环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社

2020

Vol.41 No.12

第41卷 第12期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第12期
2020年12月15日

目 次(卷终)

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第41卷第12期 2020年12月
Vol.41, No.12 Dec., 2020

盐度渐增对水解微生物群落结构与功能的影响

高京, 张少华, 王锐, 金鹏康*
(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055)

摘要: 工业废水循环利用导致盐度渐增,应用水解反应器连续处理硫酸钠盐度渐增的高色度印染废水. 在进水盐度从 0.5 $g \cdot L^{-1}$ 渐增到 4 $g \cdot L^{-1}$ 时,印染废水也得以持续高效脱色. 宏基因测序表明,盐度渐增导致水解污泥微生物种数从 882 种下降到了 631 种,但细菌群落的生物多样性仍保持稳定. 盐度渐增对细菌群落的整体功能没有明显影响,但改变了水解脱色功能菌和功能酶的丰度. 低盐度条件下 Proteobacteria 门占主导地位,*Methanothrix* 和 *Geobacter* 为参与水解作用的优势属. 在盐度渐增时,与众多细菌对盐度胁迫的反应相反,Proteobacteria 丰度持续增加,*Desulfovibrio* 和 *Desulfococcus* 成为优势属. PICRUSt 功能解析显示,脱色酶 SOD1 和 SOD2 相对丰度显著下降,CAT 和 TYR 的相对丰度上升,从总体上保证了水解生物系统脱色功能的稳定. 本研究从水解脱色功能基因的角度,探讨盐度渐增对水解微生物群落和功能的影响,为盐度渐增胁迫条件下印染废水的脱色和有机物去除机制研究提供理论基础.

关键词:基因组学; 盐度胁迫; 水解污泥; 群落结构; 脱色功能
中图分类号: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)12-5518-09 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.202005080

Metagenomic Insights into Salinity Build-up in Microbial Communities and Metabolism of Hydrolytic Bioreactor Treating High-color PDWW

GAO Jing, ZHANG Shao-hua, WANG Rui, JIN Peng-kang*
(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: In this study, to solve the problem of salinity enrichment in industrial wastewater recycling, a hydrolytic bioreactor was continuously operated to treat high-color printing and dyeing wastewater (PDWW) with salinity build-up. Nearly complete color removal was achieved even with salinity build-ups from 0.5 to 4 $g \cdot L^{-1}$ in the influent. Pyrosequencing of 16S rRNA genes showed that the salinity build-up results in the decrease of microbial species from 882 to 631; however, the biodiversity of the bacterial community remains stable. Metagenomic analysis indicated that salinity build-up caused no obvious effect on the overall function of the bacterial community, but altered the abundance of specific decoloring genes. Proteobacteria dominated in the bioreactor, and *Methanothrix* and *Geobacter* were the dominant genera under low salinity conditions. Proteobacteria increased in abundance with salinity build-up. *Desulfovibrio* and *Desulfococcus* were the two predominant genera in the bioreactor fed with sodium sulphate salinity build-up, demonstrating opposite responses to the sodium stress. PICRUSt functional analysis showed that the relative abundance of the decolorizing enzymes SOD1 and SOD2 decreased significantly, but the relative abundance of CAT and TYR increased, ensuring the stability of the decolorizing function of the hydrolysis biological system. From the perspective of the functional genes of hydrolysis decolorization, this study explored the effect of salinity build-up on the microbial community and function of hydrolysis, providing a theoretical basis for the study of decolorization and organic matter removal mechanism of PDWW under the condition of salinity build-up.

Key words: metagenomic; salinity build-up; hydrolytic sludge; microbial communities; decolorization

纺织印染工业耗水量大,排放的废水具有高色度、高盐度和高 COD 等特点[1,2]. 在众多印染废水处理技术中,生物处理具有运行费用省和操作简便等优点[3]. 其中,水解技术因为脱色效率高[4],可以提高印染废水的可生化性[5],避免产甲烷过程,适用于多种染料,是一种低成本、生态友好的生物前处理方法[6]. "水解酸化/好氧"也成为应用最广泛的印染废水组合处理工艺[7]. 微生物为生物处理的核心,以细菌群落为主的水解污泥决定了生物处理系统的去除效率[8]. 因此,了解水解酸化系统中微生物群落结构特征,对印染废水运行管理和工艺设计具有很好的理论指导作用.

为了提高染色质量,大量的工业硫酸钠被用作助染剂,因此印染废水总含盐量较高[9,10]. 而高盐环境产生的高渗透压成为抑制微生物活性的主要原因[11]. 同时,随着循环利用次数增多,印染废水盐度也会逐渐升高. 盐度增长会影响微生物群落结构和酶活性[12~14]. 盐度增长包括梯度增长和逐渐增长(渐增,下同). 盐度梯度增长,即盐度(以 Na 计,下同)定量增长(如增长 2 ~ 4 $g \cdot L^{-1}$)后微生物系统维持一定的适应期(20 ~ 30 d)[12,15,16]. 盐度从 0 梯度升高到 4.8 $g \cdot L^{-1}$,污染物的去除率和活性污泥沉

收稿日期: 2020-05-09; **修订日期**: 2020-06-03
基金项目: 国家科技支撑计划项目(2014BAC13B06)
作者简介: 高京(1994 ~),硕士研究生,主要研究方向为水处理技术,E-mail:13484919373@163.com
* 通信作者,E-mail:pkjin@hotmail.com

降性能发生显著变化，优势菌由 Candidate_division_TM7 转化为放线菌门（Actinobacteria）[17]．初始盐度为 3.2 g·L^{-1}时，厌氧膜生物反应器中的优势属为梭状芽孢杆菌（相对丰度为 54%），盐度梯度增长为 8 g·L^{-1} 时，同营养型苯酚降解菌（如 Pelomataculum）的相对丰度显著增加[15]．盐度改变细菌细胞的渗透压，由于盐度梯度增长条件下微生物存在适应期，COD 和氨氮去除率呈现下降再恢复的趋势[18]．盐度渐增，即系统盐度以一定的速率增长而缺少适应期[19]．盐度渐增速率为 0.16 ~ 0.2 g·(L·d)$^{-1}$时，生物反应器的处理性能降低但会促进嗜盐细菌丰度提升[13]．总体而言，已有报道对盐度梯度增长影响微生物群落结构研究广泛，而对盐度渐增情况下的微生物群落结构和功能变化鲜见报道．

