

基于宏基因组测序技术揭示渗滤液处理工艺 对微生物功能的影响

唐 娜^{1,3},常 宁²,沈伟涛⁴,陈 苹^{2,4},张圣虎^{2,4},朱 锐⁵,胡双庆¹,康国栋²,鲁磊磊²

(1.上海市环境科学研究院 生态环境部新污染物环境健康影响评价重点实验室,上海 200233;
2.生态环境部 南京环境科学研究所,南京 210042; 3.呼和浩特市生态环境监控中心,呼和浩特 010000;
4.中国药科大学 工学院,南京 211198;5.内蒙古自治区生态环境综合行政执法总队,呼和浩特 010000)

摘要:在垃圾的卫生填埋过程中会产生富含高浓度有机物与大量氨氮的垃圾渗滤液。目前,针对渗滤液的处理广泛采用膜生物反应器(MBR)技术,以实现高效去除高浓度污染物。然而,关于MBR对渗滤液中微生物功能的影响,特别是高级膜处理工艺对其的具体作用,尚存诸多未知。本研究收集了来自4个不同渗滤液处理阶段的样品,涵盖未处理(T_{HHS1})、超滤(T_{BS1})、纳滤(T_{BS4})及反渗透(T_{BS5})等关键环节。通过宏基因组测序技术对渗滤液源微生物功能基因进行分析,探索不同处理阶段微生物群落结构的变化及其对渗滤液源微生物碳、氮、磷循环相关基因的影响。研究结果显示,MBR技术显著降低了渗滤液中微生物菌群的丰度与多样性。具体而言,在渗滤液的处理流程中,Pseudomonadales和Burkholderiales通过L-乳酸脱氢酶基因及CO脱氢酶小亚基(*coxA*)基因的活跃表达,推动了碳循环的顺畅进行;而Pseudomonadales作为氮循环的核心驱动力,深刻影响着氮素的转化过程;此外,磷循环受到Pseudomonadales与Rhodobacterales的精细调控。本研究深入探讨了MBR系统在调控渗滤液源微生物生物驱动的物质转化中的重要作用,为优化渗滤液处理工艺、减轻渗滤液源基因环境污染提供了数据支撑与科学依据。

关键词:垃圾渗滤液;膜生物反应器;微生物群落;宏基因组;元素循环分析

中图分类号:Q89 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-8020(2025)02-0129-11

垃圾渗滤液是卫生填埋场中产生的高浓度污染水体,其主要来源包括垃圾自身水分、地下水渗透和降雨等^[1-2]。渗滤液中含有磷、氨氮、无机盐及重金属等,成分随填埋时间和气候条件显著变化^[3]。

垃圾渗滤液是环境污染物的重要来源,需进行针对性的处理以减少其环境风险。目前,高效的渗滤液处理工艺多采用膜分离技术与生物处理技术结合的膜生物反应器(membrane bioreactor, MBR)系统^[4]。研究表明,MBR系统在渗滤液处理中去除污染物效果显著^[5]。例如,MBR系统可以将渗滤液中的总有机碳从 $1228\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 显著降低至 $383\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[6],并使无机碳和氮的含量减少85%~90%^[7]。不同配置的MBR系统可以有效去除大量的 NH_4^+ 、 NO_3^- 和 NO_2^- 等含氮化合物^[8]。

尽管MBR系统在去除传统污染物方面表现出色,但膜分离技术和微生物群落之间的相互作用复杂,需要更多的研究来评估其在处理后渗滤液中对碳、氮、磷等元素的循环影响,以减少环境污染。

MBR技术中,微生物在复杂的环境下通过多种代谢途径,特别是氮循环、碳循环和磷循环,参与渗滤液的污染物转化和去除。微生物群落的变化对元素生物地球化学循环具有重要影响^[9]。例如,*Nitrosomonas*属物种在MBR系统中能够有效降解渗滤液中的高浓度氨氮^[10],而*Dechloromonas*属物种则在低碳氮比的进水中高效脱氮除磷。尽管已有大量研究关注生物处理技术中微生物与碳、氮、磷等元素循环的关系,但MBR系统中的微生物在高效处理垃圾渗滤液方面表现出独特的代谢活动和群落结构。作为膜生物反应器,MBR技术的膜

收稿日期:2024-10-17;修回日期:2024-12-19

基金项目:生态环境部新污染物环境健康影响评价重点实验室开放基金(SEPKL-EHIAEC-202208)

通信作者简介:鲁磊磊(1995—),女,助理研究员,博士,研究方向为新污染物环境归趋与风险评估。E-mail:leilei9819@163.com

康国栋(1990—),男,工程师,硕士,研究方向为固废污染防治。E-mail:kgdkang@foxmail.com

分离作用对微生物群落的组成和功能有重要影响。在高浓度污染物和有机物环境下,MBR 技术展现出独特的处理优势,但膜分离作用也可能对微生物群落结构造成影响^[11]。然而,MBR 系统中的膜分离作用可能导致元素循环相关细菌和基因的富集,特别是在处理后的渗滤液中,这些微生物和基因可能会迁移到环境中,影响环境微生态,如何提高渗滤液中碳、氮、磷等污染物的去除效率并减少其对环境的影响备受关注。

基于此,本文以内蒙古自治区典型垃圾填埋场为例,利用宏基因组测序技术,分析 MBR 系统对渗滤液中微生物群落结构和功能基因的影响,为优化渗滤液处理工艺,减少渗滤液源细菌和基因对环境微生态的影响提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究样本采集自内蒙古自治区呼和浩特市某填埋龄 10 a 的垃圾填埋场,采集时间为 2023 年 3 月。共采集 4 种不同渗滤液工艺处理的样品,其中 HHS1 为进水样本(渗滤液原液),BS3 为超滤后样品,BS4 为纳滤后样品,BS5 为反渗透样品(处理后的渗滤液)。每个阶段进行 3 次平行取样,共 12 个样本。每个样本(100 mL)分别保存于无菌塑料瓶中,避光储存在 4 ℃ 冰箱内,用于后续实验。

