

doi: 10.7541/2021.2019.262

沙颍河下游城市黑臭内河沉积物微生物群落季节变化特征

陈倩茹^{1,2} 夏雪^{2,3} 王川² 李前正^{2,3} 张洪培^{1,2} 陈迪松²
吴振斌² 周巧红²

(1. 武汉理工大学资源与环境工程学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了研究沙颍河下游城市黑臭内河不同季节沉积物微生物群落特征, 对安徽省阜阳市黑臭内河中清河、七渔河表层沉积物进行16S rDNA高通量测序。结果发现: 黑臭河流中沉积物的微生物多样性指数均不高, 但是表现出一定的变化规律, 即春季>冬季>夏季>秋季; 通过冗余性分析发现微生物多样性受季节与沉积物pH影响较显著。分析沉积物门水平上的微生物群落结构发现, 季节、温度、TN及SOM对微生物影响较大。变形杆菌、厚壁菌门、绿弯菌门、疣微菌门、拟杆菌门和放线菌门等优势菌门的相对丰度在季节水平上存在差异, 春季厚壁菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门相对丰度较高, 其中绿弯菌门和酸杆菌门是已知指示污染的微生物, 变形杆菌门相对较少。秋季疣微菌门与拟杆菌门相对丰度显著减小, 变形杆菌门相对其他季节显著增加。样品中共发现16个硫酸盐还原菌(SRB)菌属, 其中*Desulfoprimum*是丰度最高的菌属。春季沉积物中SRB的类群最多, 相对丰度最大; 硫酸盐还原菌群与 SO_4^{2-} 、TN、SOM、 Cl^- 等呈显著正相关。上述结果为营养盐控制时机的选择从而有效避免河流中黑臭物质的产生提供了一定参考。

关键词: 城市河流; 黑臭沉积物; 微生物群落; 季节变化

中图分类号: Q145⁺.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2021)01-0182-08



近年来城市化进程加速了河流污染并致使河流黑臭现象频发^[1,2]。黑臭河流威胁水生生态环境, 严重影响居民的身心健康^[3]。导致河流黑臭现象发生的外源性因素包括排放到河流中过量的有机物质、重金属及营养元素等^[4]。内源因素包括河流中生物地球化学循环的破坏, 如碳、氮、磷和硫循环, 其中硫循环的影响甚大^[5]。微生物在河流生态系统的生物地球化学循环中起着至关重要的作用^[6,7]。在环境胁迫下微生物通常形成一些特定的群落结构^[8,9], 优势微生物群落的变化及其与其他微生物群落的相互作用通常会影响微生物生态系统的结构、功能和稳定性^[10]。对污染沉积物中微生物群落的表征可以提供识别潜在生物指示物种和响应特定污染物的生物标志物群落的机会^[11]。因此, 研究沉积环境中微生物群落的组成和优势群及监测

它们的变化至关重要。沉积物质量监测和评价体系中往往忽略具有重要生态功能的微生物群落, 缺乏生态系统多群落水平的调查研究。目前黑臭沉积物的微生物群落研究主要致力于垂直分布^[11]、水体修复演化等^[13], 特别缺乏季节变化特征分析。就黑臭河流而言, 它是硫化化合物的储存库。典型的黑臭河含有38.8—222.6 mg/L的 SO_4^{2-} ^[14], 在这样的环境中, 微生物还原硫酸盐产生有异味的挥发性硫化化合物, 包括无机 H_2S 和有机硫化物^[15], 导致河流发臭^[3]。而 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 与硫离子结合产生的金属硫化物被吸附在悬浮颗粒上, 导致河流呈现黑色^[3]。因此, 亟需揭示与硫酸盐还原相关的生物特征。

本文选取沙颍河流域下游城市黑臭内河为研究对象, 采用高通量测序技术对沉积物微生物群落结构进行分析, 并结合沉积物的理化性质, 分析微

收稿日期: 2019-11-29; **修订日期:** 2020-02-22

基金项目: 国家“十三五”水专项(2017ZX07602002-004); 淡水生态与生物技术国家重点实验室项目 (2019FBZ03)资助 [Supported by the Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment of China 13th Five Year Plan (2017ZX07602002-004); State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology (2019FBZ03)]

作者简介: 陈倩茹(1995—), 女, 硕士研究生; 研究方向为沉积物修复。E-mail: 437544282@qq.com

通信作者: 周巧红(1977—), 女, 研究员; E-mail: qhzhou@ihb.ac.cn

生物群落群落结构特别是硫酸盐还原菌与环境因子的关系, 以期为黑臭成因和治理提供一定的支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况及采样点设置

本研究的采样点位于沙颍河下游安徽阜阳段城区, 选取在《阜阳市人民政府办公室关于印发阜阳市城区黑臭水体五年整治计划的通知》中列出的22条黑臭河流中的两条黑臭河道, 七渔河和中清河。于2018年1月、4月、7月和11月在两条黑臭河道中清河、七渔河的5个样点分别采集沉积物样品, 其中中清河设置3个样点, 七渔河设置2个样点, 样点分布见图1和表1。使用彼得森采泥器采集样点的表层沉积物样品(0—5 cm深), 每个样点共取样3次, 混合均匀后立即将样品放置到无菌塑料袋中, 随后储存到便携冰箱中运输到实验室。在样品均质化后, 将一部分沉淀物样品储存在-80℃的无菌管中用于DNA提取, 并将剩余的沉淀物样品储存在4℃下用于理化性质分析。

