,反复若干次直至采样瓶中污泥样品充满。将采集到的样品用实验冰袋冷冻保存,迅速带回实验室,然后将部分污泥样品分装于若干无菌离心管中-80°C保存,用于提取活性污泥DNA分析。除NLH外,其余每个污水厂均在厌氧池和好氧池采集2个污泥样品,样品序号与污水厂的对应关系如表1所示。

表1 高原与非高原污水厂信息及对应样品编号

Table 1 Basic information of the plateau and non-plateau WWTPs and corresponding sample numbers

污水厂	海拔(m)	位置(经纬度)	温度(℃)	紫外线指数	处理单元	样品序号	组别
重庆 永川污水厂(YC)	306	(105°53' E 29°17' N)	13.5±1.3	3.3±1.3	厌氧池	S1	非高原组
					好氧池	S2	
	219	(106°31' E 30°90' N)	13.4±1.3	3.3±1.3	厌氧池	S3	
					好氧池	S4	
云南 宁蒗污水厂(N LH)	3294	(100°45' E 27°40' N)	8.4±1.6	7.9±1.3	接触池 (好氧)	S5	
四川 九寨黄龙污水厂(JZH)	3448	(104°40' E 33°15' N)	4.6±1.5	8.2±1.4	厌氧池	S6	高原组
					好氧池	S7	
西藏 拉萨贡嘎污水厂(KGA)	3600	(90°54' E 29°18' N)	6.1±1.4	10.5±1.1	厌氧池	S8	
					好氧池	S9	

注:海拔高度数据来自Google地图;温度和紫外线指数均为环境参数,数据为采样前后共15d的统计结果,数据均来自WeatherOnline天气平台。

1.2 基因组DNA提取及PCR扩增

污泥样品在2.0mL离心管中静置30min,弃掉上清液,进行15000r/min高速离心5min,再次去除上清液,取0.3g浓缩样品用于总DNA提取。采用Fast DNATM SPIN Kit For Soil (MP Biomedicals)提取样

品DNA,用1.2%琼脂糖凝胶电泳核验所提取DNA的完整性。以质量核验通过的样品基因组DNA为模板,采用细菌通用引物GC-338F(5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')和518R(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')扩增高变区序列^[20]。

扩增条件:10×buffer 5μL; dNTP (2.5mmol/L) 3.2μL; rTaq (5U/μL) 0.4μL; GC-338F (20μmol/L) 1μL; 518R (20μmol/L) 1μL; 模板 DNA 50ng; 补去离子水定容至 50μL.

扩增程序:94℃预处理 5min; 94℃变性 1min, 55℃复性 45s, 72℃延伸 1min, 循环 30 次; 最后 72℃延伸 10min. PCR 产物采用 DNA Gel Extraction Kit (OMEGA) 纯化回收.

1.3 DGGE 分离及优势条带回收与测序

取 10μL 纯化的 PCR 产物进行 DGGE 分析. 变性梯度为 35%~55%, 聚丙烯酰胺浓度为 7%, 在电压 56V 下, 恒温 60℃, 1×TAE 缓冲液中电泳 14h. DGGE 完毕后, 采用银染法染色 15min, 然后用凝胶成像系统对 DGGE 分离结果拍照.

选择高原与非高原污水厂共有及特有的代表性条带, 用无菌刀片切下, 随即采用 Poly-Gel DNA Extraction Kit 试剂盒(OMEGA) 进行回收. 取 2μL 回收产物做模板, 进行 PCR 扩增, 除引物不带 GC 夹外, 扩增条件及程序同 1.2. 将重新扩增的 DNA 片段回收、纯化, 与 pMD18-T 载体连接, 并导入 DH5α 感受态细胞, 筛选出用于测序的阳性克隆子.

1.4 生物信息学分析

DGGE 图谱中样品条带的亮度和数目用 Quantity One 软件进行数字化, 并对样品进行 UPGMA 算法聚类, 各条带的丰度信息以 Peak Intensity 的形式展示. 在此基础上, 采用香浓指数 (Shannon-Wiener, H)、丰富度(Richness, S)和均匀度(Evenness, E) 3 个指标综合评价每个样品中的微生物多样性. 计算公式如下:

$$\text{Shannon} = -\sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \quad (1)$$

$$\text{Evenness} = \frac{H}{H_{\max}} = \frac{H}{\ln S} \quad (2)$$

式中: p_i 表示样品中第 i 条条带的强度(N_i)在该样品所有条带强度总和(N)中的占比, 即 $p_i=N_i/N$; S 为单一样品中所有条带数目的和, 即样品的丰富度值.

