

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第6期

Vol.38 No.6

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

PM_{2.5}浓度空间分异模拟模型对比:以京津冀地区为例 吴健生,王茜,李嘉诚,涂媛杰(2191)

北京地区近35年大气污染扩散条件变化 郭淳薇,孙兆彬,李梓铭,张小玲,杨慧玲(2202)

北京市典型区域夏季降水及其对大气污染物的影响 韩力慧,张海亮,向欣,张鹏,程水源,魏巍(2211)

北京山谷风环流特征分析及其对PM_{2.5}浓度的影响 董群,赵普生,王迎春,苗世光,高健(2218)

北京市建筑施工扬尘排放特征 薛亦峰,周震,黄玉虎,王堃,聂滕,聂磊,秦建平(2231)

生物质成型燃料锅炉挥发性有机物排放特征 吴昌达,张春林,白莉,沈丽冉,王伯光,刘军,杨立辉(2238)

广州番禺大气成分站复合污染过程VOCs对O₃与SOA的生成潜势 邹宇,邓雪娇,李菲,殷长秦(2246)

南京北郊大气臭氧周末效应特征分析 王俊秀,安俊琳,邵平,邹嘉南,林旭,张玉欣(2256)

亚热带稻区大气氨/铵态氮污染特征及干湿沉降 王杰飞,朱潇,沈健林,曾冠军,王娟,吴金水,李勇(2264)

宣威肺癌高发区燃煤排放颗粒物中铁的价态及其氧化性 王强翔,谭正莹,赵慧,李继华,田林玮,王青耀,米持真一,吕森林(2273)

垃圾焚烧厂二噁英污染及厂区工人呼吸暴露评估 杜国勇,汪倩,张姝琳,张素坤,邓春萍,张洪铭,朱盟翔,蒋昕,朱成旺,任燕玲(2280)

重庆市新型干法水泥厂汞排放特征 张成,张雅惠,王永敏,王定勇,罗程钟,徐凤,何秀清(2287)

轻型汽油车简易瞬态工况法与定容全流稀释采样法(CVS)的排放相关性 王鸿宇,黄成,胡馨遥,李莉,陈勇航,徐健(2294)

不同排放标准公交车燃用生物柴油颗粒物排放特性 楼狄明,赵成志,徐宁,谭丕强,胡志远(2301)

西江水氧同位素组成的空间变化及环境意义 许琦,李建鸿,孙平安,何师意,于爽(2308)

基于SWAT与DNDC模型对比研究亚热带流域氮淋溶与输出过程 韩宁,陈维梁,高扬,郝卓,于贵瑞(2317)

三峡库区澎溪河与磨刀溪电导率等水质特征与水华的关系比较 姜伟,周川,纪道斌,刘德富,任豫霜,Douglas Haffner,谢德体,张磊(2326)

滇池草海间隙水与上覆水氮磷时空变化特征 王一茹,王圣瑞,焦立新,张云,高秋生,杨枫(2336)

香溪河沉积物、间隙水的磷分布特征及释放通量估算 罗玉红,聂小倩,李晓玲,戴泽龙,胥焱,黄应平(2345)

大冶湖表层水和沉积物中重金属污染特征与风险评价 张家泉,田倩,许大毛,占长林,刘婷,姚瑞珍,刘先利,肖文胜(2355)

海水淡化低温多效蒸馏工艺(LT-MED)沿程溴代消毒副产物的生成 齐菲,孙迎雪,杨哲,胡春芳,常学明,胡洪营(2364)

两种水体铜配合容量测试方法的适用性比较及应用 王晨焱,姜括,谢文龙,汪磊(2373)

高地下水水位地区透水铺装控制径流污染的现场实验 金建荣,李田,时珍宝(2379)

稳定型纳米零价铁去除地下水中2,4-二氯苯酚 张永祥,常杉,李飞,徐毅,高维春(2385)

超声、紫外增强H₂O₂/KI降解磺胺甲基嘧啶 魏红,孙博成,杨小雨,李克斌(2393)

不同铅负载量改性膨润土对水中磷酸盐吸附作用的对比 姜博汇,林建伟,詹艳慧,邢云青,黄宏,储鸣,王星星(2400)

铁炭内电解垂直流人工湿地对污水厂尾水深度脱氮效果 郑晓英,朱星,周翔,徐亚东,王菊,韦诚,高雅洁,周徽(2412)

组合生物滤池对养殖废水的净化效率及影响因素分析 张世羊,张胜花,张翔凌,王广军(2419)

温度对聚磷菌活性及基质竞争的影响 张玲,彭党聪,常蝶(2429)

海洋厌氧氨氧化菌的富集培养及其脱氮特性 冯莉,于德爽,李津,单晓静,杨振琳(2435)

不同生物过滤系统铵态氮转化速率及生物膜特性分析 周洪玉,韩梅琳,仇天雷,高敏,孙兴滨,王旭明(2444)

磷酸盐对厌氧氨氧化活性污泥脱氮效能的影响 周正,刘凯,王凡,林兴,李祥,黄勇,顾澄伟(2453)

碳源胁迫下脱氮除磷颗粒污泥性能变化及其机制 秦诗友,陈威,马兆瑞,刘小英,陈晓国,余文韬,夏媛媛,黄健(2461)

外源Ca²⁺对SBR启动期活性污泥胞外多聚物的动态影响 任丽飞,杨新萍,张雯雯(2470)

膨胀污泥中丝状菌的分离鉴定与特性分析 张崇森,牛全睿,徐雨梅,王院梅,王岱,武少华(2477)

反硝化悬浮填料适用性及其微生物群落结构解析 谭阳,李激,徐巧,付磊,尤世界,王硕(2486)

硫代硫酸钠对排硫硫杆菌固碳能力的影响及其作用机制 李欢,王磊,王亚楠(2496)

关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征 乔沙沙,周永娜,柴宝峰,贾彤,李磊(2502)

基于受体模型与地统计的城市居民区土壤重金属污染源解析 陈秀端,卢新卫(2513)

基于蒙特卡罗模拟的土壤环境健康风险评价:以PAHs为例 佟瑞鹏,杨校毅(2522)

Eh、pH和铁对水稻土砷释放的影响机制 钟松雄,尹光彩,陈志良,林亲铁,黄润林,刘德玲,彭焕龙,黄玲,王欣,蒋晓璐(2530)

典型土壤不同提取态Cd与水稻吸收累积的关系 陈齐,邓潇,陈珊,侯红波,彭佩钦,廖柏寒(2538)

复合改良剂对Cd污染稻田早晚稻产地修复效果 陈立伟,杨文骏,辜娇峰,周航,高子翔,廖柏寒(2546)

两种钝化剂对土壤Pb、Cd、As复合污染的菜地修复效果 田桃,雷鸣,周航,杨文骏,廖柏寒,胡立琼,曾敏(2553)

大豆和小麦根系对非的吸持作用及其生物有效性 王红菊,李倩倩,沈羽,顾若尘,盛好,占新华(2561)

源自腐殖土的溶解性有机质组分对棕壤和黑土吸附苯并三唑的影响 杨宁伟,毕二平(2568)

地形、树种和土壤属性对喀斯特山区土壤胞外酶活性的影响 罗攀,陈浩,肖孔操,杨利琼,文丽,李德军(2577)

长期定位有机物料还田对关中平原冬小麦-玉米轮作土壤N₂O排放的影响 郝耀旭,刘继璇,袁梦轩,周应田,杨学云,顾江新(2586)

基于大气被动式采样的人体头发中类二噁英多氯联苯暴露的途径 袁浩东,白瑶,李秋旭,王英,金军(2594)

广西刁江野生鱼类重金属积累特征及其健康风险评价 王俊能,马鹏程,张丽娟,陈棉彪,黄楚珊,柳晓琳,胡国成,许振成(2600)

活性炭在中高温条件下对玉米秸秆厌氧发酵的影响 甘荣,葛明民,刘勇迪,贾红华,闫志英,雍晓雨,吴夏莞,周俊(2607)

工艺过程源和溶剂使用源挥发性有机物排放成分谱研究进展 王红丽,杨肇勋,景盛翱(2617)

《环境科学》征稿简则(2452) 《环境科学》征订启事(2560) 信息(2201, 2230, 2384)

膨胀污泥中丝状菌的分离鉴定与特性分析

张崇森¹, 牛全睿¹, 徐丽梅¹, 王陇梅¹, 王岱¹, 武少华²

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 国家非传统水资源开发利用国际科技合作基地, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055; 2. 西安水务(集团)有限责任公司, 西安 710061)

摘要: 为了阐明膨胀污泥中的丝状菌种类和特性, 利用培养法、显微镜检和分子生物学分析技术从城市污水处理厂的膨胀污泥中分离鉴定丝状菌, 并对典型丝状菌进行特性分析. 利用高氏一号培养基和淀粉培养基分离出的丝状菌可归入 18 个属, 其中链霉菌属 (*Streptomyces*)、细杆菌属 (*Microbacterium*) 属于放线菌门, 其余均属于真菌. 青霉菌属 (*Penicillium*)、枝孢菌属 (*Cladosporium*)、链格孢属 (*Alternaria*)、曲霉菌属 (*Aspergillus*)、毛孢子菌属 (*Trichosporon*) 在培养基上的出现频次较高. 毛孢子菌、链霉菌、青霉菌和链格孢菌都能在 pH 中性或偏酸性条件下良好生长. 高浓度的 NaCl 能够抑制毛孢子菌和链霉菌, 但对青霉菌和链格孢菌的抑制作用不明显. 除毛孢子菌外, 链霉菌、青霉菌和链格孢菌都可有效地利用蔗糖、淀粉和纤维素, 碳源浓度增加会促进它们的生长. rDNA-ITS 区高通量测序结果表明膨胀污泥中存在大量未知真菌.

