

## 研究报告

## 活性污泥微生物泛化种和特化种的构建机制与进化速率

彭景<sup>1,2</sup>, 张兰平<sup>1,2</sup>, BOB Adyari<sup>1,2</sup>, 廖明宇<sup>1,3</sup>, 曹美仙<sup>1,2</sup>, 于昌平<sup>1</sup>, 胡安谊<sup>\*1,2</sup>

1 中国科学院城市环境研究所 城市污染物转化重点实验室, 福建 厦门 361021

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 福建农林大学资源与环境学院, 福建 福州 350002

彭景, 张兰平, BOB Adyari, 廖明宇, 曹美仙, 于昌平, 胡安谊. 活性污泥微生物泛化种和特化种的构建机制与进化速率[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 3927-3938.

PENG Jing, ZHANG Lanping, BOB Adyari, LIAO Mingyu, CAO Meixian, YU Changping, HU Anyi. Assembly mechanisms and evolutionary rates of microbial generalists and specialists in activated sludge[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 3927-3938.

**摘要:**【背景】活性污泥中细菌和微型真核生物在污水处理中扮演了重要角色, 然而目前对其泛化种和特化种的研究尚不充分。【目的】分析活性污泥中微生物泛化种和特化种的结构与环境因子相关性, 研究其群落构建机制、进化速率和多样化潜力。【方法】以中国东南沿海某地污水厂中活性污泥微生物群落为研究对象, 利用扩增子测序技术和多元统计技术分析了泛化种和特化种的结构特征, 并通过基于系统发育分箱的零模型(infer community assembly mechanisms by phylogenetic-bin-based null model analysis, iCAMP)和二分成种与灭绝(binary-state speciation and extinction, BiSSE)模型分别研究了其构建机制及进化速率。【结果】细菌泛化种和特化种与电导率、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 显著相关, 而总氮(total nitrogen, TN)是影响微型真核生物泛化种和特化种的关键因子。此外, 电导率和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 对微型真核生物特化种也有着重要影响。以漂变和扩散限制为主的随机作用是影响上述群落的主要生态学机制(泛化种大于特化种), 并且对微型真核生物的影响更强。相较于微型真核生物, 细菌具有较高的成种速率、多样化潜力及较低的灭绝速率; 相较于泛化种, 特化种具有较高的成种速率、灭绝速率和多样化潜力。【结论】 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和电导率是影响细菌泛化种、细菌特化种和微型真核生物特化种的重要环境因子。泛化种和特化种主要受漂变和扩散限制的影响, 其成种速率存在差异。

**关键词:** 活性污泥; 微生物泛化种和特化种; 群落构建; 成种速率

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFE0120300)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFE0120300).

\*Corresponding author. E-mail: ayhu@iue.ac.cn

Received: 2024-02-03; Accepted: 2024-04-23; Published online: 2024-06-04

## Assembly mechanisms and evolutionary rates of microbial generalists and specialists in activated sludge

PENG Jing<sup>1,2</sup>, ZHANG Lanping<sup>1,2</sup>, BOB Adyari<sup>1,2</sup>, LIAO Mingyu<sup>1,3</sup>, CAO Meixian<sup>1,2</sup>, YU Changping<sup>1</sup>, HU Anyi<sup>\*1,2</sup>

1 CAS Key Laboratory of Urban Pollutant Conversion, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

**Abstract:** **[Background]** The bacterial and microeukaryotic communities in activated sludge (AS) play crucial roles in wastewater treatment. However, limited information is available regarding the microbial generalists and specialists in AS. **[Objective]** Aims to study the relationships between environmental factors and AS microbial generalists and specialists, and explore the community assembly mechanisms, evolutionary rates, and diversification potential of AS microbial generalists and specialists. **[Methods]** Amplicon sequencing and multivariate statistical analysis were employed to explore the community structures of AS microbial generalists and specialists from wastewater treatment plants located in the southeastern coastal region of China. Additionally, the infer community assembly mechanisms by phylogenetic-bin-based null model analysis (iCAMP) was conducted to explore the assembly mechanisms of those groups, while the evolutionary rates were assessed by the binary-state speciation and extinction (BiSSE) model. **[Results]** The community structures of bacterial generalists and specialists were significantly correlated with electrical conductivity, ammonia nitrogen, and nitrite nitrogen, while the total nitrogen was the primary factor influencing the community structures of the microeukaryotic generalists and specialists. However, electrical conductivity and nitrite nitrogen played major roles in shaping the microeukaryotic specialists. Stochastic processes played a dominant role in the community assembly of both bacteria and microeukaryotes in AS, especially for the generalists than the specialists as well as for the microeukaryotes than the bacteria. Bacteria exhibited higher speciation rates and lower extinction rates than microeukaryotes, which suggested higher diversification potential. The specialists exhibited higher speciation rates, extinction rates, and diversification potential than the generalists. **[Conclusion]** Ammonia nitrogen, nitrite nitrogen, and electrical conductivity were significant environmental factors influencing the community structures of bacterial generalists and specialists, and microeukaryotic specialists. Stochastic processes mainly drove the community assembly of the generalists and specialists. Moreover, the AS generalists and specialists exhibited different speciation rates.

**Keywords:** activated sludge; microbial generalists and specialists; community assembly; speciation rate

活性污泥中微生物主要由细菌、古菌、微型真核生物(真菌、藻类、原生动物和后生动物)和病毒等组成,其在污水处理过程(脱氮除磷等)中起着关键作用<sup>[1-2]</sup>。根据微生物的生态位宽度和分布情况可将其划分为泛化种(*generalist*)和特化种(*specialist*)等:泛化种具有广泛的生态位宽度,出现在大多数生境中;特化种由于其环境耐受性较窄,局限于特定生境中<sup>[3]</sup>。Cavalcante 等<sup>[4]</sup>的研究表明,泛化种较强的环境适应性和扩散能力可能导致其功能同质化。活性污泥中的微生物对污水处理厂(*wastewater treatment plants, WWTPs*)的稳定运行至关重要,深入研究上述微生物泛化种和特化种有助于制定合理的“微生物资源管理”策略<sup>[5]</sup>。但目前关于上述类群的相关研究尚显不足,对其群落构建、成种速率的认识仍有待加强。

