Vol. 56 No. 2 Feb. 2024

DOI:10.11918/202301051

盐度对共代谢降解底泥多环芳烃的 影响及微生物群落响应

王锋1,2,姚欣泽1,杨 跃3,赵 玥1,董文艺1,4,5,6,王宏杰1,4,5,6,于晓红2,赵子龙1,5,6

(1. 哈尔滨工业大学(深圳) 土木与环境工程学院,广东 深圳 518055;2. 哈尔滨工业大学(深圳) 经济管理学院,广东 深圳 518055;3. 深圳能源环保股份有限公司,广东 深圳 518048;4. 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学), 哈尔滨 150090;5. 深圳市水资源利用与环境污染控制重点实验室(哈尔滨工业大学(深圳)),广东 深圳 518055;

6. 城市高浓度废水处理与资源化实验室(校企联合),广东 深圳 518055)

摘 要:微生物共代谢可有效降解河道污染底泥中的多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs),沿海城市内河与外海交界处的感潮河段由于受潮汐影响,上覆水盐度波动大,但盐度波动对共代谢降解底泥 PAHs 的影响及微生物群落的响应仍不清楚。为此,采用乙酸钠耦合邻苯二甲酸为共代谢外加碳源,考察上覆水 $0 \sim 50\%$ 盐度波动范围对底泥 PAHs 降解的影响,监测底泥理化性质和硫化物质量浓度的变化,解析盐度波动条件下底泥微生物群落的变化。结果表明:低盐环境($0 \sim 20\%$) 更利于共代谢反应进行,PAHs 降解率是高盐环境($0 \sim 20\%$) 的 0 < 0 < 0 < 0 的 0 < 0 < 0 < 0 的还原速率下降。高通量测序表明:盐度波动可显著改变底泥的微生物群落结构,低盐环境下变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)占主导地位,其中,Marinobacterium 菌属和 Marinobacter 菌属为参与共代谢降解 PAHs 的优势属;高盐环境的胁迫效应抑制了多数微生物的活性,但脱硫杆菌门(Desulfobacter)和绿弯菌门(Chloroflexi)丰度持续增加,SBR1031 和 Sulfurovum 成为优势菌属。

关键词:底泥;多环芳烃;盐度;共代谢;微生物

中图分类号: X522

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2024)02-0161-10

Effect of salinity on co-metabolism degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment and response of microbial community

WANG Feng^{1,2}, YAO Xinze¹, YANG Yue³, ZHAO Yue¹, DONG Wenyi^{1,4,5,6}, WANG Hongjie^{1,4,5,6}, YU Xiaohong², ZHAO Zilong^{1,5,6}

(1. School of Civil and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Shenzhen, Shenzhen 518055, Guangdong, China;
 2. School of Economics and Management, Harbin Institute of Technology, Shenzhen, Shenzhen 518055, Guangdong, China;
 3. Shenzhen Energy Environmental Protection Co., Shenzhen 518048, Guangdong, China;
 4. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment (Harbin Institute of Technology), Harbin 150090, China;
 5. Shenzhen Key Laboratory of Water Resource Utilization and Environmental Pollution Control (Harbin Institute of Technology, Shenzhen), Shenzhen 518055, Guangdong, China;
 6. Joint Laboratory of Urban High Strength Wastewater Treatment and Resources Utilization, Shenzhen 518055, Guangdong, China)

Abstract: Microbial co-metabolism can effectively degrade the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in polluted sediment of river. The salinity of overlying water in tide river section at the junction of inland and outland water in coastal cities fluctuates greatly due to tidal influence, but the effect of salinity fluctuation on the co-metabolism degradation of PAHs in the sediment and the response of microbial community are still unclear. In this study, sodium acetate and phthalic acid were used as co-metabolic carbon sources to investigate the effect of fluctuation with a range of 0-50% salinity of overlying water on the degradation of PAHs in the sediment, monitor the changes of the physicochemical properties and sulfide content of the sediment, and analyze the changes of the microbial community in the sediment under the condition of salinity fluctuation. The results showed that a low-salt environment (0-20%) was more conducive to co-metabolism and degradation of PAHs, and the degradation rate of PAHs was 1.5-3.3 times higher than that of a high-salt environment (>20%-50%). Moreover, the high

收稿日期: 2023-01-15;录用日期: 2023-03-22;网络首发日期: 2023-07-06

网络首发地址: https://kns.cnki.net/kcms2/detail/23.1235.T.20230705.1342.004.html

基金项目: 深圳市科技创新委员会可持续发展专项(KCXFZ202002011006362)

作者简介: 王 锋(1992—),男,博士后;董文艺(1967—),男,教授,博士生导师

通信作者: 王宏杰, whj1533@ qq. com

osmotic pressure produced by the high-salt environment would affect the microbial activity and inhibit the cometabolism reaction, resulting in a slow decline in pH and oxidation-reduction potential (ORP) of the sediment and a decrease in the reduction rate of SO₄². High-throughput sequencing showed that salinity fluctuation could significantly change the microbial community structure of the sediment. Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroides were dominant in the low-salt environment while Marinobacterium and Marinobacter were the dominant genera involved in the co-metabolism and degradation of PAHs. In addition, the stress effect of the high-salt environment inhibited the activity of most microorganisms, while the abundance of Desulfobacter and Chloroflexi continued to increase, and SBR1031 and Sulfurovum became the dominant bacteria.