本研究考察了盐度渐增时水解系统 COD 去除率、脱色率、微生物多样性和群落丰度的变化情况，探索水解污泥微生物的生物功能转化机制，预测了“脱色酶代谢”和“硫代谢”相关的功能酶变化特性，评价了渐增盐度对水解污泥生物活性的影响程度，以期为盐度持续胁迫条件下印染废水的脱色和有机物去除机制研究提供理论基础．

1　材料与方法

1.1　试验装置

本试验系统由配水箱、水解酸化池、好氧池、二沉池和臭氧气浮器组成（图 1），处理水量为 5 m^3·d^{-1}．水解酸化池尺寸为 1.6 m×1.0 m×1.8 m，有效容积 2.5 m^3，水力停留时间为 12 h，水解池内悬挂柔性填料．根据印染废水处理实际工况，试验系统操作参数为水温控制在（28 ± 2）℃，DO 为（0.22 ± 0.1）mg·L^{-1}，污泥停留时间为（45 ± 5）d，COD 负荷为 0.1 kg·(m^3·d)$^{-1}$．好氧池水力停留时间为 18 h，污泥浓度为 3 000 mg·L^{-1}，污泥龄为 12 d，溶解氧为 2 ~ 3 mg·L^{-1}．竖流式沉淀池污泥回流至水解池与好氧池．臭氧气浮池处理能力为 36 m^3·d^{-1}，臭氧供给量为 33 mg·L^{-1}，间歇运行．水解池和好氧池污泥接种自华东沿海某印染工业园区污水处理厂回流污泥，该厂处理能力为 2 × 10^4 m^3·d^{-1}，采用 A^2/O 处理工艺．

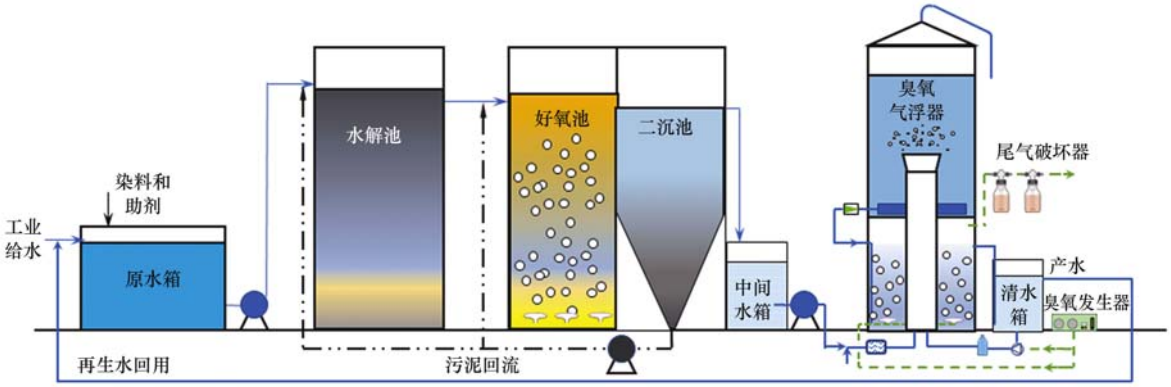


图 1　试验装置流程示意

Fig. 1　Schematic illustration of hydrolysis/aerobic and dissolved ozone flotation setup

本试验用水为人工模拟印染废水，每 m^3 水中投加：0.7‰柔软剂、0.6‰匀染剂、0.2‰除油剂和 0.2‰工业醋酸（99% 含量）；360 g CH_3COONa（化学需氧量 246 g）、14 g $CaCl_2$ 和 80 g NaOH；染料组分包括 9 g 活性红 3BE-M、15 g 分散黄棕和 30 g 分散棕；Na_2SO_4 初始投加量为 80 g．营养元素的组成为（每 m^3）：14 g NH_4Cl（3.7 g NH_4^+-N）、8 g KH_2PO_4（1.8 g PO_4^{3-}-P）、0.5 g $MgCl_2$ 和 300 mL 微量元素溶液．微量元素组成为：0.03 g·L^{-1} $CuSO_4·5H_2O$、0.15 g·L^{-1} H_3BO_3，0.18 g·L^{-1} KI，0.06 g·L^{-1} $Na_2MoO_4·2H_2O$，0.15 g·L^{-1} $CoCl_2·6H_2O$，0.12 g·L^{-1} $ZnSO_4·7H_2O$ 和 10 g·L^{-1} EDTA．

1.2　微生物群落结构测定与分析

1.2.1　样品采集

系统稳定运行后分析水解池污泥微生物群落结构变化，每隔 20 d 取填料表面水解污泥，对应编号分别为 HS00、HS20、HS40、HS60、HS80 和 HS100．采样后 −20℃保存，保存时间不超过 60 d．

1.2.2　污泥细菌总 DNA 提取、PCR 和 16S rRNA 测序

污泥细菌总 DNA 提取、PCR 操作和 16S rRNA 测序由北京诺禾致源公司完成．首先，采用 Power Soil DNA 提取试剂盒（MO Biomedical，U. S.）对生物膜样本中的 DNA 进行提取．然后，选取细菌基因的 V3 ~ V4 区进行聚合酶链式反应（PCR）扩增，选取引物为 338F（5′- ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3′）

和 806R (5′- GGACTACHVGGGTWTCTAAT- 3′). PCR 反应体系(20 μL):5 × FastPfu Buffer 4 μL, dNTPs 2 μL,引物各 0.8 μL,FastPfu 聚合酶 0.4 μL,模板 DNA 10 ng,加无菌水至 20 μL. PCR 条件:95℃预变性 3 min, 95℃变性 30 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 45 s, 35 个循环,最后 72℃延伸 5 min. 2%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,PCR 采用 ABI GeneAmp® 9700 型 PCR 仪. 在使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物后,用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量,之后根据每个样本的不同测序量要求,进行相应比例混合. 然后按照 Illumina MiSeq 平台的测序要求进行测序[20].

物种分类采用 Uparse(V 7.0.1001)软件进行聚类,以 97% 的一致性将序列聚类成为操作分类单位(OTUs),同时依据其算法原则,筛选出 OTUs 中出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列. 使用 Qiime 软件(V 1.9.1)计算生物多样性指数,包括丰富度指数(Chao1)、多样性指数(Shannon、Simpson)和覆盖率指数.

