



研究报告

我国南北区域城市污水处理系统内真菌群落的差异

秦文韬 张冰 孙晨翔 陈湛 文湘华*

清华大学环境学院 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室 北京 100084

摘要:【背景】微生物是污水处理系统内污染物去除的主体,真菌作为其中不可或缺的一部分,在去除有毒化合物、提高生物转化等方面发挥着重要作用,应引起人们的关注。【目的】明确我国南北区域城市污水处理系统内真菌群落的多样性、组成差异及其影响因素。【方法】采集我国北方 23 个污水处理厂的 90 份活性污泥样品和南方 37 个污水处理厂的 121 份活性污泥样品,提取上述样本的总 DNA,并应用 Illumina MiSeq 平台进行 ITS 高通量测序,结合多种数量生态学分析方法对数据进行分析。【结果】我国南北区域城市污水处理系统内真菌群落结构存在显著差异,真菌群落多样性南方显著高于北方;我国南北区域真菌群落的组成差异显著,南方群落以 *Sordariomycetes* 和 *Glomeromycetes* 为优势菌纲,以 *Ophiocordyceps* 和 *Alternaria* 为优势菌属,北方群落以 *Tremellomycetes* 和 *Saccharomycetes* 为优势菌纲,以 *Trichosporon* 和 *Saccharomyces* 为优势菌属,其中 *Tremellomycetes* 和 *Sordariomycetes* 是常见的病原菌,对下游生物或者人类的健康具有潜在威胁, *Trichosporon* 属的丝状真菌若大量异常增殖会引发污泥膨胀现象,影响系统的稳定运行;地理纬度、年平均气温、进水 NH_4^+ 浓度、进水总氮浓度是导致我国南北区域真菌群落存在差异的重要影响因子。【结论】我国南北区域真菌群落多样性、组成存在显著差异,地理因素、所在城市的气候因素和进水污染物浓度对真菌群落结构影响显著。针对南北区域,应合理调控相应区域内的重要功能菌群,以调控污水处理厂的高效稳定运行,同时密切关注其中的条件致病菌和易引发污泥膨胀的菌群,建立面向种群的优化控制系统以管控风险。

关键词: 真菌群落, 组成, 高通量测序, ITS, 影响因素

Differences of fungal community in wastewater treatment plants between south and north China

QIN Wen-Tao ZHANG Bing SUN Chen-Xiang CHEN Zhan WEN Xiang-Hua*

State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: [Background] Microorganisms are main agents to remove pollutants in activated sludge (AS) in wastewater treatment plants (WWTPs), among them, fungi should be paid attention to as they play important roles in removing toxic compounds and improving biological transformation, etc. [Objective] The major research will be focus on to characterize and compare the diversity, composition of fungal

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (51678335)

*Corresponding author: Tel: 86-10-62772837; E-mail: xhwen@tsinghua.edu.cn

Received: 20-03-2019; Accepted: 14-05-2019; Published online: 28-05-2019

基金项目: 国家自然科学基金(51678335)

*通信作者: Tel: 010-62772837; E-mail: xhwen@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2019-03-20; 接受日期: 2019-05-14; 网络首发日期: 2019-05-28

communities in WWTPs located in north and south China, determine the influence factors of fungal community structure. **[Methods]** Ninety AS samples from 23 WWTPs in north China and 121 AS samples from 37 WWTPs in south China were collected, respectively. After DNA extraction and amplification, high-throughput sequencing of ITS gene was carried out using Illumina MiSeq platform. Data were processed by a variety of quantitative ecological analysis methods. **[Results]** Fungal community structures in AS system between north and south China were significantly different. Diversity of fungal community in south China was higher than that of north China. The dominant classes and genera in fungal community were *Sordariomycetes* and *Glomeromycetes* classes, and *Ophiocordycep* and *Alternaria* genera in south China. While they were *Tremellomycetes* and *Saccharomycetes* classes, and *Trichosporon* and *Saccharomyces* genera in north China. Members of the classes *Tremellomycetes* and *Sordariomycetes* are opportunistic pathogens, which may be potential threats to downstream organisms or human health. Abnormal growth of members in *Trichosporon* genus will cause sludge bulking and affect the stable operation of WWTPs. Latitude, annual average air temperature, concentration of NH_4^+ and the total nitrogen in influent were identified as the important factors that influence fungal community structure in WWTPs. **[Conclusion]** Fungal communities between north and south China were significantly different in diversity and composition as a results of geographic factors, climate factors and concentration of pollutants in influent. Accordingly, toward the efficient and stable operation of the treatment plants, it is necessary to regulate the different important communities in south and north China. Furthermore, we should pay close attention to the opportunistic pathogenic fungi and some agents that easily cause sludge bulking. Establishment of population-oriented optimal control system is necessary to control the risks.

Keywords: Fungal community, Composition, High-throughput sequencing, ITS, Influence factor

城市污水处理厂(Wastewater treatment plant, WWTP)是人类和城市发展的重要设施,在污水生物处理过程中,微生物是污染物去除的主要承担者,因此微生物群落与系统的稳定运行密切相关。近年来相关研究逐渐揭示出真菌在污水处理系统内的重要作用,如促进硝化作用和反硝化作用^[1]、去除有毒化合物、促进生物絮凝^[2]、脂质积累^[3]、提高生物转化^[4]和脱水性能^[5]等。但是,丝状真菌若大量异常增殖,则会引发污泥膨胀现象,严重影响处理系统的稳定运行^[6]。因此,深入理解并合理利用污水处理系统中的真菌群落,对保障系统稳定运行具有重要作用。

在污水处理系统微生物群落中,真菌的多样性大于古菌和其他一些真核微生物^[3],但是真菌的相关研究却很少。过去的很长一段时间内,活性污泥内真菌群落的研究依靠传统的微生物培养方法和形态学研究手段^[1-2],近年来高通量测序技术的应用极大地扩展了我们对真菌群落的认识,但是相关研究多集中于膜生物反应器(Membrane bio-reactor,