Keywords: sediment; PAHs; salinity; co-metabolism; microorganism

目前,城市河道外源污染问题已基本得到有效 控制,但由河道底泥引发的"内源"污染依旧对水体 造成一定的影响。研究表明,持久性有机物多环芳 烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)广泛存在 于河道污染底泥中[1-3],由于其具有致畸、致癌、致 突变的危害[4],一直都是河道"内源"污染治理的重 难点。美国环境保护署(USEPA)将16种PAHs列为优 先控制污染物,主要分为低分子质量 PAHs(2~3环), 包括萘、苊烯、苊、菲、蒽;中分子质量 PAHs(4 环), 包括荧蒽、芘、苯并[a]蒽、芘;高分子质量 PAHs(5~ 6环),包括苯并[b]蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、 二苯并[a,h] 蔥和苯并[g,h,i] 芘^[5]。目前,针对底 泥中以 16 种 PAHs 为代表的难降解有机物污染,主 要采用强化生物共代谢技术进行处理[5-9]。生物共 代谢通过向底泥中投加外源营养物质,如乙酸钠、葡 萄糖、邻苯二甲酸、甲醇等[10]作为碳源,促进底泥土 著微生物生长繁殖,进而代谢底泥中 PAHs 等难降 解的污染物质[10-11]。因此,微生物菌群是决定共代 谢体系降解目标污染物效果的核心[12-16]。

前期研究表明,微生物共代谢降解底泥 PAHs 中,温度和 pH 是重要的影响因素。Zhong 等[17] 研 究了温度对共代谢降解 PAHs 的影响,表明温度对 PAHs 降解速率影响较大,温度越高, PAHs 降解速 率越快,但温度对 PAHs 降解率无明显影响。Tam 等[18]研究了底泥 pH 对共代谢降解 PAHs 的影响, 发现底泥 pH 对 PAHs 降解率影响较大,不同微生物 对环境 pH 的要求存在一定差异,底泥碱性越强, PAHs 降解率越高。但吴华财等[19-20]的研究表明, 高盐环境会改变反应介质的渗透压而影响微生物活 性,因此,盐度对微生物共代谢降解底泥中污染物也 具有一定的影响。感潮河段水质较常规河道具有高 盐度、高硫酸盐的特性,且上覆水受潮汐反复冲刷的 影响,盐度不断波动,对底泥中 PAHs 共代谢降解、 底泥微生物群落变化及关键酶的活性、代谢速率等 产生了不可预知的影响。

为此,结合目前主流微生物共代谢中添加的外 源营养物质种类[8,21],通过前期小试试验确定乙酸 钠和邻苯二甲酸组合对感潮河段底泥 PAHs 的降解 效果最好[22],并考察了不同盐度波动下基于乙酸钠 和邻苯二甲酸为外加碳源的微生物共代谢体系对河 道底泥 PAHs 降解效果,总有机碳(total organic carbon, TOC)和硫化物(SO²⁻、酸可挥发性硫化物 (acid volatile sulfide, AVS))质量浓度及理化指标 (pH、氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP))的变化,探究了不同盐度下底泥微生物共代 谢过程中的微生物群落响应,以期为基于微生物共 代谢法降解感潮河段底泥 PAHs 的影响研究提供理 论支撑。

验

底泥的采集 1.1

试验底泥取自南方某市某河下游入海口感潮 段,取样点靠近珠江口(北纬 22°75′5718″,东经 113°79′1108″),潮汐特征为不规则半日潮,每天受 两次涨落潮影响,日平均潮差1.2 m,上覆水盐度整 体波动范围为7%~18%。采用抓斗采样器取样, 采样深度为0~60 cm。采集的底泥及上覆水污染 物本底值如表1所示。

表 1 供试底泥及上覆水本底值

Background value of tested sediment and overlying water

采样位置	$ ho(\mathrm{SO_4^{2-}})/(\mathrm{mg\cdot L^{-1}})$	рН	ORP/mV	w(TOC)/%	PAHs/($\mu g \cdot kg^{-1}$)	AVS/(mg·kg ⁻¹)
底泥	2 344.7	7.5	- 150	1.7	6 746.1	1 290.0
上覆水	697.5	7.2	- 44	_	_	_

1.2 试验装置

箱和退水水箱组成(图1),泥水体积比为1:4,水力 本试验系统由模拟河道、进水海水箱、进水淡水 停留时间为12 h。共5组实验,每组进水水箱中配 水盐度不同,配水盐度及反应器主要参数如表 2 所示。根据河道底泥及上覆水的实际情况,试验系统温度控制在(25 ±5)℃。考虑试验所用底泥的取样潮汐河段为不规则半日潮,每天高低潮各两个,一个半日潮之间间隔约 12 h,故每日早 8:00 用蠕动泵定时从盐水箱泵入人工海水以模拟海水涨潮,从淡水

箱泵入等体积的自来水以模拟上游径流,从最低水位到最高水位之间时间间隔设置为1h。每日晚20:00 定时打开排水管出水以模拟退潮,保留一定体积的出水进入海水水箱,第二天作为涨潮海水重新进入反应器,以模拟近海河道受潮汐影响时往复流的特点,试验周期90d。

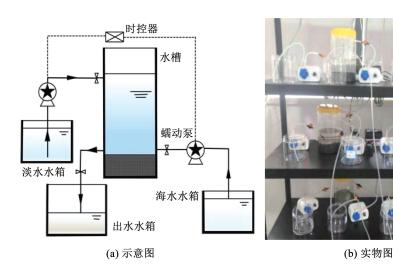


图1 试验装置

Fig. 1 The experimental set-up

表 2 反应器主要参数

Tab. 2 Main parameters of reactor

组别	上覆水盐度/‰	上覆水 SO ₄ - 质量浓度/(mg·L - 1)	共代谢药剂
1	0 ~ 10	0 ~ 594	
2	>10 ~20	>594 ~1 376	
3	> 20 ~ 30	>1 376 ~2 436	乙酸钠 40 mg/g 邻苯二甲酸 0.02 mg/g
4	> 30 ~ 40	>2 436 ~3 154	(1) 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
5	>40 ~50	>3 154 ~3 690	

底泥中投加的共代谢药剂为乙酸钠耦合邻苯二甲酸的复配药剂,乙酸钠作为共代谢反应的主要碳源,邻苯二甲酸作为底泥微生物好氧共代谢反应的促进剂,单位干泥投加量依据前期预实验[22]最终确定为乙酸钠 40 mg/g,邻苯二甲酸 0.02 mg/g。

1.3 样品处理、分析和质量控制

样品处理:准确称取 15.0 g 底泥样品置离心管 (250 mL) 中,加入 30 mL 体积比为 1:1 的二氯甲烷 – 丙酮溶液静置 2 h,匀浆提取 1 min 后,微波振荡提取 15 min,10 000 r/min 转速下离心分离 5 min,提取过程重复 2 次,取上层有机相清液 5 mL,用浓缩仪 40 ℃浓缩干,正己烷定容至 2.5 mL,漩涡 15 s 后过 0.22 μm 滤膜至进样瓶,等待上机。