以往研究表明,微生物群落主要受确定性过程(均质选择和异质选择)和随机过程(均质扩散、异质扩散和漂变)的共同调控<sup>[6-7]</sup>。其中微生物关键类群(如泛化种和特化种)通常具有不同的群落构建机制<sup>[5,8]</sup>。Hou 等<sup>[5]</sup>认为泛化种和特化种分别主要受随机作用和确定性作用的影响;而 Zuo 等<sup>[8]</sup>揭示随机作用主导了上述群落的构建过程。因此,确定性作用和随机作用如何影响泛化种和特化种的构建机制目前尚无定论<sup>[3]</sup>。此外,进化过程近年来也备受关注,其主要通过成种和灭绝这两个过程之间的动态平衡来维持不同微生物类群的多样性<sup>[9]</sup>。Xu 等<sup>[10]</sup>认为泛化种能快速演变为特化种并具有高休眠潜力;而 He 等<sup>[9]</sup>揭示特化种有助于缓解环境过滤对物种多样化的负面影响。因此,研究泛化种和特化种的构建机制及进化过程具有重要意义。

本研究以中国东南沿海某地 7 个市政污水处理厂活性污泥为研究对象,采用 16S 和 18S rRNA 基因扩增子测序、多元统计技术、基于系统发育分箱的零模型(*infer community assembly*

*mechanisms by phylogenetic-bin-based null model analysis, iCAMP*)及二分成种与灭绝(*binary-state speciation and extinction, BiSSE*)模型开展分析,研究了活性污泥微生物泛化种和特化种的种群结构及其与环境因子的关联,探讨了其构建机制、进化速率和多样化潜力,以期加强对活性污泥微生物关键类群多样性形成和维持机制的认识。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概述

本研究选取了中国东南沿海某地的 7 个污水厂,于 2020 年 6 月 3 日、6 月 5 日和 6 月 8 日共采集了 21 份活性污泥样品。将样品于 4 °C 冷藏暂存,并于 4 h 内转移至实验室,污泥样品在 8 000×g 离心 15 min 后浓缩,储存在-80 °C 直至 DNA 提取。

### 1.2 主要试剂和仪器

FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil,凯杰企业管理(上海)有限公司。WTW multi 3630 多参数水质分析仪,赛莱默分析仪器有限公司;超微量紫外分光光度计 NanoDrop ND-1000,上海元析仪器有限公司;TOC-VCPH 总有机碳/总氮分析仪,山东霍尔德电子科技有限公司;COD 快速分析仪,北京连华永兴科技发展有限公司。

### 1.3 理化参数的测定

利用 WTW multi 3630 多参数水质分析仪现场测定了污泥样品的理化参数,包括温度(*temperature, Temp*)、溶解氧(*dissolved oxygen, DO*)、电导率(*electrical conductivity, EC*)和 pH。采用微板法测定了总氮(*total nitrogen, TN*)、总磷(*total phosphorus, TP*)、氨氮(*ammonia nitrogen, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N*)、亚硝酸盐氮(*nitrite nitrogen, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N*)、硝酸盐氮(*nitrate nitrogen, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N*)和磷酸盐(*phosphate phosphorus, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P*)含量<sup>[11]</sup>。通过

COD 快速分析仪测定了化学需氧量(chemical oxygen demand, COD), 通过 TOC-VCPH 总有机碳/总氮分析仪测定了溶解有机碳<sup>[12]</sup>。活性污泥性能由 COD、营养盐(TN 和 TP)和  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的去除率(removal rate)评估, 公式<sup>[13]</sup>如下:

$$\text{Removal rate} = (X_{\text{con}}(\text{inf}) - X_{\text{con}}(\text{eff})) / X_{\text{con}}(\text{inf}) \quad (1)$$

式(1)中, removal rate 为去除率, 无量纲;  $X_{\text{con}}$  为 COD、TN、TP 或  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的浓度, mg/L; inf 为进水; eff 为出水。

#### 1.4 DNA 提取、扩增子测序和分析

使用 FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil 提取样品基因组的 DNA<sup>[14]</sup>。通过 515F (5'-GTGYCAGCMG CCGCGGTA-3') 和 907R (5'-CCGYCAATTYMT TTRAGTTT-3') 对 16S rRNA 基因的 V4-V5 高变区进行 PCR 扩增<sup>[14]</sup>。通过 565F (5'-CCAGCAS CYGCGGTAATTCC-3') 和 981R (5'-ACTTTCGT TCTTGATYRATGA-3') 对 18S rRNA 基因的 V4 高变区进行 PCR 扩增<sup>[15]</sup>。将 PCR 产物纯化后, 采用 Illumina HiSeq 4000 平台利用双端法 (2×250 bp) 进行测序。16S rRNA 和 18S rRNA 基因的原始序列数据已上传在 NCBI SRA 数据库中, 项目编号分别为 PRJNA1116329 和 PRJNA1116334。通过 LotuS2 v2.24 的默认设置对原始 rRNA 基因双端 reads 进行了质控和组装; 使用 DADA2 v1.16.0 将具有 100% 相似性的 OTU 聚类为扩增子序列变体 (amplicon sequence variant, ASV)<sup>[16]</sup>。使用核糖体数据库 (Ribosomal Database Project, RDP) 的物种分类器 (RDP classifier) 对每个 ASV 进行分类注释, 细菌和微型真核生物的注释数据库分别为 SLV 和 PR2。

#### 1.5 泛化种和特化种的鉴定

在 R v4.3.0 环境下, 使用 “EcoUtils” R 包计算 3 种生境特化指数 (包括 Levins 的生态位宽度、Shannon 多样性和出现频率) 来鉴定泛化种和特化种<sup>[17]</sup>。首先对生境特化指数进行了 1 000 次

显著性检验。根据观察到的生境特化指数依据高或低于 95% 的置信区间, 将细菌和微型真核生物 ASV 分别鉴定为泛化种或特化种<sup>[18]</sup>。在所有 3 种生境特化指数分布前 10% 的泛化种 ASV 被进一步定义为严格生境泛化种 ASV, 而具有 50 个以上 reads 的特化种 ASV 被定义为严格生境特化种<sup>[19]</sup>, 最后选择严格生境泛化种和特化种进行后续分析。

#### 1.6 微生物群落构建的分析

微生物群落构建的分析主要包括对 5 个生态过程 (均质选择、异质选择、均质扩散、扩散限制和漂变) 的相对贡献的分析。使用 R 包 “iCAMP” 软件包<sup>[20]</sup> 定量评估了上述过程的相对重要性。首先, 根据系统发育关系将微生物类群划分为不同 bins。其次, 对每个 bin 进行零模型分析, 利用网络关联指数 (beta net relatedness index,  $\beta\text{NRI}$ ) 及 Raup-Crick 指数 (Bray-Curtis-based Raup-Crick metrics,  $RC_{\text{bray}}$ ) 共同鉴别不同生态过程:  $\beta\text{NRI} < -1.96$  和  $\beta\text{NRI} > 1.96$  分别视为均质选择和异质选择; 当  $|\beta\text{NRI}| \leq 1.96$  时: 若  $RC_{\text{bray}} < -0.95$ , 则为均质扩散; 若  $RC_{\text{bray}} > 0.95$ , 则为扩散限制; 若  $|RC_{\text{bray}}| \leq 0.95$ , 则为漂变。最后, 对每个 bin 重复上述分析, 计算每个 bin 的相对丰度并加权汇总作为所有 bins 中单个生态过程的分数, 从而估计单个过程在整体群落级别的相对贡献率。