1.2 沉积物理化指标分析方法

测量的沉积物理化指标包括T(Temperature, 温度)、pH、SOM(Soil organic matter, 有机质)、TP

(Total phosphate, 总磷)、TN(Total nitrogen, 总氮)、 Cl^- 、 F^- 及 SO_4^{2-} 。TN测定用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法, TP测定用抗坏血酸还原磷钼蓝法, SOM测定用灼烧减重法。 Cl^- 、 F^- 及 SO_4^{2-} 测定用离子色谱法(离子色谱仪ICS-1100)。

1.3 微生物群落的Illumina MiSeq测序分析

沉积物微生物DNA提取, 选用16S rDNA V3—V4区的通用引物341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')和805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')进行PCR扩增^[16]。第一轮PCR扩增体系为30 μL : 2 $\times$ Taq master Mix(15 μL), Bar-PCR primer F(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , Primer R(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , Genomic DNA 10—20 ng, 其余为 H_2O 。PCR反应程序如下: 94℃预变性3min; 94℃变性30s, 45℃退火20s, 65℃延伸20s, 循环5次。94℃变性20s; 55℃退火20s; 72℃延伸30s; 循环5次, 72℃延伸5min。第一轮扩增结束后, 引入Illumina桥式PCR兼容引物, 进行第二轮扩增。PCR第二轮扩增体系与第一轮相同, 反应程序如下: 95℃预变性30s; 95℃变性15s; 55℃退火15s; 72℃延伸30s; 循环5次, 最后72℃延伸5min。利用NEB kit试剂盒回收DNA。然后将扩增好的产物的两个末端加上接头, 采用Illumina

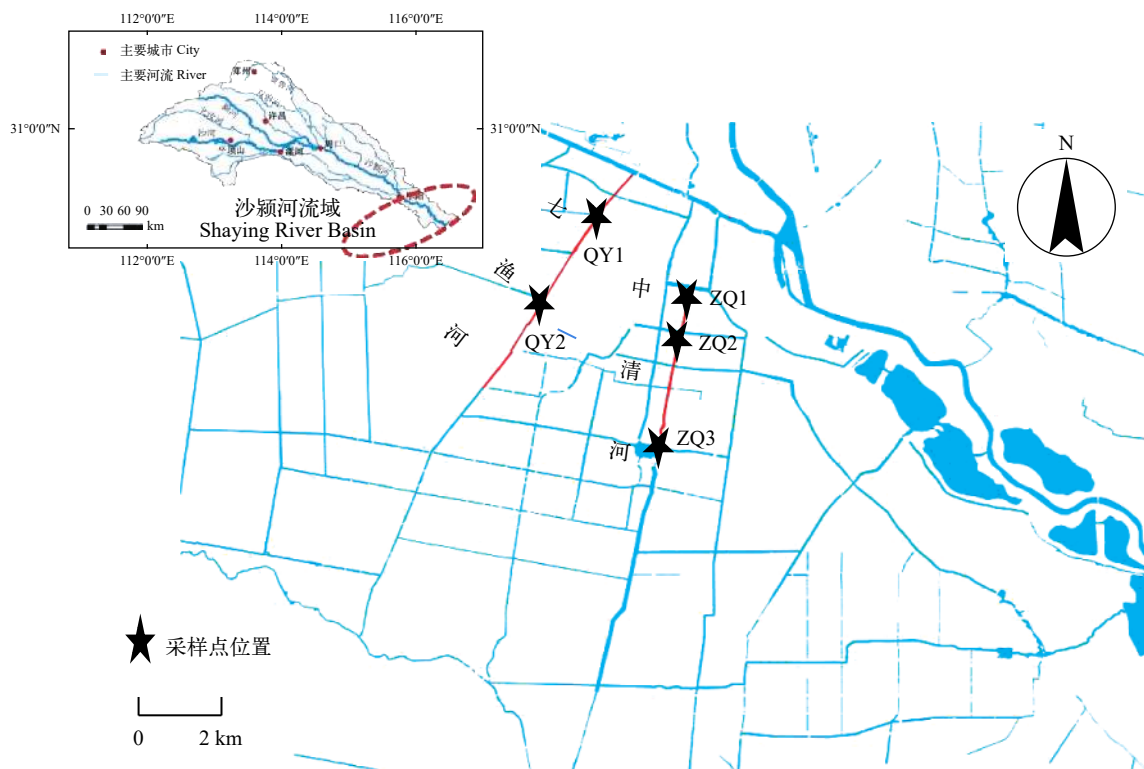


图1 阜阳市黑臭内河采样点分布

Fig. 1 Distribution of the sampling sites in urban black-odorous river, Fuyang

图中灰色线条表示采样河流, 黑色线条表示河流

In the figure, the red lines represent the sampling river, and the blue lines represent the river

表 1 沙颍河流域各采样位点详细情况

Tab. 1 The introduction of sampling sites in the Shaying River Basin

样品编号 Sample number	采样地点 Sampling site	经度 Longitude	纬度 Latitude
QY1	安徽阜阳七渔河	115.776°E	32.912°N
QY2	安徽阜阳七渔河	115.761°E	32.892°N
ZQ1	安徽阜阳中清河	115.805°E	32.897°N
ZQ2	安徽阜阳中清河	115.802°E	32.886°N
ZQ3	安徽阜阳中清河	115.796°E	32.859°N