样品分析:用气相色谱 - 质谱联用仪(GC-MS,

Agilent 6890 Plus GC-5973MSD, 美国) 对底泥中 16 种PAHs 进行分析,采用两种升温分析程序。仪器分析条件及升温分离程序如下:选择性离子扫描模式(SIM)定量,HP-5MS 细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),以 He 作载气,流速 mL/min;无分流进样(进样体 1 μL),进样口温度 280 $^{\circ}$ C,PAHs 测定初始炉温 60 $^{\circ}$ C;程序升温到 300 $^{\circ}$ C(5 $^{\circ}$ C/min),整个程序运行时间 68 min。MS 条件:EI 电离源 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}$ C,扫描范围50 ~550 u。

质量控制:实验过程进行严格的质量控制,根据特征分子离子峰、保留时间以及质谱图的质谱数据库(NIST2002)匹配分析对样品中的组分进行定性分析,用指示物的回收率监测和评价实验质量。为了保证数据质量,采用了方法空白和样品平行样等

质控手段,控制实验流程中的人为因素污染以及操作过程的准确性。16 种 PAHs 的标准曲线相关系数均大于99.9%,底泥样品中一批测13 个样,包括1个空白、1 个平行、1 个加标回收率,有效数据10 个,PAHs 的空白加标回收率为75.5%~100%。

1.4 检测方法

1.4.1 常规指标检测方法

底泥常规指标的检测主要包括 pH、ORP、AVS、SO₄²⁻、TOC。pH 和 ORP 采用多参数水质测定仪(YSI pro1020,美国)测定。底泥 AVS 采用酸吹脱仪吹脱后用亚甲基蓝分光光度法分析测定,底泥 SO₄²⁻质量浓度采用清水浸提后用离子色谱(IC)分析测定,底泥 TOC 采用高温灼烧法测定。各测定值中的底泥质量均以干质量计。

1.4.2 微生物群落结构测定

底泥细菌总 DNA 提取、PCR 操作和 16S rRNA 测序由上海美吉生物医药公司完成。首先,采用 Power Soil DNA 提取试剂盒(MO Biomedical, U. S.) 对样本中的 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,引 物 为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'), 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% (质量分 数)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 QuantiFluorTM-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。最后,按照 Illumina MiSeq 平台的测序要求进行测序。

1.4.3 数据处理与分析

采用 Excel 2021 和 Origin 2018 进行数据处理和作图,运用 SPSS 20.0 进行单因素方差(ANOVA)分析,采用最小显著差异法(LSD)比较数据组间的差异(P<0.05)。采用 Mothur 软件计算土中细菌的ACE 指数、Chaol 指数、Shannon 指数和 Simpson指数,采用 R 语言的"gtern"包对不同样本的物种组成进行比较分析。

2 结果与讨论

2.1 多环芳烃的降解效果

上覆水不同盐度波动条件下(0~50‰),90 d

内底泥微生物共代谢降解 PAHs 质量分数变化如 图2所示。随着上覆水盐度波动,底泥中16种 PAHs 的降解率经历了两次大幅下降。当盐度波动 从 0~20‰升高到 > 20‰~40‰时, PAHs 的降解率 从42.0%下降至29.0%; 当盐度波动从 > 20% ~ 40‰升高到 > 40‰ ~ 50‰ 时, PAHs 的降解率从 29.2%下降至12.9%。低盐环境(0~20%)下底泥 PAHs 的降解率是高盐环境(>20%~~50%)的 1.5~3.3 倍。在反应第90天时,0~10‰、 >10% ~ 20% 、> 20% ~ 30% 、> 30% ~ 40% 和 >40% ~50% 盐度条件下底泥 PAHs 的质量分数分 别为 3 073、3 117、3 821、3 809 和 4 683 μg/kg。这 些结果表明盐度的升高对共代谢降解底泥 PAHs 具 有显著影响(P<0.05),这是因为高盐环境会抑制 传统微生物的生长和降解能力,破坏正常的代谢功 能,抑制 PDO、C120、C230 等关键的 PAHs 降解酶 活性[23]。彭子淇等[24]也证明,高盐度环境会迫使 PAHs 降解菌发生脱水和 PDO、C120 酶失活,致使 PAHs 降解率较低。Thomas 和 Vijendra 等^[25-26] 的 研究表明,共代谢降解过程主要通过促进 PAHs 降 解菌的生长富集来加强 PAHs 的降解。本研究在相 同菌群特征的5组供试底泥中,给予同等的碳源水 平.乙酸钠为底泥土著微生物的生长提供了优质的 碳源,邻苯二甲酸作为酶促反应的中间产物,有效促 进了厌氧降解反应的正向进行[27]。随着不同反应 体系中盐度的升高,PAHs的去除率逐渐降低,可见 过高盐度会抑制底泥微生物共代谢降解 PAHs。

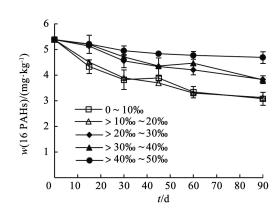


图 2 上覆水盐度波动对 PAHs 降解效果的影响

Fig. 2 Effect of salinity fluctuation of overlying water on PAHs degradation

2.2 总有机碳质量分数变化

不同盐度波动条件下,底泥微生物共代谢降解 周期 90 d 内 TOC 质量分数的变化如图 3 所示。共代谢全周期内不同上覆水盐度条件下,TOC 质量分数均呈现先上升,然后缓慢下降并逐渐稳定的趋势。不同盐度下底泥 TOC 的质量分数在前 10 d 内均有