关键词: 膨胀污泥; 丝状菌; 分离; 高通量测序

中图分类号: X172; X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)06-2477-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201610094

Isolation, Identification and Characterization of the Filamentous Microorganisms from Bulking Sludge

ZHANG Chong-miao¹, NIU Quan-rui¹, XU Li-mei¹, WANG Long-mei¹, WANG Dai¹, WU Shao-hua²

(1. Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, Ministry of Education, International Science and Technology Cooperation Center for Urban Alternative Water Resources Development, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Xi'an Water Group Company Limited, Xi'an 710061, China)

Abstract: To illustrate the species and characteristics of filamentous microorganisms in bulking sludge, culture method, microscopic examination and molecular biological analysis were conducted to isolate and identify the filamentous microorganisms existing in bulking sludge collected from municipal wastewater treatment plant. Filamentous microorganisms isolated by Gause's synthetic agar medium and starch agar fell into 18 genera, among which *Streptomyces* and *Microbacterium* belong to bacterial phylum Actinobacteria, all other isolates were classified into fungi. *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus* and *Trichosporon* were the fungi with high occurrence frequency in culture medium. *Trichosporon*, *Streptomyces*, *Penicillium* and *Alternaria* could grow well at neutral pH or meta-acid condition. High concentration of NaCl could inhibit the growth of *Trichosporon* and *Streptomyces*, but had no obvious inhibitory effect on *Penicillium* and *Alternaria*. Except of *Trichosporon*, *Streptomyces*, *Penicillium* and *Alternaria* all could utilize saccharose, starch and cellulose. The increase of carbon source concentration could promote their growth. The results of high throughput sequencing of rDNA-ITS showed that a large number of unidentified fungi existed in bulking sludge.

Key words: bulking sludge; filamentous microorganisms; isolation; high throughput sequencing

活性污泥膨胀现象普遍存在于世界各国污水处理厂,其特征主要体现为污泥沉降性能变差、出水水质恶化,情况严重时会导致活性污泥处理系统的瘫痪^[1,2]. 活性污泥膨胀这一难题已经困扰了学界多年. 现有的研究表明,丝状菌过度增殖是引起污泥膨胀的主要原因. 膨胀污泥中的丝状菌种类十分繁杂,在生物分类学中归属于原核生物域和真核生物域. 前者主要来自放线菌门(Actinobacteria),包括戈登氏菌属(*Gordonia*)^[3]、微丝菌(*Microthrix parvicella*)^[3,4,5]、偶发分支杆菌(*Mycobacterium fortuitum*)^[3,6]等;变形菌门(Proteobacteria),例如丝硫细菌属(*Thiothrix*)^[7]、浮游球衣菌(*Sphaerotilus*

natans)^[8];绿弯菌门(Chloroflexi),例如 Type0092^[9]、Type1851^[10];以及拟杆菌门(Bacteroidetes),例如软发菌(*Haliscomenobacter hydrossis*)^[11]和噬胞菌属(*Cytophaga*)的 1863 类型^[3]. 真核生物域的丝状菌都是真菌,但对它们的了解十分有限. 迄今为止仅分离鉴定出青霉菌属(*Penicillium*)^[12]、镰刀菌属(*Fusarium*)^[13]等几株真菌.

收稿日期: 2016-10-16; 修订日期: 2017-01-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(51578441); 国家科技支撑计划项目(2014BAC13B06); 陕西省教育厅科研计划项目(15JK1442); 陕西省污水处理与资源化创新团队研究计划项目(2013KCT-13)

作者简介: 张崇森(1978~),男,博士,教授,主要研究环境微生物的风险评价与控制, E-mail: zhangchongmiao@163.com

活性污泥膨胀与水质、温度、营养状况以及工艺运行条件都有关系^[1,13]. 各种丝状菌对营养物质的利用情况不同,对 pH、温度和盐类的适应性也有差异^[14]. 这方面现有的研究主要集中在 Type021N、Type1851、微丝菌和诺卡氏型菌属(*Nocardioforms*)^[15~17]这些细菌上,而对膨胀污泥中的丝状真菌特性研究几乎是空白.

传统的分离培养方法对于膨胀污泥中丝状菌的鉴定必不可少,但也存在弊端:很多丝状菌的形态都十分相似,还有些丝状菌的形态会随外界条件的改变而变化(例如浮游球衣菌、Type1701、Type0092、Type0961)^[18,19],因此仅依靠形态学分析就非常容易误判. 此外,大量丝状菌是难以培养或无法培养的,只有通过非培养法才能获知其核酸信息. PCR-DGGE 是最常用的分析技术,但操作繁琐,且容易丢失样品中含量较低微生物的信息,也无法对各物种进行准确的丰度计算^[20]. 近年来迅速发展起来的高通量测序技术,具有分析结果准确、高速、高灵敏度和高自动化等特点,能够对样品中所有微生物进行全面检测,在海量数据的基础上对各物种的种类和丰度进行分析,在环境微生物鉴定领域的应用越来越广泛^[21,22].

本研究尝试将传统的分离培养与分子生物学技术相结合,对膨胀活性污泥中的丝状菌进行分离鉴定,尤其针对以往不曾探明的丝状真菌进行深入研究. 考察菌株对不同碳源的利用情况以及温度、pH 和盐分等环境因素对菌株生长的影响. 在高通量测序的基础上,全面分析膨胀污泥中微生物的群落结构,以期阐明活性污泥膨胀成因提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 膨胀污泥采集和丝状菌分离

2015 年 3 月~2015 年 4 月,从西安市某污水处理厂 A²/O 工艺好氧池采集膨胀活性污泥共 7 次. 采集的膨胀污泥用冰盒保存,2 h 内送至实验室进行污泥沉降指数(SVI)分析和丝状菌培养. 膨胀污泥经 10 倍稀释后取 0.1 mL 分别涂布于高氏一号培养平板(淀粉 20 g, KNO₃ 1 g, NaCl 0.5 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ 0.5 g, FeSO₄ 0.01 g, 琼脂 20 g, 水 1 000 mL, pH 7.2~7.4)和添加 K₂CrO₇ 的淀粉培养平板(牛肉膏 5 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 可溶性淀粉 2 g, 琼脂 20 g, K₂CrO₇ 50 mg, 水 1 000 mL, pH 7.0~7.2)表面,置于 28℃ 培养 4~7 d,挑取单菌落分别在高氏一号培养平板和淀粉培养平板上进行分离纯化.

1.2 丝状菌的显微观察和 PCR 鉴定

将分离出的菌株插片培养 3~5 d,经革兰氏染色和奈氏染色,于光学显微镜下观察菌株的形态特征.

在 95℃ 裂解菌株,释放 DNA 作为模板进行 PCR 扩增. 分别使用细菌引物(968F 和 1401R)、真菌引物(NS1 和 Fung)和放线菌引物(243F 和 513R),对丝状菌进行鉴定(表 1). 反应体系体积为 25 μL,主要包括 2 μL DNA, 0.25 μL *Taq* 酶(大连宝生物有限公司), 2.5 μL 10 × Buffer, 2 μL dNTP, 400 nmol·L⁻¹ 引物. 采用 ABI Veriti™ 热循环仪(Applied Biosystems, USA)进行 PCR 扩增,反应程序为:95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 60℃ 45 s, 72℃ 1 min, 共 35 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min. 将扩增产物送到生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序分析,测序结果在 NCBI 的 GenBank 数据库上进行 BLAST 比对分析,确定丝状菌的类型.

表 1 用于检测细菌、真菌和放线菌的引物

Table 1 Primers used for detection of bacteria, fungi and actinomycetes

项目	引物 序列(5'-3')	退火温度 /℃	文献
细菌	968F AACCGGAAGAACCTTAC	63	[23]
	1401R CGGTGTGTACAAGACCC		
真菌	NS1 GTAGTCATATGCTTGTCTC	55	[24]
	Fung ATTCCCGTTACCCGTTG		
放线菌	243F GGATGAGCCCGCGGCCTA	63	[25]
	513R CGGCCGCGGTGCTGGCACGTA		

1.3 丝状菌生化特性检测

对分离得到的具有发达菌丝体的丝状菌分别进行牛奶酪化和液化检测、硝酸盐还原检测以及黑色素产生检测.