1.2 宏基因组测序分析

样本的宏基因组 DNA 提取、文库构建和测序由北京百迈客生物科技有限公司完成。将 100 mL 的样本通过 0.22 μm 滤膜过滤,以富集包括细菌在内的微生物群落。使用 TIANamp Bacteria DNA Kit 试剂盒提取 DNA,经 Nano Drop 2000 检测合格的 DNA 样本用于构建宏基因组鸟枪测序文库,并进行测序。每个样本的 200 ng 基因组 DNA 被剪切为大约 450 bp 的文库片段。所有样本都在 Illumina Novaseq 6000 仪器上以双端 150 bp 模式进行测序。Raw reads 通过 Trimmomatic (v0.39)^[12] 进行质量修剪,以去除接头污染和低质量 reads,处理后得到的 reads 即为 Clean reads。质量控制后,使用 BWA-mem 算法将 reads 映射到微生物基因组^[13]。

Clean reads 使用 MegaHit (v1.1.1) 以参数“--

min-contig-len 500”组装成重叠群^[13]。使用 Prodigal (v2.6.3)^[15] 预测每个重叠群的开放阅读框(open reading frame, ORF),并使用 CD-HIT (v 4.8.1)^[16] 将所有 ORFs 聚类成唯一基因。为了计算所有样本中的基因丰度,使用 Salmon (v 4.8.1)^[17] 获得每个基因的拷贝数。

1.3 数据分析

使用 MetaPhlAn 进行序列的拼接和分类鉴定,获得不同微生物的种属信息^[18]。对筛选后的高质量序列,使用 MEGAN 软件进行功能基因的注释,以识别与碳、氮、磷循环相关的关键基因^[19]。利用 Python 的 SciPy 库进行微生物群落结构的多样性分析^[20]。使用 Python 的 Matplotlib 库进行数据可视化,包括制作物种组成柱状图、热图等。

2 结果与讨论

2.1 垃圾渗滤液中水质参数及微生物菌群结构分析

垃圾渗滤液处理工艺处理后的水样水质参数如表 1 所示。由表 1 可知,各个处理阶段的污染物去除效果存在显著差异。超滤阶段(T_{BS3})对总氮和总磷的去除效果较好,但对 COD 的去除效果相对较差;纳滤阶段(T_{BS4})虽然对总氮去除率有所降低,但在 COD 和总磷的深度处理上表现突出;反渗透处理阶段(T_{BS5})对垃圾渗滤液中的总氮、总磷和 COD 的去除率分别为 99.73%、99.83% 和 99.58%,最终出水水质各项指标均达到《污水综合排放标准》(GB 8978—1996)一级 A 类标准。表明典型渗滤液处理工艺能够有效降低垃圾渗滤液中的污染物浓度。

Alpha 多样性分析用于研究细菌群落的丰富度和多样性,包括 Chao、ACE、Shannon、Simpson 和 Coverage 等统计学指标。 T_{HHS1} 、 T_{BS3} 、 T_{BS4} 和 T_{BS5} 各阶段的微生物多样性统计如表 2 所示。Coverage 指数在所有样本中均接近 1,表明测序深度足够,所得到的微生物群落组成数据都是全面、可靠的。Chao 和 ACE 指数衡量物种丰富度,即物种数量的多少^[21]。由表 2 可知,渗滤液原液中微生物物种丰富度最高,当渗滤液经处理后,物种丰富度逐渐下降。Shannon 指数^[22]用来评价渗滤液中微生物的多样性。HHS1 样本的 Shannon 指数高于其他样本,表明渗滤液原液中物种分布的多样性和

均匀性高于处理后的水样。Simpson 指数也是判断群落物种多样性的指标,HHS1、BS3、BS4和BS5 样本的 Simpson 指数均大于 0.80,表明样本中物种分布均匀。

表 1 垃圾渗滤液中不同处理工艺处理样品水质参数及污染物去除率

Tab.1 Water quality parameters and pollutants removal rate of leachate samples treated by different processes

污染物	HHS1/ (mg · L ⁻¹)	BS3/ (mg · L ⁻¹)	BS4/ (mg · L ⁻¹)	BS5/ (mg · L ⁻¹)	BS3 中污染物 去除率/%	BS4 中污染物 去除率/%	BS5 中污染物 去除率/%
总氮	4 670.00	104.00	56.90	12.70	97.77	98.78	99.73
总磷	23.50	1.58	0.27	0.04	93.28	98.85	99.83
化学需氧量	5 250.00	1 030.00	93.00	22.00	80.38	98.23	99.58

表 2 垃圾渗滤液中的微生物多样性

Tab.2 Microbial diversity in landfill leachate

分组	观察物种数	ACE	Chao	Shannon	Simpson	Good's Coverage
HHS1	15 022±122	15 038±206	15 030±204	6.26±0.18	0.98±0.005	0.999 985±0.000 002
BS3	11 900±988	11 913±987	12 041±665	5.79±0.19	0.98±0.005	0.999 987±0.000 002
BS4	2413±350	2425±224	2418±222	2.52±0.02	0.80±0.002	0.999 990±0.000 005
BS5	2732±133	2735±68	2733±66	4.01±0.04	0.95±0.002	0.999 995±0.000 001

垃圾渗滤液处理不同阶段微生物群落结构变化如图 1 所示。由图 1 可知, T_{HHS1} 阶段生物多样性丰富,相对丰度大于 1% 的菌群有变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和古菌门 (Euryarchaeota),相对丰度分别为 29.13%、16.57%、12.75% 和 6.52%。 T_{BS3} 阶段群落结构发生改变,变形菌门成为主要优势门,相对丰度为 84.15%。其次是拟杆菌门,相对丰度为 1.84%。 T_{BS4} 、 T_{BS5} 阶段群落变化与

T_{BS3} 阶段变化相似,变形菌门相对丰度分别为 97.14% 和 96.98%。变形菌门细菌在渗滤液原液和渗滤液处理过程中的相对丰度较高,且膜生物反应器能够明显提高渗滤液中变形菌门细菌的相对丰度。已有研究发现变形菌门细菌在无氧和缺氧条件下,能够参与反硝化过程并去除氮,同时具备磷的去除能力^[23],表明渗滤液中氮元素和磷元素的去除可能和渗滤液中的变形菌门有关。