提高,这是因为共代谢中添加的乙酸钠和邻苯二甲 酸为外加碳源,使得底泥中 TOC 质量分数迅速升 高。反应前期(第0~60天),上覆水盐度在低盐 (>10%~~30%)条件下 TOC 降解率高于上覆水过 低盐度(0~10%)和高盐度(>30%~~50%)情形。 共代谢反应后期(第60~90天),不同上覆水盐度 波动条件下, TOC 降解率相近。5 组实验组反应 60 d时, 底泥 TOC 的质量分数分别为 2.38%、 1.99%、2.08%、2.34%和2.56%,反应90d时,各 组底泥 TOC 的质量分数分别为 1.91%、2.10%、 2.31%、1.99%和2.04%,上覆水盐度不再是共代 谢降解 TOC 的限制因素。共代谢前期低盐环境 (>10%~~30%)底泥 TOC 降解率是过低盐环境 (0~10%)的1.1~1.2倍,高盐环境(>30%~~ 50‰)的1.1~1.3倍(P<0.05)。前期过低盐度上 覆水(0~10‰) TOC 降解效果相对较低,原因可能 是过低盐环境下降解 TOC 的相关微生物为非优势 菌属[28];前期高盐环境(>30%~50%)下,TOC降 解效果同样受到限制,这是因为高盐环境会抑制土 著微生物的代谢,致使共代谢速率下降,导致底泥 TOC 残留量较高[29];而后期盐度对 TOC 降解率的 影响降低,这可能与后期盐度达到泥-水平衡有 关^[30]。因此,适宜的上覆水盐度对底泥 TOC 的降 解效果具重要意义。

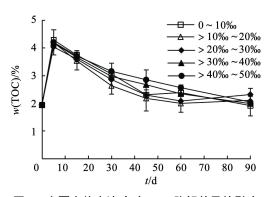


图 3 上覆水盐度波动对 TOC 降解效果的影响

Fig. 3 Effect of salinity fluctuation of overlying water on TOC degradation

2.3 底泥理化性质变化

2.3.1 pH

上覆水不同盐度波动条件下,微生物共代谢90 d内底泥 pH 的变化如图 4(a) 所示。当上覆水盐度较低(0~20‰)时,底泥 pH 在 90 d 代谢周期中呈现先降低后升高的趋势。当上覆水盐度波动范围为0~10‰时,共代谢反应在第0~7天,底泥 pH 从7.58下降至7.17;第7~90天,底泥 pH 逐步上升至8.11。上覆水盐度波动范围在>10‰~20‰时,反应在第0~7天时,底泥 pH 从7.58下降至7.10;第

7~90 天时,底泥 pH 逐步上升至 8.02。上覆水盐 度较高(>30%~~50%)时,底泥 pH 在反应过程中 呈现持续小幅度下降趋势。上覆水盐度波动范围在 40% ~ 50% 时,底泥 pH 下降幅度最大,反应 90 d 时 pH 降至 7.01,表明随着盐度升高底泥 pH 有下降的 趋势,但差异水平不显著(P>0.05)。在反应过程 中,前期pH的下降可能与反应过程中产生有机酸 有关。Michael等[31]研究表明,微生物共代谢分解 大分子物质的过程中会产生乙酸和丙酸等中间产 物,致使反应介质酸性增加;而后期造成不同盐度段 pH 显著差异的原因可能是底泥中 SO²⁻ 的质量浓 度差异[32]。在低盐度的底泥环境中,SO₄²质量浓 度一般低于1000 mg/L,此时底泥中各种代谢反应 同时发生,包括硫酸盐还原和产甲烷过程[33]。硫酸 盐还原过程导致 H,S 酸性气体的产生,产甲烷过程 利用 CO, 等原料生成CH, [34], 伴随 H,S 和 CH, 的溢 散底泥碱度增大。但在高盐环境下,高渗透压使底 泥中多数厌氧微生物菌群脱水而失活[25],引发底泥 中的厌氧产酸和产甲烷反应过程停滞,故 pH 波动 较小。

2.3.2 ORP

上覆水不同盐度波动条件下,底泥微生物共代谢 90 d内 ORP 的变化如图 4(b)所示。

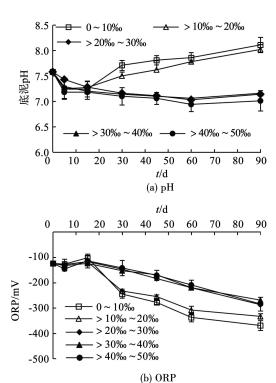


图 4 上覆水盐度波动对底泥 pH 和 ORP 变化的影响

Fig. 4 Effect of salinity fluctuation of overlying water on the changes of sediment pH and ORP

在整个代谢周期内,随着共代谢反应的进行,底

泥 ORP 整体呈下降趋势。当上覆水盐度较低 (0~20%e)时,底泥 ORP 下降显著,反应 90 d 时, 0~10%e、>10%e~20%e盐度条件下底泥 ORP 分别为-369、-333 mV;当上覆水盐度较高(>20%e~50%e)时,底泥 ORP 下降相比低盐环境受到一定程度抑制,反应 90 d 时,>20%e~30%e、>30%e~40%e、>40%e、>50%e盐度条件下底泥 ORP 分别为-287、-269、-284 mV。由此可知,过高的盐度会对底泥中的微生物厌氧代谢过程造成一定的抑制,减缓 ORP 的下降。这主要是由于高盐环境产生的高渗透压会使底泥中多数厌氧微生物脱水而失去活性,抑制了底泥中厌氧代谢反应,改变微生物群落结构[19-20],使得微生物共代谢反应和速率下降。

2.4 底泥硫形态的转化

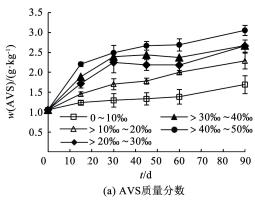
2.4.1 AVS 质量分数

不同盐度波动条件下,微生物共代谢90 d 内底 泥 AVS 质量分数如图 5(a) 所示。各实验组底泥 AVS 质量分数均呈逐渐上升的趋势, 反应 90 d 时, 随着盐度的升高,不同实验组 AVS 质量分数分别为 1 691、2 283、2 667、2 660、3 051 mg/kg。 这主要是 由于盐度越高的上覆水中 SO₄ 质量浓度越高,表 明盐度的升高对底泥 AVS 质量分数具有显著影响 (P < 0.05)。因此,在浓度差的作用下 SO_4^{2-} 向底泥 中转移的当量越多。所以,在共代谢反应的长周期 内,经硫酸盐还原菌还原作用后转化成的硫化物当 量越高。在共代谢反应前20 d时,随上覆水盐度的 升高,底泥 AVS 质量分数呈梯度升高,而在反应 20 d后,高盐环境(>20%~50%)下 AVS 的上升速 率明显减缓。这是由于过高的盐度会抑制底泥中 PAHs 降解菌群的活性[35],进而抑制厌氧共代谢降 解反应的发生,SO²⁻ 的厌氧还原反应也会受到一定 的影响,还原产物 S2-也相应减少。