测序结果在 NCBI GenBank 数据库中进行 BLASTN 检索, 进行同源性比对, 选择最相似的菌株用于系统发育树的建树序列. 系统发育树的构建在 MEGA5.2 中完成, 采用 Neighbor-Joining 算法, 自展值设置为 1000. 主成分分析(PCA) 和典型相关分析

(CCA)由 CANOCO 软件完成.

1.5 污染物分析

采用重铬酸盐法测定污水样品的 COD 浓度^[21], 采用钼酸铵分光光度法(GB/T 11893)测定水质总磷浓度^[22], 采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535)测定氨氮浓度^[23]. 污染物去除效率按下式计算:

$$\eta = \frac{c_{\text{inf}} - c_{\text{eff}}}{c_{\text{inf}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: c_{inf} 表示进水浓度, mg/L; c_{eff} 表示出水浓度, mg/L; η 表示污染物的去除率, %.

1.6 统计分析

采用 OriginPro 2016 进行双变量回归分析, 以探究紫外线指数与微生物多样性的关系. 使用 STAMP^[24] 进行高原组与非高原组之间的差异比较, 由于两组样品数不相同, 本文采用适用于非配对样品的 Welch's t 检验, 两组间 P 值小于 0.05 时认为具有显著差异.

2 结果与讨论

2.1 活性污泥样品的相似性分析

高原与非高原活性污泥样品 DNA 的 PCR 扩增产物通过 DGGE 分离, 获得的图谱如图 1(a) 所示. 结果显示, 高原污水厂污泥样品(S5~S9) 总条带数目和优势条带数目均低于非高原组的非高原污水厂样品(S1~S4), 其中 5、6、7、11、12、13、14、15 条带的强度在高原污水厂样品一致减弱或消失, 而条带 3、4、8、9、16 则在部分高原样品中得到强化, 可以看出高原高寒条件对菌群结构产生了明显的影响. 从 DGGE 图谱中可以发现: 在组水平, 高原与非高原污水厂样品的指纹特征在组内相似度较高; 在样品水平, 不管是高原, 还是非高原污水厂, 同一污水厂内部厌氧池和好氧池 2 样品的 DNA 指纹特征相近.

为了进一步揭示两组间的群落相似关系, 本文进行了聚类和 PCA 分析, 结果如图 1(b)~(c) 所示. 首先是同一污水厂的样品距离最近, 优先聚类, 表明群落结构最为相似, 这是因为污水厂内部的污泥回流使不同生化单元之间的生物群落趋同; 其次是高原组与非高原组的组内样品聚类; 最后是 2 个组水平聚类, 虽然 S5 在样品聚类树中展现了与非高原样品更近的关系, 但条带中显示的 S5 生物群落的类型与丰度相较非高原组样品依然出现了较明显的变化.