MBR)和生物滤池等工艺内的真菌群落^[7-9],大规模区域尺度的污水处理系统真菌群落的研究工作尚未开展。此外,我国幅员辽阔,地域差异显著,自然、人文条件各异,各地区居民的饮食结构多样,有研究显示自然系统内真菌群落存在着显著地域性差异^[10],真菌群落的组成相似性随地理距离的增加而减小,即符合距离-衰减规律^[11]。污水处理厂作为工程构筑物,活性污泥系统内细菌群落也存在着地域性差异^[12],也符合距离-衰减规律^[13],但是不同区域活性污泥系统内真菌群落的差异仍属未知。

因此,本研究利用高通量测序技术,结合多种生态学及数理统计相关分析方法,解析我国南北区域城市污水处理厂活性污泥系统中真菌群落的基本特性及影响因素,以期深入认识污水处理厂活性污泥系统内的真菌群落,丰富与拓展现有生态学知识与理论,为我国不同区域污水处理厂建立面向种群的优化控制系统提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

PowerSoil[®] DNA 提取试剂盒, MoBio 公司; DNA 纯化试剂盒 MinElute[®] Gel Extraction Kit, QIAGEN 公司。多参数水质测定仪, Thermo Scientific 公司; PCR 仪、凝胶成像系统, Bio-Rad 公司。

1.2 样品采集与 DNA 提取

2014 年夏季, 采用统一方法对我国 15 个城市的污水处理厂进行了样品采集。根据地理环境的差异将我国划分为南北两大区域, 南方区域包括 9 个城市, 即无锡、上海、武汉、长沙、成都、重庆、厦门、深圳和三亚; 北方区域包括 6 个城市, 即哈尔滨、大连、北京、济南、青岛和西安。共采集城市污水处理厂内活性污泥样品 211 份, 其中南方样品 121 份, 北方样品 90 份, 涉及南方 37 个污水处理厂和北方 23 个污水处理厂。采样时, 南方各城市的年平均气温为 17.22–25.56 °C, 北方各城市的年平均气温为 4.44–13.89 °C, 具体样品采集原则、方法参考张冰等^[14]。同时, 收集污水处理厂的地理信息、所在城市的气候信息、WWTPs 的设计参数、进出水水质情况和操作参数等基本信息, 原位测定曝气池混合液的温度、溶解氧浓度和 pH 等参数。

利用 PowerSoil[®] DNA 提取试剂盒对离心后的污泥样品进行 DNA 提取, 然后利用分光光度计测定 DNA 浓度和纯度, 以满足测序的 DNA 质量要求。

1.3 ITS 高通量测序

利用引物 ITS7F (5'-GTGARTCATCGARTCTT TG-3')和 ITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')^[15]对满足要求的样品 DNA 进行两步法 PCR 扩增^[16], 产物纯化后通过 Illumina MiSeq 测序平台进行 ITS 测序, 然后对合格的测序数据进行整合和物种信息注释分析, 继而生成操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)表格, 数据预处理过程详见文献[17-18]。

1.4 数据分析

采用非度量多维尺度法 (Nonmetric multidimensional scaling, NMDS)和相异性分析非参

数检验方法, 包括置换多变量方差分析 (Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA, 又称 ADONIS)、相似性分析 (Analysis of similarities, ANOSIM)和多响应置换过程 (Multi-response permutation procedure, MRPP), 检验我国南北区域真菌群落结构的差异; 利用 R 计算多样性指数^[19]; 利用线性判别分析方法 (Linear discriminant analysis effect size, LefSe)解析我国南北区域真菌群落组成差异^[20], 设置线性判别分析 (Linear discriminant analysis, LDA)筛选值为 3.0; 分别采用 Partial mantel test 和典范对应分析 (Canonical correspondence analysis, CCA)方法确定影响真菌群落结构的因素。以上分析通过 Galaxy 平台^[21]、R 语言的 vegan、ape、ecodist 程序包完成。

2 结果与分析

为了保证样品间数据的均等性, 按照每个样品 9 389 条序列的标准对测序结果进行随机抽平处理, 211 个样品共得到 1 981 079 条序列, 然后按照 97% 相似度的标准对序列进行 OTU 划分, 211 个样品共获得了 12 925 个 OTU, 其中南方真菌群落 121 个样品共获得了 10 310 个 OTU, 北方真菌群落 90 个样品共获得 7 465 个 OTU, 二者共有 4 850 个 OTU, 占 OTU 总数的 37.5%, 其中南方特有 OTU 为 5 460 个, 占 OTU 总数的 42.2%, 北方特有 OTU 为 2 615 个, 占 OTU 总数的 20.2%。

2.1 我国南北区域污水处理厂活性污泥系统内真菌群落多样性的差异

2.1.1 β 多样性

采用基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 方法对我国污水处理厂活性污泥系统内真菌群落进行了分析, 结果显示, 整体上, 来自南、北方污水处理厂的活性污泥样品各自聚为一类(图 1), 表明我国南北区域的活性污泥系统内真菌群落结构具有显著差异。利用 MRPP、ADONIS 和 ANOSIM 对我国南北区域的活性污泥系统内真菌群落结构进行相异性分析, 结果显示, 南北区域真菌群落的确存在显著差异 ($P < 0.01$), 相异性分析结果佐证了上述结论。