1.2.3 基因注释与表达

细菌序列号来自核糖体数据库项目(http://rdp.cme.msu.edu/)与 NCBI 核苷酸序列数据库(http://www.NCBI.nlm.nih.gov/)中的 BLAST 搜索选项进行了序列比较. 利用基于 16S rRNA 序列分析的 I-sanger 软件(http://www.isanger.com/)完成了京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能预测[21]. 根据 PICRUSt 在线协议,通过 PICRUSt[22] 对水解污泥微生物群落进行系统发育研究,预测微生物群落的代谢动力学.

1.3 检测与分析方法

COD 采用标准方法[23]. BOD 采用接种稀释法. 电导率采用仪器分析方法,TDS 采用重量法. 色度采用 ADMI 法,具体测试方法为调解水样 pH 7.6 ± 0.1,用光程为 5 cm 的玻璃比色皿测定(哈希公司 DR/4000U 型可见光分光光度计,HACH program 1660,内置 ADMI7.6 标准曲线,可直接读取 ADMI7.6 值)[24]. 采用气相色谱仪(美国安捷伦 7890A)和毛细管柱(美国 Stabilwax DA 柱, 30 m × 0.32 mm × 0.5 mm)测定 VFA,氦气为载气,氮气为补给气(50 mL·min^{-1})[25].

2 结果与讨论

2.1 反应器运行特性

生物反应器内盐度的变化趋势如图 2 所示. 100 d 内电导率和硫酸根离子浓度分别从 2.276 mS·cm^{-1} 和 247.4 mg·L^{-1} 上升到了 15.370 mS·cm^{-1}和1 000.1 mg·L^{-1},盐度则从 558 mg·L^{-1} 上升到了4 020.8 mg·L^{-1},盐度平均增长速率为 0.035 g·(L·d)$^{-1}$[图 2(a)]. 盐度渐增条件下,系统进水 COD 和 B/C 比分别在 830 ~ 950 mg·L^{-1} 和 0.15 ~ 0.16 之间变化[图 2(b)]. 运行初期盐度为 0.558 g·L^{-1}时 COD 的平均去除率为 46% ~ 47%. 盐度上升到 1.8 g·L^{-1},COD 去除率为 37% ~ 43% 之间波动. 最终盐度上升到 4.02 g·L^{-1}时,COD 去除率变为 45% ~ 47% 之间. 与此相一致,盐度从 0 上升到 10 g·L^{-1}时,缺氧区 COD 去除率为 76% ~ 80% 之间,保持相对稳定[26]. 由于盐度上升,进水 B/C 比持续下降到 0.127(降幅为 37.7%),但是水解酸化出水 B/C 比为 0.32 ~ 0.34 之间波动,未受到盐度持续增加的显著影响.

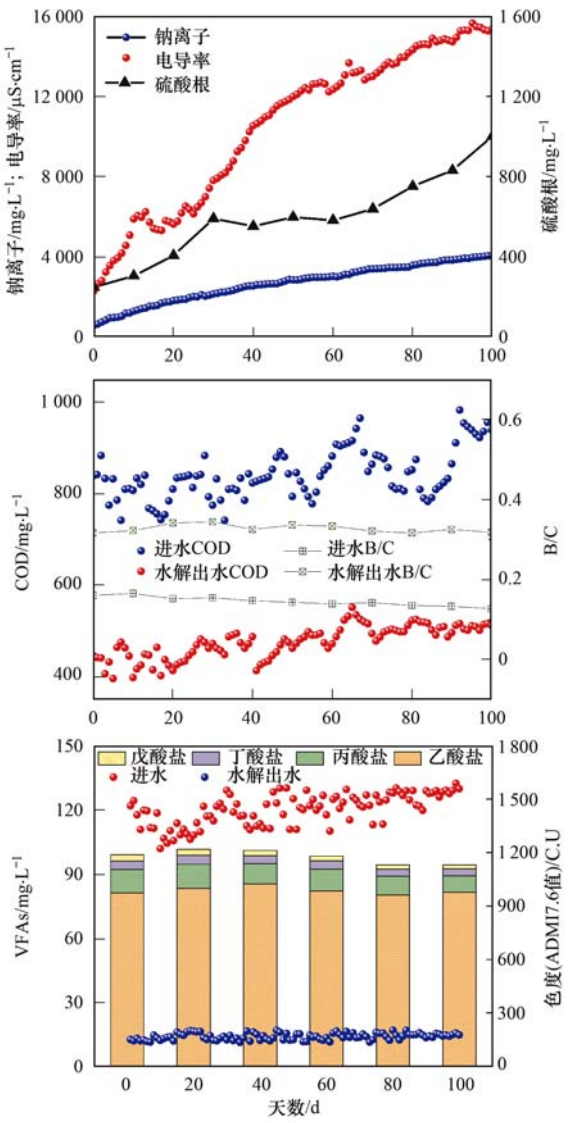


图 2 钠盐胁迫对水解反应器出水 COD、B/C 比、色度和 VFAs 的影响

Fig. 2 Effects of salinity build-up stress on COD, B/C ratio, color, and VFAs in the effluent of a hydrolysis reactor

水解池主要进行脱色和挥发性脂肪酸的转化[27]，对偶氮染料脱色率接近 80%[28]，VFAs 产生可以为反硝化单元提供优质的碳源[25]. 图 2(c)显示了水解出水 VFAs 和色度变化情况. 进水色度在1 200 ~1 550 C. U 之间波动，水解出水色度为 131 ~190 C. U 之间变化，脱色率平均为 88.4%. 水解出水中的 VFAs 主要由乙酸盐组成，占比为 81% ~85% 之间，盐度持续渐增情况下，水解出水 VFAs 浓度保持了相对稳定. 由此可见，尽管盐度持续上升，水解反应器的脱色和水解酸化功能未受到显著影响.

2.2　渐增盐度与微生物多样性关系

对离子浓度渐增条件下微生物群落多样性和系统发育结构进行了分析，每个样本获得超过77 000 个序列(表 1). 低盐度条件下水解污泥中的 OTUs 总数较高(882 种)，当盐度上升到 4.02 $g \cdot L^{-1}$ 时，OTUs 总数下降为 631 种. 盐度渐增情况下，水解池中污泥样本微生物多样性指标香农指数均在 6.043 ~6.890 之间变化(表 2)，波动较小，这表明盐度渐增对水解微生物多样性指数影响很小. 文献[17]显示离子浓度从 0 增长到 10 $g \cdot L^{-1}$，SBR 反应器内活性污泥的生物多样性显著下降(从 5.06 降至 3.26). 厌氧膜生物反应器中盐度上升也会导致生物多样性显著下降[16]，出现不一致的原因可能是接种微生物优势属不同导致的. Simpson 指数表明了微生物丰度变化(0.932 ~0.971)，无机离子渐增情况下微生物丰度变化情况与香农指数相似.