整体而言,高原污水厂的微生物群落结构与非高原地区具有明显差异。这种亲疏关系在PCA分析中得到了进一步证实,二者在主轴(PC1)方向出现了明显的分离。

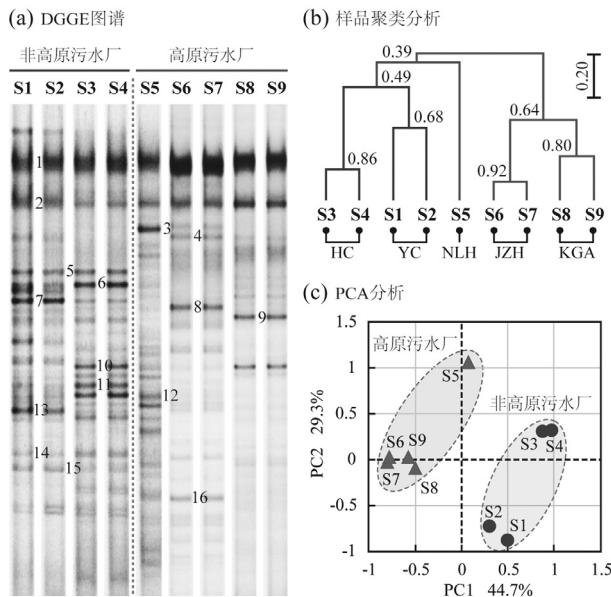


图 1 高原与非高原污水厂样品比较

Fig.1 Comparison of plateau and non-plateau wastewater treatment plant samples

2.2 微生物群落多样性分析

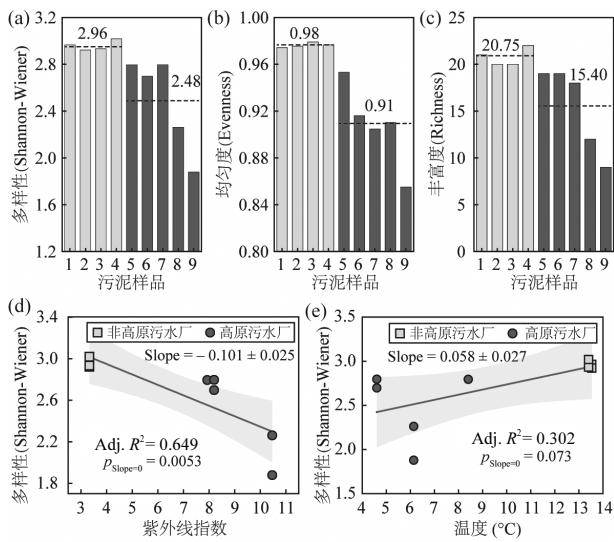


图 2 微生物群落多样性比较

Fig.2 Comparison of microbial community diversity

微生物多样性分析进一步揭示了高原与非高原污水厂的群落差异,结果如图 2 所示。高原高寒污水厂污泥样品中 3 个典型的多样性指标 Shannon-

Wiener、Evenness 和 Richness 均整体低于非高原污水厂,其中 Shannon 指数在高原组中平均水平为 2.48,而在非高原组中则为 2.96。相应地,高原组污水厂的污染物去除效率也相对较低,其中 COD、NH₄⁺-N 和 TP 的平均去除率仅为 79.1%、66.9%和 43.0%,而非高原组中三者的去除率则达到了 92.1%、96.8%和 87.2%(图 3),这一结果表明微生物的多样性会影响其去除污染物的能力。有学者^[25]在湿地污水处理系统中发现了类似的现象,并得出微生物去除污染物能力与群落多样性呈正相关的结论。

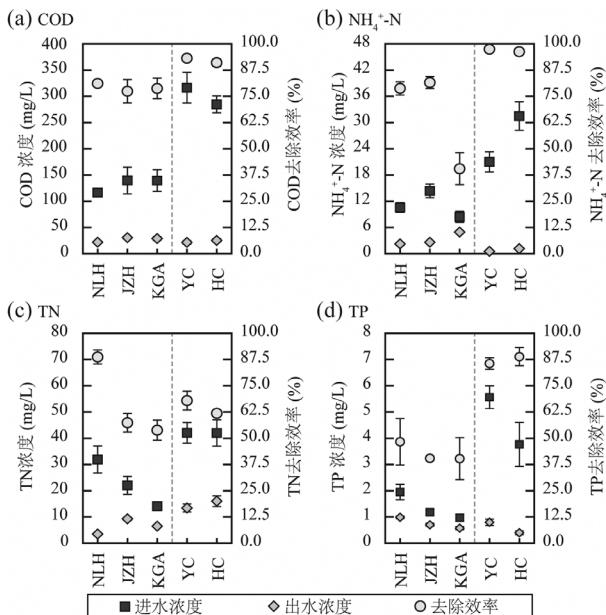


图 3 高原与非高原污水厂的水质指标

Fig.3 Water quality of plateau and non-plateau wastewater treatment plants

考虑到微生物群落多样性是污水处理系统的一个重要指标,本文进一步探究了高原高寒污水厂多样性偏低的原因。有研究^[26]表明冬季我国东北平原寒冷地区的某城市污水厂 Shannon 指数在 3.1~3.2 之间,与本研究中非高原组 Shannon 水平相当,均高于高原高寒污水处理系统的多样性水平。值得注意的是,同具有高寒特征,高原污水厂的多样性却显著低于非高原污水厂,说明温度并不是高原污水厂微生物多样性低的限制性因素。高原高寒地区由于海拔高、空气稀薄,到达高原表面的太阳紫外线(UV)辐射衰减较弱,因此高原区域紫外线指数较高(表 1)。回归分析表明 Shannon 指数与紫外指数呈显著的负相关关系($P<0.01$,图 2(d));虽然 Shannon 指数与环境

温度展现了正相关的趋势,但二者的关系并不显著($P=0.073$,图 2(e)).较高的紫外线强度会对微生物的核蛋白与 DNA 产生破坏作用^[27],在强紫外线条件下选择下,部分微生物受到抑制甚至被淘汰,从而导致高原污水处理系统内微生物多样性下降.