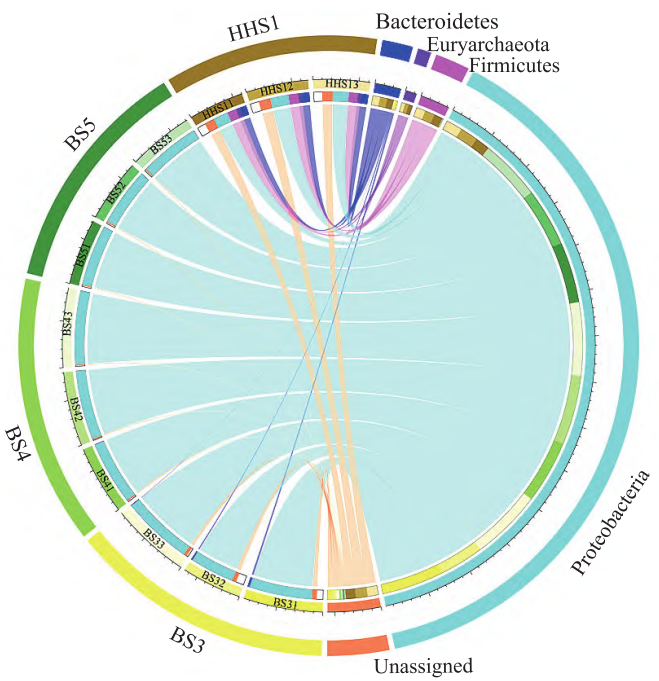


图 1 不同渗滤液处理工艺门水平群落结构变化

Fig.1 Changes of community structure at Phylum level in different leachate treatment processes

2.2 元素循环分析

2.2.1 碳元素循环分析

优化垃圾渗滤液处理过程中碳的转化和利用对于提高处理效率至关重要。首先,通过有效地转化和利用碳可以减少渗滤液中有机物含量,从而降低后续处理的负担和成本。其次,优化碳转化过程有助于促进能源回收,例如通过提高甲烷产量,可以将垃圾渗滤液处理过程转化为能源生产过程,实现废物资源化。此外,通过控制碳的转化路径,可以减少温室气体二氧化碳和甲烷等的

排放,从而减轻垃圾渗滤液处理过程对环境的影响。本研究中共检测出 6 条主要的碳代谢途径,分别为有氧碳固定、厌氧固碳、甲烷生成、一氧化碳氧化、好氧甲烷氧化、发酵(图 2)。

分析渗滤液处理不同阶段样本的 C 元素循环代谢途径发现, T_{BS4} 阶段的发酵过程主要由 Pseudomonadales 通过 L-乳酸脱氢酶(L-lactate dehydrogenase)基因驱动,其相对丰度为 98.32%; T_{BS5} 阶段的 CO 氧化过程主要由 Burkholderiales 通过其 CO 脱氢酶小亚基(*coxA*)基因驱动,其相对丰度为 68.50%(表 3)。

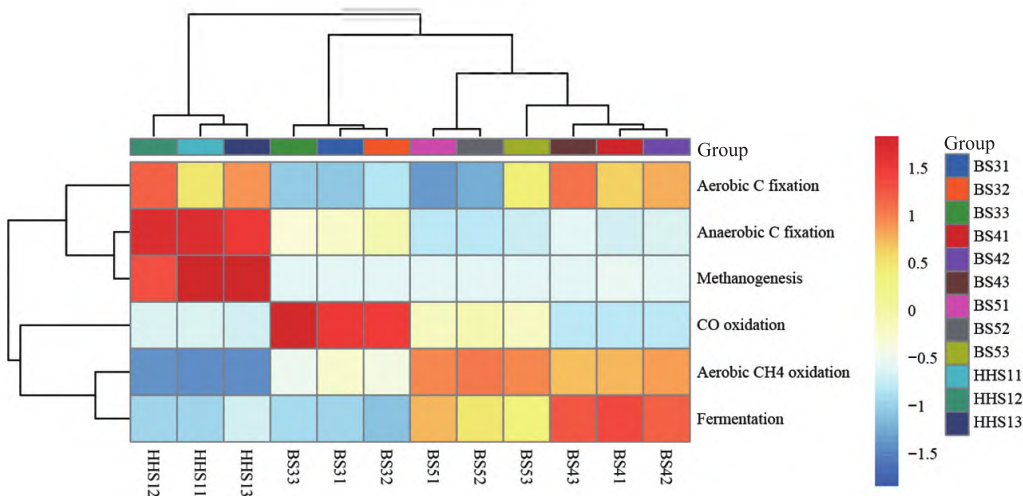


图 2 碳循环代谢路径相对丰度热图

Fig.2 Heatmap of the relative abundance of carbon cycle metabolic pathways

表 3 T_{BS4} 阶段 L-乳酸脱氢酶基因和 T_{BS5} 阶段 CO 脱氢酶小亚基(*coxA*) 基因的宿主菌相对丰度分析

Tab.3 Relative abundance analysis of host bacteria for L-lactate dehydrogenase in T_{BS4} and CO dehydrogenase small subunit (*coxA*) in T_{BS5}

目	BS41	BS42	BS43	BS51	BS52	BS53
Rhodobacterales	0.14	0.18	0.15	—	—	—
Pseudomonadales	98.05	99.12	97.78	20.34	20.39	22.87
Oceanospirillales	0.46	0.06	0.29	—	—	—
Hyphomicrobiales	—	—	0.12	—	—	—
Nitrosomonadales	0.14	—	—	—	—	—
Burkholderiales	—	—	0.12	69.70	70.85	64.96
Micrococcales	0.14	—	—	—	—	—
Corynebacteriales	0.87	0.44	1.22	—	—	—
Cellvibrionales	0.16	0.21	0.32	—	—	—

不同处理阶段碳循环功能基因的表达存在显著差异(图 3)。在 T_{BS4} 阶段,L-乳酸脱氢酶的相对丰度显著高于 T_{HHS1} 和 T_{BS3} 阶段,这表明纳滤过程中微生物的乳酸发酵较其他代谢途径更为活跃。作为乳酸发酵的关键酶,L-乳酸脱氢酶催化丙酮酸转化为乳酸,并在这一过程中生成 ATP。

T_{BS4} 阶段 L-乳酸脱氢酶的高丰度反映了微生物群落对有机物降解需求的增加,从而促进了乳酸的生成^[24]。然而, T_{BS5} 阶段 L-乳酸脱氢酶的相对丰度降低,这可能是由于反渗透的高过滤效率减少了依赖乳酸发酵的菌群数量,从而导致其活性和数量的降低^[25—26]。不过有趣的是,细胞色素 C 氧