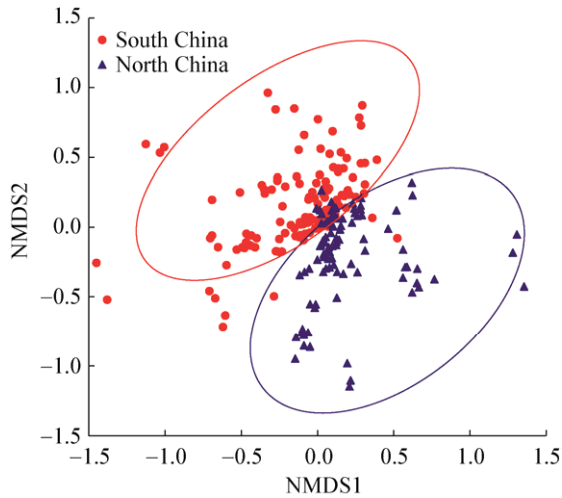


图 1 我国南北区域污水处理厂内真菌群落结构的差异
 Figure 1 Difference of fungal community structure in WWTPs of south and north China

2.1.2 α 多样性

α 多样性指数是表征微生物群落内物种丰富度和均匀度的重要参数。我国南方区域污水处理厂活性污泥系统内每个样品中真菌群落的 OTU 数为 162–1 237, 估测丰富度 Chao1 指数为 313–1 690, 香农-威纳指数为 1.11–5.52, 均匀度指数为 0.20–0.78; 我国北方区域活性污泥系统内每个

样品中真菌群落的 OTU 数为 131–847, 估算的 OTU 丰富度 Chao1 指数为 231–1 621, 香农-威纳指数为 0.61–5.10, 均匀度指数为 0.12–0.78。整体上, 我国南方真菌群落物种丰富度和估测丰富度(Chao1)均显著高于北方(图 2), 南方真菌群落的香农-威纳指数和均匀度也高于北方。

2.2 我国南北区域污水处理厂活性污泥系统内真菌群落组成的差异

为了更好地探究真菌群落的地域性组成差异, 采用 LEfSe 方法对我国南北区域真菌群落进行了差异分析, 结果显示我国南北区域真菌群落组成差异显著(图 3A), 当 LDA 值大于 3.0 时, 共得到 54 个生物标记物(Biomarker) (图 3B), 其中北方真菌群落的生物标记物 40 个, 南方真菌群落的生物标记物 14 个, 这些生物标记物在南北区域真菌群落内的相对丰度差异显著。

具体地, 北方真菌群落内 LDA 值最大的是 *Tremellomycetes*, 南方群落内 LDA 值最大的是 *Ophiocordyceps*, 说明二者在我国南北区域真菌群落内的相对丰度差异最大。纲水平上, *Sordariomycetes*

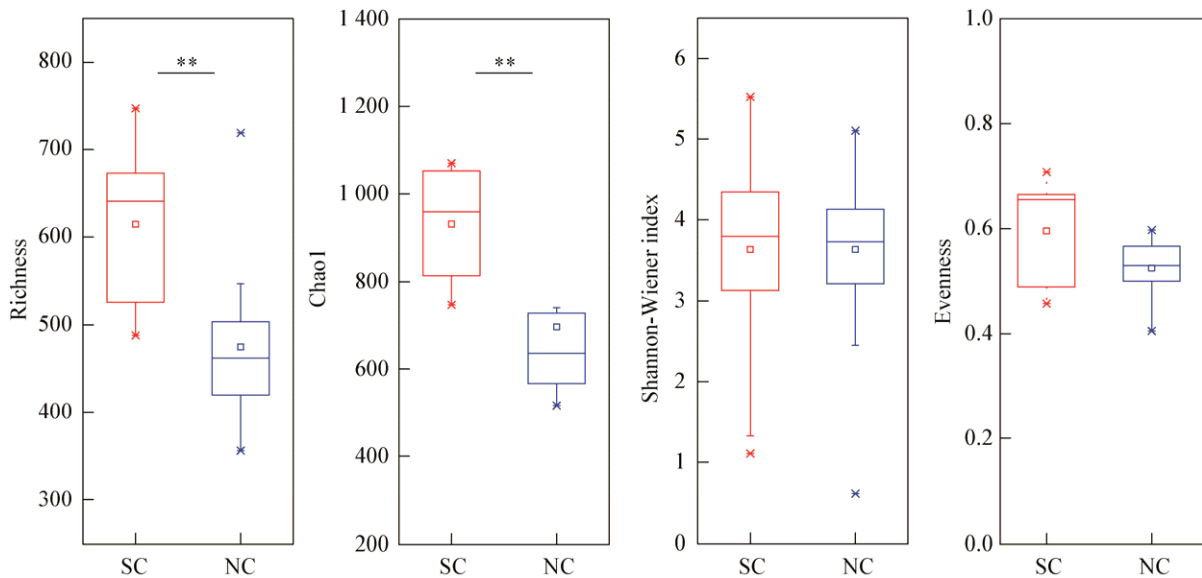


图 2 我国南北区域污水处理厂内真菌群落的 α 多样性
 Figure 2 Alpha diversity of fungal community in WWTPs of south and north China

注: SC: 南方; NC: 北方. **: $P < 0.01$.
 Note: SC: South China; NC: North China. **: $P < 0.01$.