#### 1.7 微生物群落进化特征分析

通过 R 包 “diversitree” 包进行 BiSSE 模型分析<sup>[21]</sup>。第一次模拟, 使用 “starting.point.bisse” 函数设定模拟的起始点, 对泛化种和特化种设定相同的成种速率和灭绝速率, 计算出模拟的起始点速率。第二次模拟, 以起始点速率为初始速率, 并通过 “find.mle” 函数应用最大似然法计算进化速率参数。然后通过方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 来测试两轮模拟的结果是否存在显著差异。随后执行 1 000 次的 Markov

Chain Monte Carlo (MCMC)模拟来提高参数预测的稳定性。此外,考虑到成种速率和转化速率对微生物多样化的正向贡献,以及灭绝速率对微生物多样化的负向贡献,利用公式(2)计算多样化潜力(diversification potential, DP)<sup>[9]</sup>:

$$DP = \lambda + t - \mu \quad (2)$$

式(2)中, DP 为多样化潜力,无量纲;  $\lambda$  为成种速率,无量纲;  $t$  为转化速率,无量纲;  $\mu$  为灭绝速率,无量纲。

## 1.8 统计分析

基于 Bray-Curtis 距离矩阵,利用主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)对微生物群落的  $\beta$ -多样性进行了分析。利用置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA, 又称 Adonis test)揭示了不同污水厂污泥微生物群落的差异。通

过 Mantel test 检验了微生物群落组成和环境因子的相关性。使用 R 包“phyloseq”“vegan”“ggplot2”“linkET”软件包进行了统计分析 with 图形可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 泛化种和特化种的组成变化

总体上,从 21 份污泥样品中共获取 7 213 个细菌 ASVs 和 4 334 个微型真核生物 ASVs。在细菌中,共鉴定出 193 个泛化种 ASVs (2.7%)和 617 个特化种 ASVs (8.6%);在微型真核生物中,共鉴定出 119 个泛化种 ASVs (2.7%)和 333 个特化种 ASVs (7.7%)。PCoA 分析及 Adonis 检验结果( $R^2 \geq 0.5$ ,  $P < 0.001$ )表明,不同污水厂的活性污泥细菌和微型真核生物整体群落、泛化种和特化种根据其来源聚类(图 1 和表 1)。

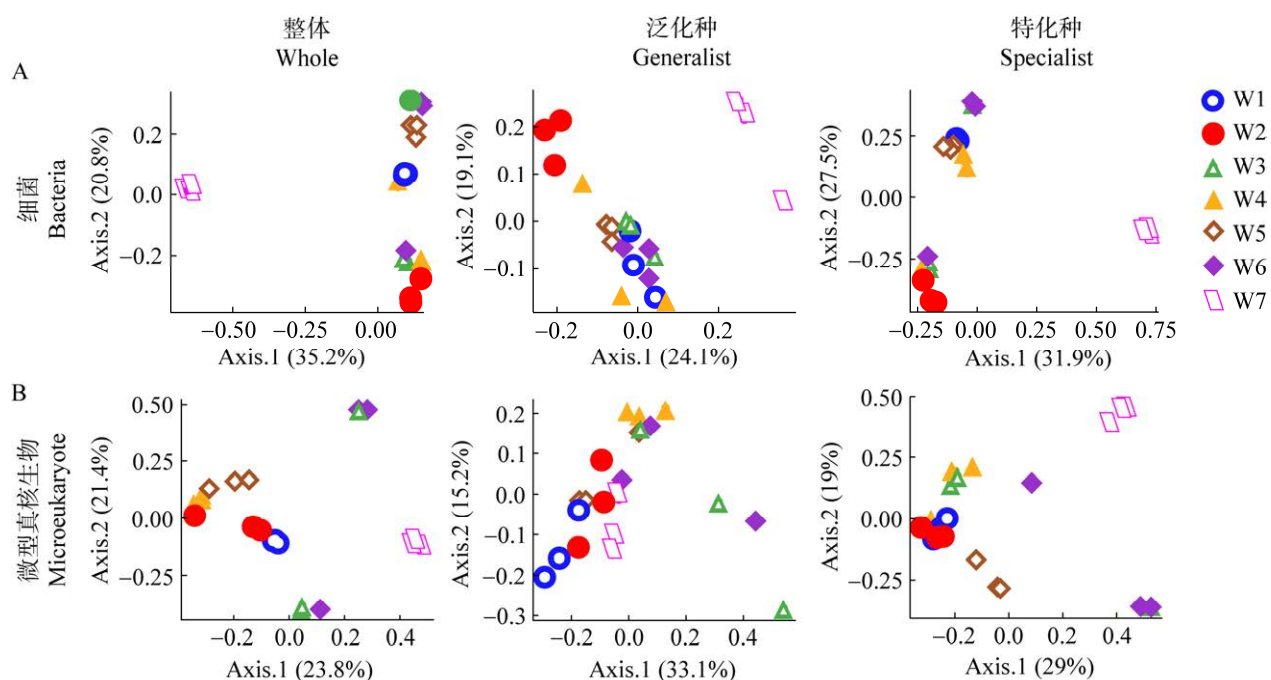


图 1 活性污泥微生物整体群落、泛化种和特化种的主坐标分析 A: 细菌. B: 微型真核生物; W1–W7: 7 个污水厂

Figure 1 Principal coordinates analysis of the whole communities, generalists and specialists of the microbiome in the activated sludge. A: Bacteria. B: Microeukaryote; W1–W7: seven wastewater treatment plants.