(1) 牛奶酪化和液化检测

将菌株接种于脱脂牛奶中,于 28℃ 培养,分别于 3、6、10、20 和 30 d 进行观察,若发现牛奶凝结即产生酪化,进一步培养观察是否使蛋白质发生水解产生液化现象.

(2) 硝酸盐还原检测

将菌种接种于硝酸盐培养基中(KNO₃ 1 g·L⁻¹, K₂HPO₄ 0.5 g·L⁻¹, NaCl 0.5 g·L⁻¹, MgSO₄ 0.5 g·L⁻¹, 蔗糖 20 g·L⁻¹, 琼脂粉 17 g·L⁻¹, pH 7.2~7.4),于 28℃ 下倒置培养 5 d. 加入 1:1 的磺胺酸冰醋酸溶液和 α-萘胺乙醇溶液试液 200 μL,10 min 后观察,溶液呈红色为阳性,无色则为阴性.

(3) 黑色素产生检测

将菌株接种于培养基中(酪氨酸 1 g·L⁻¹, 酵母提取物 1 g·L⁻¹, NaCl 0.5 g·L⁻¹, 琼脂粉 17 g·L⁻¹,

pH 7.2 ~ 7.4), 观察黑色素的产生。

1.4 环境因素影响试验

选用分离得到的毛孢子菌属 (*Trichosporon*)、链霉菌属 (*Streptomyces*)、青霉菌属 (*Penicillium*)、链格孢属 (*Alternaria*) 的 4 株菌作为典型菌株, 进行下列试验:

(1) 环境因素影响试验

将菌液均匀涂布到淀粉培养基 (pH = 7) 表面, 分别在 10℃ 和 28℃ 条件下培养, 利用菌落计数仪 (Czone G6T, 杭州迅数科技有限公司) 测量菌落直径的大小, 判定温度对菌株生长的影响。调节淀粉培养基的 pH (5、7、9)、NaCl 的浓度 (0、5、25、50 g·L⁻¹), 在 28℃ 条件下培养, 分析 pH 和盐度对菌落生长的影响。

(2) 碳源利用试验

将葡萄糖、蔗糖、纤维素分别作为碳源按 1:1 浓度加入到碳源利用培养基 ((NH₄)₂SO₄ 2.64 g·L⁻¹, KH₂PO₄ 0.5 g·L⁻¹, K₂HPO₄ 0.5 g·L⁻¹, MgSO₄·H₂O 0.5 g·L⁻¹, CuSO₄·5H₂O 0.006 4 g·L⁻¹, FeSO₄·7H₂O 0.001 1 g·L⁻¹, MnCl₂·4H₂O 0.007 9 g·L⁻¹, ZnSO₄·7H₂O 0.001 5 g·L⁻¹, 琼脂粉 15.0 g·L⁻¹, pH 7.2 ~ 7.4) 中, 将菌株分别接种于不同碳源浓度 (400 mg·L⁻¹、1 000 mg·L⁻¹、2 000 mg·L⁻¹) 的培养基中, 28℃ 培养 10 d, 于离心管中 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 105℃ 干燥烘干, 测定丝状体的重量。

1.5 高通量测序分析

采用土壤 DNA 提取试剂盒 (MoBio, USA) 提取膨胀污泥总 DNA, 通过 Illumina Miseq 平台分别进行 16S rDNA 和 rDNA-ITS 区高通量测序, 过滤掉嵌合体, 去除引物、条形码和非靶位序列, 在 0.97 相似度下进行聚类, 得到操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs)。通过物种注释, 进而分析膨胀污泥中原核生物和真菌的群落结构。

2 结果与讨论

2.1 膨胀污泥中可培养丝状菌的种类

所有批次膨胀污泥样品的 SVI 范围为 193 ~ 249 mL·g⁻¹, 污泥沉降性能很差^[26]。从革兰氏染色后的显微镜检照片可以看出, 污泥中存在大量呈革兰氏阳性的丝状体 (图 1)。

在高氏一号培养基和淀粉培养基上, 丝状菌出现总频次分别为 25 和 50, 共有 40 种不同的形态。通过核酸序列比对, 鉴定出来的丝状菌可归为 18 个属。除链霉菌属和细杆菌属 (*Microbacterium*) 属于细

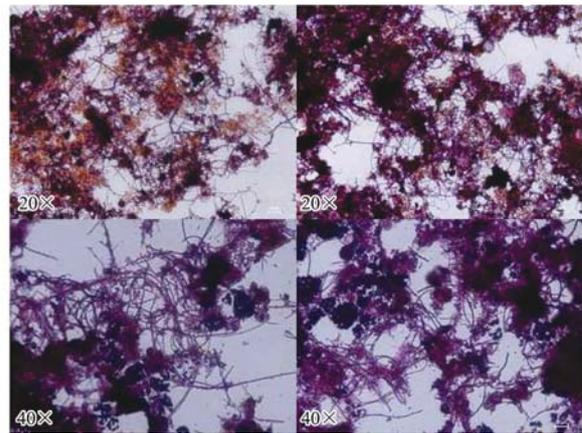


图 1 膨胀污泥的显微形态

Fig. 1 Micromorphology of bulking sludge

菌域的放线菌门, 其它都隶属于真菌域的子囊菌门 (Ascomycota) 和担子菌门 (Basidiomycota)。在高氏一号培养基上, 青霉菌属 (4/25)、枝孢菌属 (*Cladosporium*) (3/25)、链霉菌属 (3/25)、链格孢属 (2/25) 的出现频次较高, 合计占总频次的 60%; 而在淀粉培养基上, 枝孢属 (7/50)、细杆菌属 (6/50)、曲霉菌属 (*Aspergillus*) (4/50)、青霉菌属 (3/50)、*Ophiidothella* (4/50)、毛孢子菌属 (3/50)、*Neolinocarpon* (3/50) 出现频次较高, 占比均在 5% 以上 (表 2)。淀粉培养基较高氏一号培养基分离得到的丝状菌种类更多。

以往的研究表明, 真菌作为菌胶团的骨架, 具有增强活性污泥的沉淀性能、脱水性能以及降解有害物质的作用^[27], 其中青霉菌属是活性污泥中最主要的真菌, 其次为毛孢子菌属、曲霉菌属以及枝孢菌属^[28,29]。从本研究分离鉴定的结果来看, 膨胀活性污泥中不仅有这几种主要的真菌, 还存在一些不常见的丝状真菌, 例如半乳糖霉菌 (*Galactomyces*)、*Ophiidothella* 和 *Neolinocarpon* 等。

2.2 丝状菌的形态特征

从高氏一号培养基和淀粉培养基上分离出的丝状菌, 这些丝状菌大部分具有发达的基内菌丝或气生菌丝, 其中青霉菌和毛孢子菌存在明显孢子。但在菌落形态和显微结构上具有明显差别。

高氏一号培养基上生长的枝孢菌的菌落比较干燥, 呈圆形, 有白色的气生菌丝和褐色的基内菌丝, 菌丝分枝少 [图 2(a)]。青霉菌的菌落不规则、较松散、干燥、覆着面较广, 有绿色基内菌丝和白色气生菌丝, 菌丝较粗且弯曲 [图 2(b)]。链格孢菌的菌落呈灰黑色、干燥、有绒毛、生长旺盛, 菌丝多而细、稍有弯曲且分枝多 [图 2(c)]。链霉菌的菌落

表 2 从高氏一号培养基和淀粉培养基中分离得到的丝状菌

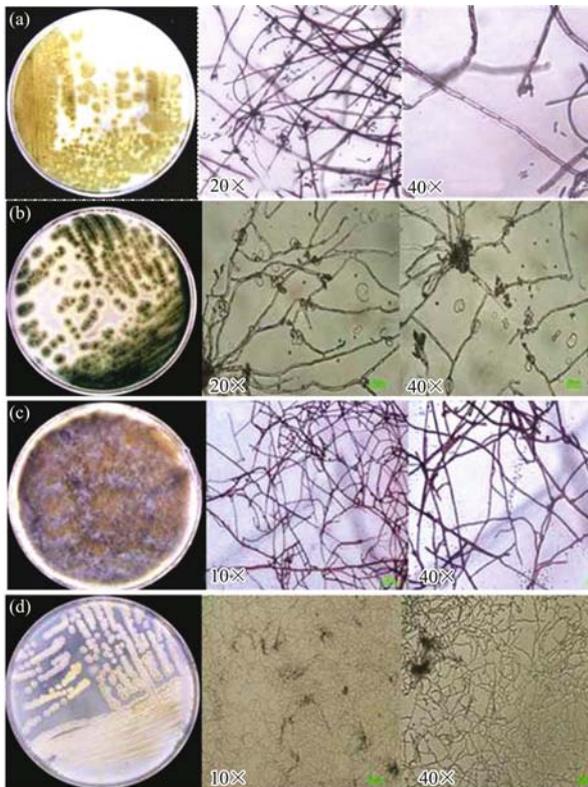
Table 2 Filamentous microorganisms isolated from Gause's synthetic agar medium and starch agar