化酶经反渗透后相对丰度升高,说明在 MBR 系统的膜物理过滤条件下,微生物群落结构和功能基因表达会发生明显变化,影响碳元素的代谢转化

路径,且能够富集特定的微生物源碳循环相关基因,对环境微生态造成潜在威胁。

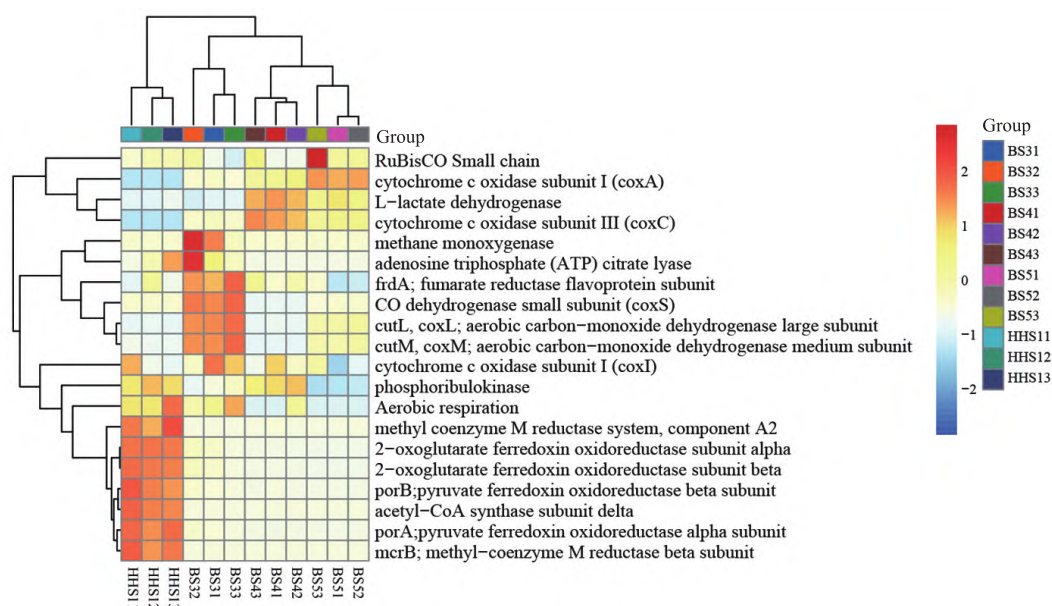


图3 碳循环功能基因丰度 heatmap

Fig.3 Heatmap of the abundance of carbon cycle functional genes

2.2.2 氮元素循环分析

在分析垃圾渗滤液处理过程中微生物菌群及其 N 元素转化功能时,识别出 8 种主要的氮代谢途径:同化硝酸盐还原、反硝化、异化硝酸盐还原、硝化、氮同化、固氮、氮矿化和氮素吸收。 T_{HHS1} 和 T_{BS3} 阶段,氮矿化主导了氮代谢,其平均相对丰度

为 43.05% 和 28.79%。而在 T_{BS4} 和 T_{BS5} 阶段,氮素吸收成为主要途径,平均相对丰度为 22.22% 和 22.50% (图 45)。这说明不同的处理途径能够影响渗滤液中氮循环进程。氮矿化和氮素吸收是两个主导的代谢途径。