分类注释结果表明, 泛化种和特化种的优势类群有着明显不同(图 2)。变形菌门(*Proteobacteria*, 32.3%)和厚壁菌门(*Firmicutes*, 27.2%)是细菌泛化种的优势门, 而绿弯菌门(*Chloroflexi*, 22.5%)、伊纳维杆菌门(*Ignavibacteriae*, 20.8%)和变形菌门(*Proteobacteria*, 17.6%)在细菌特化种的相对丰度较高。后鞭毛生物(*Opisthokonta*, 62.4%)和古质体(*Archaeplastida*, 25.1%)是微型真核生物泛化种的优势类群, 而囊泡虫类(*Alveolata*,

73.6%)在微型真核生物特化种的相对丰度较高。

## 2.2 泛化种和特化种与环境因子的相关性

Spearman 相关分析结果显示,  $\text{NO}_2^-$ -N 与  $\text{NH}_4^+$ -N, 以及 TN 与  $\text{NO}_3^-$ -N 之间均呈显著正相关( $P < 0.01$ ), 温度和  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率呈显著正相关( $P < 0.05$ , 图 3)。Mantel test 结果表明, EC、 $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_2^-$ -N 是影响活性污泥细菌整体群落、泛化种和特化种的主要因素( $P < 0.05$ ), 而上述细菌类群与  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率有着显著关联

表 1 活性污泥微生物群落结构的 Adonis 检验

Table 1 Significance tests of the microbial community structures of the activated sludge by using Adonis test

域 Domain	分组 Group	因子 Factor	Adonis ( $R^2$ )	Adonis ( $P$ )
细菌	整体 Whole communities	采样点 Sites	0.704	<0.001
Bacteria	泛化种 Generalists	采样点 Sites	0.524	<0.001
	特化种 Specialists	采样点 Sites	0.676	<0.001
微型真核生物	整体 Whole communities	采样点 Sites	0.704	<0.001
Microeukaryote	泛化种 Generalists	采样点 Sites	0.524	<0.001
	特化种 Specialists	采样点 Sites	0.676	<0.001

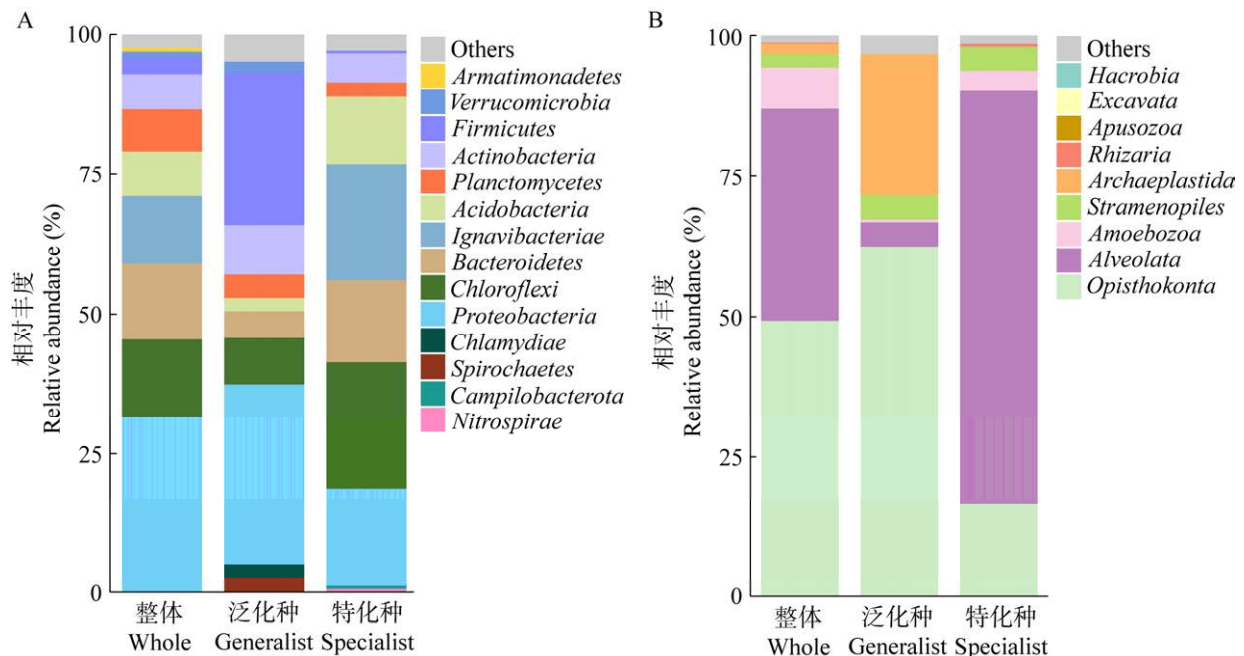


图 2 活性污泥微生物整体群落、泛化种和特化种的相对丰度 A: 细菌, 门水平. B: 微型真核生物, 超类群水平

Figure 2 Relative abundance of the whole communities, generalists and specialists of the microbiome in the activated sludge. A: Bacteria, phylum level. B: Microeukaryote, supergroup level.