菌属	出现频次百分比/%		纲	门
	高氏一号培养基	淀粉培养基		
青霉菌属 (<i>Penicillium</i>)	16.0	6.0	散囊菌纲 (Eurotiomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
曲霉菌属 (<i>Aspergillus</i>)	4.0	8.0	散囊菌纲 (Eurotiomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
外瓶霉属 (<i>Exophiala</i>)	0	4.0	刺盾囊纲 (Chaetothyriomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
孢盘菌属 (<i>Botryotinia</i>)	4.0	2.0	锤舌菌纲 (Leotiomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
枝孢菌属 (<i>Cladosporium</i>)	12.0	14.0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
链格孢属 (<i>Alternaria</i>)	8.0	0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
茎点霉属 (<i>Phoma</i>)	4.0	4.0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
<i>Leuconurospora</i>	0	2.0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
<i>Setomelanma</i>	0	2.0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
<i>Ophiodothella</i>	4.0	8.0	粪壳菌纲 (Sordariomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
镰刀菌属 (<i>Fusarium</i>)	0	2.0	粪壳菌纲 (Sordariomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
<i>Neolinocarpon</i>	0	6.0	粪壳菌纲 (Sordariomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
半乳糖霉菌属 (<i>Galactomyces</i>)	0	2.0	酵母纲 (Saccharomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
<i>Wojnowicia</i>	0	2.0	座囊菌纲 (Dothideomycetes)	子囊菌门 (Ascomycota)
毛孢子菌属 (<i>Trichosporon</i>)	0	6.0	银耳纲 (Tremellomycetes)	担子菌门 (Basidiomycota)
薄孔菌属 (<i>Antrodia</i>)	4.0	0	伞菌纲 (Agaricomycetes)	担子菌门 (Basidiomycota)
细杆菌属 (<i>Microbacterium</i>)	0	12.0	放线菌纲 (Actinobacteria)	放线菌门 (Actinobacteria)
链霉菌属 (<i>Streptomyces</i>)	12.0	4.0	放线菌纲 (Actinobacteria)	放线菌门 (Actinobacteria)
未知	32.0	16.0	未知	未知

为白色圆形、表面较干燥且凸起,菌丝密集、短而弯曲[图 2(d)].

淀粉培养基上生长的毛孢子菌具有黄色圆形菌

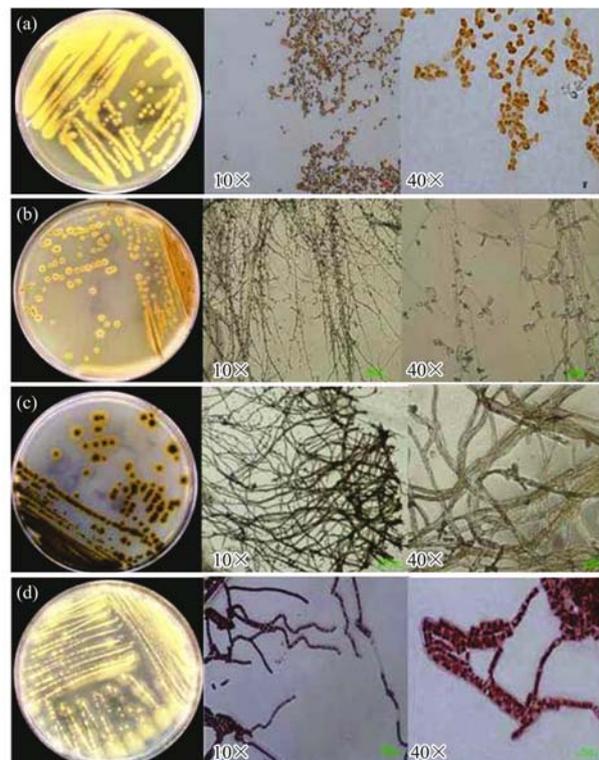
落,表面较干燥,有浓密的基内菌丝,其孢子呈圆形、串珠状[图 3(a)]. 淀粉培养基中生长的枝孢菌,其菌落特征和显微形态都与高氏一号培养基上的枝孢菌大相径庭,该菌落呈黑色圆形,与培养基结合紧密,



(a) 枝孢菌; (b) 青霉菌; (c) 链格孢菌; (d) 链霉菌

图 2 高氏一号培养基分离的丝状菌形态

Fig. 2 Morphology of typical filamentous microorganisms isolated from Gause's Synthetic Agar Medium



(a) 毛孢子菌; (b) 链霉菌; (c) 枝孢菌; (d) 细杆菌

图 3 淀粉培养基分离的丝状菌形态

Fig. 3 Morphology of typical filamentous microorganisms isolated from Starch agar

菌丝浓密,细长且弯曲[图 3(c)]. 细杆菌为革兰氏阳性,在淀粉培养基上形成淡黄色菌落[图 3(d)].

2.3 丝状菌的生化特性

具有发达基内菌丝或气生菌丝菌株的生理生化特性如表 3 所示. 枝孢菌、*Wojnowicia*、链霉菌属菌株 II、曲霉菌、毛孢子菌、*Neolinocarpon* 和细杆菌能够

以硝酸盐作为电子受体,将硝酸盐还原为亚硝酸盐,而其他菌株均不具有硝酸盐还原功能. 青霉菌属菌株 I 和菌株 II 生化特性相同,但链霉菌属菌株 I 和菌株 II 却有不同的生化特性,枝孢属菌株 I 和菌株 II 之间也存在这种情况(表 3). 这说明隶属于同一菌属的不同菌株,其生化特性可能会有较大差别.

表 3 菌丝发达菌株的生化特性

Table 3 Physiological features of isolated strains with well-developed mycelia

项目	牛奶酪化	凝胶液化	硝酸盐还原
青霉菌属菌株 I (<i>Penicillium</i> I)	+	+	-
青霉菌属菌株 II (<i>Penicillium</i> II)	+	+	-
枝孢属菌株 I (<i>Cladosporium</i> I)	+	+	+
枝孢属菌株 II (<i>Cladosporium</i> II)	-	-	+
<i>Wojnowicia</i>	-	-	+
链格孢菌(<i>Alternaria</i>)	+	-	-
茎点霉菌(<i>Phoma</i>)	+	-	-
链霉菌属菌株 I (<i>Streptomyces</i> I)	+	-	-
链霉菌属菌株 II (<i>Streptomyces</i> II)	+	+	+
曲霉菌(<i>Aspergillus</i>)	+	+	+
薄孔菌(<i>Antrodia</i>)	+	+	-
毛孢子菌(<i>Trichosporon</i>)	-	-	+
<i>Neolinocarpon</i>	+	+	+
细杆菌(<i>Microbacterium</i>)	+	-	+

2.4 环境因素对丝状菌生长的影响

毛孢子菌、链霉菌、青霉菌、链格孢菌均可在 28℃ 下生长,但生长速度差异明显. 毛孢子菌生长较快,28℃ 培养 36 h 即有肉眼可见的菌落生成,青霉菌、链格孢菌在 44 h 出现菌落,而链霉菌则在 68 h 才长出菌落. 在 10℃ 培养,这 4 种丝状菌均无法良好生长,可见低温能够在一定程度上抑制丝状菌

的生长.

在各种 pH 条件下,链格孢菌形成的菌落直径最大,而链霉菌的菌落直径最小. 在中性(pH = 7)和偏酸性(pH = 5)的条件下,毛孢子菌、链霉菌、青霉菌、链格孢菌均能良好生长,但在偏碱性(pH = 9)环境中生长状况较差(图 4). 导致活性污泥膨胀的原因很复杂,pH 是重要的因素. 有研究表