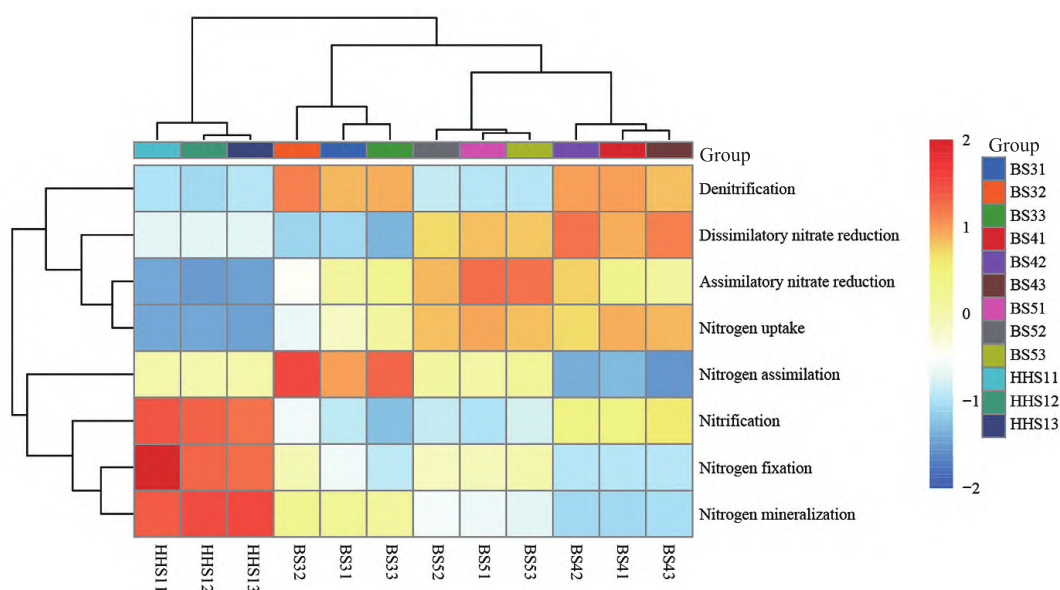


图4 氮循环代谢途径相对丰度 heatmap

Fig.4 Heatmap of the relative abundance of nitrogen cycle metabolic pathways

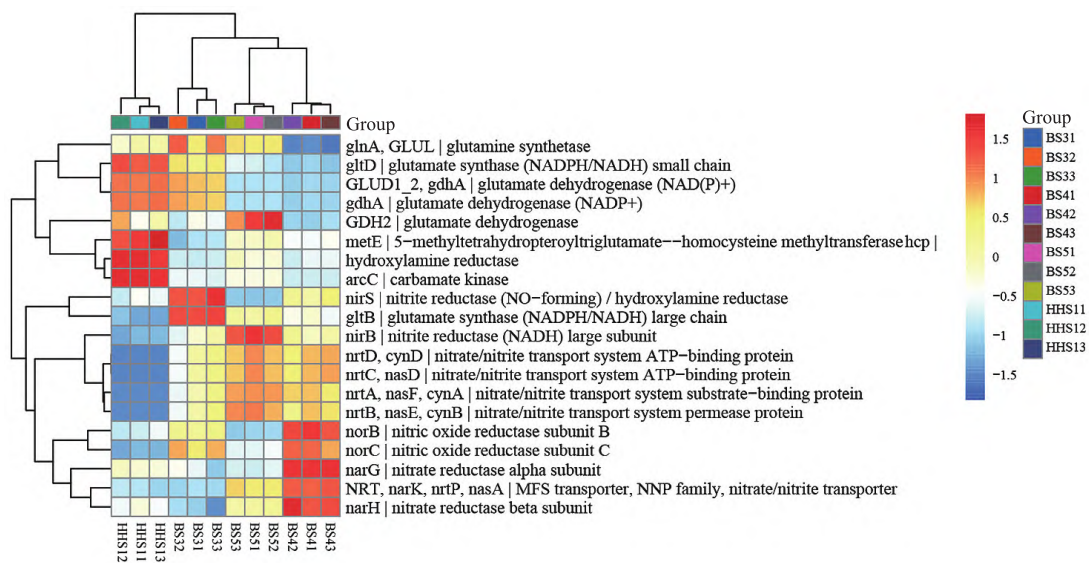


图 5 氮循环功能基因丰度热图

Fig.5 Heatmap of the abundance of nitrogen cycle functional genes

进一步分析发现, T_{BS4} 和 T_{BS5} 阶段分别由 Pseudomonadales 通过 *narG* 基因和 *nirB* 基因介导氮转化过程(表 4)。这一变化反映了渗滤液处理的后期阶段氮的形态和浓度变化,氮吸收成为主要的代谢活动,以支持微生物的生长和维持氮平

衡。Kuypers 等^[27]和 Risch 等^[28]的研究也强调了微生物在调节氮矿化和氮素吸收中的核心作用,并指出氮的可利用性是影响生态系统生产力和微生物分解的关键因素。

表 4 T_{BS4} 阶段 *narG* 基因和 T_{BS5} 阶段 *nirB* 基因的宿主菌相对丰度分析

Tab.4 Relative abundance of host bacteria for *narG* gene in T_{BS4} and *nirB* gene in T_{BS5}

目	BS41	BS42	BS43	BS51	BS52	BS53
Rhodocyclales	—	—	—	0.08	0.09	0.08
Pseudomonadales	91.33	92.80	93.31	84.01	79.37	82.31
Nitrosomonadales	0.02	—	—	1.70	2.09	1.94
Aeromonadales	—	0.07	0.02	—	—	—
Oceanospirillales	—	—	0.03	—	—	—
Burkholderiales	—	—	—	14.09	18.46	15.40
Rhodobacterales	0.06	—	—	—	—	—
Cellvibrionales	0.17	0.18	0.32	—	—	—
Corynebacterales	0.10	0.07	0.07	0.04	—	0.03
Hyphomicrobiales	—	—	—	0.03	—	—

超滤处理显著影响了氮代谢途径,导致与硝化、氮矿化和固氮相关基因的丰度降低,这可能是由于微生物被小孔径膜截留。纳滤处理进一步导致氮同化基因丰度降低。经反渗透处理后反硝化和异化硝酸盐还原基因丰度也降低。MBR 处理引起的微生物菌群结构变化促进了同化性硝酸盐还原基因丰度的增加。这一增加可能与膜过滤去除竞争微生物有关,从而降低了营养竞争,或者由于微生物群落结构演替增加了同化性硝酸盐还原微生物的比例^[29]。从氮转化的角度来看,MBR 显著改变了渗滤液中氨氮和有机氮向亚硝酸盐和

硝酸盐的转化,主要体现在硝化基因丰度增加和反硝化过程增强,这有助于将部分硝酸盐转化为氮气,减少水体中的潜在氮污染^[30];硝化和反硝化过程的基因丰度变化相互协同,表明硝化产生的硝酸盐可作为反硝化过程的底物。所有处理阶段中氮同化基因丰度较高,表明氮同化过程在不同工艺下均占据主导地位。超滤和纳滤处理增加了反硝化基因的丰度,而反渗透处理则降低了这一丰度,突显了超滤和纳滤处理在反硝化过程中的重要性。氮矿化和氮素吸收相关基因在所有处理阶段中的丰度均较高,特别在反渗透处理后,这