2.3 系统发育及群落结构分析

选取图 1(a)中高原与非高原污水厂样品中共有及特有的代表性条带进行测序比对,得到优势菌群的同源性信息,将其构建成系统发育树,如图 4 所示.

这些优势菌群共包括 16 个属种,隶属于 4 个门,分别是 Proteobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes、Verrucomicrobia.其中 Proteobacteria 的丰度值最高,在各污泥样品中占比为 43.4%~59.7%(图 5(a)).454 焦磷酸测序^[28-29]和高通量测序^[30]技术也一致表明 Proteobacteria 是污水处理系统中最丰富的门,该细菌在碳氮的去除方面发挥着重要作用^[31],研究^[32]发现目前绝大多数脱氮细菌均出自 Proteobacteria.其次是 Bacteroidetes,在污泥样品群落中的丰度为 21.9%~32.0%,Shi 等^[33]报道 Bacteroidetes 是一类重要的异养生物,能够参与有机碳和蛋白物质的循环.值得注意的是,这 2 种在污染物去除过程中发挥重要作用的菌群在高原样品中的丰度整体低于非高原样品,主要微生物群丰度的下降也是导致高原高寒污水处理系统群落多样性偏低的原因.不同的是,Verrucomicrobia 只在高原样品中检出,研究发现 Verrucomicrobia 能够在高盐的环境中生存^[34],这主

要得益于在其胞外形成的多聚物保护层^[35].该胞外保护层在一定程度上可削弱紫外线对细菌结构的破坏作用^[36],由此可推断高原样品中 Verrucomicrobia 是适应高原强紫外线环境的结果.

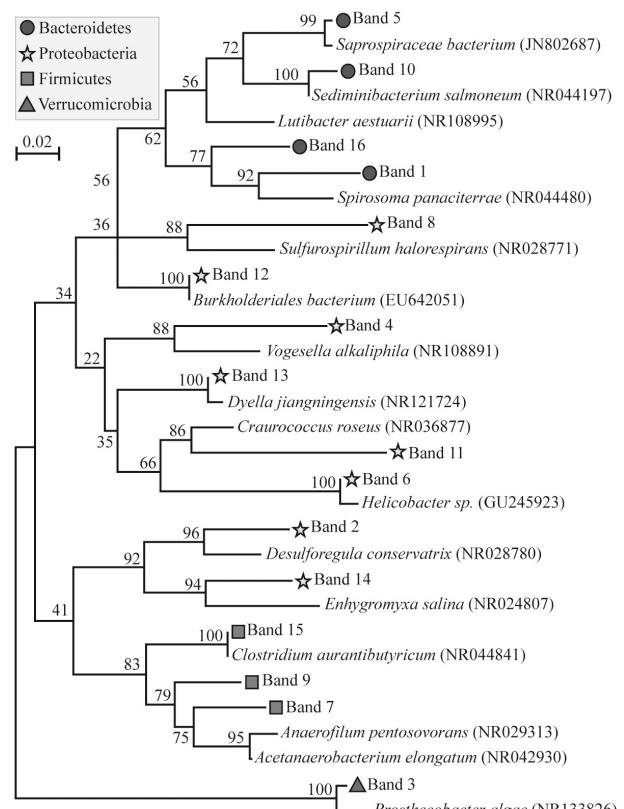


图 4 污泥样品细菌的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree of bacteria in activated sludge samples