Hiseq 2500/4000 with PE150测序平台进行测序分析(上海生工生物工程股份有限公司)。

1.4 生物信息学和统计学分析

测序得到的原始图像数据文件经CASAVA碱基识别(Base Calling)分析转化为原始测序序列^[17], 根据PE reads之间的overlap关系将成对的reads拼接成一条序列。通过barcode序列区分测序得到的原始测序序列, 同时去除序列中的嵌合体及非特异性扩增序列。使用两步Uclust法将97%相似水平的序列分类为运营分类单位^[18](Operational Taxonomic Units, OTU), 并对样本的Chao丰度指数、Shannon多样性指数进行计算。整合Silva^[19]和NCBI 16S二

个数据库与细菌OTU代表性序列进行同源性比对。采用RDP classifier对OTU进行物种分类, 利用R对物种分类学统计结果进行作图。

使用Origin(8.5版本)绘制门水平优势物种丰度柱状图; 利用SPSS(17.0版本)软件分析沉积物理化因子及门水平优势物种在季节间的差异, 在 $P < 0.05$ 时, 差异被认为是显著的; 结合Pearson相关性分析和CANOCO软件(5.0版本)来进行评估环境因素与微生物群落之间的关系。

2 结果与讨论

2.1 沉积物理化性质

沉积物四季的理化指标测定结果如表2所示, TN含量为1160—14340 mg/kg, TP含量为1110—4120 mg/kg。将其与沉积物质量标准(Sediment Quality Guidelines, SQG)^[20]比较, 发现沉积物4个季节样品均处于污染状态, 就TN含量而言: 约有68.4%的沉积物样品处于中度污染, 31.6%的沉积物样品处于重度污染; 就TP含量而言: 约有26.3%的沉积物样品处于中度污染, 73.7%的沉积物样品的处于重度污染。

对沉积物理化指标测定结果进行差异性检验,

表 2 黑臭内河沉积物理化因子测定结果

Tab. 2 The physico-chemical factors of sediments collected from urban black-odorous rivers

样品编号Sample number	季节Season	地点Site	Cl ⁻ (mg/kg)	F ⁻ (mg/kg)	SO ₄ ²⁻ (mg/kg)	SOM (%)	pH	TN (mg/g)	TP (mg/g)	T (°C)
1	春Spring	ZQ1	101.11	488.54	1105.03	3.84	6.28	14.34	2.85	18.9
2		ZQ2	277.35	476.89	1078.16	7.54	6.30	13.09	2.78	19
3		ZQ3	423.30	485.63	946.20	3.11	6.36	13.48	2.86	22
4		QY1	73.7	616.76	1805.7	6.96	6.31	10.08	3.33	24.7
5		QY2	379.21	415.11	611.60	/	/	/	/	20.5
6	夏Summer	ZQ1	149.20	565.74	1127.59	2.27	6.52	1.52	2.23	31.4
7		ZQ2	19.92	465.06	1317.27	3.56	7.16	3.18	3.02	32.1
8		ZQ3	64.70	495.01	789.60	2.89	7.15	2.17	2.80	28.4
9		QY1	333.12	614.43	614.95	7.54	7.45	7.48	1.97	28.7
10		QY2	173.80	524.85	848.90	2.28	7.43	3.45	1.11	28.5
11	秋Autumn	ZQ1	131.81	517.80	1007.53	3.00	7.28	3.64	2.79	14.9
12		ZQ2	237.44	447.97	772.18	5.25	7.14	4.80	1.95	14.5
13		ZQ3	167.38	517.31	888.02	2.20	7.36	1.16	3.42	13.8
14		QY1	122.48	624.82	1442.57	3.56	7.05	3.56	1.26	14.4
15		QY2	N.D	167.95	ND	2.89	7.21	2.03	1.19	14.1
16	冬Winter	ZQ1	109.72	470.62	786.49	1.18	7.08	2.01	2.99	3.2
17		ZQ2	858.84	589.87	139.30	3.11	7.23	3.84	3.82	3.7
18		ZQ3	229.35	413.94	650.73	1.01	7.48	1.63	3.00	3.3
19		QY1	104.79	514.89	1438.45	7.93	6.99	3.60	4.12	6.2
20		QY2	68.36	348.75	484.67	2.99	7.21	3.08	2.83	4.6

注: /表示数据缺失; ND表示没有检出

Note: / means missing data; ND means not detected

TN含量在不同季节间差异明显($P<0.01$), 冬季的TP含量与夏秋两季差异明显($P<0.05$), 其余指标在不同季节间差异不明显($P>0.05$)。春季TN、TP、SOM等含量较高, 总体来说, 阜阳黑臭内河的沉积物在春季污染更为严重。