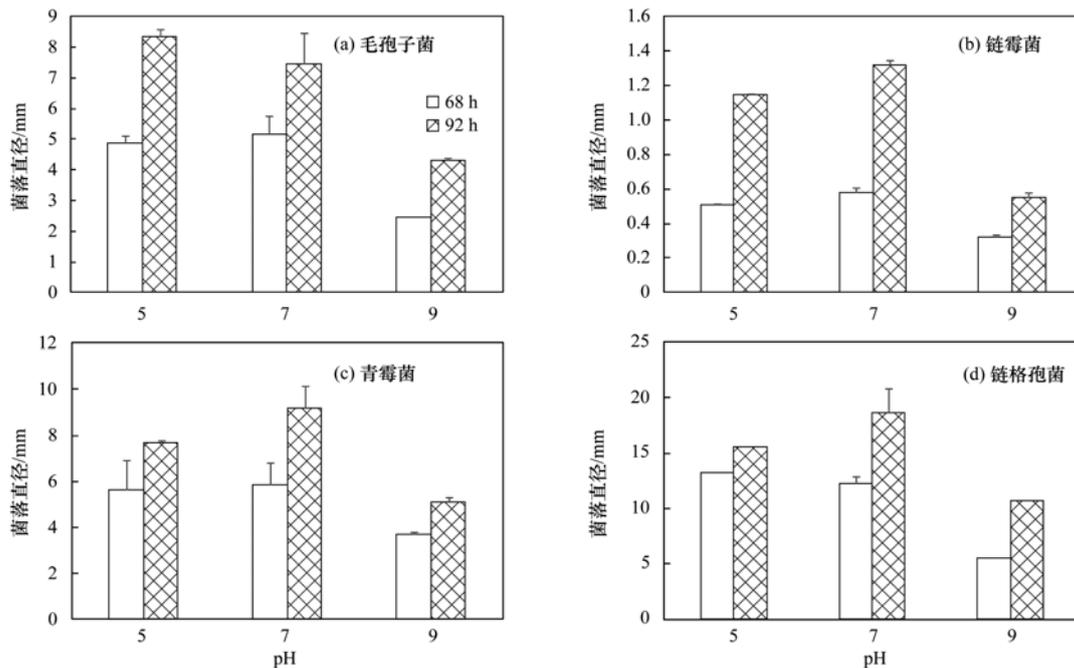


图 4 pH 对典型丝状菌生长的影响

Fig. 4 Effect of pH on the growth of typical filamentous microorganisms

明,活性污泥菌胶团适宜生长的 pH 约为 6~8,偏酸性环境(pH = 5~6)容易诱发丝状菌生长^[30]. 然而,从本研究的结果来看,丝状菌并非总在偏酸性环境下大量生长,中性条件同样适于丝状菌的增殖. 调节污泥 pH 呈偏碱性,能够抑制丝状菌的生长.

所选的 4 种典型丝状菌均能在低盐度条件下($5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl)良好生长,而在高盐度条件下($25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl),毛孢子菌、链霉菌的生长均受到抑制,但青霉菌和链格孢菌的菌落生长受抑制情况并不显著,甚至在长时间培养后反而呈现出更

好的生长态势. 例如经 92 h 培养,在 $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 条件下的青霉菌形成的菌落直径约为 7 mm,超过了低盐度条件和无 NaCl 条件下的. 这说明某些丝状菌具有很强的耐盐性,在高盐环境中长时间培养后仍可良好生长(图 5). 在污水处理厂的运行实践中,常用投加 NaCl 来抑制活性污泥膨胀. 然而,从本研究的结果来看,此法并非对所有丝状菌有通用的抑制效果,且作用效果受时间的影响很大. 另外考虑到高盐度会抑制大多数细菌的生长和活性,故从长期运行来看,仅通过提高盐度来控制污泥膨胀并不值得推荐.

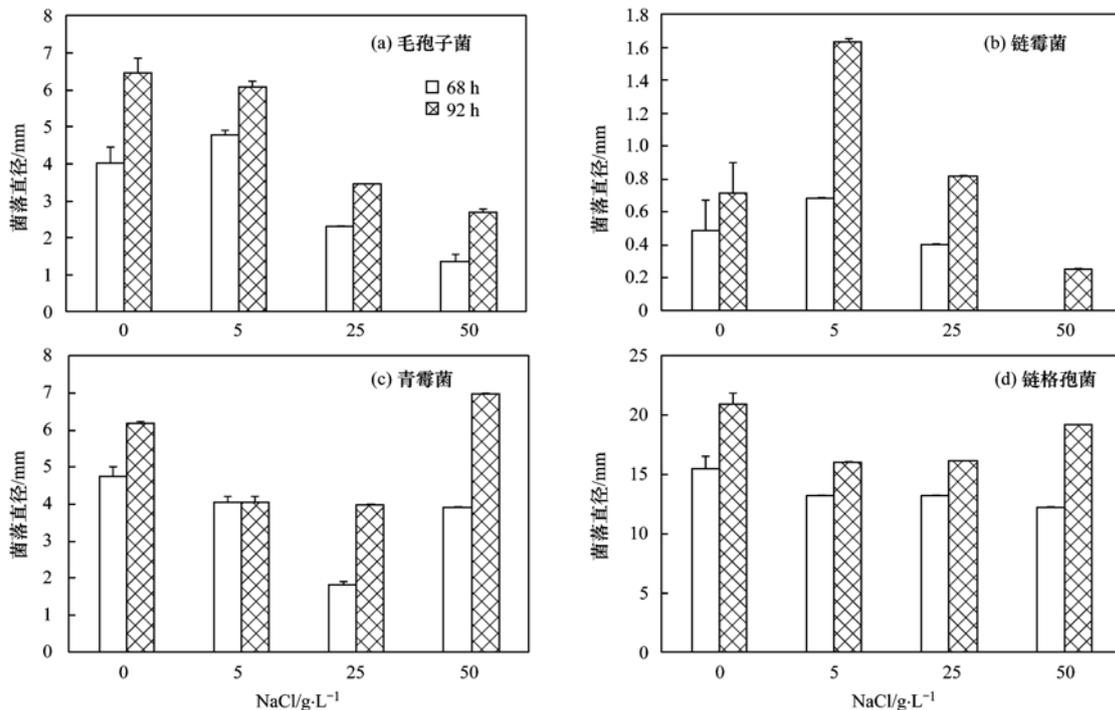


图 5 NaCl 对丝状菌生长的影响

Fig. 5 Effect of NaCl on the growth of filamentous microorganisms

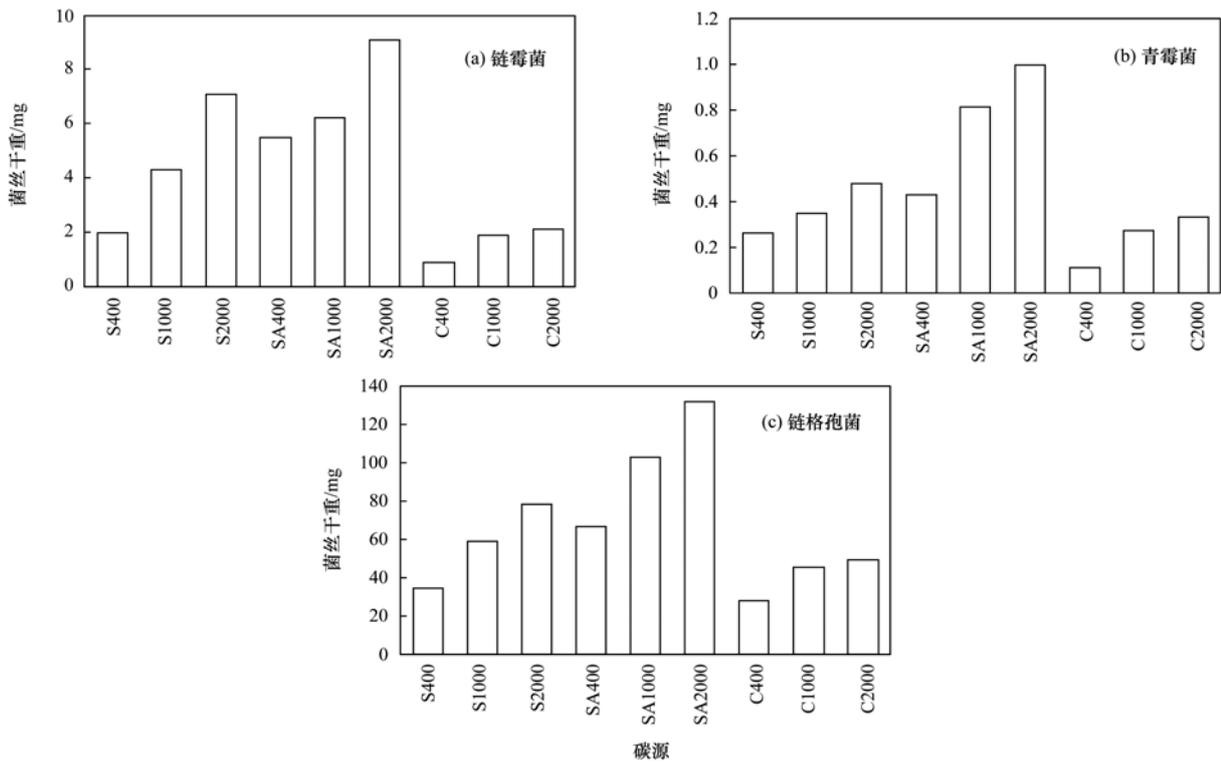
在分别添加了蔗糖、淀粉和纤维素的培养基中,毛孢子菌均无明显生长. 但链霉菌、青霉菌 I、链格孢菌则可有效地利用上述 3 种碳源,都生长出较多菌丝. 在添加蔗糖的培养基中,链霉菌、青霉菌、链格孢菌的菌丝干重明显高于添加其他两种碳源的培养基,且都随着碳源浓度升高而增加. 在相同碳源种类和浓度条件下,链格孢菌的菌丝干重远超链霉菌和青霉菌(图 6).