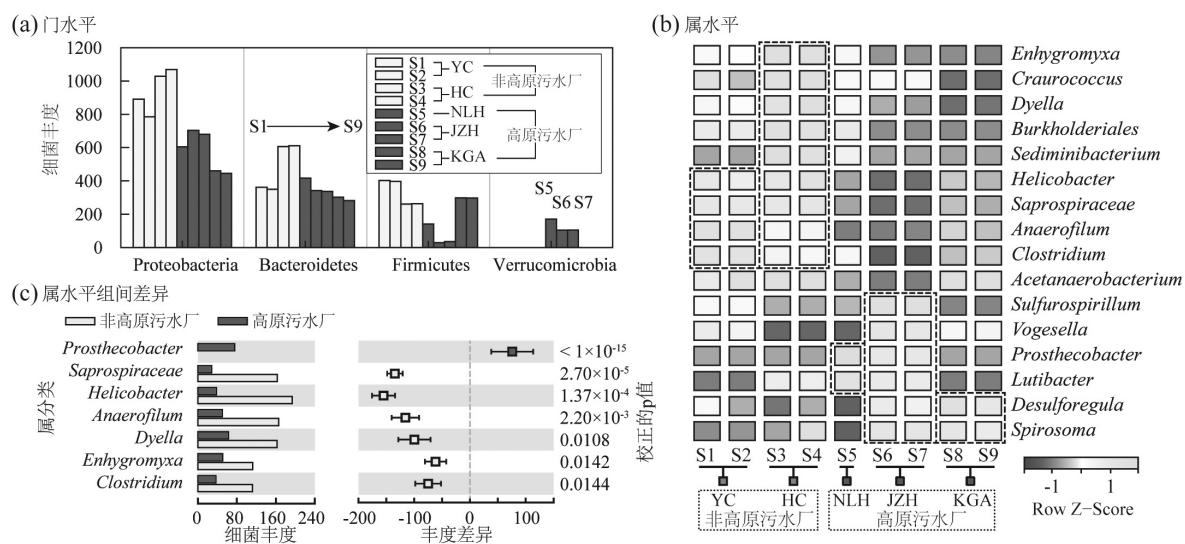


图 5 微生物的群落组成与组间差异

Fig.5 Microbial community composition and group difference of sludge samples

在属水平,高原与非高原污泥样品均拥有各自独特的优势菌,如图 5(b)中虚线框所示。为区分高原与非高原组间在属水平的群组差异,采用 STAMP 对 2 组间的均值进行比较,结果如图 5(c)。隶属于 Verrucomicrobia 门的 *Prosthecobacter* 在高原样品中的丰度显著高于非高原组($P<0.001$)。*Prosthecobacter* 是污水处理系统中容易检出的一种属^[37],而且有研究表明它能适应低温和低氨氮条件^[38]。需要注意的是,尽管 *Desulforegula* 和 *Spirosoma* 这 2 种属并未在高原组中表现出显著优势,但它们在 JZH 和 KGA 2 个高原污水厂中的丰度却有显著优势。相比而言,非高原组的优势菌属包括 *Saprospiraceae*、*Helicobacter*、*Anaerofilum*、*Dyella*、*Enhygromyxa*、*Clostridium*。其中 *Saprospiraceae*^[39]、*Anaerofilum*^[40] 和 *Dyella*^[41] 已被研究证实能够将复杂有机物(聚合物、蛋白等)降解为小分子碳源的能力;而 *Enhygromyxa* 能够裂解其他细菌^[42],在污水处理系统中以捕食者的角色存在,在多样性较高的污泥系统中容易出现。

2.4 微生物群落对环境因子的响应

如图 6 所示,第 1 和第 2 排序轴对污泥细菌群落的合计解释度为 66.1%,说明海拔、紫外线指数、温度、水质对微生物群落结构有重要影响。

水质指标(COD、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、TP、TN)和温度因子射线之间呈锐角,说明在研究涉及的参数值范围内,这些环境因子对微生物群落具有协同影响效应。可以发现,大部分菌群与水质指标和温度呈正相关关系,其中代表性的有 *Helicobacter* 和 *Dyella*,这 2 个属在组间差异分析中被判定出在非高原污水厂样品中的丰度显著高于高原样品。相反,海拔和紫外线指数 2 个环境因子则对广泛的微生物均表现出负相关作用,只有 *Prosthecobacter* 与这 2 个参数体现了典型正相关的关系。当然,这并不能表明紫外线能促进 *Prosthecobacter* 的生长,也并不能说明 COD 等第三象限的环境因子对于 *Prosthecobacter* 具有抑制作用,但可肯定该菌属在高原高寒且进水底物浓度较低的情况下仍然能表现出较高的生存能力。

通过微生物与环境因子的相关分析,可以发现高海拔和高紫外线的环境对于活性污泥中绝大多数微生物是不利的,对于微生物主导的污染物去除

过程也是不利的。因此,高原高寒地区污水处理系统的优化运行除了进行污水增温增氧,还应关注紫外线辐照对露天污水处理系统的影响。改善活性污泥内的微生物群落结构是提升高原高寒地区污水处理效果的关键。