2.2 微生物群落的多样性和丰富度季节特征

所有沉积物样品高通量测序检测得到的Coverage指数 ≥ 0.97 , 说明每个微生物样品的OTUs都具有代表性, 可以很好地反映微生物样品信息。种群多样性代表着一个群落中种的数量和各种的个体数量关系, 同时还能反映群落的稳定性和动态。通常Shannon指数和Simpson指数被用来评价物种的多样性情况, Shannon指数越高说明多样性越高, 本研究中春季(5.44)>冬季(4.92)>夏季(4.61)>秋季(3.82), 而Simpson指数越低说明物种的多样性越高, 春季(0.03)<夏季=冬季(0.07)<秋季(0.17)。总的来看, 在黑臭河流中沉积物的微生物多样性指数均不高, 但是表现出一定的变化规律, 即春季>冬季 $\geq$ 夏季>秋季。Chao1指数和Ace指数通常被用来评价种群的丰富度, 指数越高说明物种数越多, 物种数由大到小依次为春季、冬季、秋季和夏季。春季微生物的多样性和丰富度最高, 这可能与春季沉积物高污染负荷有关。

根据微生物多样性指数与环境因子的皮尔逊相关分析系数(表3), 可以看出四季中沉积物微生物多样性受季节与pH影响较显著。温度是决定微生物群落结构的关键因子, 温度升高微生物群落多样性增加^[21-24], 温度可用来预测微生物群落结构的季节动态变化, 然而, 在本研究中, 阜阳黑臭沉积物

表3 微生物群落多样性与沉积物之间的皮尔逊相关分析系数
Tab. 3 Pearson correlation analysis coefficient between microbial community diversity and physico-chemical factors of sediments

理化因子 Chemical factor	OTU num	Shannon index	ACE index	Chao1 index	Simpson
Cl ⁻	0.022	0.090	-0.087	-0.062	-0.062
F ⁻	-0.042	0.217	-0.145	-0.073	-0.314
SO ₄ ²⁻	0.240	0.261	0.240	0.281	-0.270
SOM	0.025	0.186	-0.098	-0.031	-0.122
pH	-0.487*	-0.471*	-0.385	-0.428	0.349
TN	0.245	0.457*	0.052	0.121	-0.379
TP	0.397	0.272	0.330	0.331	-0.357
T	-0.341	0.072	-0.354	-0.317	-0.156
Season	-0.606**	-0.490*	-0.296	-0.513*	-0.377

注: *在0.05水平(双侧)上显著相关; **在0.01水平(双侧)上显著相关

Note: * means significantly correlated at 0.05 level (both sides); ** means significantly correlated at 0.01 level (both sides)

的微生物多样性(Shannon_index)与季节表现出显著负相关($P=0.003$), 微生物丰富性(Chao1_index)与季节成显著负相关($P=0.021$), 与温度的关系不显著, 可能是由于沙颍河流域春秋季节干旱频发, 水位较低^[25], 从而影响了沉积物中的微生物的丰富度和多样性。pH是决定微生物群落结构的另一关键因子, pH可以通过影响不同种类微生物的生长状况和生态系统中的其他环境因子来直接或间接影响微生物群落的结构和多样性^[26, 27]。

2.3 微生物群落结构季节特征

所有沉积物样品共测定到42个门, 4个季节中变形杆菌都是第一优势门, 占比为40.3%—70.5%, 这之前学者对长江口沉积物的微生物组成研究一致^[28, 29]。除变形杆菌门外, 优势菌门分别为厚壁菌门、绿弯菌门、疣微菌门、浮霉菌门、拟杆菌门和放线菌门。多项研究表明, 变形杆菌、拟杆菌门和酸杆菌是沉积物环境中的优势微生物, 它们始终是厌氧氨氧化、硫酸盐还原等生物地球化学过程的重要贡献者^[28-30]。

比较沉积物中微生物群落结构发现(如图2所示), 变形杆菌门、厚壁菌门、绿弯菌门、疣微菌门、拟杆菌门和放线菌门等优势菌门的相对丰度均在季节水平上存在差异。与其他季节相比较, 春季厚壁菌门、绿弯菌门、放线菌门及酸杆菌门相对丰度较大, 春季变形杆菌门相对丰度小于其他三季。由于绿弯菌门和酸杆菌门是已知指示污染的微生物^[31], 这在一定程度上说明春季沉积物污染更严重。秋季疣微菌门与拟杆菌门富集程度显著减小, 变形杆菌门相对其他季节显著增加。而有研究表明变形菌门在微生物脱氮、氧化硫化物及降解有机物等具有主要作用, 且大部分变形菌门的微生物在厌氧条件下仍可进行反硝化过程^[32-34], 因此推断秋季微生物降解污染物的能力更强。这与2.1中得出的阜阳沉积物在春季污染更为严重的结论一致。

2.4 沉积物微生物群落与环境因子相关性

沉积物微生物群落受到各种环境因素的影响^[35, 36]。为了探讨环境因素对微生物丰度和群落组成的影响, 本研究利用冗余性分析(Redundancy analysis, RDA)探讨微生物群落与环境因子之间的相关性。如图3所示, 在由主轴1和主轴2构成的排序图中, 环境因子用带有箭头的红色线段表示, 向量长短代表了其在主轴中的作用, 箭头所处象限表示环境因子与排序轴之间相关性的正负。图3反映了4个季度沙颍河沉积物微生物群落组成、结构沿环境梯度变化的趋势。在RDA排序图中, 与第一排序轴(水平)关系最大的是Cl⁻和F⁻, 呈正相关。与第