2.4.2 SO₄ 质量浓度

同盐度波动条件下,微生物共代谢 90 d 内底泥 SO_4^{2-} 质量浓度变化见图 5 (b)。在低盐环境(0~10%)下,底泥 SO_4^{2-} 质量浓度呈逐渐下降趋势,从 1 245 mg/L下降至 248 mg/L;在高盐环境(>20%~50%)下,底泥 SO_4^{2-} 质量浓度虽不断波动但无明显下降趋势,盐度为 > 20%~30%~、>30%~40%~、>40%~50%的上覆水环境,底泥 SO_4^{2-} 质量浓度分别保持在 1 311、2 308、3 039 mg/L 左右。这些结果表明盐度的升高对底泥 SO_4^{2-} 具有显著影响(P<0.05)。结合底泥理化指标和 AVS 质量分数变化可知,微生物共代谢反应的过程中会导致底泥厌氧状态加剧,对应的底泥 ORP 下降,使 SO_4^{2-} 向 S^{2-} 转化,对应的底泥中 AVS 质量分数逐渐升高。同时,

由于泥 - 水两相界面存在离子扩散效应^[36],底泥 SO²⁻ 会从质量浓度较高的液相扩散至质量浓度较低的固相中,直至固 - 液相间 SO²⁻ 质量浓度平衡。另外,在低盐环境下,底泥硫酸根还原菌未受高盐度影响,SO²⁻ 质量浓度显著下降,与底泥 PAHs 质量分数降低显著相关(P<0.05)。这主要是因为在硫酸盐还原条件下可有效促进 PAHs 的降解。Chang等^[37]考察了3种不同厌氧条件下对 PAHs 降解效果的影响,结果表明,生物降解率从高到低的顺序是硫酸盐还原条件 > 产甲烷条件 > 硝酸盐还原条件。所以,在厌氧降解 PAHs 过程中,硫酸盐还原条件。所以,在厌氧降解 PAHs 过程中,硫酸盐还原素产甲烷菌和真菌都参与了 PAHs 的降解,且硫酸盐还原菌可能是构成适应 PAHs 降解菌群的主要组成部分。



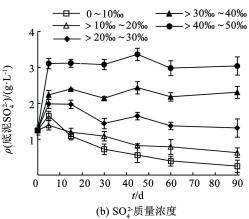


图 5 上覆水盐度波动对底泥 AVS 和 SO₄²⁻ 变化的影响 Fig. 5 Effect of salinity fluctuation of overlying water on the changes of sediment AVS and SO₄²⁻ contents

2.5 底泥微生物群落响应

2.5.1 微生物群落的丰富度和多样性

对不同上覆水盐度波动条件下底泥微生物群落的丰富度和多样性进行分析,每个样本获得超过76 000 个序列(表 3)。低盐度环境(0~10‰)下底泥中的 OTUs 总数较高(774),当盐度上升到>40‰~50‰时,OTUs 总数下降为616。不同上覆

水盐度波动条件下,底泥样本微生物多样性指标 Shannon 指数在 5.663~6.369 变化,Simpson 指数在 0.006~0.032 变化。其中,Shannon 指数与上覆水 盐度呈正相关,上覆水盐度越高,Shannon 指数越 高;Simpson 指数与上覆水盐度呈负相关,上覆水盐 度越高,Simpson 指数 越低。Shannon 指数和 Simpson 指数分别反映了微生物群落的异质性和多 样性^[38-39],可见上覆水盐度越高时样品中微生物群 落均匀性越差;上覆水盐度越低时样品中微生物个 体分配越均匀。

表 3 中的覆盖率指数为 0.977~0.981, 表明本

研究构建的序列库涵盖了微生物群落的多样性,5组样品中上覆水盐度越低的组别覆盖率指数越高。Chaol 指数为3160~3748,ACE 指数变化范围为3201~3848。其中,低盐度环境(0~10%)下底泥样品中 Chaol 指数和 ACE 指数都是5组中最高,表明在低盐环境下底泥样品中微生物物种数最多。高盐度环境(>40%~50%)下底泥样品中 Chaol 指数和 ACE 指数都是5组中最低,表明厌氧微生物对盐度胁迫环境的适应性,在上覆水盐度较高的环境条件下,底泥微生物种类数量减少但生物多样性得以保持稳定。

表 3 不同上覆水盐度波动条件下底泥细菌多样性指数

Tab. 3 Bacterial diversity index of sediment under different overlying water salinity fluctuation conditions

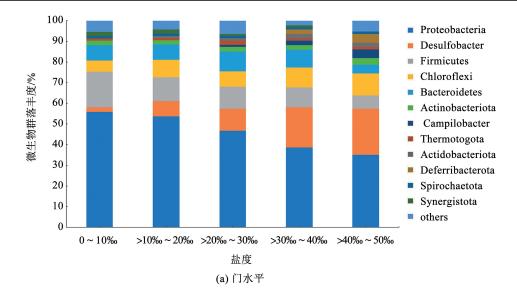
样品编号	测序量	OTUs	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chaol 指数	覆盖率指数
0 ~ 10%o	81 692	774	5.663	0.032	3 848	3 748	0.981
> 10%o ~ 20%o	80 294	752	6.073	0.007	3 451	3 397	0.979
> 20% o ~ 30% o	79 418	695	6. 191	0.007	3 811	3 730	0.978
> 30%o ~ 40%o	76 779	705	6.310	0.006	3 666	3 527	0.977
>40%o ~50%o	81 314	616	6.369	0.006	3 201	3 160	0.977

2.5.2 微生物群落结构的变化

通过高通量测序技术分析底泥样品中细菌群落特性,解析上覆水盐度波动变化对微生物群落结构的影响。所有底泥样本的OTUs均在97%鉴别阈值控制内。门水平和属水平上底泥微生物群落的变化如图6所示。