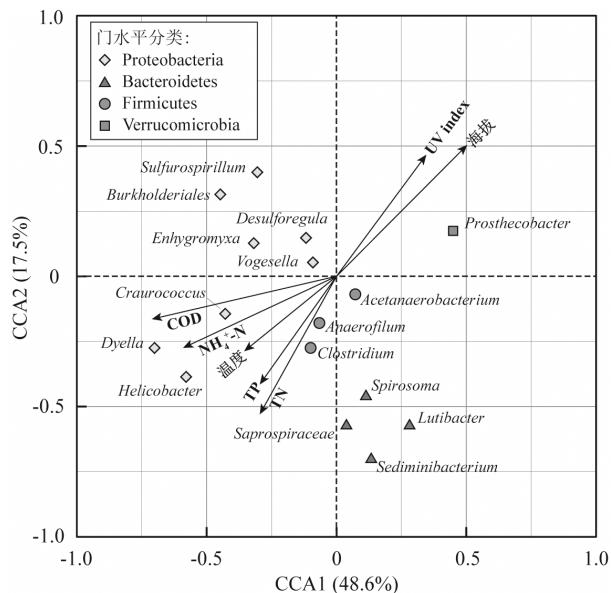


图 6 污泥样品微生物属与环境因子的相关关系

Fig.6 Canonical correlation analysis between microbial genus and environmental factors in sludge samples

3 结论

3.1 样品聚类和 PCA 分析表明高原和非高原污水厂污泥样品明显分离,高原高寒地区污水处理系统存在独特的生物群落结构。

3.2 高原污水厂微生物多样性平均水平显著低于非高原样品,且 Shannon 指标与紫外线指数呈显著负相关关系,说明紫外线辐射是微生物多样性降低的潜在原因,而微生物多样性低是导致高原高寒地区污水处理效果不佳的一项重要原因。

3.3 活性污泥样品中发现的优势菌群共包括 16 个属种,隶属于 Proteobacteria、Bacteroidetes、Firmicutes、Verrucomicrobia 4 个门。在高原组样品中丰度显著高于非高原组的仅有 *Prosthecobacter* 菌属;相比而言,在非高原组中丰度显著偏高的则有 6 个属。

3.4 高海拔和高紫外线环境是抑制活性污泥微生物群落多样性和复杂性的重要因素。降低高原高寒地区露天污水处理系统所受的紫外辐照强度,有望改善微生物结构,提升污水处理效能。

参考文献:

- [1] 李德生,程国栋.青藏高原地区低温生活污水的深度处理 [J]. 化工学报, 2008,59(4):1001–1007.
- Li D S, Cheng G D. Advanced treatment of cold domestic sewage in Qinghai-Tibet Plateau [J]. CIESC Journal, 2008,59(4):1001–1007.
- [2] 田 华,王三反,洪 雷,等.青藏高原生活污水处理及回用的工艺研究 [J]. 环境科学与技术, 2007,30(6):64–65.
- Tian H, Wang S F, Hong L. Experiment of domestic wastewater treatment and reuse in Qinghai-Tibet plateau area [J]. Environmental Science & Technology, 2007,30(6):64–65.
- [3] 郭劲松,潘颖雅,王春燕,等.高原地区 CASS 工艺处理城镇污水的生产性调试 [J]. 土木建筑与环境工程, 2009,31(4):112–116+122.
- Guo J S, Pan Y Y, Wang C Y, et al. Productive commissioning of CASS process treating sewage in plateau region [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2009,31(4):112–116+122.
- [4] 马宗凯,李晓燕,任正元.A/A/O 工艺在高原地区污水处理工程中的应用 [J]. 水处理技术, 2012,38(5):128–131+134.
- Ma Z K, Li X Y, Ren Z Y. A/A/O process application of wastewater treatment engineering in plateau section [J]. Technology of Water Treatment, 2012,38(5):128–131+134.
- [5] Seib M D, Berg K J, Zitomer H. Influent wastewater microbiota and temperature influence anaerobic membrane bioreactor microbial community [J]. Bioresource Technology, 2016,216:446–452.
- [6] Niu L H, Li Y, Wang P F, et al. Altitude-scale variation in nitrogen-removal bacterial communities from municipal wastewater treatment plants distributed along a 3600m altitudinal gradient in China [J]. Science of the Total Environment, 2016,559:38–44.
- [7] Wu L, Ning D, Zhang B, et al. Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants [J]. Nature Microbiology, 2019,4(7):1183–1195.
- [8] Hu M, Wang X H, Wen X H, et al. Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis [J]. Bioresource Technology, 2012,117:72–79.
- [9] Wang X H, Hu M, Xia Y, et al. Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in China [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012,78(19):7042–7047.
- [10] Ju F, Xia Y, Guo F, et al. Taxonomic relatedness shapes bacterial assembly in activated sludge of globally distributed wastewater treatment plants [J]. Environmental Microbiology, 2014,16(8):2421–2432.
- [11] 叶姜瑜,罗固源.微生物可培养性低的生态学释因与对策 [J]. 微生物学报, 2005,45(3):478–482.
- Ye J Y, Luo G Y. Ecological interpretation and related strategies for low culturability of microorganisms [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005,45(3):478–482.
- [12] 韩 睿,陈来生,李 莉,等.PCR-DGGE 研究青海农村户用沼气池微生物群落结构 [J]. 中国环境科学, 2015,35(6):1794–1804.
- Han R, Chen L S, Li L, et al. Microbial community of rural household biogas digesters in Qinghai by PCR-DGGE [J]. China Environmental Science, 2015,35(6):1794–1804.
- [13] Wang L, Liu J L, Zhao Q Y, et al. Comparative study of wastewater treatment and nutrient recycle via activated sludge, microalgae and combination systems [J]. Bioresource Technology, 2016,211:1–5.
- [14] Hesham A, Qi R, Yang M. Comparison of bacterial community structures in two systems of a sewage treatment plant using PCR-DGGE analysis [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011,23(12):2049–2054.
- [15] 李国强,薛林贵,莫天录,等.湖泊沉积物微生物多样性研究方法的新进展 [J]. 兰州交通大学学报, 2015,34(6):12–16.
- Li G Q, Xue L G, Mo T L, et al. New progress of research methods for microbial diversity in lake sediment [J]. Journal of Lanzhou Jiaotong University, 2015,34(6):12–16.
- [16] 牛凤霞,吉芳英,赵 艮,等.龙景湖沉积物的细菌群落垂向分布特征 [J]. 中国环境科学, 2017,37(6):2322–2331.
- Niu F X, Ji F Y, Zhao G, et al. Vertical distribution of bacterial communities in sediments of Longjing Lake [J]. China Environmental Science, 2017,37(6):2322–2331.
- [17] 李 新,焦 燕,代 钢,等.内蒙古河套灌区不同盐碱程度的土壤细菌群落多样性 [J]. 中国环境科学, 2016,36(1):249–260.
- Li X, Jiao Y, Dai G, et al. Soil bacterial community diversity under different degrees of saline-alkaline in the Hetao Area of inner Mongolia [J]. China Environmental Science, 2016,36(1):249–260.
- [18] 郑 涵,田昕竹,王学东,等.锌胁迫对土壤中微生物群落变化的影响 [J]. 中国环境科学, 2017,37(4):1458–1465.
- Zheng H, Tian X Z, Wang X D, et al. Effects of Zn pollution on soil microbial community in field soils and its main influence factors [J]. China Environmental Science, 2017,37(4):1458–1465.
- [19] 孙寅姣,陈 程,丁爱中,等.官厅水库水质特征及水体微生物多样性的响应 [J]. 中国环境科学, 2015,35(5):1547–1553.
- Sun Y J, Chen C, Ding A Z, et al. The corresponding of microbial diversity on water quality and environmental variables of Guanting Reservoir [J]. China Environmental Science, 2015,35(5):1547–1553.
- [20] LaPara T M, Nakatsu C H, Pantea L M, et al. Stability of the bacterial communities supported by a seven-stage biological process treating pharmaceutical wastewater as revealed by PCR-DGGE [J]. Water Research, 2002,36(3):638–646.
- [21] 吉芳英,杨 琴,罗固源.实验室自配 HACH-COD 替代试剂研究 [J]. 给水排水, 2003,29(1):17–20.
- Ji F Y, Yang Q, Luo G Y. Laboratory prepared substitutes for HACH-COD meter [J]. Water & Wastewater Engineering, 2003,29(1):17–20.
- [22] 黎 睿,王圣瑞,肖尚斌,等.长江中下游与云南高原湖泊沉积物磷形态及内源磷负荷 [J]. 中国环境科学, 2015,35(6):1831–1839.
- Li R, Wang S R, Xiao S B, et al. Sediments phosphorus forms and loading in the lakes of the mid-lower reaches of the Yangtze River and Yunnan Plateau, China [J]. China Environmental Science, 2015,35(6):1831–1839.
- [23] 吉芳英,颜海波,何 强,等.龙景湖龙景沟汇水区沉积物-水界面氮形态空间分布特征 [J]. 中国环境科学, 2015,35(10):3101–3107.
- Ji F Y, Yan H B, He Q, et al. Distribution of nitrogen speciation at the sediment-water interface in Longjingou Catchment Area of Longjinghu Lake [J]. China Environmental Science, 2015,35(10):3101–3107.
- [24] Parks D H, Tyson G W, Hugenholtz P, et al. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles [J]. Bioinformatics, 2014,30(21):3123–3124.