2.5 膨胀污泥的群落结构

采用高通量测得膨胀污泥样品细菌群落概貌如图 7 所示. 膨胀污泥样品 OTUs 数量为 1583 个,变形菌门(32.25%)、拟杆菌门(25.24%)是膨胀污泥中最主要的两大门类^[31],在所有细菌中的占比大

约为 57.6%,此外还有一些细菌域的古老细菌,例如绿弯菌门(2.91%)、绿菌门(Chlorobi)(2.55%)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)(4.35%)以及待定分类门 TM7(4.66%)等. 从属分类水平来看,各个属的占比都比较低,数量最多的前 20 个属占比总和仅有 18.7%(图 7),膨胀污泥中微生物种类极其多样,且在生物分类单元上的分布非常分散. 虽然存在微丝菌属(*Microthrix*),但其含量很低(0.25%),不足以导致污泥膨胀. 结合污泥显微镜检照片来分析,可以推断该污泥膨胀并不能归咎于微丝菌,丝状菌的大量繁殖可能是主要原因.

膨胀污泥样品 rDNA-ITS 区高通量测序得到 300 个 OUTs. 在门分类水平上,子囊菌门、担子菌



S400、S1000、S2000: 400、1 000、2 000 mg·L⁻¹ 淀粉; SA400、SA1000、SA2000: 400、1 000、2 000 mg·L⁻¹ 蔗糖; C400、C1000、C2000: 400、1 000、2 000 mg·L⁻¹ 纤维素

图 6 碳源对丝状菌生长的影响

Fig. 6 Effect of different carbon sources on the growth of filamentous microorganisms

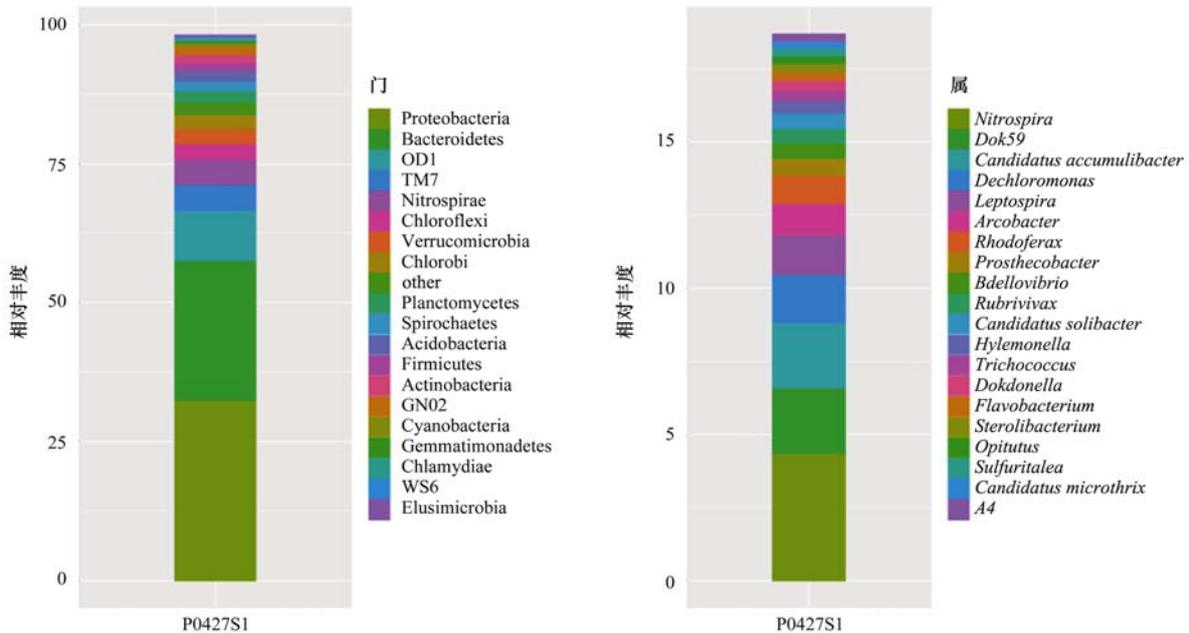


图 7 膨胀污泥的原核生物群落相对丰度

Fig. 7 Relative abundance of bacterial community structures of bulking sludge

门和接合菌门 (*Zygomycota*) 的占比分别为 0.74%、0.19% 和 0.01%。从属分类水平上看, 酵母菌属 (*Saccharomyces*) (0.43%)、毛孢子菌属 (0.11%)、枝顶孢属 (*Acremonium*) (0.06%)、念珠菌属

(*Candida*) (0.04%) 和青霉菌属 (0.02%) 都属于相对较多的真菌 (图 8)。值得注意的是, 鉴定出类别归属的真菌仅占非常小的比例, 绝大部分 OTUs 无法与已知的真菌类别相对应。有高达 98.8% 的真菌

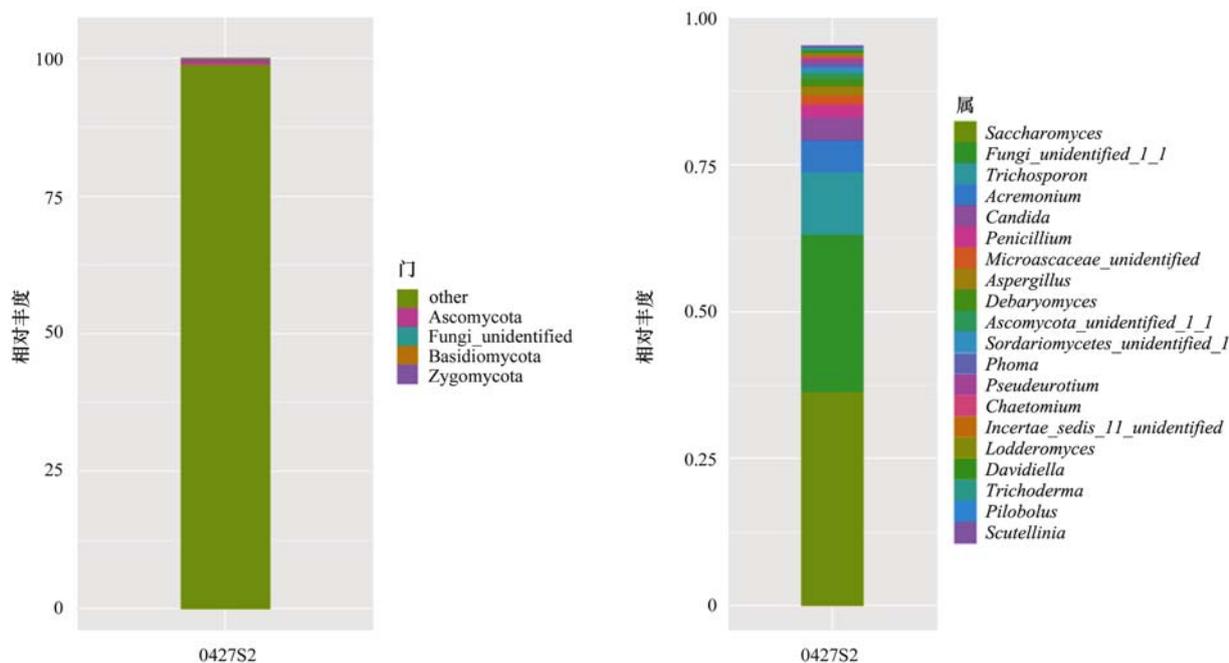


图 8 膨胀污泥的真菌群落相对丰度

Fig. 8 Relative abundance of fungal community structures of bulking sludge

不属于已知的任何门类,排名前 20 个属的真菌占比总和还不足 1%。由此可见,人类目前对真菌的了解还非常有限,现有真菌数据库与自然界的真菌种类相比存在巨大的差距。膨胀污泥中真菌种类十分丰富,存在大量未知真菌。未来的研究应更多关注膨胀污泥中的真菌多样性及典型真菌的特性。

3 结论

(1) 利用高氏一号培养基和淀粉培养基从膨胀污泥中分离鉴定出 18 个属的丝状菌,其中链霉菌、细杆菌属于细菌域放线菌门,其余均为真菌。青霉菌、枝孢菌、链格孢菌、曲霉菌、毛孢子菌在培养基上出现频次较高。膨胀污泥中存在半乳糖霉菌、*Ophiodothella* 和 *Neolinocarpon* 等不常见的丝状真菌,并可被分离培养出来。

(2) 在中性和偏酸性条件下,毛孢子菌、链霉菌、青霉菌、链格孢菌都能良好生长。高浓度的 NaCl 能够抑制毛孢子菌和链霉菌的生长,但对青霉菌和链格孢菌的抑制作用却不明显。链霉菌、青霉菌和链格孢菌可利用蔗糖、淀粉和纤维素这 3 种碳源,碳源浓度增加会促进它们的生长。

(3) 基于 rDNA-ITS 区的高通量测序结果表明膨胀污泥中的真菌种类十分丰富,但已知菌属所占比例极小,存在大量的未知真菌。未来的研究应更多关注膨胀污泥中的真菌多样性及典型真菌的特性。