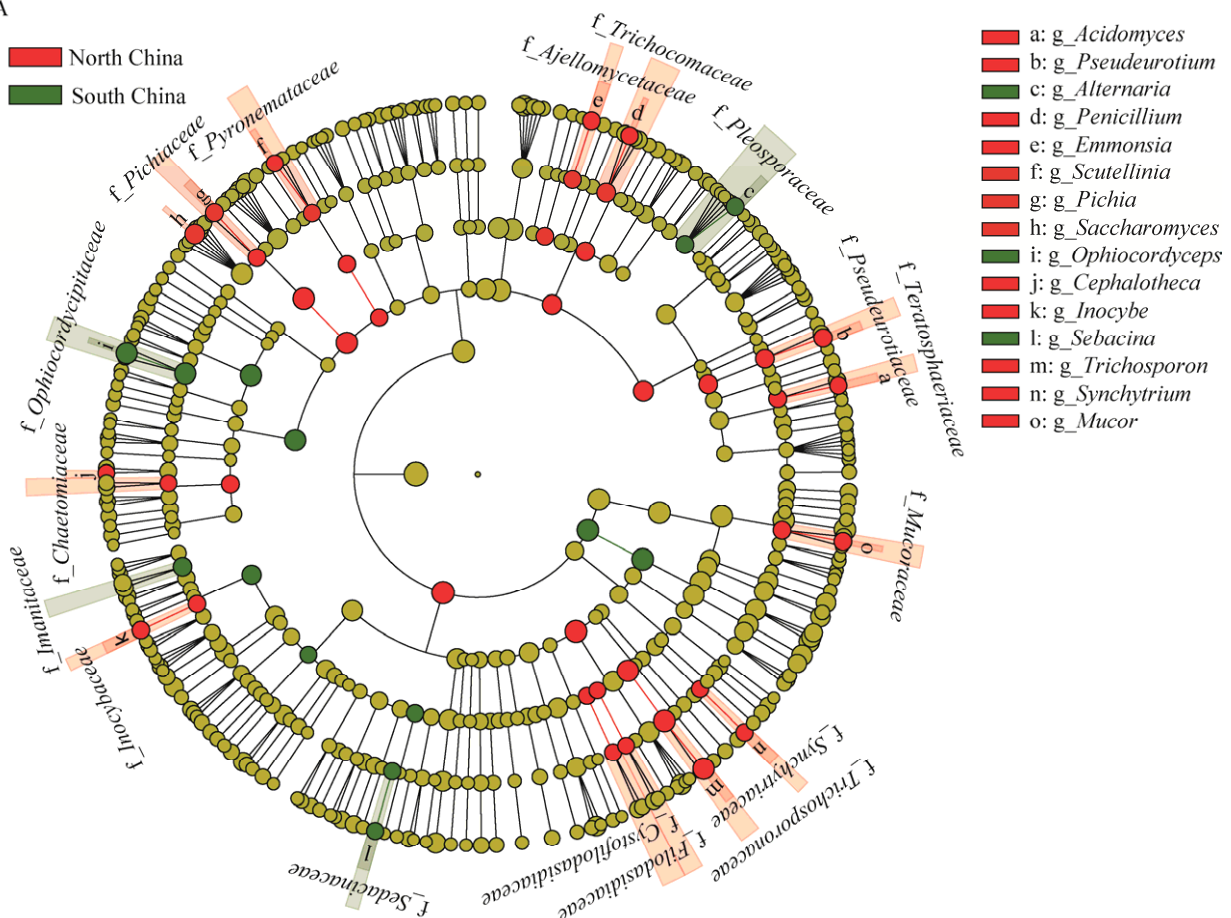
和 *Glomeromycetes* 在南方真菌群落内的相对丰度显著高于北方, *Tremellomycetes*、*Saccharomycetes*、*Dothideomycetes*、*Eurotiomycetes* 和 *Pezizomycetes* 在北方真菌群落内的相对丰度显著高于南方。属水平上, *Ophiocordyceps*、*Alternaria* 和 *Sebacina* 在南方真菌群落内的相对丰度显著高于北方, *Trichosporon*、*Saccharomyces*、*Pseudeurotium*、*Pichia*、*Emmonsia*、*Penicillium*、*Mucor*、*Acidomyces*、*Scutellinia*、*Inocybe*、*Synchytrium* 和 *Cephalotheca* 在北方真菌群落内的相对丰度显著高于南方。

2.3 我国污水处理厂活性污泥系统内真菌群落结构的影响因素

为了探明影响我国污水处理厂活性污泥系统内真菌群落结构的影响因素, 利用 Partial mantel test 对污水处理厂的地理信息、所在城市的气候信息、进出水水质信息、操作条件等参数与群落

结构的相关性进行了分析, 图 4 结果表明, 在参与分析的 15 个因子中, 5 个因子与活性污泥系统内真菌群落结构显著相关 ($P < 0.05$), 其中相关系数最大、相关性最强的因子是地理纬度 ($r = 0.210$, $P = 0.001$), 其次是年平均气温 ($r = 0.185$, $P = 0.001$) 和曝气池混合液浓度 ($r = 0.166$, $P = 0.003$), 进水污染物浓度与群落结构存在很强相关性, 其中进水 NH_4^+ 浓度 ($r = 0.123$, $P = 0.004$) 和进水总氮浓度 ($r = 0.126$, $P = 0.009$) 与群落结构相关性较强, 进水 COD 浓度、进水 BOD 浓度和进水总磷浓度与群落结构则没有显著相关性。此外, 操作条件中仅污泥龄 ($r = 0.091$, $P = 0.048$) 与群落结构存在显著相关性, 曝气池溶解氧浓度、水力停留时间等操作条件与活性污泥系统内真菌群落结构则不存在显著相关性。