说明处理后的渗滤液中这些过程对维持氮平衡至关重要。

2.2.3 磷元素循环分析

通过分析垃圾渗滤液处理过程中微生物群落及其磷元素转化功能,发现主要的磷代谢途径包

括丙酮酸代谢、嘧啶代谢、嘌呤代谢、双组分系统、磷酸盐和次磷酸盐代谢、氧化磷酸化、磷酸转移酶系统、有机磷酸酯水解、磷酸戊糖途径及运输蛋白等(图 67)。

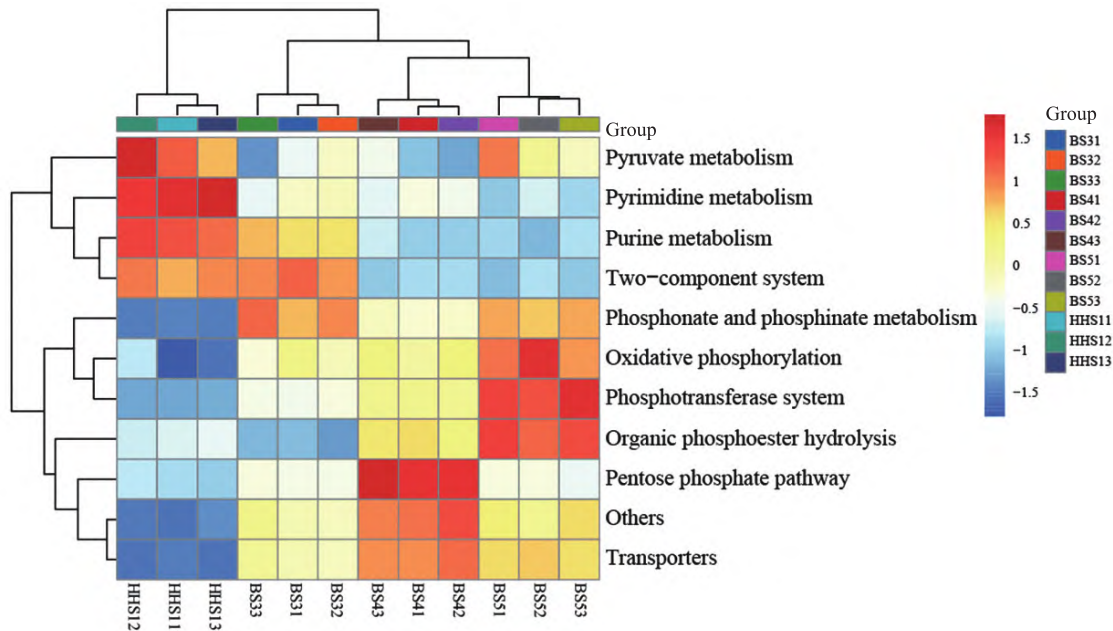


图 6 磷循环代谢路径相对丰度热图

Fig.6 Heatmap of the relative abundance of phosphorus cycle metabolic pathways

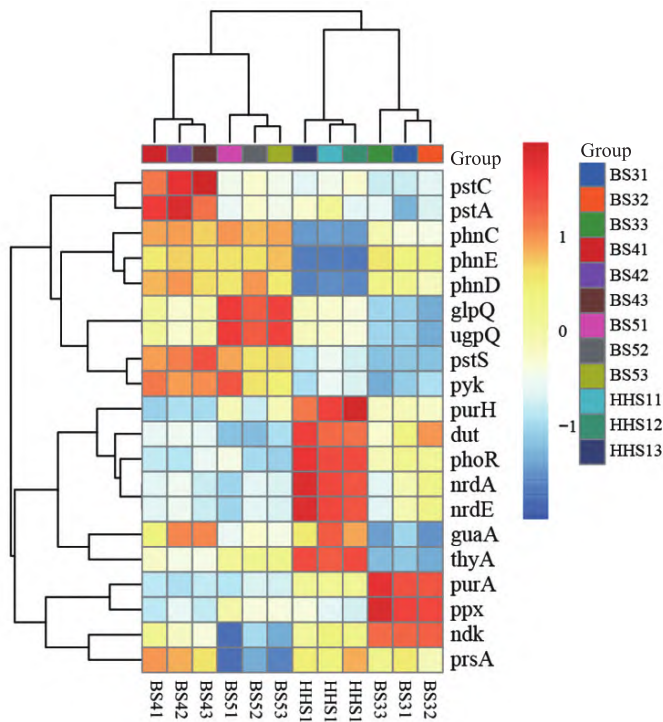


图 7 磷循环功能基因丰度热图

Fig.7 Heatmap of the abundance of phosphorus cycle functional genes

经超滤(BS3)后,双组分系统(two-component system)成为了主要代谢途径,由 Rhodobacterales (相对丰度 51.46%)通过 *ppx* 基因参与磷循环。在 T_{BS4} 阶段,磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway)成为主要代谢途径,由 Pseudomonadales (相对丰度 71.79%)通过 *pstC* 基因影响磷循环。

在 T_{BS5} 阶段,主要由 Pseudomonadales (相对丰度 83.63%)通过 *glpQ* 基因影响磷循环中的磷酸转移酶系统(phosphotransferase system),表明在渗滤液处理的最终阶段,微生物群落通过调整其代谢途径来适应磷资源不足的环境条件^[31](表 5)。

表 5 T_{BS3} 阶段 *ppx* 基因、 T_{BS4} 阶段 *pstC* 基因和 T_{BS5} 阶段 *glpQ* 基因的宿主菌相对丰度分析
Tab.5 Relative abundance of host bacteria for *ppx* gene in T_{BS3} , *pstC* gene in T_{BS4} and *glpQ* gene in T_{BS5}

目	BS31	BS32	BS33	BS41	BS42	BS43	BS51	BS52	BS53
Pseudomonadales	4.85	2.91	5.16	70.86	72.12	72.40	83.12	82.96	84.81
Burkholderiales	4.26	3.67	3.61	—	—	—	13.14	13.97	12.65
Thiotrichales	4.23	2.99	4.60	26.14	25.81	24.04	—	—	—
Marinilabiales	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
Rhodobacterales	45.98	49.75	58.65	0.06	—	0.09	—	—	—
Oceanospirillales	1.11	0.25	1.22	0.57	0.06	0.20	—	—	—
Rhodospirillales	3.39	4.52	3.28	—	—	—	—	—	—
Flavobacteriales	1.16	0.43	0.16	—	—	—	—	—	—
Hyphomicrobiales	0.86	1.34	1.30	—	—	—	0.16	0.08	—
Sphingobacteriales	0.17	0.33	—	0.08	—	—	—	—	—
Micrococcales	—	0.05	0.04	—	—	—	2.24	1.58	1.30
Rhodocyclales	14.76	8.41	15.03	—	—	0.05	—	—	—
Alteromonadales	1.01	0.43	1.37	—	—	—	—	—	—
Cytophagales	0.26	0.22	0.14	—	—	—	—	—	—
Corynebacteriales	—	—	—	0.43	0.24	0.56	—	—	—
Sphingomonadales	0.22	0.14	0.16	—	—	—	—	—	0.11
Chromatiales	0.93	1.59	0.27	—	—	—	—	—	—
Nitrosomonadales	0.80	1.85	0.03	0.22	—	—	1.25	1.42	1.14
Cellvibrionales	0.97	0.60	2.24	0.34	0.56	1.11	—	—	—
Maricaulales	0.36	0.09	0.12	—	—	—	—	—	—

在渗滤液处理的早期阶段,微生物面临来自渗滤液原液中的化学和生物压力,如有毒有机物质和重金属等,这些因素可能导致微生物 DNA 损伤^[32]。嘌呤和嘧啶代谢是核酸合成的基础,对修复 DNA 损伤和支持微生物快速增殖至关重要^[33]。因此,这些代谢途径的活性反映了微生物维持其生命活动和适应压力环境的需求^[34]。随着渗滤液处理过程的进行,特别是在纳滤和反渗透等 MBR 系统处理后,水中可用的营养物质减少。在有限资源条件下,能高效利用剩余磷资源的微生物通过活跃的磷酸戊糖途径和磷酸转移酶系统保持生存优势^[35]。这不仅有助于微生物的生长和繁殖,也影响最终水质。嘌呤代谢和嘧啶代谢均涉及核苷酸的合成和代谢,它们之间存在协同作用,共同影响细胞的生长和分裂^[36]。在垃圾渗滤液处理过程中,这两条代谢途径的协同作用对维持微生物群落的稳定性和元素循环效率具有重要意义。