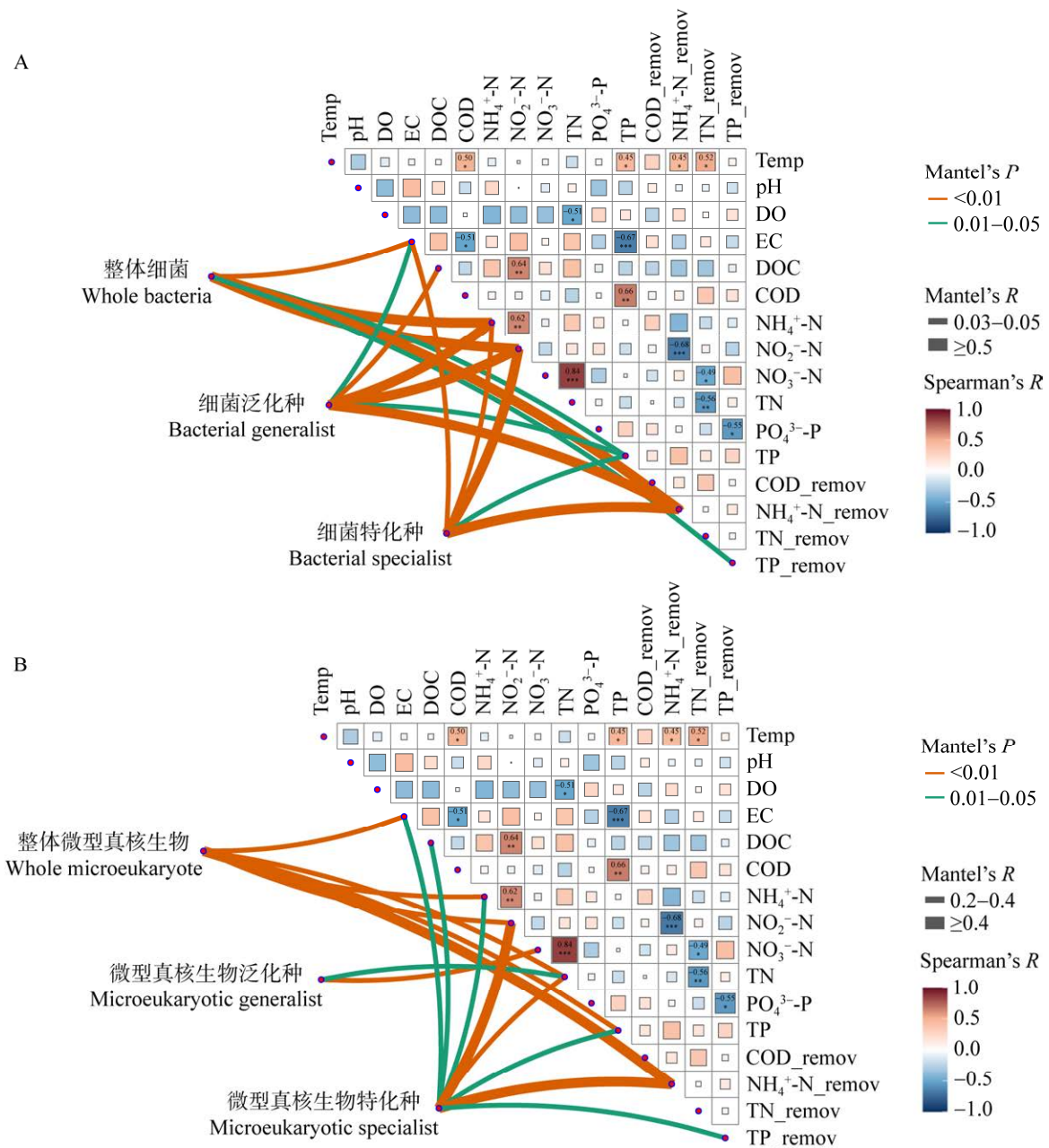


图 3 活性污泥微生物群落与环境因子的关联 A: 细菌. B: 微型真核生物. COD\_remove: COD 去除率, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N\_remove: NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除率, TN\_remove: TN 去除率, TP\_remove: TP 去除率; 矩形的颜色代表生物与非生物环境影响因子之间的相关关系(基于 Spearman 相关系数); 使用 Mantel test 检验微生物群落结构与环境因子之间的相关性, 连线的宽度代表了 Mantel's R 的大小, 线条颜色代表了 Mantel's P 的大小

Figure 3 Correlations between the microbial communities and environmental factors in the activated sludge. A: Bacteria. B: Microeukaryote. COD\_remove; COD removal rate, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N\_remove: NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N removal rate; TN\_remove: TN removal rate, TP\_remove: TP removal rate; The color of the rectangle represents the correlation between biotic and abiotic environmental factors (based on the Spearman correlation coefficient); Mantel test was used to examine the correlations between the microbial communities and environmental factors. The width of the line represents the size of the Mantel's R, and the color of the line represents the size of the Mantel's P.

( $P < 0.01$ )。对于活性污泥微型真核生物群落, TN 是影响其整体类群、泛化种和特化种的关键因子 ( $P < 0.05$ ); 而 EC 和  $\text{NO}_2^-$ -N 对其特化种有着显著影响 (EC:  $R = 0.228$ ,  $P < 0.05$ ;  $\text{NO}_2^-$ -N:  $R = 0.454$ ,  $P < 0.01$ )。此外, 整体微型真核生物及其特化种与  $\text{NH}_4^+$ -N 去除率有着显著关联 ( $P < 0.01$ )。

### 2.3 泛化种和特化种的构建过程

iCAMP 结果表明, 随机作用主导了细菌和微型真核生物的群落构建, 并且该作用对微型真核生物的影响大于细菌, 对泛化种的影响大于特化种(图 4)。深入分析表明, 随机作用中的扩散限制对细菌泛化种的影响较强(77.7%), 而

漂变对特化种的影响较强(44.6%); 确定性作用中的均质选择对特化种的影响较大(14.7%), 而异质选择对泛化种的影响较大(5.0%)。对于微型真核生物群落, 随机过程中的扩散限制是主导整体群落的构建机制(58.4%), 而漂变对泛化种(70.6%)和特化种(70.1%)影响较强。

### 2.4 泛化种和特化种之间的进化转变

BiSSE 模型结果表明, 细菌和微型真核生物特化种的成种速率(2.004 和 1.612)均显著高于泛化种(0.004 和 0.010), 且特化种的灭绝速率(0.014 和 0.025)稍高于泛化种(0.010 和 0.015)(图 5)。细菌泛化种转化为特化种的速率(4.388)