A



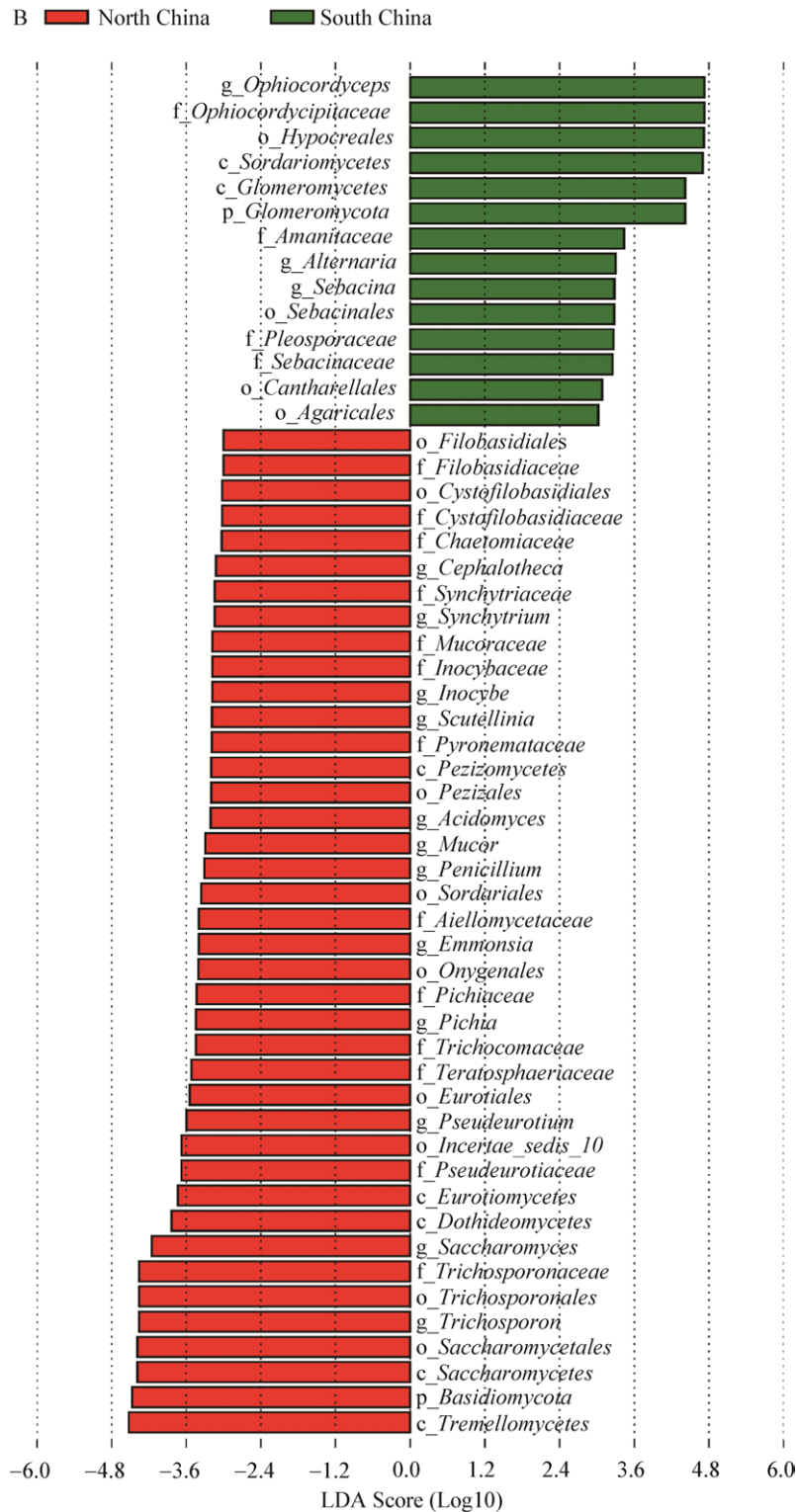


图 3 我国南北区域污水处理厂内真菌群落组成差异

Figure 3 Differences of fungal community composition in WWTPs of south and north China

注: A: 进化分支图; B: 54 个生物标记物。

Note: A: LDA effect size taxonomic cladogram; B: Fifty-four differentially abundant taxonomic clades with an LDA score higher than 3.0.

同时, 利用基于单峰模型的 CCA 分析污水处理厂地理信息、所在城市气候信息、进出水水质信息、操作条件等参数对群落结构的影响, 结果表明, 地理信息(地理纬度、经度、年平均气温)、进水水质信息(进水 NH_4^+ 浓度、进水总氮浓度和进水总磷浓度)和曝气池混合液浓度、温度、溶解氧浓度、水力停留时间、污泥龄等因素对全国污水处理厂真菌群落结构均有不同程度的影响, 共解释群落结构变化的 35.88%, 其中第一轴(CCA1)占总解释量的 12.63%, 第二轴(CCA2)占总解释量的 11.68%。综合考虑各因素在坐标轴上的投影长度和与坐标轴的夹角, 地理纬度、经度及年平均气温、进水 NH_4^+ 浓度、进水总氮浓度、进水总磷浓度、水力停留时间与群落结构具有较强相关性, 对我国污水处理厂真菌群落结构的影响较大。

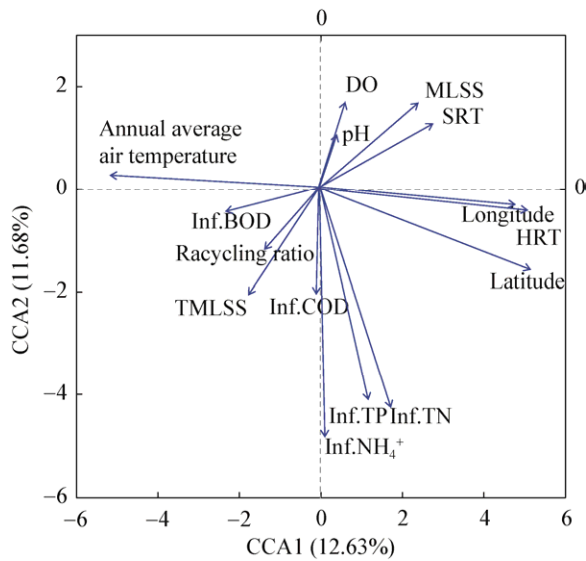


图 4 影响我国污水处理厂内真菌群落的因素
Figure 4 CCA analysis of influencing factors on fungal community in WWTPs of China

注: MLSS: 曝气池混合液浓度; TMLSS: 曝气池混合液温度; HRT: 水力停留时间; SRT: 污泥龄; Inf.TN: 进水总氮浓度; Inf.TP: 进水总磷浓度; Inf. NH_4^+ : 进水 NH_4^+ 浓度; Inf. BOD: 进水 BOD 浓度; Inf. COD: 进水 COD 浓度。

Note: MLSS: Mixed liquor suspended concentration; TMLSS: Temperature of mixed liquor suspended solids; Inf.: Influent; HRT: Hydraulic retention time; SRT: Sludge retention time; Inf.TN: Concentration of total nitrogen in influent; Inf.TP: Concentration of total phosphorus in influent; Inf. NH_4^+ : Concentration of NH_4^+ in influent; Inf.BOD: Concentration of BOD in influent; Inf.COD: Concentration of COD in influent.