表 1 中的覆盖率指数为 0.998 ~1.000 之间，表明本研究构建的序列库涵盖了微生物群落的多样性. Chao1 值从 891 降低到 609，前 80 d 变化较小，后 20 d 显著下降. 这表明盐度渐增时，泥样中微生物种数逐渐下降(约减少 30.1%). ACE 值变化也证明了微生物种数在下降. 钠离子浓度从 8 $g \cdot L^{-1}$ 上升到 20 $g \cdot L^{-1}$，Chao1 指数往往先下降后上升，厌氧微生物会逐步适应盐度胁迫环境[15,26]. 由此可见，盐度渐增情况下水解污泥微生物种数下降，但生物多样性得以保持稳定.

表 1　盐度渐增条件下水解污泥细菌群落多样性指数(97%相似度)

Table 1　Bacterial community diversity index of hydrolytic sludge under increasing salinity (97% similarity)

样品编号	测序量	OTUs	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	ACE 指数	覆盖率指数
HS00	81 133	882	6.324	0.964	891	872	0.999
HS20	82 506	876	6.271	0.943	880	868	0.999
HS40	81 145	931	6.043	0.937	922	931	0.999
HS60	80 903	954	6.471	0.971	945	979	0.998
HS80	79 033	852	6.438	0.959	849	853	0.999
HS100	77 277	631	6.890	0.932	609	612	1.000

2.3　印染废水水解处理细菌群落结构分析

对宏基因组数据集进行分类注释，表征第 0 ~100 d 水解污泥样品中的微生物组成，结果见表 2. 从中可知，细菌是水解污泥的主要结构域，第 0 ~100 d 的 DNA 序列占比为 84% ~87.8%. 值得注意的是，与第 0 d(5.3%)相比，第 100 d(1.97%)中的古菌丰度更低，随着盐度渐增古细菌活性会受到显著抑制. 真核生物和病毒序列在运行中仅占 0.01% ~0.02% 和 0.6% ~0.26% 之间. 这表明盐度的增加导致细菌和氢营养型产甲烷菌群的转变. 当盐度由低到高时，古生菌丰度会显著降低，而细菌丰度会持续升高[29]，这与本研究的结果一致.

表 2　不同盐度条件下水解污泥中界水平上微生物群落组成/%

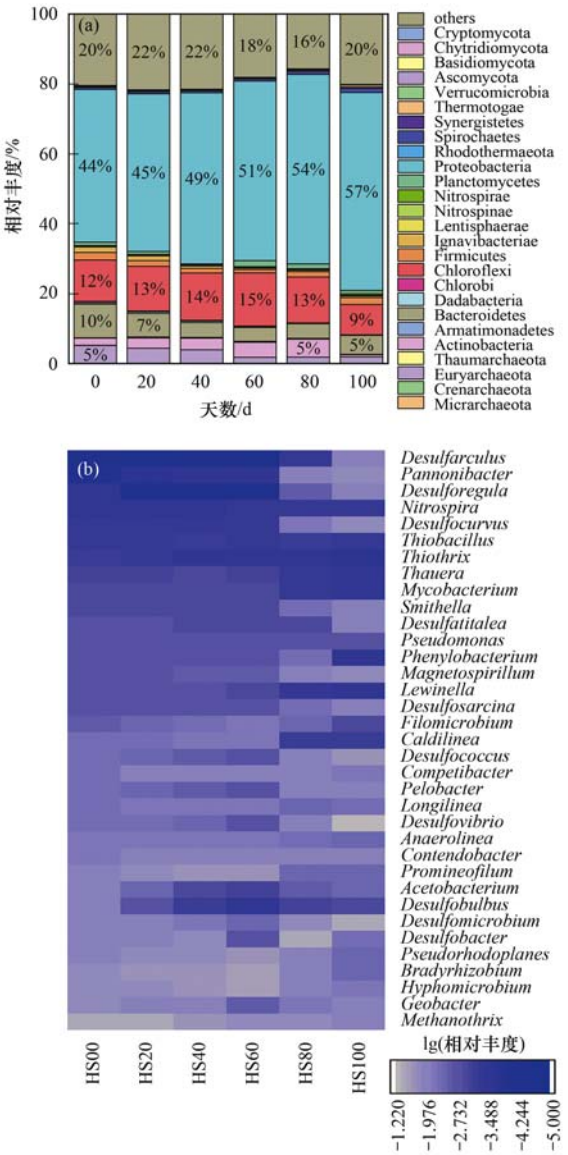
Table 2　Composition of microbial communities in hydrolytic sludge at the kingdom level under different salinity conditions/%

种类	HS00	HS20	HS40	HS60	HS80	HS100
细菌	83.45	84.00	85.50	87.80	87.10	86.45
古细菌	5.30	4.20	3.10	1.85	1.85	1.97
病毒	0.13	0.11	0.09	0.06	0.11	0.26
真核生物	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
其他	11.10	11.68	11.30	10.28	10.93	11.31

通过高通量测序技术分析污泥样品中细菌群落特性，来了解离子浓度渐增对微生物群落结构的影响. 所有污泥样本的 OTUs 均在 97% 鉴别阈值控制内. 图 3 为门和属水平上水解污泥微生物群落变化图. 图 3(a)显示，低盐度条件下水解污泥样品中微生物群落主要由 5 个门组成：变形菌门(Proteobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)是优势门类，其次是拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)，分别占比 43.48%、11.76%、9.58%、2.18% 和 2.04%. Proteobacteria、Bacteroidetes 和 Firmicutes 是厌氧和微氧条件下降解染料的主要细菌门，Bacteroidetes 和

Firmicutes 分别主要降解偶氮染料和蒽醌类染料[30,31]. 这表明,初始水解微生物组成与水解池分散染料和偶氮类染料降解功能相一致. 相比之下,4.02 g·L^{-1}盐度条件下水解污泥样品中丰度最高的生物种群为变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和螺旋菌门(Spirochaetes),相对丰度分别为56.3%、8.58%、5.38%、1.96%和1.15%. 变形菌门在高苯胺负荷率时成为优势菌[32],具有偶氮染料降解功能,其相对丰度的提升有助于保持水解系统的脱色功能. 绿弯菌门(Chloroflexi)和浮霉菌门(Planctomycetes)具有较强的碳水化合物分解能力[33],盐度渐增时相对丰度分别下降了27%和88.2%. 拟杆菌门(Bacteroidetes)参与降解大分子化合物生成VFAs,其相对丰度减少了43.8%.