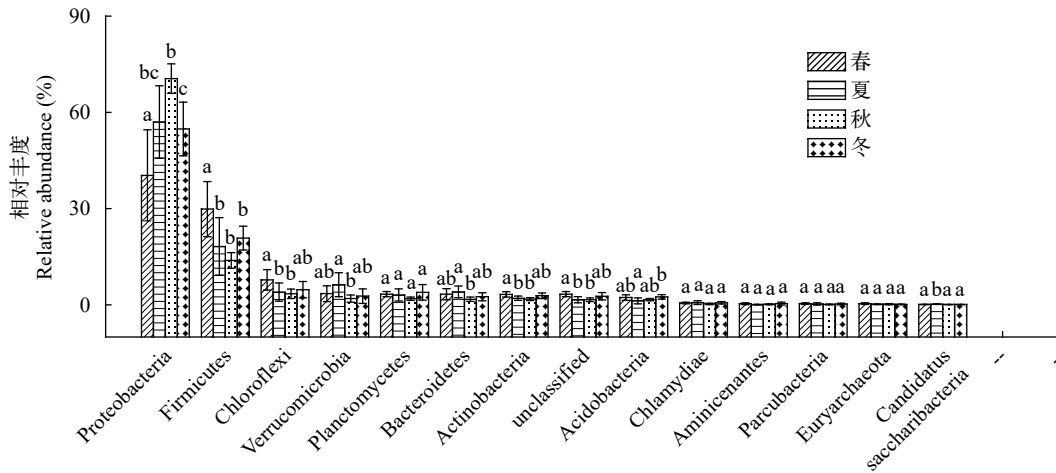


图2 四季门水平优势沉积物微生物群落差异

Fig. 2 Seasonal difference of dominant microbial communities in sediments at the phylum level

二排序轴(垂直)关系最大的是温度及pH, 呈正相关, SOM、TN、TP及 SO_4^{2-} 呈负相关。4个季度的微生物在生态适应上既有重叠现象, 又表现出对各自栖息环境的特殊适应特点, SOM、温度及pH等相关环境因子可能是影响其分布的重要因素。

对各门水平上的微生物与环境因子进行Pearson分析, 发现在门水平上受季节和温度影响的微生物较多。在沉积物理化指标中, TN及SOM的含量对门水平上的环境微生物影响较大, 这是因为营

养元素可以用作碳或能量的来源, 从而影响微生物群落的结构^[37]。

环境因素对微生物群落和功能具有抑制或促进作用^[38]。变形菌门与SOM($r = -0.489$, $P = 0.034$)和TN($r = -0.540$, $P = 0.017$)显著负相关, 厚壁菌门与总氮显著正相关($r = 0.503$, $P = 0.028$), 绿弯菌门则与硫酸盐显著正相关($r = 0.514$, $P = 0.020$), 与SOM($r = 0.603$, $P = 0.006$)及总氮($r = 0.625$, $P = 0.004$)含量呈极强正相关, 与pH显著负相关($r = -0.570$, $P = 0.011$)。但本研究中仍有部分微生物如Chlamydiae、Aminicenantes等未表现出与环境因子相关, 这可能是因为该研究中微生物门类与环境因子之间的关系可能受到混杂因素的影响, 但其作用可能难以区分^[37]。

2.5 硫酸盐还原菌的季节特征

硫化氢与其他还原硫(S)化合物是黑臭水体中恶臭的主要来源^[39-41]。在污染严重的石井河中检测出4种恶臭挥发性有机硫化物^[42]。硫酸盐还原菌(Sulfate-reducing bacteria, SRB)可以利用含硫化合物作为能量代谢过程的主要成分进行异化性硫酸盐还原, 从而产生 H_2S 。部分SRB还能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 与硫化氢反应形成硫化亚铁(FeS)黑色悬浮物质, 导致水体发黑^[43]。因此, SRB是导致水体发黑发臭的主要微生物。然而, 很少有研究者研究黑臭沉积物中SRB的季节动态变化。

本研究根据高通量测序的结果筛选出其中的SRB菌属, 在样品中共发现16个SRB菌属(表4), *Desulfoprimum*是本实验沉积物中SRB丰度最高的菌属。进一步分析SRB的季节特征, 春季与秋季SRB菌属相对丰度存在显著差异($P = 0.017$)。春季沉积物中*Desulfoprimum*属相对丰度最高, 而*Desulfoprimum*属严格厌氧, 说明春季沉积物处于厌氧状

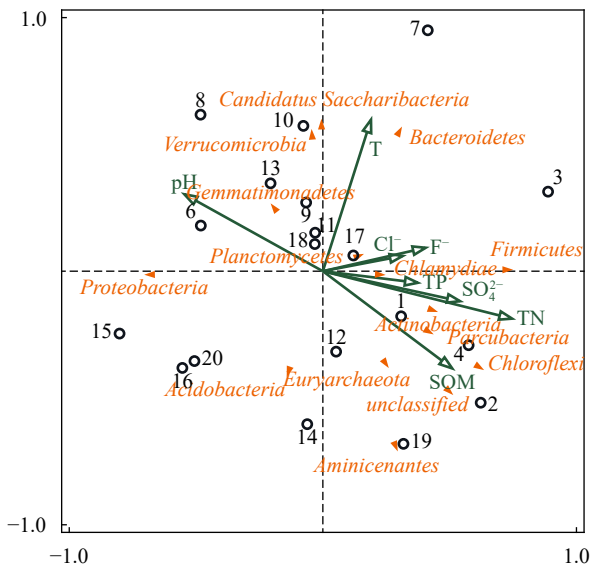


图3 门水平上的微生物群落与环境因子的RDA分析

Fig. 3 Redundancy analysis of microbial community and environmental factors based on phylum level