由于 CCA 和 Partial mantel test 所基于的算法和模型的差异, 分析结果稍有差异, 综合考虑后将两种分析方法结果中均与群落显著相关的环境因子作为重要环境因子, 因此, 对全国污水处理厂真菌群落结构影响较大的因子是地理纬度、年平均气温、进水 NH_4^+ 浓度、进水总氮浓度。

3 讨论与结论

在污水处理系统中, 真菌的作用不可忽视, 然而相关研究较少, 且存在研究手段落后、尺度小、认识不足等问题, 因此, 本研究利用高通量测序技术并结合多种生态学及数理统计相关分析方法, 解析我国南北区域城市污水处理厂活性污泥系统中真菌群落的基本特性及影响因素, 以期深入认识污水处理厂活性污泥系统内的真菌群落, 丰富与拓展现有生态学知识与理论。

比较分析我国南北区域活性污泥系统内真菌群落多样性发现, 我国南北区域真菌群落结构存在显著差异, 这与自然系统内真菌群落的地理分布规律一致, Wu 等^[10]分别采用分离培养和聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳的方法, 评估了中国 10 个长江沿岸湿地和其他 10 个地区湿地沉积物中的真菌群落, 结果显示, 20 个采样点的样品共分为三类: 中国南方、中国北方和青藏高原, 说明真菌群落存在显著的地域性差异。

与城市供水系统内真菌群落相比, 污水处理系统内真菌群落的多样性较高, 如王钰等^[22]研究城市供水系统中真菌群落多样性, 结果显示单个样品内的香农-维纳指数为 1.87–4.34, Chao1 指数为 44–391 个 OTU。与活性污泥系统内的细菌群落比较发现, 真菌群落物种多样性较低, 如张冰等^[14]对全国污水处理厂活性污泥系统内细菌群落分析发现, 211 个样品共获得了 33 849 个 OTU; Xia 等^[23]利用 Illumina 测序方法分别对 MBR 和氧化沟 (Oxidation ditch, OD) 系统内 12 周的活性污泥样品进行了分析, 结果表明 MBR 和 OD 系统样品的 OTU 数目分别为 2 297–3 330 个和 1 802–3 517 个, 远高

于真菌群落多样性; Zhang 等^[12]利用 454 焦磷酸测序技术获得活性污泥系统内细菌群落 OTU 数目为 1 183–3 567 个。Wei 等^[24]对比分析了城市污水处理厂内真菌和细菌的季节和空间的动态变化, 获得 5 756 个细菌 OTU, 2 469 个真菌 OTU, 细菌的香农-威纳指数为 5.32–5.73, 远高于真菌的香农-威纳指数 1.49–5.05。

与森林土壤系统内的真菌群落多样性相比, 污水处理系统内的真菌群落物种丰富度和多样性较低, 如 Buée 等^[25]利用基于 ITS 的 454 焦磷酸测序技术评价了 6 个不同森林土壤内真菌群落多样性, 结果显示每个样品内的物种丰富度约为 1 000 个 OTU; Wubet 等^[26]利用基于 ITS 的焦磷酸测序技术分析了欧洲以山毛榉占主导地位的森林土壤真菌多样性和群落组成, 结果显示, 每个样品内真菌群落丰富度为 1 655 个 OTU。然而, 与耕作或草原土壤系统内的真菌群落多样性相比, 污水处理系统内的真菌群落物种丰富度和多样性较高。Klaubauf 等^[27]利用基于 ITS/LSU 区域的 RFLP 分析了奥地利的 4 种耕作土壤和 1 种草原土壤真菌多样性, 结果显示 5 种土壤中真菌群落丰富度为 19–34 个 OTU。Moll 等^[28]利用基于 ITS/LSU 区域和 SSU 区域的克隆技术, 结合 Sanger 测序方法研究玉米田土壤内普通真菌和丛枝菌根真菌群落的特性及空间分布, 结果显示真菌群落的丰富度仅为 313 个 OTU。此外, 活性污泥系统真菌群落丰富度远高于入湖河口沉积物和街道空气内的真菌群落丰富度, 如王鹏等^[29]利用 18S rRNA 基因高通量测序技术分析鄱阳湖入湖河口 14 处沉积物的真菌群落结构特征, 结果显示单个样品内真菌群落物种丰富度为 62–194 个 OTU; 王琳等^[30]通过构建 18S rRNA 基因克隆文库方法分析青岛市市区街道秋季空气微生物群落多样性, 结果显示空气真菌群落丰富度为 17 个 OTU。

本研究利用线性判别分析方法解析了我国南北区域真菌群落的组成差异, 结果显示, 南方群落中 *Sordariomycetes* 和 *Glomeromycetes* 为优势菌纲,