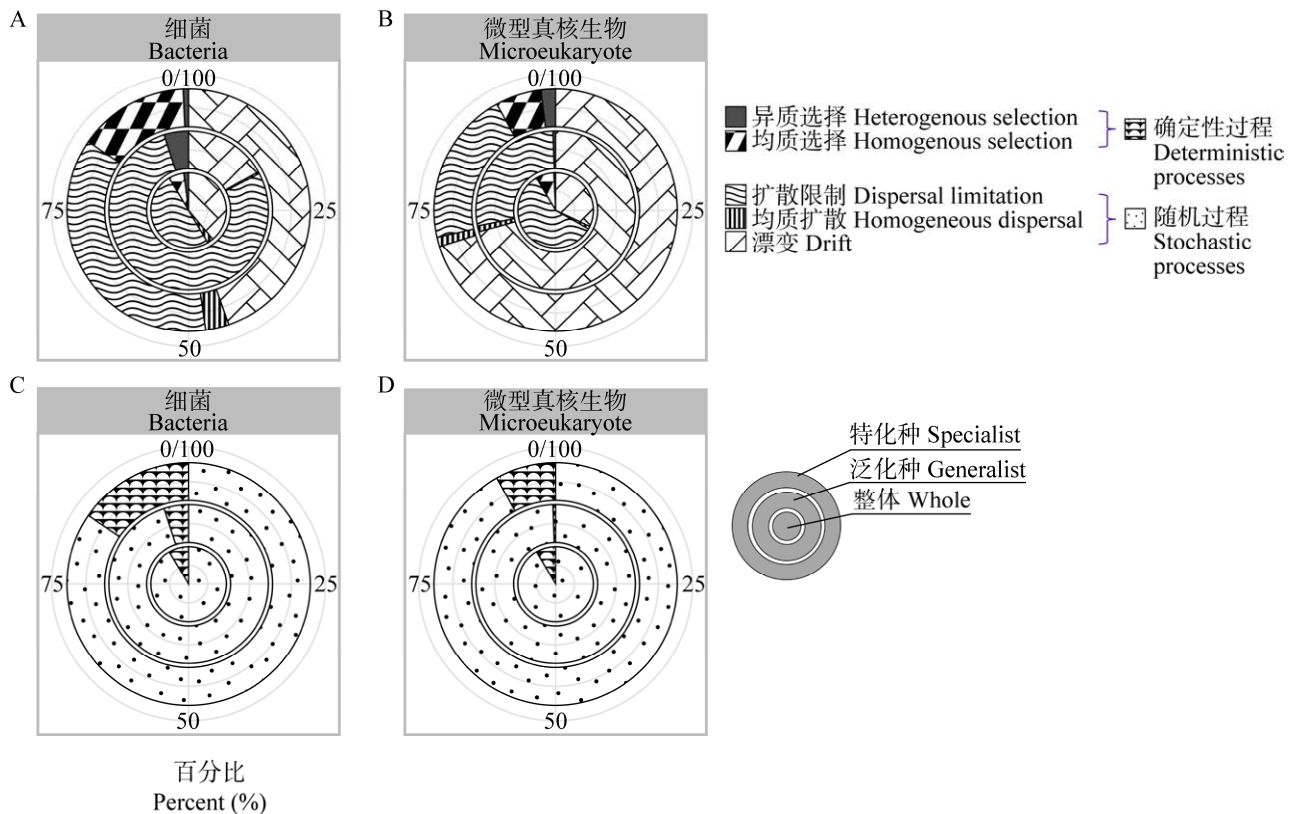


图 4 活性污泥细菌和微型真核生物的群落构建过程 A、B: 细菌和微型真核生物的不同生态过程的相对比例; C、D: 细菌和微型真核生物在群落构建过程中随机性和确定性的相对比例

Figure 4 Community assembly processes of the bacterial and microeukaryotic communities of the activated sludge. A, B: The relative proportions of ecological processes among bacteria and microeukaryotes; C, D: The relative contributions of stochastic and deterministic factors in the community assembly processes of bacteria and microeukaryotes.



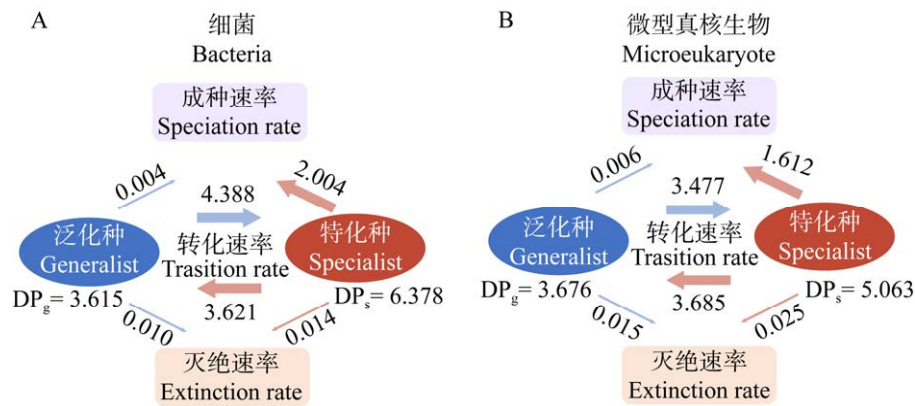


图 5 基于二分成种与灭绝模型估算活性污泥微生物泛化种和特化种的进化特征 A: 细菌. B: 微型真核生物. 箭头宽度表示相对速率大小

Figure 5 Estimation of evolutionary characteristics for the microbial generalists and specialists based on the binary-state speciation and extinction model. A: Bacteria. B: Microeukaryote. The width of the arrow represents the relative speed size.

稍高于反向转化速率(3.621), 而微型真核生物泛化种与特化种之间的转换速率相当。细菌和微型真核生物泛化种的灭绝速率约是其成种速率的 2.5 倍。然而, 特化种的成种速率和灭绝速率的相对大小与泛化种相反: 细菌特化种的成种速率是灭绝速率的 145.7 倍, 而微型真核生物则为 63.6 倍。上述结果表明, 成种是特化种新物种的主要形成方式。特化种的多样化潜力(DP)稍高于泛化种, 并且细菌的特化种与泛化种 DP 比 ( $DP_s/DP_g$ ) 为 1.76, 稍高于微型真核生物(1.38)。

### 3 讨论

#### 3.1 影响泛化种和特化种的重要环境因子

本研究结果表明, EC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  可能是共同影响活性污泥细菌泛化种和特化种的关键环境因子, 而微型真核生物则主要受 TN 影响。此外,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  与微型真核生物特化种也有着显著关联(图 3)。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的有效利用可能影响着微生物的多样化过程<sup>[22]</sup>。一方面, 氮是微生物的关键营养物质, 营养物质的缺乏可能导致污泥膨胀及处理效率降低<sup>[23-24]</sup>; 另一方面,

进水中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  浓度过高可能会对污泥微生物产生一定的毒害作用<sup>[25]</sup>。污水脱氮过程主要通过硝化反应和反硝化反应协同完成, 主要涉及氨氧化微生物 (ammonia-oxidizing microbe, AOM)、反硝化细菌(denitrifying bacteria, DNB) 等菌群。AOM 和 DNB 通过协同作用, 助力污水处理系统高效去除  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ <sup>[26]</sup>。这与本文研究结果一致, 即活性污泥细菌群落组成与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  去除率显著关联。与微型真核生物泛化种相比, 特化种由于其较窄的环境耐受性, 因此更容易受到环境参数的影响。Fan 等<sup>[27]</sup>的研究表明, EC 可以反映生境中无机离子的情况, 从而影响微生物的代谢能力。微生物的核心代谢功能如呼吸醌类和类异戊二烯的生物合成、糖酵解和渗透物运输等可能会随着 EC 的变化而进行调整<sup>[28]</sup>, 进而导致微生物类群, 如泛化种和特化种的群落结构发生变化。

#### 3.2 泛化种与特化种形成的动态机制

iCAMP 模型结果表明, 随机作用是影响细菌和微型真核生物群落的主要生态学机制, 并且对后者的影响更强(图 4)。由于微型真核生物

的个体较大,扩散限制对其影响更强,从而导致随机过程的影响较强。Chen 等<sup>[29]</sup>研究发现,在亚热带河流-水库系统中,随机过程在微型真核生物的群落构建中占主导作用。Huang 等<sup>[30]</sup>的研究结果表明,在河口湿地土壤中,随机过程主导了细菌和真菌的群落构建过程,细菌群落主要通过均质扩散和扩散限制来调控,而真菌群落主要受漂变的影响。对于泛化种和特化种,由于前者相较于后者具有较宽阔的生态位宽度,表现出较好的适应环境变化的能力,所以受到环境选择的影响较小<sup>[8]</sup>,即泛化种的构建过程表现出更强的随机性。然而,Al 等<sup>[19]</sup>的研究结果表明,微生物泛化种和特化种主要由确定性过程驱动。这可能是由于不同生境(如自然生境 vs. 人工生境)环境条件等方面的差异而导致的研究结果差异。