1—20为采样点编号, 三角形为微生物门类, 箭头为沉积物环境因子

1—20 represent sample numbers, the triangles represent the microorganism on phylum, and the arrows represent the environmental factors of sediment

表 4 硫酸盐还原菌属与环境因子之间的皮尔逊相关分析系数
Tab. 4 Pearson correlation analysis coefficient between sulfate-reducing and environmental factors

菌属Bacteria	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	SOM (%)	TN	T (°C)
<i>Desulfoprunum</i>	0.192	-0.187	-0.274	0.075	-0.033
<i>Desulfobulbus</i>	-0.231	0.289	0.064	-0.098	0.290
<i>Desulfomonile</i>	0.150	-0.248	-0.016	0.278	-0.494*
<i>Desulfomicrobium</i>	-0.205	0.418	0.309	0.040	0.532*
<i>Desulfobacca</i>	0.289	-0.353	-0.023	0.228	-0.392
<i>Desulfuromonas</i>	0.123	0.038	-0.180	0.476*	-0.033
<i>Desulfovirga</i>	0.011	0.029	-0.155	0.273	-0.347
<i>Desulfocapsa</i>	0.296	-0.102	-0.158	0.178	-0.109
<i>Desulfosporosinus</i>	0.125	0.274	0.475*	0.660**	0.137
<i>Desulforhabdus</i>	-0.085	-0.108	-0.261	0.198	-0.306
<i>Desulfosarcina</i>	0.448*	-0.229	-0.021	0.191	-0.380
<i>Desulfonatronobacter</i>	0.388	-0.228	-0.153	0.373	-0.136
<i>Desulfovibrio</i>	-0.231	0.617**	0.267	0.170	0.273
<i>Desulfococcus</i>	-0.032	0.022	0.098	0.115	-0.234
<i>Desulfonema</i>	0.271	0.029	-0.083	0.462*	0.113
<i>Desulfobacula</i>	0.271	0.029	-0.083	0.462*	0.113

注: *在0.05水平(双侧)上显著相关; **在0.01水平(双侧)上显著相关

Note: * means significantly correlated at 0.05 level (both sides); ** means significantly correlated at 0.01 level (both sides)

态。春季沉积物中SRB的类群最多, 相对丰度最大, 这些结果表明在春季该沉积物环境更适于SRB类群生长繁殖。为避免水体发黑发臭, 应在春季控制SRB的数量。

对硫酸盐还原菌与环境因子进行相关性分析, *Desulfovibrio*属与SO₄²⁻含量呈极强正相关($r=0.617$, $P=0.004$), *Desulfuromonas* ($r=0.476$, $P=0.034$)、*Desulfonema* ($r=0.462$, $P=0.040$)、*Desulfobacula* ($r=0.462$, $P=0.040$)与TN呈显著正相关, *Desulfosporosinus*与TN呈极强正相关($r=0.660$, $P=0.002$), *Desulfosporosinus*属与SOM呈显著正相关($r=0.475$, $P=0.040$), *Desulfosarcina*与Cl⁻呈显著正相关($r=0.448$, $P=0.048$), *Desulfomonile*属与温度呈显著负相关($r=-0.494$, $P=0.017$)。研究表明, 硫酸盐还原菌属为厌氧异养微生物, 其生长代谢依赖于SO₄²⁻含量, 碳源及溶氧条件等^[44, 45]。本研究中硫酸盐还原菌的相对丰度主要与TN、Cl⁻、SOM、SO₄²⁻含量相关。因此, 为控制春季SRB的数量, 应控制春季沉积物中的营养物质含量。

3 结论

与其他研究中沉积物微生物群落组成类似, 本研究对黑臭内河不同季节沉积物进行测序, 结果表

明在门水平上, 沉积物中优势菌门始终为变形杆菌、厚壁菌门、绿弯菌门、疣微菌门、浮霉菌门、拟杆菌门和放线菌门等, 但这些菌门的相对丰度随着季节变化而改变。春季指示污染的微生物如绿弯菌门和酸杆菌门相对丰度较高, 秋季具有降解污染物能力的变形菌门相对丰度较高。这与对阜阳四季沉积物理化指标进行分析, 得出的沉积物污染在春季更严重的结论一致。随后对阜阳沉积物门水平上的微生物群落组成、环境因子进行RDA分析, 结果表明SOM、温度及pH等相关环境因子是影响微生物群落的重要因素。

对四季沉积物中的SRB菌属进行统计分析, 发现春季沉积物中SRB的类群最多, 相对丰度最大, 而导致水体发臭的硫化氢气体主要在SRB还原硫酸盐的过程中产生, 部分SRB还会还原Fe³⁺, 导致黑色悬浮物质FeS产生。因而, 在黑臭沉积物的治理过程中, 对SRB数量的控制尤为重要。对SRB与环境因子进行Pearson相关性分析, 得到SRB的丰度与SO₄²⁻、TN、SOM、Cl⁻等呈显著正相关。因此为有效避免河流黑臭物质的产生, 建议在春季控制沉积物中营养物质的含量。

参考文献:

- [1] Gupta V K, Ali I, Saleh T A, et al. Chromium removal from water by activated carbon developed from waste rubber tires [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(3): 1261-1268.
- [2] Pan M, Zhao J, Zhen S, et al. Effects of the combination of aeration and biofilm technology on transformation of nitrogen in black-odor river [J]. *Water Science and Technology*, 2016, 74(3): 655-662.
- [3] Song C, Liu X, Song Y, et al. Key blackening and stinking pollutants in Dongsha River of Beijing: Spatial distribution and source identification [J]. *Journal of Environmental Management*, 2017(200): 335-346.
- [4] Saravanan R, Sacari E, Gracia F, et al. Conducting PANI stimulated ZnO system for visible light photocatalytic degradation of coloured dyes [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2016(221): 1029-1033.
- [5] Liang Z, Siegert M, Fang W, et al. Blackening and odorization of urban rivers: a bio-geochemical process [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(3): 1-12.
- [6] Hou L, Zheng Y, Liu M, et al. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary [J]. *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 2013, 118(3): 1237-1246.
- [7] Piccini C, Garcia-Alonso J. Bacterial diversity patterns of the intertidal biofilm in urban beaches of Río de la Plata [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 91(2): 476-482.
- [8] Feng B, Li X, Wang J, et al. Bacterial diversity of water

- and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **70**(2): 236-248.
- [9] Campbell B J, Kirchman D L. Bacterial diversity, community structure and potential growth rates along an estuarine salinity gradient [J]. *ISME Journal*, 2013, **7**(1): 210-220.
- [10] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Research*, 2003, **13**(11): 2498-2504.
- [11] Ducrotot J. The use of biotopes in assessing the environmental quality of tidal estuaries in Europe [J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 2010, **86**(3): 317-321.
- [12] Cai W, Li Y, Shen Y, *et al.* Vertical distribution and assemblages of microbial communities and their potential effects on sulfur metabolism in a black-odor urban river [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019(235): 368-376.
- [13] Wang W, Wang Y, Fan P, *et al.* Effect of calcium peroxide on the water quality and bacterium community of sediment in black-odor water [J]. *Environmental Pollution*, 2019(248): 18-27.
- [14] Ouyang T, Zhang H Q, Chang D M, *et al.* Sulfide in the sediment and overlying water of urban rivers and lakes: a review [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **36**(S2): 179-186. [欧阳涛, 张海芹, 常定明, 等. 城市河湖沉积物-水体中硫化物的研究进展 [J]. 环境科学与技术, 2013, **36**(S2): 179-186.]
- [15] Kadota H, Ishida Y. Production of volatile sulfur compounds by microorganisms [J]. *Annual Review of Microbiology*, 1972, **26**(1): 127-138.
- [16] Tao J, Qin L, Liu X, *et al.* Effect of granular activated carbon on the aerobic granulation of sludge and its mechanism [J]. *Bioresource Technology*, 2017(236): 60-67.
- [17] Yang T Y, Meng W, Gao P, *et al.* Bacterial community structure in aquaponics pond and common pond based on high-throughput sequencing technology [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(5): 1104-1113. [杨天燕, 孟玮, 高攀, 等. 基于高通量测序的鱼菜共生池塘与普通池塘微生物群落结构比较 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(5): 1104-1113.]
- [18] Lu H Y, Pan W J, Ma X J, *et al.* The diversity of diazotroph and the activity of nitrogen fixation in urban landscape water [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(5): 1139-1146. [卢韩杨, 潘文静, 马晓洁, 等. 城市景观水体中固氮微生物多样性及固氮活性检测 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(5): 1139-1146.]
- [19] Christian Q, Elmar P, Pelin Y, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013(41): D590-D596.
- [20] Persaud D J R H A. Guidelines for the Protection and Management of Aquatic Sediment Quality in Ontario [M]. Toronto: Water Resources Branch, 1993: 3-4.
- [21] Fuhrman J A, Steele J A, Hewson I, *et al.* A latitudinal diversity gradient in planktonic marine bacteria [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, **105**(22): 7774-7778.
- [22] Adams H E, Crump B C, Kling G W. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams [J]. *Environmental Microbiology*, 2010, **12**(5): 1319-1333.
- [23] Dziallas C, Grossart H. Temperature and biotic factors influence bacterial communities associated with the cyanobacterium *Microcystis* sp. [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, **13**(6): 1632-1641.
- [24] Wu Q L, Hahn M W. High predictability of the seasonal dynamics of a species-like Polynucleobacter population in a freshwater lake [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(9): 1660-1666.
- [25] Guo J P, Guo W. Temporal and spatial distribution characteristics of seasonal drought in Shaying River Basin [J]. *Zhejiang Agricultural Science*, 2019, **60**(6): 1046-1050. [郭金萍, 郭薇. 沙颍河流域季节性干旱的时空分布特征 [J]. 浙江农业科学, 2019, **60**(6): 1046-1050.]
- [26] Yannarell A C, Triplett E W. Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(1): 227-239.
- [27] Langenheder S, Lindstrom E S, Tranvik L J. Structure and function of bacterial communities emerging from different sources under identical conditions [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(1): 212-220.
- [28] Feng B, Li X, Wang J, *et al.* Bacterial diversity of water and sediment in the Changjiang estuary and coastal area of the East China Sea [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, **70**(2S1): 236-248.
- [29] Liu J, Liu X, Wang M, *et al.* Bacterial and archaeal communities in sediments of the North Chinese marginal seas [J]. *Microbial Ecology*, 2015, **70**(1): 105-117.
- [30] Guo X P, Lu D, Niu Z, *et al.* Bacterial community structure in response to environmental impacts in the intertidal sediments along the Yangtze Estuary, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, **126**: 141-149.
- [31] McLellan S L, Newton R J, Vandewalle J L, *et al.* Sewage reflects the distribution of human faecal Lachnospiraceae [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, **15**(8): 2213-2227.
- [32] Thomsen T R, Kong Y, Nielsen P H. Ecophysiology of abundant denitrifying bacteria in activated sludge [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, **60**(3): 370-382.
- [33] Wu W, Yang L, Wang J. Denitrification performance and microbial diversity in a packed-bed bioreactor using PCL as carbon source and biofilm carrier [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(6): 2725-2733.
- [34] Chen C, Xu X, Xie P, *et al.* Pyrosequencing reveals microbial community dynamics in integrated simultaneous desulfurization and denitrification process at different influent nitrate concentrations [J]. *Chemosphere*, 2017 (171): 294-301.
- [35] Kaestli M, Skillington A, Kennedy K, *et al.* Spatial and temporal microbial patterns in a tropical macrotidal estuary subject to urbanization [J]. *Frontiers in Microbiology*,