- [25] Zhang Y, Carvalho P N, Lv T, et al. Microbial density and diversity in constructed wetland systems and the relation to pollutant removal efficiency [J]. Water Science and Technology, 2016,73(3):679–686.
- [26] 崔 迪,李 昂,王继华,等.非培养技术解析生化系统微生物群落结构 [J]. 哈尔滨工业大学学报, 2011,43(10):45–49.
- Cui D, Li A, Wang J H, et al. Analysis of microbial community structure of biochemical system using uncultured technology [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2011,43(10):45–49.
- [27] Wu B, Tian J Q, Bai C M, et al. The biogeography of fungal communities in wetland sediments along the Changjiang River and other sites in China [J]. Isme Journal, 2013,7(7):1299–1309.
- [28] Zhou Z, Qiao W M, Xing C, et al. Microbial community structure of anoxic–oxic–settling–anaerobic sludge reduction process revealed by 454–pyrosequencing [J]. Chemical Engineering Journal, 2015,266: 249–257.
- [29] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants [J]. Isme Journal, 2012,6(6):1137–1147.
- [30] Fang D X, Zhao G, Xu X Y, et al. Microbial community structures and functions of wastewater treatment systems in plateau and cold regions [J]. Bioresource Technology, 2018,249:684–693.
- [31] Ansola G, Arroyo P, de Miera L E S. Characterisation of the soil bacterial community structure and composition of natural and constructed wetlands [J]. Science of the Total Environment, 2014,473: 63–71.
- [32] Wei W, Isobe K, Nishizawa T, et al. Higher diversity and abundance of denitrifying microorganisms in environments than considered previously [J]. Isme Journal, 2015,9(9):1954–1965.
- [33] Shi X Q, Ng K K, Li X R, et al. Investigation of Intertidal Wetland Sediment as a Novel Inoculation Source for Anaerobic Saline Wastewater Treatment [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(10):6231–6239.
- [34] Macedo W V, Santos C E D, Guerrero R D S, et al. Establishing simultaneous nitrification and denitrification under continuous aeration for the treatment of multi-electrolytes saline wastewater [J]. Bioresource Technology, 2019,288:121529.
- [35] Spring S, Bunk B, Sproer C, et al. Characterization of the first cultured representative of Verrucomicrobia subdivision 5indicates the proposal of a novel phylum [J]. Isme Journal, 2016,10(12):2801–2816.
- [36] Al-Halbouni D, Traber J, Lyko S, et al. Correlation of EPS content in activated sludge at different sludge retention times with membrane fouling phenomena [J]. Water Research, 2008,42(6/7):1475–1488.
- [37] Zielinska M, Rusanowska P, Jarzabek J, et al. Community dynamics of denitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants [J]. Environmental Technology, 2016,37(18):2358–2367.
- [38] Gonzalez-Martinez A, Rodriguez-Sanchez A, Garcia-Ruiz M J, et al. Performance and bacterial community dynamics of a CANON bioreactor acclimated from high to low operational temperatures [J]. Chemical Engineering Journal, 2016,287:557–567.
- [39] Xia Y, Kong Y H, Thomsen T R, et al. Identification and ecophysiological characterization of epiphytic protein-hydrolyzing Saprospiraceae ("Candidatus epiflobacter" spp.) in activated sludge [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008,74(7):2229–2238.
- [40] Guo J, Wang J, Qiu Y, et al. Realizing a high-rate sulfidogenic reactor driven by sulfur-reducing bacteria with organic substrate dosage minimization and cost-effectiveness maximization [J]. Chemosphere, 2019,236:124381.
- [41] Li A, Qu Y Y, Zhou J T, et al. Characterization of a newly isolated biphenyl-degrading bacterium, *Dyella ginsengisoli* LA-4 [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009,159(3):687–695.
- [42] Inaba T, Hori T, Navarro R R, et al. Revealing sludge and biofilm microbiomes in membrane bioreactor treating piggery wastewater by non-destructive microscopy and 16S rRNA gene sequencing [J]. Chemical Engineering Journal, 2018,331:75–83.

致谢: 本实验的现场采样工作由中国民航机场建设集团公司西南分公司协助完成,在此表示感谢。

作者简介: 方德新(1992-),男,河北秦皇岛人,重庆大学博士研究生,主要从事水污染控制研究,发表论文 4 篇。