图 6(a)显示,低盐度环境下(0%~~10%)底泥 样品中微生物群落主要由变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门 (Bacteroidetes)3个优势菌门组成,分别占比52%、 16% 和 7%。随着盐度增加, Proteobacteria 和 Firmicutes 种群丰度逐渐降低;相反,脱硫杆菌门 (Desulfobacter)和绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度显著 增加。低盐度环境(0~10%)中, Desulfobacter和 Chloroflexi 种群丰度占比分别为 2% 和 5%, 当上覆 水盐度逐步增加至高盐(>40%~~50%)状态时, Desulfobacter 和 Chloroflexi 种群丰度占比达到 21% 和10%。已有报导表明, Proteobacteria 和 Firmicutes 是典型的芳烃类污染物高效降解菌^[40]。Firmicutes 可以诱导底泥中大分子有机物快速向代谢中间产物 有机酸转化,进而加快共代谢降解 PAHs 的速 率[41]。由此可推测,上覆水盐度是通过抑制 Proteobacteria 和 Firmicutes 这两类污染物降解菌群 的丰度,进而导致共代谢降解 PAHs 的能力下降。 Desulfobacter 是一种化能自养型细菌^[42],在氧化硫 化物的过程中获得能量,当上覆水盐度升高时,硫酸 盐质量浓度也相应增加,在微生物共代谢过程中转 化成的硫化物随反应时间延长逐渐增多,进而诱导 了 Desulfobacter 种群丰度的大幅增长。

图 6(b)显示了随上覆水盐度的增加,底泥微生 物属水平上群落结构的变化,不同上覆水盐度波动 条件下底泥样品中微生物种群丰度和组成相差较 大。在低盐度环境下(0~10%),海细菌属 (Marinobacterium)和海杆菌属(Marinobacter)为优势 属(相对丰度高于 2%), Marinobacterium 和 Marinobacter 相对丰度分别为 2.94% 和 2.88%。 Marinobacter 属于 α-变形菌 (α-Proteobacteria)的优 势菌属,参与芳香烃的共代谢降解[43]。当上覆水盐 度升高(超过10‰),底泥中广泛存在的 Arcobacteraceae Denitrovibrio Oceanicaulis Thalassospira 的种群丰度显著降低,可见高盐环境对 河道底泥土著菌群的胁迫影响。随上覆水盐度的升 高, livecontrolB21, Sulfurovum, SBR1031 和 VadinHA17 的种群丰度显著升高,说明此4类菌属与 Arcobacteraceae 等受高盐胁迫的菌属具有不同的环 境适应机制,高盐环境诱导了其种群丰度的增长。



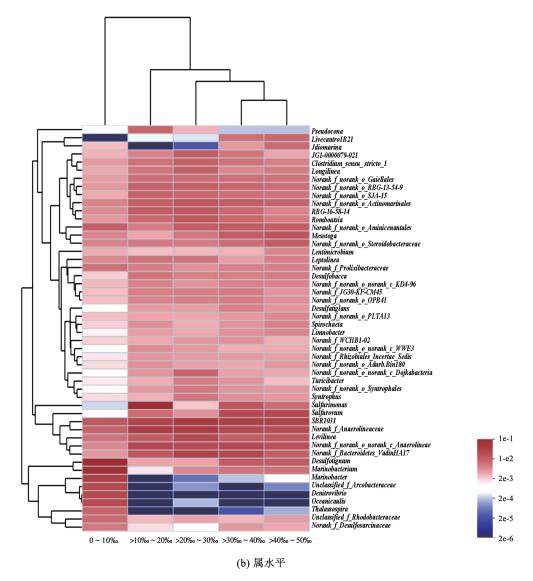


图 6 不同上覆水盐度波动下底泥微生物门水平群落组成图和属水平群落丰度热图

Fig. 6 Horizontal community composition diagram and genus level community abundance heat map of sediment microbial phylum under different overlying water salinity fluctuations

3 结 论

- 1)低盐环境更利于微生物共代谢降解底泥 PAHs。上覆水盐度过高对乙酸钠联合邻苯二甲酸 的共代谢降解体系存在抑制作用,底泥 PAHs 降解 率受限。同样,对底泥 TOC 的降解也表现出类似的 影响。
- 2)高盐环境产生的高渗透压会影响微生物活性,抑制共代谢反应的进行。随上覆水盐度的升高,底泥共代谢反应过程中 pH 不再升高, ORP 下降变缓, SO₄² 的还原速率下降。
- 3)高盐环境对河道底泥土著微生物菌群具有胁迫效应。低盐环境下 Marinobacterium 和 Marinobacter 为共代谢降解 PAHs 的优势菌属,而在高盐胁迫下这两类优势菌群的活性受到抑制,耐盐菌 SBR1031 和 Sulfurovum 逐渐成为新的优势菌属。
- 4)在实际工程应用中,上覆水为低盐环境(0~20‰)下,更适合采用微生物共代谢技术降解污染河道底泥 PAHs。

参考文献

- [1] 刘烨, 王玉洁, 汪福顺, 等. 多环芳烃在新安江河流 水库体系表层沉积物中的分布、来源及生态风险评估[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2020, 26(1): 113

 LIU Ye, WANG Yujie, WANG Fushun, et al. Distribution, source and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Xin'an Jiang river-reservoir system[J]. Journal of Shanghai University (Natural Science Edition), 2020, 26(1): 113
- [2] 林莉, 董磊, 李青云, 等. 三峡库区水体和底泥中多环芳烃和邻苯二甲酸酯类分布和来源[J]. 湖泊科学, 2018, 3(3): 660 LIN Li, DONG Lei, LI Qingyun, et al. Distribution and source of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalates in water and sediment of the Three Gorges Reservoir[J]. Lake Science, 2018, 3(3): 660. DOI: 10.18307/2018.0308
- [3] 张敬锁,周洁,刘晓霞,等.京郊灌渠水体和底泥中多环芳烃污染特征[J].环境污染与防治,2017,39(3):236 ZHANG Jingsuo, ZHOU Jie, LIU Xiaoxia, et al. Pollution characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of irrigation canals in Beijing suburbs[J]. Environmental Pollution and Prevention, 2017, 39(3):236. DOI: 10.15985/ j.cnki.1001-3865.2017.03.003
- [4] DAVID K, JONATHAN D, BRIAN Y, et al. Turbidity hysteresis in an estuary and tidal river following an extreme discharge event [J]. Ecology Environment & Conservation, 2020, 47 (15): 587. DOI: 10.1029/2020GL088005
- [5] MA Xiaodong, LI Xia, LIU Junxiang, et al. Soil microbial community succession and interactions during combined plant/whiterot fungus remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Science of the Total Environment, 2020, 752: 1422. DOI: 10. 1016/j. scitotenv. 2020. 142224
- [6] CHAUDHARY D K, KIM J. New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2019, 142: 58. DOI: 10.1016/j.ibiod.2019.05.001
- [7]孙井梅, 刘晓朵, 汤茵琪, 等. 微生物 生物促生剂协同修复河