参考文献:

- [1] Martins A M P, Pagilla K, Heijnen J J, *et al.* Filamentous bulking sludge-a critical review[J]. *Water Research*, 2004, **38**(4): 793-817.
- [2] 李彤鲜, 费学宁, 池勇志, 等. 活性污泥丝状膨胀早期预警的研究进展[J]. *环境化学*, 2012, **31**(8): 1151-1156.
Li T X, Fei X N, Chi Y Z, *et al.* The research advance on early warning of filamentous sludge bulking [J]. *Environmental Chemistry*, 2012, **31**(8): 1151-1156.
- [3] 王萍, 余志晟, 齐嵘, 等. 丝状细菌污泥膨胀的 FISH 探针研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2012, **18**(4): 705-712.
Wang P, Yu Z S, Qi R, *et al.* Progress on FISH probes of sludge bulking caused by filamentous bacteria[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2012, **18**(4): 705-712.
- [4] Rossetti S, Tomei M C, Nielsen P H, *et al.* "Microthrix parvicella", a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems; a review of current knowledge[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, **29**(1): 49-64.
- [5] Madoni P, Davoli D, Gibin G. Survey of filamentous microorganisms from bulking and foaming activated-sludge plants in Italy[J]. *Water Research*, 2000, **34**(6): 1767-1772.
- [6] Guo F, Zhang T. Profiling bulking and foaming bacteria in activated sludge by high throughput sequencing [J]. *Water Research*, 2012, **46**(8): 2772-2782.
- [7] Kowalska E, Paturej E, Zielińska M. Use of Lecane rotifers for limiting *Thiothrix* filamentous bacteria in bulking activated sludge in a dairy wastewater treatment plant[J]. *Archives of Biological Sciences*, 2014, **66**(4): 1371-1378.
- [8] 周娜, 袁林江, 陈光秀, 等. 污泥含磷量与脱氮除磷系统污泥膨胀的关系研究[J]. *环境科学*, 2009, **30**(10): 2981-2987.
Zhou N, Yuan L J, Chen G X, *et al.* Relationship between phosphorus content in activated sludge and sludge bulking in

- biological nutrient removal SBR systems [J]. Environmental Science, 2009, **30**(10): 2981-2987.
- [9] Welz P J, Esterhuysen A, Vulindlu M, *et al.* Filament identification and dominance of Eikelboom Type 0092 in activated sludge from wastewater treatment facilities in Cape Town, South Africa[J]. Water SA, 2014, **40**(4): 649-658.
- [10] Lou I. Combination of respirometry and molecular approach for re-evaluating microbial kinetic selection of filamentous bulking in wastewater treatment system [J]. Advanced Science Letters, 2012, **9**(1): 540-544.
- [11] Kotay S M, Datta T, Choi J, *et al.* Biocontrol of biomass bulking caused by *Haliscomenobacter hydrossis* using a newly isolated lytic bacteriophage [J]. Water Research, 2010, **45**(2): 694-704.
- [12] 廖雷, 钱公望. 油烟污染物降解优势菌的驯化培育及其性能 [J]. 中国环境科学, 2006, **26**(6): 727-731.
- Liao L, Qian G W. Domestication, culturing and property of the dominant bacterial strains degrading pollutants from cooking fume [J]. China Environmental Science, 2006, **26**(6): 727-731.
- [13] 杨晓华. 一株异养硝化好氧反硝化真菌的筛选及特性研究 [D]. 太原: 太原理工大学, 2012. 19-22.
- Yang X H. Isolation and characteristics study of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification fungus [D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2012. 19-22.
- [14] Yoon D N, Park S J, Kim S J, *et al.* Isolation, characterization, and abundance of filamentous members of *Caldilineae* in Activated Sludge [J]. The Journal of Microbiology, 2010, **48**(3): 275-283.
- [15] Kohno T, Sei K, Mori K. Characterization of type 1851 organism isolated from activated sludge samples [J]. Water Science and Technology, 2002, **46**(1-2): 111-114.
- [16] Ziegler M, Lange M, Dott W. Isolation and morphological and cytological characterization of filamentous bacteria from bulking sludge [J]. Water Research, 1990, **24**(12): 1437-1451.
- [17] Rossetti S, Tomei M C, Levantesi C, *et al.* "Microthrix parvicella": a new approach for kinetic and physiological characterization [J]. Water Science & Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution, 2002, **46**(1-2): 65-72.
- [18] Buali A M, Horan N J. Variable morphology in certain filamentous bacteria and the implications of this for theories of activated sludge bulking [J]. Environmental Technology Letters, 1989, **10**(11): 941-950.
- [19] Seviour E M, Blackall L L, Christensson C, *et al.* The filamentous morphotype Eikelboom type 1863 is not a single genetic entity [J]. Journal Applied Microbiology, 1997, **82**(4): 411-421.
- [20] Kaewpipat K, Grady Jr C. Microbial population dynamics in laboratory-scale activated sludge reactors [J]. Water Science & Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research, 2002, **46**(1-2): 19-27.
- [21] 唐霖旭, 王志伟, 马金星, 等. 454 高通量焦磷酸测序法鉴定膜生物反应器膜污染优势菌种 [J]. 微生物学通报, 2014, **41**(2): 391-398.
- Tang J X, Wang Z W, Ma J X, *et al.* Identifying predominant strains causing membrane biofouling by using 454 high-throughput pyrosequencing [J]. Microbiology China, 2014, **41**(2): 391-398.
- [22] 夏围围, 贾仲君. 高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价 [J]. 微生物学报, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- Xia W W, Jia Z J. Comparative analysis of soil microbial communities by pyrosequencing and DGGE [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, **54**(12): 1489-1499.
- [23] Nübel U, Engelen B, Felske A, *et al.* Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis [J]. Journal of Bacteriology, 1996, **178**(19): 5636-5643.
- [24] Zhang J C, Zeng G M, Chen Y N, *et al.* Effects of physico-chemical parameters on the bacterial and fungal communities during agricultural waste composting [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(3): 2950-2956.
- [25] Heuer H, Krsek M, Baker P, *et al.* Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, **63**(8): 3233-3241.
- [26] 王杰, 彭永臻, 杨雄, 等. 温度对活性污泥沉降性能与微生物种群结构的影响 [J]. 中国环境科学, 2016, **36**(1): 109-116.
- Wang J, Peng Y Z, Yang X, *et al.* Effect of temperature on activated sludge settleability and microbial community structure [J]. China Environmental Science, 2016, **36**(1): 109-116.
- [27] More T T, Yan S, Tyagi R D, *et al.* Potential use of filamentous fungi for wastewater sludge treatment [J]. Bioresource Technology, 2010, **101**(20): 7691-7700.
- [28] Fakhru'l-Razi A, Alam M Z, Idris A, *et al.* Domestic wastewater biosolids accumulation by liquid state bioconversion process for rapid composting [J]. Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2002, **37**(8): 1533-1543.
- [29] Kacprzak M, Neczaj E, Okoniewska E. The comparative mycological analysis of wastewater and sewage sludges from selected wastewater treatment plants [J]. Desalination, 2005, **185**(1-3): 363-370.
- [30] 璩绍雷, 孙宝盛, 赵双红, 等. pH 对间歇进水序批式生物反应(SBR)工艺活性污泥沉降性能和微生物结构的影响 [J]. 环境化学, 2016, **35**(3): 508-515.
- Qu S L, Sun B S, Zhao S H, *et al.* pH activated sludge sedimentation performance and the structure of the microbe of SBR technology [J]. Environmental Chemistry, 2016, **35**(3): 508-515.
- [31] Wagner M, Loy A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, **13**(3): 218-227.