图3(b)显示了盐度渐增过程中水解酸化污泥属水平上群落结构的变化,不同盐度条件下水解污泥样品中细菌菌群丰度和组成相差较大. 盐度渐增初期, *Methanothrix*、*Geobacter*、*Hyphomicrobium*、*Bradyrhizobium*、*Pseudorhodoplanes*、*Desulfobacter* 和 *Desulfomicrobium* 为优势属(相对丰度大于1%). *Methanothrix* 相对丰度为3.78%,主要参与喹啉与细菌的共代谢,有助于提高污泥对染料代谢中间体喹啉胁迫的耐受性[34]. 土杆菌属(*Geobacter*)相对丰度为1.05%,土杆菌属参与芳香烃的降解[35]. 盐度增长到4.02 g·L^{-1}时,水解污泥中的优势属扩大到12属,丰度最高的为 *Desulfovibrio*(脱硫弧菌)和 *Desulfomicrobium*,相对丰度分别为5.9%和4.1%. 其次为 *Desulfococcus*、*Desulfocurvus*、*Pannonibacter* 和 *Magnetospirillum*,相对丰度分别为1.9%、1.7%、1.66%和1.6%. *Methanothrix*、*Pelobacter*、*Desulforegula*、*Desulfosarcina*、*Desulfatitalea* 和 *Geobacter* 相对丰度为1.24%~1.39%之间. *Desulfovibrio* 微生物由于含有偶氮还原酶,可将偶氮染料降解成芳香胺类物质,广泛参与染料脱色作用[8],*Desulfococcus* 属的微生物能广泛参与芳香胺类物质代谢[36]. 由此可见,在盐度渐增条件下水解微生物保持了偶氮染料从脱色到中间代谢产物的全过程降解功能. 这些现象与盐度梯度上升研究结果一致,进水盐度的变化会显著影响微生物群落结构的组成[15,17]. 此外,*Desulfovibrio* 同时还参与合成亚硫酸氢还原酶,得以在缺氧条件下参与硫代谢. 值得注意的是,*Nitrospira* 属是参与硝化作用的微生物,在盐度渐增情况下,相对丰度从0.036%升高到了0.045%,增长约25%,显示盐度渐增对系统硝化功能起到促进作用.



(a)门水平;(b)属水平(前35属)

图3 水解污泥门水平群落组成图和属水平群落丰度热图

Fig. 3 Horizontal community change at the phylum level and community abundance thermal images at the genus level in hydrolytic sludge

2.4 丰度聚类分析

为表明盐度渐增条件下属水平水解污泥中细菌群落结构的变化,计算所有排名前35位的微生物属变化情况绘制成层次聚类热图(图4). 根据盐度不同可以将属水平上微生物分为2类:A1~A23(低盐度,low salinity,LS)和A24~A35(高盐度,high salinity,HS). 在LS分支中,A1~A6在盐度最低时丰度最高,随着盐度升高丰度持续下降,主要属包括甲烷丝菌属(*Methanothrix*)和丝硫菌属(*Thiothrix*),这些属往往在低溶解氧条件下引发污泥膨胀[37]. A7~A19最适盐度为2.5~3.0 g·L^{-1},这部分微生物主要包括 *Contendobacter*、*Hyphomicrobium* 和 *Pseudorhodoplanes* 等. 在HS分

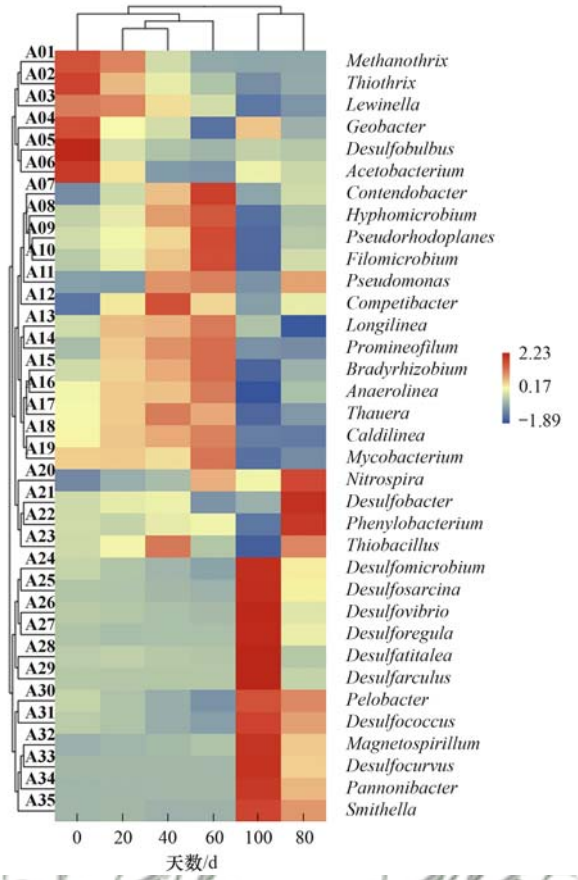


图 4　盐度渐增时水解池微生物群落属水平物种丰度聚类热图

Fig. 4　Cluster thermal images of species abundance at the genus level of the microbial community in the hydrolytic tank with salinity build-up

支中，A20 ~ 23 最适盐度为 3.5 g·L^{-1}，其它盐度条件下丰度均下降. A24 ~ A35（*Desulfovibrio*、*Desulfococcus* 和 *Desulfosarcina* 等）在盐度最高时（4.02 g·L^{-1}）丰度最高，这些微生物都与硫代谢相关. 总体而言，水解池微生物在盐度渐增情况下丰度变化趋势为，随着盐度渐增富集微生物属数持续增大，表现出较好耐盐特性，尤其以参与硫代谢的细菌属耐盐度持续胁迫能力更强.