此外,磷酸戊糖途径是合成核苷酸所必需的磷酸戊糖的重要来源,与嘌呤和嘧啶的代谢过程紧密相连^[37]。转运蛋白在磷的循环中扮演着至关重要的角色,它们负责磷酸盐及其他有机磷化合物的细胞内外的转运,从而影响到其他代谢途径的运作效率^[38]。具体而言,转运蛋白的活性水平能够直接影响丙酮酸代谢及氧化磷酸化等过程的效率,因为这些代谢途径都高度依赖于磷酸盐作为底物或产物的存在^[39]。在 T_{BS3} 和 T_{BS4} 阶段,部分磷酸盐及有机磷化合物的去除会改变细胞内磷的可用性,进而对与磷循环相关的代谢途径的活性及其相互协同作用产生影响。

值得注意的是,当前研究在样品采集方面尚存在局限性,特别是在考虑厌氧处理及 MBR 作为独立处理模块时,样品的明确区分尚未完全实现,这可能对准确解析各模块中微生物的具体作用及其相互间的交互作用构成了一定的障碍。因此,未来的研究工作将致力于更精细地分隔并采集不

同渗滤液处理工艺阶段的样品,以期能够更全面地揭示各阶段微生物群落的结构特征及其在元素循环中的功能作用。

3 结论

本研究通过宏基因组测序分析了垃圾渗滤液MBR处理各阶段的微生物群落结构和功能。结果表明,进水阶段微生物多样性最高,主要由变形菌门主导;随着超滤、纳滤和反渗透工艺的进行,微生物多样性逐渐降低,但变形菌门始终占据主导地位。通过对碳、氮、磷循环功能基因的分析,我们明确了在不同处理阶段对元素循环具有重要影响的主要微生物种群,并揭示了其在各个阶段中的关键作用。因此,理解微生物群落对处理工艺的影响,不仅有助于优化渗滤液处理策略,还为未来的微生物功能群落研究提供了理论依据。主要结论如下:

1) 碳循环代谢途径与L-乳酸脱氢酶和CO脱氢酶相关,分别由Pseudomonadales和Burkholderiales通过L-乳酸脱氢酶基因和CO脱氢酶小亚基(*coxA*)基因驱动;

2) Pseudomonadales作为氮循环中的主导种群,通过氮素吸收影响渗滤液中的氮循环过程;

3) 磷循环主要由Pseudomonadales通过*pstC*和*glpQ*基因影响磷酸戊糖途径以及磷酸转移酶系统,由Rhodobacterales通过*ppx*基因影响双组分系统。

参考文献:

- [1] PROPP V R, DE SILVA, SPENCER C, et al. Organic contaminants of emerging concern in leachate of historic municipal landfills [J]. Environmental Pollution, 2021, 276: 116474.
- [2] NIKA M C, NTAIOU K, ELYTIS K, et al. Wide-scope target analysis of emerging contaminants in landfill leachates and risk assessment using risk quotient methodology [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 394: 122493.
- [3] MA S J, ZHOU C B, PAN J J, et al. Leachate from municipal solid waste landfills in a global perspective: characteristics, influential factors and environmental risks [J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 333: 130234.
- [4] 彭永臻, 钱雯婷, 王琦. 基于宏基因组的城市污水处理厂生物脱氮污泥菌群结构分析[J]. 北京工业大学学报, 2019, 45(1): 95-102.
- [5] ZHANG J Y, WANG Y Y, YU D W, et al. Who contributes more to N₂O emission during sludge bio-drying with two different aeration strategies, nitrifiers or denitrifiers? [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(8): 3393-3404.
- [6] WANG H, CHENG Z W, SUN Z Y, et al. Molecular insight into variations of dissolved organic matters in leachates along China's largest A/O-MBR-NF process to improve the removal efficiency [J]. Chemosphere, 2020, 243: 125354.
- [7] RIBERA-PI J, BADIA-FABREGAT M, ESPÍ J, et al. Decreasing environmental impact of landfill leachate treatment by MBR, RO and EDR hybrid treatment [J]. Environmental Technology, 2021, 42(22): 3508-3522.
- [8] ROY D, DROGUI P, RAHNI M, et al. Effect of cathode material and charge loading on the nitrification performance and bacterial community in leachate treating Electro-MBRs [J]. Water Research, 2020, 182: 115990.
- [9] YANG J, XIANG J Y, XIE Y, et al. Removal behavior and key drivers of antibiotic resistance genes in two full-scale leachate treatment plants [J]. Water Research, 2022, 226: 119239.
- [10] ROY D, LEMAY J F, DROGUI P, et al. Identifying the link between MBRs' key operating parameters and bacterial community: a step towards optimized leachate treatment [J]. Water Research, 2020, 172: 115509.
- [11] LI S Q, GUO Y, ZHANG X A, et al. Advanced nitrogen and phosphorus removal by the symbiosis of PAOs, DPAOs and DGAOs in a pilot-scale A²O/A + MBR process with a low C/N ratio of influent [J]. Water Research, 2023, 229: 119459.
- [12] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [13] MARTINIANO R, GARRISON E, JONES E R, et al. Removing reference bias and improving indel calling in ancient DNA data analysis by mapping to a sequence variation graph [J]. Genome Biology, 2020, 21: 1-18.
- [14] FUENTES-TRILLO A, MONZÓ C, MANZANO I, et al. Benchmarking different approaches for Norovirus genome assembly in metagenome samples [J]. BMC Genomics, 2021, 22: 1-12.
- [15] HYATT D, CHEN G L, LOCASCIO P F, et al. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation

- initiation site identification [J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11: 119.
- [16] SILVA R, PADOVANI K, GÓES F, et al. GeneRFinder: gene finding in distinct metagenomic data complexities [J]. BMC Bioinformatics, 2021, 22: 1–17.
- [17] PATRO R, DUGGAL G, LOVE M I, et al. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression [J]. Nature Methods, 2017, 14 (4): 417–419.
- [18] BLANCO-MÍGUEZ A, BEGHINI F, CUMBO F, et al. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn4 [J]. Nature Biotechnology, 2023, 41 (11): 1633–1644.
- [19] BAČIĆ C, PATZ S, HUSON D H. Diamond megan: fast and easy taxonomic and functional analysis of short and long microbiome sequences [J]. Current Protocols, 2021, 1 (3): e59.
- [20] VIRTANEN P, COMMERS R, OLIPHANT T E, et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in python [J]. Nature Methods, 2020, 17 (3): 261–272.
- [21] SHANNON C E. The mathematical theory of communication. 1963 [J]. MD Computing, 1997, 14 (4): 306–317.
- [22] SIMPSON E H. Measurement of diversity [J]. Nature, 1949, 163 (4148): 688.
- [23] AMPESE L C, SGANZERLA W G, ZIERO H D D, et al. Research progress, trends, and updates on anaerobic digestion technology: a bibliometric analysis [J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 331: 130004.
- [24] 黄艳娜, 许光涛, 游春苹. 乳酸菌中乳酸脱氢酶的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2016, 37 (8): 369–373.
- [25] SHI L, TU B P. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2015, 33: 125–131.
- [26] DAVIES M N, KJALARSÐOTTIR L, THOMPSON J W, et al. The acetyl group buffering action of carnitine acetyltransferase offsets macronutrient-induced lysine acetylation of mitochondrial proteins [J]. Cell Reports, 2016, 14 (2): 243–254.
- [27] KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16 (5): 263–276.
- [28] RISCH A C, ZIMMERMANN S, OCHOA-HUESO R, et al. Soil net nitrogen mineralisation across global grasslands [J]. Nature Communications, 2019, 10 (1): 4981.
- [29] WEI Z M, MOHAMED T A, ZHAO L, et al. Microhabitat drive microbial anabolism to promote carbon sequestration during composting [J]. Bioresource Technology, 2022, 346: 126577.
- [30] HE T X, XIE D T, NI J P, et al. Nitrous oxide produced directly from ammonium, nitrate and nitrite during nitrification and denitrification [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 388: 122114.
- [31] OLIVERIO A M, BISSETT A, MCGUIRE K, et al. The role of phosphorus limitation in shaping soil bacterial communities and their metabolic capabilities [J]. mBio, 2020, 11 (5): e01718–20.
- [32] CHENG H, QIN C, YANG B, et al. Non-covalent binding interaction between phthalic acid esters and DNA [J]. Environment International, 2022, 161: 107095.
- [33] ZHOU W H, YAO Y Y, SCOTT A J, et al. Purine metabolism regulates DNA repair and therapy resistance in glioblastoma [J]. Nature Communications, 2020, 11 (1): 3811.
- [34] WANI A K, AKHTAR N, SHER F, et al. Microbial adaptation to different environmental conditions: molecular perspective of evolved genetic and cellular systems [J]. Archives of Microbiology, 2022, 204 (2): 144.
- [35] LIU Q X, FENG X, SHENG Z Y, et al. Enhanced wastewater treatment performance by understanding the interaction between algae and bacteria based on quorum sensing [J]. Bioresource Technology, 2022, 354: 127161.
- [36] XU X Y, WANG L P, ZANG Q C, et al. Rewiring of purine metabolism in response to acidosis stress in glioma stem cells [J]. Cell Death & Disease, 2021, 12 (3): 277.
- [37] LI Y C, WANG R, SUN J A R, et al. Cerebrospinal fluid metabolic profiling reveals divergent modulation of pentose phosphate pathway by midazolam, propofol and dexmedetomidine in patients with subarachnoid hemorrhage: a cohort study [J]. BMC Anesthesiology, 2022, 22 (1): 34.
- [38] WILSON D F. Oxidative phosphorylation: regulation and role in cellular and tissue metabolism [J]. The Journal of Physiology, 2017, 595 (23): 7023–7038.
- [39] ZHANG B, JIN Q H, XU L Z, et al. Cooperative transport mechanism of human monocarboxylate transporter 2 [J]. Nature Communications, 2020, 11 (1): 2429.

Metagenomic Insights into the Effects of Leachate Treatment Processes on Microbial Functions

TANG Na^{1,3}, CHANG Ning², SHEN Weitao⁴, CHEN Ping^{2,4}, ZHANG Shenghu^{2,4},
ZHU Rui⁵, HU Shuangqing¹, KANG Guodong², LU Leilei²

(1.Key Laboratory of Environmental Health Impact Assessment of Emerging Contaminants,Ministry of Ecology and Environment,
Shanghai Academy of Environment Sciences,Shanghai 200233,China;

2.Nanjing Institute of Environmental Sciences,Ministry of Ecology and Environment,Nanjing 210042,China;

3.Hohhot Ecological Environment Monitoring Center,Hohhot 010000,China;

4.School of Engineering,China Pharmaceutical University,Nanjing 211198,China;

5.Inner Mongolia Autonomous Ecological Environment Comprehensive Administrative Law Enforcement Corps,Hohhot 010000,China)

Abstract: Sanitary landfill operations generate leachate with high concentrations of organic matter and ammonia nitrogen. Membrane bioreactor (MBR) technology is widely employed for leachate treatment to efficiently remove these pollutants. However, the impact of MBR systems on the functional roles of microorganisms within leachate, particularly the specific effects of advanced membrane treatment processes, remains insufficiently understood. In this study, samples were collected from four key stages of leachate treatment: untreated (T_{HHS1}), ultrafiltration (T_{BS3}), nanofiltration (T_{BS4}), and reverse osmosis (T_{BS5}). Metagenomic sequencing was utilized to analyze the functional genes of leachate-derived microorganisms, aiming to investigate changes in microbial community structure across different treatment stages and their influence on genes related to carbon, nitrogen, and phosphorus cycling. The results indicated that MBR technology significantly reduced the abundance and diversity of microbial communities in leachate. Specifically, during the treatment process, Pseudomonadales and Burkholderiales played a pivotal role in facilitating the carbon cycle through the active expression of the L-lactate dehydrogenase gene and the CO dehydrogenase small subunit (*coxA*) gene. Notably, Pseudomonadales served as the key driver of the nitrogen cycle, exerting profound influence on nitrogen transformation processes. Furthermore, the phosphorus cycle was intricately regulated by Pseudomonadales and Rhodobacterales. This study investigates the pivotal role of the MBR system in regulating the microbial-driven transformation of substances in leachate sources. The findings offer valuable data and scientific insights for optimizing leachate treatment processes and mitigating environmental pollution caused by leachate-derived genes.

Keywords: landfill leachate; membrane bioreactor; microbial community; metagenomics; elemental cycling analysis