Ophiocordyceps 和 *Alternaria* 为优势菌属, 北方群落中 *Tremellomycetes* 和 *Saccharomycetes* 为优势菌纲, *Trichosporon* 和 *Saccharomyces* 为优势菌属。据文献报道, 能将 NO_2^- 还原为 N_2O 的真菌大多隶属于子囊菌门的 *Sordariomycetes* 和 *Eurotiomycetes*, 它们极大地促进了废水中氮的去除^[31]。*Tremellomycetes* 是 *Basidiomycota* 门 *Tremella* 分支的一个主要成员, 是活性污泥系统内的机会动物病原菌^[32–33]; 同样地, *Sordariomycetes* 是常见的污水处理厂和养殖池塘内的动物病原菌^[34], 这些条件致病菌的存在可能对下游生物或者人类的健康造成威胁, 因此应重点关注。同时, *Trichosporon* 属的丝状真菌若大量异常增殖会引发污泥膨胀现象, 造成水质下降和污泥的大量流失, 影响处理系统的稳定运行, 因此北方污水处理厂在运行过程中应着重关注该属的动态变化。此外, 活性污泥中的 *Trichosporon* 属成员在污水处理过程中具有重要的作用, 如 *T. cutaneum* 能够去除 COD, 降解芳香族化合物^[35–36], *Saccharomyces cerevisiae*^[37]和 *Candida lipolytica*^[38]能够吸收重金属, 因此, 在污水处理厂运行过程中, 或可通过合理利用这些功能菌群建立面向种群的优化控制系统, 调控污水处理厂的高效稳定运行, 同时应密切关注条件致病菌和易引发污泥膨胀的菌群, 管控风险。

基于生态位理论描述的确定性因素^[39]和基于中性理论的随机因素^[40]是目前公认的影响微生物群落多样性和结构的因素, 现有研究多关注确定性因素中的污水处理厂地理位置、水质条件和操作参数等因素对活性污泥系统内细菌群落结构的影响^[41–43], 也有研究表明, 研究对象不同, 影响作用较显著的因素种类也可能存在差异^[44], 然而对于真菌群落影响因素的探究较少, 且结论尚不明确。为了进一步明确影响我国南北区域真菌群落结构与组成差异的因素, 本研究分别利用 Partial mantel test 和 CCA 两种方法对我国污水处理厂内真菌群落进行了分析, 结果显示, 地理纬度、年平均

气温、进水 NH_4^+ 浓度、进水总氮浓度对我国污水处理厂内真菌群落结构的影响较大。

与污水处理厂内细菌群落类似, 真菌种群的变化与环境变量、操作参数的变化具有很强的相关性。Wei 等^[24]分析了影响城市污水处理厂活性污泥系统内的细菌和真菌群落的因素, 结果表明, 地理距离、曝气池溶解氧浓度、气温、出水总氮浓度、水力停留时间、污泥龄、进水 COD 浓度与微生物群落结构均存在较强的相关性。Maza-Márquez 等^[45]利用 18S rRNA 基因和 ITS 作为分子标记, 并结合温度梯度凝胶电泳和 454 焦磷酸测序对 MBR 反应器不同运行阶段内真菌群落进行了全面监测, 结果显示, 真菌种群的变化与环境变量和操作参数变化确实具有很强的相关性, 其中 pH 的相关性最强。此外, 相关研究表明, 地理距离的差异导致了巨大的环境异质性, 如气温、降水量, 进而导致生态系统中微生物种群的地域性分化^[46], 本研究中 Partial mantel test 和 CCA 两种分析方法均表明地理纬度对我国污水处理系统内真菌群落结构有重要影响。

与污水处理厂内细菌群落相比, 真菌群落研究成果较少且数据库不全面, 因此很多物种分类地位不明确, 这也大大增加了研究的难度, 限制了研究的深度和广度, 相信随着基于高通量技术的微生物基因组学的发展, 污水处理系统内真菌群落的“黑箱”将逐渐被打开。

REFERENCES

- [1] Guest RK, Smith DW. A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system[J]. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 2002, 1(6): 433-437
- [2] More TT, Yan S, Tyagi RD, et al. Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(20): 7691-7700
- [3] Liu J, Li J, Tao YQ, et al. Analysis of bacterial, fungal and archaeal populations from a municipal wastewater treatment plant developing an innovative aerobic granular sludge process[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2017, 33(1): 14
- [4] Weber SD, Ludwig W, Schleifer KH, et al. Microbial composition and structure of aerobic granular sewage biofilms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(19): 6233-6240
- [5] Zhou YJ, Fu HY, Fan XF, et al. Isolation of filamentous fungi capable of enhancing sludge dewaterability and study of mechanisms responsible for the sludge dewaterability enhancement[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(2): 612-618 (in Chinese)
周雨珺, 付豪逸, 范先锋, 等. 改善污泥脱水性能的丝状真菌的分离及其促进污泥脱水的机制初探[J]. *环境科学*, 2015, 36(2): 612-618
- [6] Zheng SK, Sun JY, Han H. Effect of dissolved oxygen changes on activated sludge fungal bulking during lab-scale treatment of acidic industrial wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(20): 8928-8934
- [7] Li H, Tan L, Ning SX, et al. Reactor performance and microbial community dynamics during aerobic degradation and detoxification of Acid Red B with activated sludge bioaugmented by a yeast *Candida tropicalis* TL-F1 in MBR[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, 104: 149-156
- [8] He MY, Tan L, Ning SX, et al. Performance of the biological aerated filter bioaugmented by a yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for treatment of Acid Red B and microbial community dynamics[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2017, 33(2): 39
- [9] Xiao CQ, Wu XY, Liu TT, et al. Microbial community structure of activated sludge for biosolubilization of two different rock phosphates[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2017, 182(2): 742-754
- [10] Wu B, Tian JQ, Bai CM, et al. The biogeography of fungal communities in wetland sediments along the Changjiang River and other sites in China[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1299-1309
- [11] Schmidt P A, Bálint M, Greshake B, et al. Illumina metabarcoding of a soil fungal community[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 128-132
- [12] Zhang T, Shao MF, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(6): 1137-1147
- [13] Wang XH, Wen XH, Deng Y, et al. Distance-decay relationship for biological wastewater treatment plants[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(16): 4860-4866
- [14] Zhang B, Wu LW, Wen XH. Potential source environments for microbial community in wastewater treatment plants (WWTPs) in China[J]. *Environmental Science*, 2019, DOI: 10.13227/j.hjck.201901147 (in Chinese)
张冰, 吴林蔚, 文湘华. 全国城市污水处理厂中微生物群落的溯源分析[J]. *环境科学*, 2019, DOI: 10.13227/j.hjck.201901147
- [15] White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[A]//Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, et al. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*[M]. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322
- [16] Wu LY, Wen CQ, Qin YJ, et al. Phasing amplicon sequencing on Illumina MiSeq for robust environmental microbial community analysis[J]. *BMC Microbiology*, 2015, 15: 125
- [17] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, et al.

- Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(8): 1621-1624
- [18] Guo X, Feng JJ, Shi Z, et al. Climate warming leads to divergent succession of grassland microbial communities[J]. *Nature Climate Change*, 2018, 8(9): 813-818
- [19] Chao AN. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270
- [20] Segata N, Izard J, Waldron L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60
- [21] Feng K, Zhang ZJ, Cai WW, et al. Biodiversity and species competition regulate the resilience of microbial biofilm community[J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26(21): 6170-6182
- [22] Wang Y, Liu MK, Miao XC, et al. Effect of urban water supply system on fungi population and community structure[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(1): 20-28 (in Chinese)
王钰, 刘明坤, 苗小草, 等. 城市供水系统对水中真菌数量和群落结构的影响[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(1): 20-28
- [23] Xia Y, Hu M, Wen XH, et al. Diversity and interactions of microbial functional genes under differing environmental conditions: insights from a membrane bioreactor and an oxidation ditch[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(5): 18509
- [24] Wei ZY, Liu YY, Feng K, et al. The divergence between fungal and bacterial communities in seasonal and spatial variations of wastewater treatment plants[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 628-629: 969-978
- [25] Buée M, Reich M, Murat C, et al. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity[J]. *New Phytologist*, 2009, 184(2): 449-456
- [26] Wubet T, Christ S, Schöning I, et al. Differences in soil fungal communities between european beech (*Fagus sylvatica* L.) dominated forests are related to soil and understory vegetation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47500
- [27] Klaubauf S, Inselsbacher E, Zechmeister-Boltenstern S, et al. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria[J]. *Fungal Diversity*, 2010, 44(1): 65-75
- [28] Moll J, Hoppe B, König S, et al. Spatial distribution of fungal communities in an arable soil[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0148130
- [29] Wang P, Xiao HY, Yuan RQ, et al. Fungal community in the estuarine sediment of Poyang Lake[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(5): 1949-1956 (in Chinese)
王鹏, 肖汉玉, 袁瑞强, 等. 鄱阳湖入湖河口沉积物真菌群落结构[J]. *环境科学学报*, 2018, 38(5): 1949-1956
- [30] Wang L, Song ZW, Xu AL, et al. Phylogenetic diversity of airborne microbes in Qingdao downtown in autumn[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(4): 1121-1129 (in Chinese)
王琳, 宋志文, 徐爱玲, 等. 青岛市秋季空气微生物群落多样性[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(4): 1121-1129
- [31] Mothapo N, Chen HH, Cubeta MA, et al. Phylogenetic, taxonomic and functional diversity of fungal denitrifiers and associated N₂O production efficacy[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 160-175
- [32] Findley K, Rodriguez-Carres M, Metin B, et al. Phylogeny and phenotypic characterization of pathogenic *Cryptococcus* species and closely related saprobic taxa in the Tremellales[J]. *Eukaryotic Cell*, 2009, 8(3): 353-361
- [33] Heitman J. Microbial pathogens in the fungal kingdom[J]. *Fungal Biology Reviews*, 2011, 25(1): 48-60
- [34] Řehulka J, Kubátová A, Hubka V. *Cephalotheca sulfurea* (Ascomycota, Sordariomycetes), a new fungal pathogen of the farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Journal of Fish Disease*, 2016, 39(12): 1413-1419
- [35] Landeka Dragičević T, Zanoški Hren M, Gmajnić M, et al. Biodegradation of olive mill wastewater by *Trichosporon cutaneum* and *Geotrichum candidum*[J]. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 2010, 61(4): 399-405
- [36] Marrot B, Barrios-Martinez A, Moulin P, et al. Biodegradation of high phenol concentration by activated sludge in an immersed membrane bioreactor[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 30(2): 174-183
- [37] Wang JL, Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review[J]. *Biotechnology Advances*, 2006, 24(5): 427-451
- [38] Ye JS, Yin H, Mai BX, et al. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(11): 3893-3902
- [39] Chesson P. Mechanisms of maintenance of species diversity[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2000, 31: 343-366
- [40] Hubbell SP. *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*[M]. Princeton: Princeton University Press, 2001
- [41] Wang XH, 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
- [42] Liu J, Yang M, Qi R, et al. Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes[J]. *Water Research*, 2008, 42(8/9): 1907-1918
- [43] Hu M, Wang XH, Wen XH, et al. Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117: 72-79
- [44] Xia Y, Wen XH, Zhang B, et al. Diversity and assembly patterns of activated sludge microbial communities: a review[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(4): 1038-1047
- [45] Maza-Márquez P, Vilchez-Vargas R, Kerckhof FM, et al. Community structure, population dynamics and diversity of fungi in a full-scale membrane bioreactor (MBR) for urban wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2016, 105: 507-519
- [46] Bahram M, Hildebrand F, Forslund SK, et al. Structure and function of the global topsoil microbiome[J]. *Nature*, 2018, 560(7717): 233-237