2.5　微生物潜在功能分析

根据 16S rRNA 高通量测序的京都基因和基因组百科全书（KEGG）数据，通过重建未观察状态（PICRUSt）进行群落系统发育研究，预测了第 0 ~ 100 d 水解污泥中微生物群落的潜在功能特征（图 5）.

预测基因分为代谢（62.6% ~ 65.1%）、遗传信息处理（12% ~ 13.7%）、环境信息处理（12.1% ~ 13.2%）和细胞过程（9.67% ~ 11.4%）等 4 大功能组. 代谢类中基因丰度最高的是碳水化合物代谢（12.2% ~ 12.9%），其次是氨基酸代谢（11.2% ~ 12%）和能量代谢（10.1% ~ 10.5%）. 与第 0 d 相比，第 100 d 时水解污泥中聚糖生物合成与代谢和碳水化合物代谢的相对丰度分别提高了 9.26% 和 0.87%，说明水解微生物群落中碳水化合物代谢得到了增强.

能量的产生和转化与细菌活性、脱氮能力和脱硫能力有关，可能与 KEGG 的氮代谢（map00910）和硫代谢（map00920）途径有关. 细菌对偶氮染料降解脱色，一般通过还原酶催化裂解染料分子的共轭

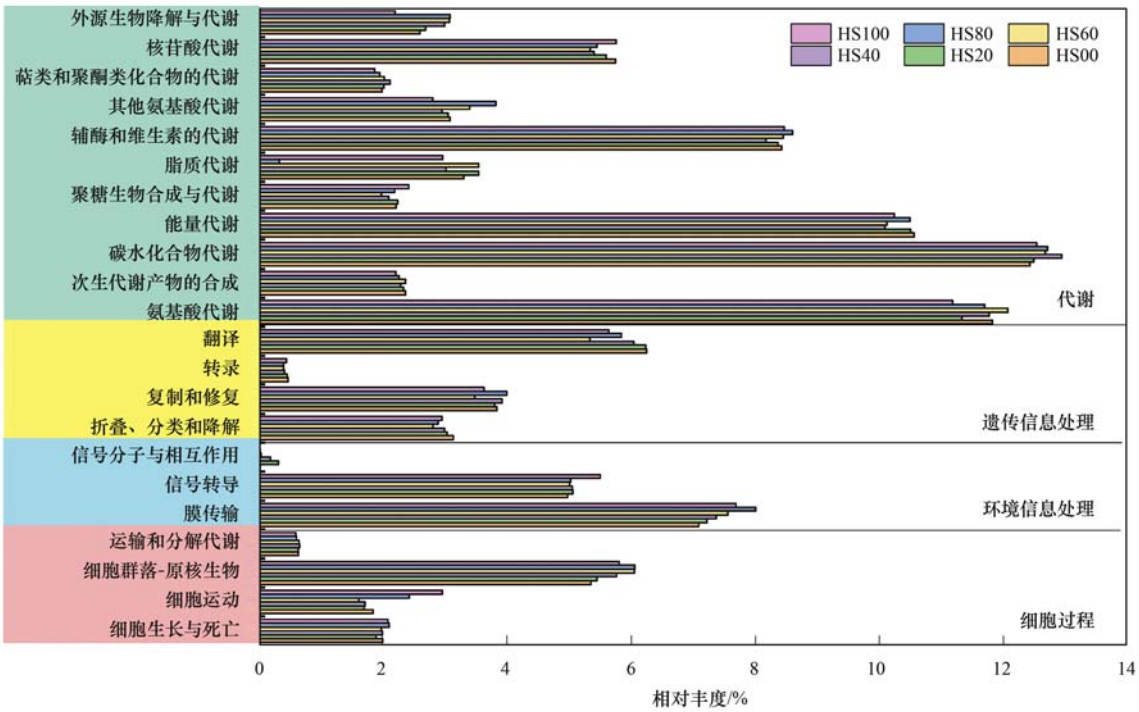


图 5　基于 KEGG 分析的盐度渐增时水解污泥中细菌群落的功能预测图

Fig. 5　Functional prediction chart of bacterial communities in hydrolytic sludge during salinity build-up based on the KEGG analysis

键,破坏其生色键的结构达到脱色目的[38]. 第 0 d ~100 d,水解池细菌群落能量代谢功能配对基因丰度持续在 10.5% 附近波动,显示氮代谢和硫代谢功能并未出现显著抑制. 部分硝化菌参与偶氮键—N ═N—断键反应,盐度渐增时氮代谢功能保持稳定保证了水解污泥脱色功能的稳定性.

此外,文献[15]也显示微生物群落对较高钠浓度逐步适应后,盐度在 18 ~20 $g \cdot L^{-1}$之间的短期连续波动对生物转化不再产生影响. 微生物群落对极端环境条件的逐步适应会增强微生物群落应对不利外界条件[39]. 长期的驯化能培养出适应特定盐度的微生物群落,从而提高了生物处理系统运行的稳健性[15]. Luo 等[13]的研究证明,适应高盐浓度会导致耐盐甚至嗜盐微生物的相继出现,从而逐渐恢复生物反应器的性能. 这表明,与盐度梯度增长时长期驯化微生物存在区别,盐度渐增条件下水解微生物通过种和属的变化适应环境压力,以维持水解活性和脱色能力. 盐度渐增条件下脱色酶和硫代谢酶对应基因丰度变化情况见图 6. 参与脱色的酶包括酪氨酸酶(TYR)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物歧化酶 1(SOD1)、过氧化物歧化酶 2(SOD2)、E1.11.1.19和偶氮还原酶(azoR)等,低盐度条件下对应基因数相对丰度分别为 0.036‰、0.84‰、0.84‰、2.85‰、1.58‰和0.23‰[图 6(a)]. 盐度渐增条件下,TYR、CAT 和 SOD1 的相对丰度先升高后下降. 其中 SOD1 降幅最大,为 42.7%. SOD2 持续下降,最终降低了21.9%. 增幅最大的是TYR,达到 90.25%. 过氧化氢酶(CAT)在盐度渐增时增幅为 5.9%,相对丰度略有上升. 由此可见,与染料脱色酶相关基因丰度有增有降,总体上保持了脱色功能的稳定. 与硫代谢相关酶的相对丰度如图 6(b)所示. 低盐度条件下,sat 是硫代谢功能中的相对丰度最高的酶(1.13‰),其次为 phsA(1.11‰). 盐度渐增时所有的硫代谢酶相对丰度均升高,与运行初期相比 aprA、phsA、aprB、dsrA、dsrB 和 sat 的丰度分别提升了 1.97、1.57、1.46、1.44、1.33 和 0.99 倍,这与原水中硫酸钠盐度上升保持了较好的一致性.