CONTENTS

Comparison of Models on Spatial Variation of PM _{2.5} Concentration; A Case of Beijing-Tianjin-Hebei Region	WU Jian-sheng, WANG Xi, LI Jia-cheng, <i>et al.</i> (2191)
Change of Atmospheric Pollution Diffusion Conditions in Beijing in Recent 35 Years	GUO Chun-wei, SUN Zhao-bin, LI Zi-ming, <i>et al.</i> (2202)
Precipitation and Its Effects on Atmospheric Pollutants in a Representative Region of Beijing in Summer	HAN Li-hui, ZHANG Hai-liang, XIANG Xin, <i>et al.</i> (2211)
Impact of Mountain-Valley Wind Circulation on Typical Cases of Air Pollution in Beijing	DONG Qun, ZHAO Pu-sheng, WANG Ying-chun, <i>et al.</i> (2218)
Fugitive Dust Emission Characteristics from Building Construction Sites of Beijing	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, HUANG Yu-hu, <i>et al.</i> (2231)
Characteristics of Volatile Organic Compounds Emitted from Biomass-pellets-fired Boilers	WU Chang-da, ZHANG Chun-lin, BAI Li, <i>et al.</i> (2238)
Effect of VOCs on O ₃ and SOA Formation Potential During the Combined Pollution Process in Guangzhou Panyu Atmospheric Composition Station	ZOU Yu, DENG Xue-jiao, LI Fei, <i>et al.</i> (2246)
Characteristic Study on the "Weekend Effect" of Atmospheric O ₃ in Northern Suburb of Nanjing	WANG Jun-xiu, AN Jun-lin, SHAO Ping, <i>et al.</i> (2256)
Atmospheric Ammonia/Ammonium-nitrogen Concentrations and Wet and Dry Deposition Rates in a Double Rice Region in Subtropical China	WANG Jie-fei, ZHU Xiao, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (2264)
Species of Iron in Size-resolved Particle Emitted from Xuanwei Coal Combustion and Their Oxidative Potential	WANG Qiang-xiang, TAN Zheng-ying, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (2273)
Dioxin Pollution and Occupational Inhalation Exposure of PCDD/Fs in Municipal Solid Waste Incinerator	DU Guo-yong, WANG Qian, ZHANG Shu-lin, <i>et al.</i> (2280)
Characteristics of Mercury Emissions from Modern Dry Processing Cement Plants in Chongqing	ZHANG Cheng, ZHANG Ya-hui, WANG Yong-min, <i>et al.</i> (2287)
Correlations of Light-duty Gasoline Vehicle Emissions Based on VMAS and CVS Measurement Systems	WANG Hong-yu, HUANG Cheng, HU Qing-yao, <i>et al.</i> (2294)
Emission Characteristics of Particulate Matter from Diesel Buses Meeting Different China Emission Standards Fueled with Biodiesel	LOU Di-ming, ZHAO Cheng-zhi, XU Ning, <i>et al.</i> (2301)
Spatial Variation and Environmental Significance of δ ¹⁸ O and δD Isotope Composition in Xijiang River	XU Qi, LI Jian-hong, SUN Ping-an, <i>et al.</i> (2308)
Comparative Study of SWAT and DNDC Applied to N Leach and Export from Subtropical Watershed	HAN Ning, CHEN Wei-liang, GAO Yang, <i>et al.</i> (2317)
Comparison of Relationship Between Conduction and Algal Bloom in Pengxi River and Modao River in Three Gorges Reservoir	JIANG Wei, ZHOU Chuan, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2326)
Temporal and Spatial Variation Characteristics of Nitrogen and Phosphorus in Sediment Pore Water and Overlying Water of Dianchi Caohai Lake	WANG Yi-ru, WANG Sheng-ru, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2336)
Distribution and Emission Flux Estimation of Phosphorus in the Sediment and Interstitial Water of Xiangxi River	LUO Yu-hong, NIE Xiao-qian, LI Xiao-ling, <i>et al.</i> (2345)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in Water and Sediment from Daye Lake	ZHANG Jia-quan, TIAN Qian, XU Da-mao, <i>et al.</i> (2355)
Formation of Brominated Disinfection By-products in Low Temperature Multi-effect Distillation (LT-MED) Process for Seawater Desalination	QI Fei, SUN Ying-xue, YANG Zhe, <i>et al.</i> (2364)
Applicability Comparison and Application Study of Two Methods for Determination of the Copper Complexing Capacity of Waters	WANG Chen-ye, JIANG Kuo, XIE Wen-long, <i>et al.</i> (2373)
Performance of Applying Scale Permeable Pavements for Control of Runoff Pollution in an Area with High Groundwater Level	JIN Jian-rong, LI Tian, SHI Zhen-bao (2379)
Removal of 2,4-dichlorophenol in Underground Water by Stabilized Nano Zero-valent Iron	ZHANG Yong-xiang, CHANG Shan, LI Fei, <i>et al.</i> (2385)
Enhancement of Sulfamerazine Degradation Under H ₂ O ₂ /KI System by Ultrasound and UVA Irradiation	WEI Hong, SUN Bo-cheng, YANG Xiao-yu, <i>et al.</i> (2393)
Comparison of Phosphate Adsorption onto Zirconium-Modified Bentonites with Different Zirconium Loading Levels	JINAG Bo-hui, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (2400)
Removal of Nitrogen in Municipal Secondary Effluent by a Vertical Flow Constructed Wetland Associated with Iron-carbon Internal Electrolysis	ZHENG Xiao-ying, ZHU Xing, ZHOU Xiang, <i>et al.</i> (2412)
Purification Efficiency and Influencing Factors of Combined Bio-filters for Aquaculture Wastewater	ZHANG Shi-yang, ZHANG Sheng-hua, ZHANG Xiang-ling, <i>et al.</i> (2419)
Effect of Temperature on PAO Activity and Substrate Competition	ZHANG Ling, PENG Dang-cong, CHANG Die (2429)
Enrichment and Nitrogen Removal Characteristics of Marine Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria	FENG Li, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (2435)
Ammonia Removal Rate and Microbial Community Structures in Different Biofilters for Treating Aquaculture Wastewater	ZHOU Hong-yu, HAN Mei-lin, QIU Tian-lei, <i>et al.</i> (2444)
Influence of Phosphate on Nitrogen Removal Efficiency of ANAMMOX Sludge	ZHOU Zheng, LIU Kai, WANG Fan, <i>et al.</i> (2453)
Characteristics and Mechanism of Biological Nitrogen and Phosphorus Removal Granular Sludge Under Carbon Source Stress	QIN Shi-you, CHEN Wei, MA Zhao-ni, <i>et al.</i> (2461)
Evolution of Extracellular Polymeric Substances of the Activated Sludge with Calcium Ion Addition During Set-up Period of Sequencing Batch Reactors	REN Li-fei, YANG Xin-ping, ZHANG Wen-wen (2470)
Isolation, Identification and Characterization of the Filamentous Microorganisms from Bulking Sludge	ZHANG Chong-miao, NIU Quan-ru, XU Li-mei, <i>et al.</i> (2477)
Applicability and Microbial Community Structure of Denitrification Suspended Carriers	TAN Yang, LI Ji, XU Qiao, <i>et al.</i> (2486)
Effect of Thiosulfate on the Carbon Fixation Capability of <i>Thiobacillus thioparus</i> and Its Mechanism	LI Huan, WANG Lei, WANG Ya-nan (2496)
Characteristics of Fungi Community Structure and Genetic Diversity of Forests in Guandi Mountains	QIAO Sha-sha, ZHOU Yong-na, CHAI Bao-feng, <i>et al.</i> (2502)
Source Apportionment of Soil Heavy Metals in City Residential Areas Based on the Receptor Model and Geostatistics	CHEN Xiu-duan, LU Xin-wei (2513)
Environmental Health Risk Assessment of Contaminated Soil Based on Monte Carlo Method; A Case of PAHs	TONG Rui-peng, YANG Xiao-yi (2522)
Influencing Mechanism of Eh, pH and Iron on the Release of Arsenic in Paddy Soil	ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2530)
Correlations Between Different Extractable Cadmium Levels in Typical Soils and Cadmium Accumulation in Rice	CHEN Qi, DENG Xiao, CHEN Shan, <i>et al.</i> (2538)
Remedying Effects of a Combined Amendment for Paddy Soil Polluted with Cd for Spring and Autumn Rice	CHEN Li-wei, YANG Wen-tao, GU Jiao-feng, <i>et al.</i> (2546)
Effects of Two Amendments on Remedying Garden Soil Complexly Contaminated with Pb, Cd and As	TIAN Tao, LEI Ming, ZHOU Hang, <i>et al.</i> (2553)
Sorption of Phenanthrene to Soybean and Wheat Roots and the Bioavailability of Sorbed Phenanthrene	WANG Hong-ju, LI Qian-qian, SHEN Yu, <i>et al.</i> (2561)
Effects of Dissolved Organic Matter Fractions Extracted from Humus Soil on Sorption of Benzotriazole in Brown Soil and Black Soil	YANG Ning-wei, BI Er-ping (2568)
Effects of Topography, Tree Species and Soil Properties on Soil Enzyme Activity in Karst Regions	LUO Pan, CHEN Hao, XIAO Kong-cao, <i>et al.</i> (2577)
Effects of Long-term Organic Amendments on Soil N ₂ O Emissions from Winter Wheat-maize Cropping Systems in the Guanzhong Plain	HAO Yao-xu, LIU Ji-xuan, YUAN Meng-xuan, <i>et al.</i> (2586)
Exposure Route of Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls in Hair Based on Passive Sampling	YUAN Hao-dong, BAI Yao, LI Qiu-xu, <i>et al.</i> (2594)
Accumulation Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Wild Fish Species from Diaojiang River, Guangxi	WANG Jun-neng, MA Peng-cheng, ZHANG Li-juan, <i>et al.</i> (2600)
Effect of Activated Carbon Addition on the Anaerobic Fermentation of Corn Straw in Mesophilic and Thermophilic Conditions	GAN Rong, GE Ming-min, LIU Yong-di, <i>et al.</i> (2607)
Volatile Organic Compounds (VOCs) Source Profiles of Industrial Processing and Solvent Use Emissions; A Review	WANG Hong-li, YANG Zhao-xun, JING Sheng-ao (2617)