- 道底泥-促生剂投量对修复效果的影响[J]. 中国环境科学, 2019, 39(1): 351
- SUN Jingmei, LIU Xiaoduo, TANG Yinqi, et al. The effect of the amount of micro-organism-biological promoters on the remediation of river sediment [J]. China Environmental Science, 2019, 39(1): 351
- [8]郑政伟,李开明,朱芳,等. 底泥中多环芳烃的微生物降解与原位修复技术[J]. 环境科学与技术,2010,33(6):49
 ZHENG Zhengwei, LI Kaiming, ZHU Fang, et al. Microbial degradation and in-situ remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment [J]. Environmental Science and Technology, 2010, 33(6):49. DOI: 10.3969/j. issn. 1003 6504. 2010. 06.012
- [9] HOANG V, NGO H, GUO Wenshan, et al. Micropollutants cometabolism of microalgae for wastewater remediation; effect of carbon sources to cometabolism and degradation products[J]. Water Research, 2020, 183; 1159. DOI: 10.1016/j.watres.2020.115974
- [10] LI Dunjie, SUN Liuying, FANG Hongli, et al. Effect of temperature on the anaerobic digestion of cardboard with waste yeast added; dose-response kinetic assays, temperature coefficient and microbial co-metabolism [J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 275; 1229. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.122949
- [11] ZHANG Shuangfei, HUANG Zhong, WU Hui. Metagenomic analysis exhibited the co-metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacterial community from estuarine sediment [J]. Environment International, 2019, 129: 308. DOI: 10. 1016/j. envint. 2019. 05. 028
- [12] BARZEGAR G, JORFI S, SOLTANI C, et al. Enhanced sono-Fenton-like oxidation of PAH-contaminated soil using nano-sized magnetite as catalyst; optimization with response surface methodology [J]. Soil and Sediment Contamination; An International Journal, 2017, 26(5); 538
- [13] 衣俊. 潮滩沉积物微生物群落表征及其对污染物的响应研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2019: 18

 YI Jun. Study on microbial community characterization and its response to pollutants in tidal flat sediments [D]. Shanghai: East China Normal University, 2019: 18
- [14] SUN Wei, GAO Han, XIE Chu, et al. Effect of tidal flooding on ecosystem CO₂ and CH₄ fluxes in a salt marsh in the Yellow River delta [J]. Estuarine Coastal and Shelf Science, 2019, 232: 106512. DOI: 10.1016/j.ecss.2019.106512
- [15] FANYI Z, JIAN S, BINLIANG L, et al. Seasonal hydrodynamic interactions between tidal waves and river flows in the Yangtze estuary[J]. Journal of Marine Systems, 2018, 186: 17. DOI: 10. 1016/j. jmarsys. 2018. 05. 005
- [16]王郁,李咏梅, 林逢凯,等. 黄浦江底泥对多环芳烃吸附机理的研究[J]. 环境化学,1997,33(1):15 WANG Yu, LI Yongmei, LIN Fengkai, et al. Study on the adsorption mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons by Huangpu River sediment [J]. Environmental Chemistry, 1997, 33(1):15. DOI: 10.1007/BF02951625
- [17] ZHONG Yin, ZOU Shichun, LIN Li, et al. Effects of pyrene and fluoranthene on the degradation characteristics of phenanthrene in the cometabolism process by *Sphingomonas* sp. strain PheB4 isolated from mangrove sediments [J]. Marine Pollution Bulletin, 2010, 60(11); 2043. DOI; 10.1016/j. marpolbul. 2010.07.017
- [18] TAM N F, WONG Y S. Effectiveness of bacterial inoculum and mangrove plants on remediation of sediment contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Marine Pollution Bulletin, 2008, 57(6): 716. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2008.02.029
- [19]吴华财,李拓. 城区感潮河道底泥污染特征调查研究[J]. 广东水利水电,2018(10):23 WU Huacai, LI Tuo. Investigation and study on sediment pollution characteristics of tidal river in urban area[J]. Guangdong Water Resources and Hydropower, 2018(10):23

- [20]刘大海,李彦平,李铁刚,等. 海洋沉积物修复技术进展及发展方向初探[J]. 环境科学与技术,2017,40(增刊1):150 LIU Dahai, LI Yanping, LI Tiegang, et al. Progress and development direction of marine sediment remediation technology[J]. Environmental Science and Technology, 2017, 40(Sup.1):150
- [21] 王鸣, 吴海珍, 刘雷, 等. 厌氧条件下不同共基质对焦化污泥降解多环芳烃的影响[J]. 生态环境学报, 2016, 25(3): 510 WANG Ming, WU Haizhen, LIU Lei, et al. Effect of different co-substrates on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by coking sludge under anaerobic conditions[J]. Journal of Ecological Environment, 2016, 25(3): 510. DOI: 10. 16258/j. cnki. 1674 5906. 2016. 03. 021
- [22] WANG Feng, DONG Wenyi, WANG Hongjie, et al. Enhanced bioremediation of sediment contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons by combined stimulation with sodium acetate/phthalic acid[J]. Chemosphere, 2022, 291: 132770. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.132770
- [23] GUO Guang, HE Fen, TIAN Fang, et al. Effect of salt contents on enzymatic activities and halophilic microbial community structure during phenanthrene degradation [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 110; 8. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.02.007
- [24] 彭子淇, 罗宇同, 陆阳阳, 等. 我国主要河口沉积物中多环芳 烃细菌降解及生物修复强化方式的研究进展[J]. 微生物学 报, 2022, 62(6): 2311
 PENG Ziqi, LUO Yutong, LU Yangyang, et al. Research progress on bacterial degradation and enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of major estuaries in China[J]. Journal of Microbiology, 2022, 62(6): 2311
- [25] THOMAS S, SOLTERO R. Recent sedimentary history of a eutrophic reservoir-Long Lake, Washington [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1977, 34(5): 669. DOI: 10.1139/f77 103
- [26] VIJENDRA S, ACHLESH D. Effects of sophorolipids augmentation on the plant growth and phytoremediation of heavy metal contaminated soil [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 280 (1): 1. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.124406
- [27]朱凡, 洪湘琦, 闫文德, 等. PAHs 污染土壤植物修复对酶活性的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(3): 581
 ZHU Fan, HONG Xiangqi, YAN Wende, et al. Effect of phytoremediation of PAHs contaminated soil on enzyme activity[J]. Journal of Ecology, 2014, 34(3): 581. DOI: 10.5846/stxb201301040020
- [28] 常春. 盐胁迫对苜蓿营养品质及附着微生物群落的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(1): 11 CHANG Chun. Effects of salt stress on nutrient quality and attached microbial community of alfalfa[J]. Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(1): 11. DOI: 10.3969/j. issn. 1006 – 267x. 2023. 01.043
- [29]安鸿雪. 盐度对序批式生物膜反应器性能及微生物活性影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49(7): 8