- 2017(8): 1313.
- [36] Gibbons S M, Jones E, Bearquiver A, *et al.* Human and environmental impacts on river sediment microbial communities [J]. *PLoS One*, 2014, **9**(5): e97435.
- [37] Xie Y, Wang J, Wu Y, *et al.* Using in situ bacterial communities to monitor contaminants in river sediments [J]. *Environmental Pollution*, 2016(212): 348-357.
- [38] G Allen B, Johnston E L. Assessing contaminated sediments in the context of multiple stressors [J]. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2010, **29**(12): 2625-2643.
- [39] Zhang X, Chen C, Ding J, *et al.* The 2007 water crisis in Wuxi, China: Analysis of the origin [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, **182**(1-3): 130-135.
- [40] Holmer M, Storkholm P. Sulphate reduction and sulphur cycling in lake sediments: a review [J]. *Freshwater Biology*, 2001, **46**(4): 431-451.
- [41] Watson S B, Juttner F. Malodorous volatile organic sulfur compounds: Sources, sinks and significance in inland waters [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2017, **43**(2): 210-237.
- [42] Sheng Y, Chen F, Yu Y, *et al.* Emission of volatile organic sulfur compounds from a heavily polluted river in Guangzhou, South China [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2008, **143**(1-3): 121-130.
- [43] Castro H F, Williams N H, Ogram A. Phylogeny of sulfate-reducing bacterial 11 Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R06662. [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, **31**(1): 1-9.
- [44] Zhao Y H, Ye Y F, Liu X D. Sulfate reducing bacteria and its influencing factors [J]. *Environmental Pollution and Prevention*, 1997(5): 41-43. [赵宇华, 叶央芳, 刘学东. 硫酸盐还原菌及其影响因子 [J]. 环境污染与防治, 1997(5): 41-43.]
- [45] Liang Y. Exploration on the growth factors of sulphate reducing bacteria [J]. *Shanxi Architecture*, 2010, **36**(30): 199-200. [梁宇. 硫酸盐还原菌的生长因子的探讨 [J]. 山西建筑, 2010, **36**(30): 199-200.]

SEASONAL VARIATION CHARACTERISTICS OF MICROBIAL COMMUNITIES IN THE SEDIMENTS OF URBAN BLACK-ODOROUS RIVER IN LOWER REACHES OF SHAYING RIVER

CHEN Qian-Ru^{1,2}, XIA Xue^{2,3}, WANG Chuan², LI Qian-Zheng^{2,3}, ZHANG Hong-Pei^{1,2}, CHEN Di-Song², WU Zhen-Bin² and Zhou Qiao-Hong²

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In order to study the seasonal variation characteristics of microbial communities in the sediments of the black-odorous river located in lower reaches of Shaying River, high-throughput sequencing approach was used to sequence the 16S rDNA gene of surficial sediments from the Zhongqing River and the Qiyu River. The results showed that microbial species diversity in urban black-odorous river was not high and changed with different seasons: spring > winter ≥ summer > autumn. The redundancy analysis revealed that the microbial diversity was significantly affected by the season and pH of the sediment. By analyzing the microbial community structure in sediment at phylum level, it is found that seasons, temperature, TN and SOM have a great impact on the microbial population. The relative abundance of dominant bacteria such as Proteobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Bacteroidetes and Actinobacteria differed at the seasonal level. The relative abundances of Firmicutes, Chloroflexi, Actinobacteria and Acidobacteria in spring were relatively high, while Proteobacteria was relatively low. The relative abundances of Verrucomicrobia and Bacteroidetes in autumn dramatically decreased, but Proteobacteria increased significantly compared with other seasons. A total of 16 sulfate-reducing bacteria genus were detected in all samples, among which *Desulfo-prunum* was the most abundant. SRB was the most abundant in spring with the highest relative abundance. SRB was positively correlated with SO_4^{2-} , TN, SOM, Cl^- etc. The above results provide a reference for the selection of control time to effectively avoid the generation of black and odorous substances in rivers.

Key words: Urban river; Black-odorous sediment; Microbial community; Seasonal change