### 3.3 泛化种和特化种的进化特征

BiSSE 模型结果表明,相较于微型真核生物,细菌具有较高的成种速率和较低的灭绝速率,即细菌具有较高的多样化潜力(图 5)。物种形成是物种多样化的最终驱动因素<sup>[9]</sup>。泛化种具有较宽阔的生态位宽度和较强的扩散能力,这可能对成种过程产生较强的负向影响<sup>[31]</sup>,即泛化种可能表现出较低的成种速率。其次,由于特化种比泛化种更可能受到环境资源的限制,导致其更容易受到生境破碎化等环境波动的影响<sup>[32]</sup>,因此特化种可能会表现出较高的灭绝速率。这与宏观生物学的观测结果一致。保护生物学认为,在种群水平上自然生态系统中特化种比泛化种更容易遭受灭绝<sup>[33]</sup>。由“黑皇后假说”可知,泛化种在适宜环境中可能通过减少基因组大小来减少代谢,成为本区域的特化种<sup>[34]</sup>,因此泛化种可能更趋向于转化为特化种。这也说明,在局部区域内,特化种在微生物进化中具有更重要的作用。这对污水处理工艺具有一定

的潜在指导意义:通过特定来源(或特殊性能)的污泥接种来补充特化菌种,可能可以提高特定污染物的去除效率;通过改变工艺参数和操作条件可以定向富集具有特定功能的特化种<sup>[35]</sup>。

Zuo 等<sup>[8]</sup>和 Xu 等<sup>[10]</sup>的研究结果表明,泛化种较特化种而言具有较高的成种速率和较低的灭绝速率。这主要有以下 3 种原因:(1) 不同研究对泛化种和特化种的定义不同。本研究采用 3 种生态位宽度指数(Levins 生态位宽度、Shannon 多样性和出现频率)相结合来鉴别,而其他研究<sup>[8,10]</sup>的分类多仅基于物种的出现频率,从而导致鉴定获得物种种类和数量不同。(2) 不同研究的尺度不同,空间上可能具有区域、局域到全球的差别;时间上也有单次、多次、季节、多年等观测尺度的差别。(3) 研究对象范畴不同:活性污泥含有丰富的营养物质、大量的微生物,这更有利于新生态位的出现和物种更替。上述差异均可能导致研究结果的差异。未来研究可考虑从污水处理系统中采集时间序列样品,以揭示泛化种和特化种的演替特征,进而更全面地预测上述类群的演变规律。

## 4 结论

在活性污泥中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和 EC 是影响细菌泛化种、细菌特化种和微型真核生物特化种的重要环境因子,上述微生物类群与  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  去除率显著相关。iCAMP 模型结果表明,随机过程是影响泛化种和特化种的主要生态机制,其对泛化种的影响较大;相较于细菌群落,随机作用对微型真核生物的主导性较强。BiSSE 模型结果表明,特化种较泛化种具有较高的成种速率和灭绝速率,并且两者在多样性维持方面扮演了重要角色,其中细菌的作用更强。本研究为认识活性污泥中泛化种和特化种的动态变化和构建机制提供了一定的参考。

## REFERENCES

- [1] 房平, 李雨娥, 魏东洋, 金德才. 污水处理过程中微生物群落多样性及其对环境因子响应的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 3004-3020.  
FANG P, LI YE, WEI DY, JIN DC. Microbial community diversity and its response to environmental factors during sewage treatment[J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 3004-3020 (in Chinese).
- [2] 高程, 郭良栋. 微生物物种多样性、群落构建与功能性状研究进展[J]. 生物多样性, 2022, 30(10): 168-180.  
GAO C, GUO LD. Progress on microbial species diversity, community assembly and functional traits[J]. Biodiversity Science, 2022, 30(10): 168-180 (in Chinese).
- [3] HU AY, WANG HJ, CAO MX, RASHID A, LI MF, YU CP. Environmental filtering drives the assembly of habitat generalists and specialists in the coastal sand microbial communities of southern China[J]. Microorganisms, 2019, 7(12): 598.
- [4] CAVALCANTE LL, DAGA VS, BRAGA RR, PADIAL AA. Functional homogenization in aquatic ecosystems: a review and framework proposal[J]. Hydrobiologia, 2023, 850(6): 1283-1302.
- [5] HOU LY, HU AY, CHEN SH, ZHANG KS, ORLIĆ S, RASHID A, YU CP. Deciphering the assembly processes of the key ecological assemblages of microbial communities in thirteen full-scale wastewater treatment plants[J]. Microbes and Environments, 2019, 34(2): 169-179.
- [6] 李洁, 李杏春, 郭良栋. 真菌群落构建机制研究进展[J]. 菌物学报, 2023, 42(1): 13-25.  
LI J, LI XC, GUO LD. Research progress on community assembly mechanisms of fungi[J]. Mycosystema, 2023, 42(1): 13-25 (in Chinese).
- [7] 文婧荣, 潘雅清, 康鹏, 张亚琪, 胡金鹏, 雷茜. 荒漠草原盐沼湿地苦豆子土壤细菌群落构建机制及其影响因素[J]. 微生物学通报, 2024, 51(1): 111-126.  
WEN JR, PAN YQ, KANG P, ZHANG YQ, HU JP, LEI Q. Factors influencing the bacterial community assembly in the soil of a salt marsh in the desert steppe dominated by *Sophora alopecuroides*[J]. Microbiology China, 2024, 51(1): 111-126 (in Chinese).
- [8] ZUO J, LIU LM, XIAO P, XU ZJ, WILKINSON DM, GROSSART HP, CHEN HH, YANG J. Patterns of bacterial generalists and specialists in lakes and reservoirs along a latitudinal gradient[J]. Global Ecology and Biogeography, 2023, 32(11): 2017-2032.
- [9] HE Q, WANG S, FENG K, MICHALETZ ST, HOU WG, ZHANG WH, LI FR, ZHANG YD, WANG DR, PENG X, YANG XS, DENG Y. High speciation rate of niche specialists in hot springs[J]. The ISME Journal, 2023, 17: 1303-1314.
- [10] XU QC, LUO GW, GUO JJ, XIAO Y, ZHANG FG, GUO SW, LING N, SHEN QR. Microbial generalist or specialist: intraspecific variation and dormancy potential matter[J]. Molecular Ecology, 2022, 31(1): 161-173.
- [11] LV ZG, XU M, LIU Y, RØNN R, RENSING C, LIU S, GAO SH, LIAO H, LIU YR, CHEN WL, ZHU YG, HUANG QY, HAO XL. Phagotrophic protists modulate copper resistance of the bacterial community in soil[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(9): 3590-3601.
- [12] IFON BE, ADYARI B, HOU LY, ZHANG LP, LIAO X, PETER PO, RASHID A, YU CP, HU AY. Insight into variation and controlling factors of dissolved organic matter between urban rivers undergoing different anthropogenic influences[J]. Journal of Environmental Management, 2023, 326(Pt B): 116737.
- [13] CHEN WD, WEI J, SU ZG, WU LW, LIU M, HUANG XX, YAO PC, WEN DH. Deterministic mechanisms drive bacterial communities assembly in industrial wastewater treatment system[J]. Environment International, 2022, 168: 107486.
- [14] HU AY, LI S, ZHANG LP, WANG HJ, YANG J, LUO ZX, RASHID A, CHEN SQ, HUANG WX, YU CP. Prokaryotic footprints in urban water ecosystems: a case study of urban landscape ponds in a coastal city, China[J]. Environmental Pollution, 2018, 242(Pt B): 1729-1739.
- [15] LATZ MAC, GRUJCIC V, BRUGEL S, LYCKEN J, JOHN U, KARLSON B, ANDERSSON A, ANDERSSON AF. Short- and long-read metabarcoding of the eukaryotic rRNA operon: evaluation of primers and comparison to shotgun metagenomics sequencing[J]. Molecular Ecology Resources, 2022, 22(6): 2304-2318.
- [16] XU J, MOLIN G, DAVIDSON S, ROTH B, SJÖBERG K, HÅKANSSON Å. CRP in outpatients with inflammatory bowel disease is linked to the blood microbiota[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 10899.
- [17] GAD M, HOU LY, LI JW, WU Y, RASHID A, CHEN NW, HU AY. Distinct mechanisms underlying the assembly of microeukaryotic generalists and specialists in an anthropogenically impacted river[J]. The Science of the Total Environment, 2020, 748: 141434.
- [18] WU WX, LOGARES R, HUANG BQ, HSIEH CH. Abundant and rare picoeukaryotic sub-communities present contrasting patterns in the epipelagic waters of