 AN Hongxue. Effect of salinity on performance and microbial activity of sequencing batch biofilm reactor [J]. Journal of Ocean University of China (Natural Science Edition), 2019, 49(7): 8. DOI:10.19965/j.cnki.iwt,2023-01-14
- [30] 李季东, 肖利娟, 韩博平. 一座南亚热带中富营养水库夏季浮游植物群落的稳态平衡分析[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(6): 833
 LI Jidong, XIAO Lijuan, HAN Boping. Steady state balance analysis of phytoplankton community in a subtropical mesotrophic reservoir in summer[J]. Journal of Applied and Environmental Biology, 2011, 17(6): 833. DOI: 10.3724/SP.J.1145.2011.00833
- [31] MICHAEL H K, CHIHHAO F, SHUYUAN P, et al. Kinetics of competitive cometabolism under aerobic conditions [J]. Water-

- Energy Nexus, 2020, 3:62. DOI: 10.1016/j.wen.2020.04.001
- [32] WU Siyu, HE Guangxuan, CAI Xiaojing, et al. Effect of tidal flooding on ecosystem CO₂ and CH₄ fluxes in a salt marsh in the Yellow River delta [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2019, 33: 106512. DOI: 10.1016/j.ecss.2019.106512
- [33] HORVATH R S. Enhancement of co-metabolism of chlorobenzoates by the co-substrate enrichment technique [J]. Applied Microbiology, 1973, 25(6): 961. DOI: 10.1128/AEM.25.6.961 963.1973
- [34]吴自军,任德章,周怀阳.海洋沉积物甲烷厌氧氧化作用(AOM)及其对无机硫循环的影响[J].地球科学进展,2013,28(7):765 WU Zijun, REN Dezhang, ZHOU Huaiyang. Anaerobic oxidation of methane (AOM) in marine sediments and its effect on inorganic sulfur cycle[J]. Progress in Earth Science, 2013, 28 (7):765.
- [35] IDA H S, MARIT S M, NILS-KÅRE B, et al. Purification and characterization of a monomeric isocitrate dehydrogenase from the sulfate-reducing bacterium desulfobacter vibrioformis and demonstration of the presence of a monomeric enzyme in other bacteria [J]. FEMS Microbiology Letters, 1998, 160 (1): 75. DOI: 10.1016/S0378 1097 (98) 00083 4

DOI: 10.11867/j. issn. 1001 - 8166. 2013. 07. 0765

- [36] 段文松, 黄观超, 郝敏, 等. 环境因素变化下城市黑臭水体中硫元素的释放特性[J]. 科学技术与工程, 2020, 20(31): 13072 DUAN Wensong, HUANG Guanchao, HAO Min, et al. The release characteristics of sulfur in urban black and odorous water under the change of environmental factors[J]. Science, Technology and Engineering, 2020, 20(31): 13072. DOI: 10.12030/j. cjee. 202008188
- [37] CHANG B V, SHIUNG L C, YUAN S Y. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil [J]. Chemosphere, 2002, 48(7): 717. DOI: 10.1016/S0045-6535(02)00151-0
- [38]李志杰,郭长城,石杰,等. 高通量测序解析多环芳烃污染盐碱土壤翅碱蓬根际微生物群落多样性[J]. 微生物学通报,2017,44(7):1602

 LI Zhijie, GUO Changcheng, SHI Jie, et al. High-throughput sequencing and analysis of microbial community diversity in the rhizosphere of pteridophyte in saline-alkali soil contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Microbiology Bulletin, 2017,44(7):1602. DOI: 10.13344/j. microbiol. china. 170164
- [39]李小飞, 侯立军, 刘敏. 长江口潮滩沉积物古菌群落结构与多样性[J]. 中国环境科学, 2019, 39(4): 1744 LI Xiaofei, HOU Lijun, LIU Min. The structure and diversity of archaea community in tidal flat sediments of the Yangtze River estuary[J]. China Environmental Science, 2019, 39(4): 1744
- [40] KERR R P, CAPONE D G. The effect of salinity on the microbial mineralization of two polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments [J]. Marine Environmental Research, 1988, 26: 181. DOI: 10.1016/0141-1136(88)90026-8
- [41] 杨青青, 李朋辉, 黄清辉. 河口盐度梯度下溶解态核酸的微生物可利用性[J]. 环境科学, 2013, 34(7): 2597 YANG Qingqing, LI Penghui, HUANG Qinghui. Microbial availability of dissolved nucleic acid under salinity gradient in estuaries[J]. Environmental Science, 2013, 34(7): 2597
- [42] MASAYA F, TAICHI S, KENTA T, et al. Author correction: iron acquisition system of *Sphingobium* sp. strain syk-6, a degrader of lignin-derived aromatic compounds [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1038. DOI: 10.1038/s41598 - 020 - 73843 - 1
- [43] SARKAR J, KAZY S K, GUPTA A, et al. Biostimulation of indigenous microbial community for bioremediation of petroleum refinery sludge [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1407. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01407

编辑 刘 彤)