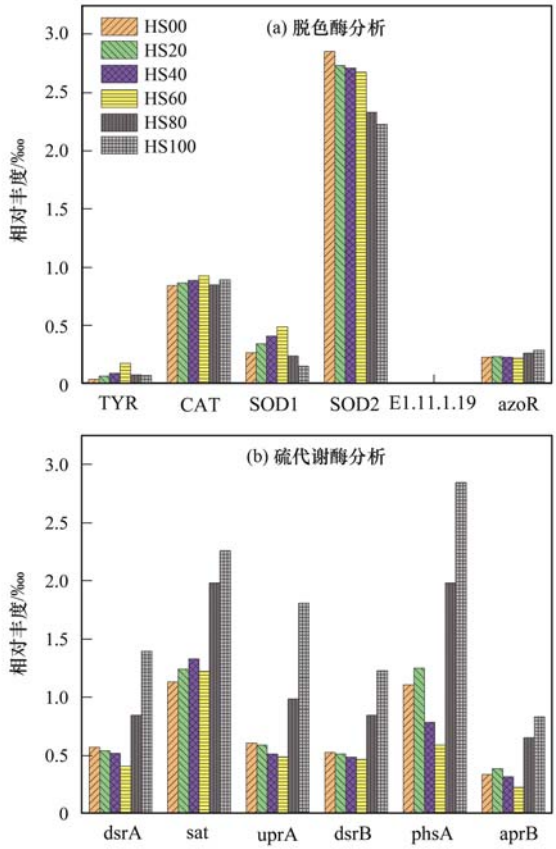


图 6 基于 KEGG 数据库的 PICRUSt 预测

Fig. 6 PICRUSt prediction based on the KEGG database

3 结论

(1)盐度持续渐增情况下,水解出水 B/C 比、色度和 VFAs 浓度保持了相对稳定,水解污泥微生物种数下降,但生物多样性得以保持稳定.

(2)在低盐环境下 *Methanothrix* 为参与水解作用的优势属,而在高盐胁迫下 *Desulfovibrio* 和 *Desulfococcus* 对水解脱色起到重要作用.

(3)PICRUSt 功能解析显示,脱色酶 SOD1 和 SOD2 相对丰度显著下降,但是 CAT 和 TYR 的相对丰度上升,保证了水解生物系统脱色功能的稳定. 硫酸钠盐度逐步上升,与之相对应,硫代谢酶相对丰度也保持持续升高趋势.

参考文献:

[1] Cardoso J C, Bessegato G G, Zanoni M V B. Efficiency comparison of ozonation, photolysis, photocatalysis and photoelectrocatalysis methods in real textile wastewater decolorization[J]. Water Research, 2016, **98**: 39-46.

[2] Guo G, Li X H, Tian F, *et al*. Azo dye decolorization by a halotolerant consortium under microaerophilic conditions[J]. Chemosphere, 2020, **244**: 125510.

[3] Zhu Y L, Xu J L, Cao X W, *et al*. Characterization of functional microbial communities involved in diazo dyes decolorization and mineralization stages[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, **132**: 166-177.

[4] Li P, Zheng T L, Wang Q H, *et al*. Treatment of real high-concentration dyeing wastewater using a coagulation-hydrolysis acidification-multilevel contact oxidation system[J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2015, **34**(2): 339-345.

[5] Xie X H, Liu N, Ping J, *et al*. Illumina MiSeq Sequencing reveals microbial community in HA process for dyeing wastewater treatment fed with different co-substrates[J]. Chemosphere, 2018, **201**: 578-585.

[6] Wang K, Li W G, Gong X J, *et al*. Biological pretreatment of tannery wastewater using a full-scale hydrolysis acidification

system [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, **95**: 41-45.

[7] 刘伟京. 印染废水深度降解工艺及工程应用研究[D]. 南京：南京理工大学, 2013.
Liu W J. The study on the advanced treatment of printing and dyeing wastewater and engineering application [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2013.

[8] 顾梦琪, 尹启东, 刘爱科, 等. 水解酸化/AO 组合工艺处理印染废水色度去除与脱氮性能[J]. 环境科学, 2018, **39**(12): 5550-5557.
Gu M Q, Yin Q D, Liu A K, *et al*. Color and nitrogen removal from synthetic dye wastewater in an integrated hydrolysis/acidification and anoxic/aerobic process [J]. Environmental Science, 2018, **39**(12): 5550-5557.

[9] Khan R, Bhawana P, Fulekar M H. Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review [J]. Reviews in Environmental Science and Bio/technology, 2013, **12**(1): 75-97.

[10] Allègre C, Moulin P, Maisseu M, *et al*. Treatment and reuse of reactive dyeing effluents [J]. Journal of Membrane Science, 2006, **269**(1-2): 15-34.

[11] Wood J M. Bacterial responses to osmotic challenges[J]. Journal of General Physiology, 2015, **145**(5): 381-388.

[12] Campo R, Corsino S F, Torregrossa M, *et al*. The role of extracellular polymeric substances on aerobic granulation with stepwise increase of salinity [J]. Separation and Purification Technology, 2018, **195**: 12-20.

[13] Luo W H, Phan H V, Hai F I, *et al*. Effects of salinity build-up on the performance and bacterial community structure of a membrane bioreactor[J]. Bioresource Technology, 2016, **200**: 305-310.

[14] 王萌萌, 曹刚, 张迪, 等. 异养硝化-好氧反硝化混合菌对尿素的去除及重金属和盐度的影响[J]. 环境科学, 2020, **41**(6): 2787-2795.
Wang M M, Cao G, Zhang D, *et al*. Removal of urea by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification mixed strains and effects of heavy metals and salinity[J]. Environmental Science, 2020, **41**(6): 2787-2795.

[15] Sierra J D M, Oosterkamp M J, Wang W, *et al*. Impact of long-term salinity exposure in anaerobic membrane bioreactors treating phenolic wastewater: Performance robustness and endured microbial community [J]. Water Research, 2018, **141**: 172-184.