- marginal seas in the northwestern Pacific Ocean[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(1): 287-300.
- [19] AL MA, XUE YY, XIAO P, XU J, CHEN HH, MO YY, SHIMETA J, YANG J. Community assembly of microbial habitat generalists and specialists in urban aquatic ecosystems explained more by habitat type than pollution gradient[J]. *Water Research*, 2022, 220: 118693.
- [20] NING DL, YUAN MT, WU LW, ZHANG Y, GUO X, ZHOU XS, YANG YF, ARKIN AP, FIRESTONE MK, ZHOU JZ. A quantitative framework reveals ecological drivers of grassland microbial community assembly in response to warming[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 4717.
- [21] FITZJOHN RG. Diversitree: comparative phylogenetic analyses of diversification in R[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2012, 3(6): 1084-1092.
- [22] 金宝丹, 刘叶, 钮劲涛, 程慧, 褚晨晨, 贾宇升, 杜京京, 曹霞, 战香玲. 不同 C/N 对高氮废水高效脱氮处理的影响[J]. *环境污染与防治*, 2024, 46(3): 334-338, 347. JIN BD, LIU Y, NIU JT, CHENG K, CHU CC, JIA YS, DU JJ, CAO X, ZHAN XL. Effect of different C/N on efficient denitrification treatment of high nitrogen wastewater[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2024, 46(3): 334-338, 347 (in Chinese).
- [23] 龚立, 王启镛, 刘志远, 张德祥. 某大型造纸废水处理厂的污泥膨胀控制及微生物群落结构分析[J]. *环境工程学报*, 2023, 17(6): 1761-1768. GONG L, WANG QB, LIU ZY, ZHANG DX. Sludge bulking control and microbial community structure analysis of a large papermaking wastewater treatment plant[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2023, 17(6): 1761-1768 (in Chinese).
- [24] 宋阳, 姜成英, 王爱杰, 刘双江. 城市污水处理厂活性污泥生物泡沫研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 1954-1970. SONG Y, JIANG CY, WANG AJ, LIU SJ. Research progress towards biological foaming of activated sludge in municipal wastewater treatment plants[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(8): 1954-1970 (in Chinese).
- [25] TIAN XF, HU HW, DING Q, SONG MH, XU XL, ZHENG Y, GUO LD. Influence of nitrogen fertilization on soil ammonia oxidizer and denitrifier abundance, microbial biomass, and enzyme activities in an alpine meadow[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(4): 703-713.
- [26] HU KY, LI WX, WANG YN, WANG B, MU H, REN S, ZENG KX, ZHU HJ, LIANG JM, WANG YE, XIAO JQ. Novel biological nitrogen removal process for the treatment of wastewater with low carbon to nitrogen ratio: a review[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2023, 53: 103673.
- [27] FAN RJ, MA WP, ZHANG HL. Microbial community responses to soil parameters and their effects on petroleum degradation during bio-electrokinetic remediation[J]. *The Science of the Total Environment*, 2020, 748: 142463.
- [28] WAGNER T, SAHA P, BRUNING H, RIJNAARTS H. Lowering the fresh water footprint of cooling towers: a treatment-train for the reuse of discharged water consisting of constructed wetlands, nanofiltration, electrochemical oxidation and reverse osmosis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 364: 132667.
- [29] CHEN WD, REN KX, ISABWE A, CHEN HH, LIU M, YANG J. Stochastic processes shape microeukaryotic community assembly in a subtropical river across wet and dry seasons[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 138.
- [30] HUANG LB, BAI JH, WANG JJ, ZHANG GL, WANG W, WANG X, ZHANG L, WANG YQ, LIU XH, CUI BS. Different stochastic processes regulate bacterial and fungal community assembly in estuarine wetland soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 167: 108586.
- [31] BIRAND A, VOSE A, GAVRILETS S. Patterns of species ranges, speciation, and extinction[J]. *The American Naturalist*, 2012, 179(1): 1-21.
- [32] VRBA ES. Ecology in relation to speciation rates: some case histories of Miocene-Recent mammal clades[J]. *Evolutionary Ecology*, 1987, 1(4): 283-300.
- [33] HAMBLER C, CANNEY SM. *Conservation*[M]. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2013.
- [34] MAS A, JAMSHIDI S, LAGADEUC Y, EVEILLARD D, VANDENKOORNHUYSE P. Beyond the black queen hypothesis[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2085-2091.
- [35] WU LW, NING DL, ZHANG B, LI Y, ZHANG P, SHAN XY, ZHANG QT, BROWN MR, LI ZX, van NOSTRAND JD, LING FQ, XIAO NJ, ZHANG Y, VIERHEILIG J, WELLS GF, YANG YF, DENG Y, TU QC, WANG AJ, CONSORTIUM GWM, ZHANG T, HE ZL, KELLER J, NIELSEN PH, ALVAREZ PJJ, CRIDDLE CS, WAGNER M, TIEDJE JM, HE Q, CURTIS TP, STAHL DA, ALVAREZ-COHEN L, RITTMANN BE, WEN XH, ZHOU JZ. Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(7): 1183-1195.