[16] Chen L, Hu Q Z, Zhang X, *et al*. Effects of salinity on the biological performance of anaerobic membrane bioreactor [J]. Journal of Environmental Management, 2019, **238**: 263-273.

[17] Zhao Y Y, Park H D, Park J H, *et al*. Effect of different salinity adaptation on the performance and microbial community in a sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2016, **216**: 808-816.

[18] 周贵忠, 许硕, 姚倩, 等. 不同盐度下活性污泥中微生物群落变化规律及其处理模拟染料废水[J]. 环境科学, 2017, **38**(7): 2972-2977.
Zhou G Z, Xu S, Yao Q, *et al*. Influence of salinity on microbial community in activated sludge and its application in simulated dye wastewater treatment[J]. Environmental Science, 2017, **38**(7): 2972-2977.

[19] Chen L, Gu Y S, Cao C Q, *et al*. Performance of a submerged anaerobic membrane bioreactor with forward osmosis membrane for low-strength wastewater treatment [J]. Water Research, 2014, **50**: 114-123.

[20] Loman N J, Misra R V, Dallman T J, *et al*. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms [J]. Nature Biotechnology, 2012, **30**(5): 434-439.

[21] Ogata H, Goto S, Sato K, *et al*. KEGG: Kyoto Encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Research, 1999, **27**(1): 29-34.

[22] Li X J, Sun S, Yuan H Y, *et al*. Mainstream upflow nitritation-anammox system with hybrid anaerobic pretreatment: long-term performance and microbial community dynamics [J]. Water Research, 2017, **125**: 298-308.

[23] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京：中国环境科学出版社, 2002.

[24] Kao C M, Chou M S, Fang W L. Regulating colored textile wastewater by 3/31 wavelength ADMI methods in Taiwan[J]. Chemosphere, 2001, **44**(5): 1055-1063.

[25] 操家顺, 唐思远, 李超, 等. 印染废水厌氧水解过程挥发性脂肪酸的产生及影响因素[J]. 净水技术, 2014, **33**(3): 58-64.
Cao J S, Tang S Y, Li C, *et al*. Generation and influencing factors of volatile fatty acids in process of anaerobic hydrolysis for printing and dyeing wastewater treatment[J]. Water Purification Technology, 2014, **33**(3): 58-64.

[26] 张兰河, 田蕊, 陈子成, 等. NaCl 盐度对 A^2/O 工艺去除废水污染物和系统微生物的影响[J]. 农业工程学报, 2018, **34**(10): 231-237.
Zhang L H, Tian R, Chen Z C, *et al*. Effects of NaCl salinity on wastewater pollutants removal and microorganism in A^2/O technology process[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, **34**(10): 231-237.

[27] 程家迪, 黄周满. 水解酸化 + A/O + UF + RO 处理低浓度印染废水回用工程[J]. 工业水处理, 2017, **37**(5): 98-100.
Cheng J D, Huang Z M. Reuse project on the treatment of low-concentration printing and dyeing wastewater by hydrolytic acidification + A/O + UF + RO hybrid process[J]. Industrial Water Treatment, 2017, **37**(5): 98-100.

[28] Gu M Q, Yin Q D, Wang Z Z, *et al*. Color and nitrogen removal from synthetic dye wastewater in an integrated mesophilic hydrolysis/acidification and multiple anoxic/aerobic process[J]. Chemosphere, 2018, **212**: 881-889.

[29] Wu Y C, Wang X H, Tay M Q X, *et al*. Metagenomic insights into the influence of salinity and cytostatic drugs on the composition and functional genes of microbial community in forward osmosis anaerobic membrane bioreactors[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, **326**: 462-469.

[30] 邢立群, 王力超, 杨立业. ABR 处理综合印染废水中细菌群落结构研究[J]. 环境科学与技术, 2019, **42**(3): 1-8.
Xing L Q, Wang L C, Yang L Y. Study on microbial communities in an anaerobic baffled reactor treating printing and dyeing wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2019, **42**(3): 1-8.

[31] Xie X H, Liu N, Yang B. Comparison of microbial community in hydrolysis acidification reactor depending on different structure dyes by Illumina MiSeq sequencing [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, **111**: 14-21.

[32] Jiang Y, Wei L, Yang K, *et al*. Investigation of rapid granulation in SBRs treating aniline-rich wastewater with different aniline loading rates [J]. Science of the Total Environment, 2019, **646**: 841-849.

[33] Manefield M, Griffiths R I, Leigh M B, *et al*. Functional and compositional comparison of two activated sludge communities remediating coking effluen [J]. Environmental Microbiology, 2005, **7**(5): 715-722.

[34] Wu B T, Wang J, Hu Z H, *et al*. Anaerobic biotransformation and potential impact of quinoline in an anaerobic methanogenic reactor treating synthetic coal gasification wastewater and response of microbial community[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, **384**: 121404.

[35] Li H, Song H L, Xu H, *et al*. Effect of the coexposure of sulfadiazine, ciprofloxacin and zinc on the fate of antibiotic resistance genes, bacterial communities and functions in three-dimensional biofilm-electrode reactors [J]. Bioresource Technology, 2020, **296**: 122290.

[36] Ito T, Adachi Y, Yamanashi Y, *et al*. Long-term natural remediation process in textile dye-polluted river sediment driven by bacterial community changes[J]. Water Research, 2016, **100**: 458-465.

[37] 洪颖, 姚俊芹, 马斌, 等. 基于高通量测序的 SBR 反应器丝状膨胀污泥菌群分析[J]. 环境科学, 2018, **39**(7): 3279-3285.
Hong Y, Yao J Q, Ma B, *et al*. Filamentous sludge microbial community of a SBR reactor based on high-throughput sequencing [J]. Environmental Science, 2018, **39**(7): 3279-3285.

[38] 许玫英, 郭俊, 岑英华, 等. 染料的生物降解研究[J]. 微生物学通报, 2006, **33**(1): 138-143.
Xu M Y, Guo J, Cen Y H, *et al*. Review of studies on the dye biodegradation[J]. Microbiology, 2006, **33**(1): 138-143.

[39] Carballa M, Regueiro L, Lema J M. Microbial management of anaerobic digestion: exploiting the microbiome-functionality nexus[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, **33**: 103-111.

HUANJING KEXUE Vol. 41 No. 12
Environmental Science (monthly) Dec. 15, 2020

CONTENTS