

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

**2018**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

餐饮行业细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)排放测算方法:以上海市为例 ..... 王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹(1971)

上海夏季PM<sub>2.5</sub>中有机物的组分特征、空间分布和来源 ..... 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹(1978)

北京南郊区PM<sub>2.5</sub>中水溶性无机盐季节变化及来源分析 ..... 高韩钰, 魏静, 王跃思(1987)

基于样方法的天津市春季道路扬尘PM<sub>2.5</sub>中水溶性离子特征及来源解析 ..... 赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋(1994)

广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析 ..... 田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光(2000)

基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径 ..... 韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬(2010)

区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用 ..... 樊守彬, 郭津津, 李雪峰(2015)

典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征 ..... 林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林(2023)

多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究 ..... 庞树江, 王晓燕, 马文静(2030)

氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源 ..... 金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里(2039)

白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价 ..... 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰(2048)

太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义 ..... 吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏(2056)

长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点 ..... 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平(2067)

桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征 ..... 卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂(2075)

青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性 ..... 马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜(2086)

城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性 ..... 梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋(2095)

溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析 ..... 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉(2104)

三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析 ..... 赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊(2117)

澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析 ..... 望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩(2126)

蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征 ..... 苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿(2135)

两种沉水植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响 ..... 杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢(2145)

于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量 ..... 文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承(2154)

岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征 ..... 杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨(2165)

农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析 ..... 李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广州(2174)

不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响 ..... 向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影(2184)

真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质 ..... 孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓(2195)

石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G ..... 夏文君, 刘锋, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌(2202)

载镧或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制 ..... 李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新(2211)

DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验 ..... 梁雨, 何江涛, 张思(2219)

污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征 ..... 孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东(2230)

低温污水前置强化混凝 ..... 刘海龙, 任宇霞, 张忠民(2239)

印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性 ..... 谭玉琚, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文(2249)

生物膜CANON反应器性能的优化:从FBRR到MBBR ..... 付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国(2256)

两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化 ..... 高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲(2265)

铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较 ..... 王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟(2274)

热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响 ..... 代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益(2283)

曝气时间对比亚硝化颗粒污泥形成的影响 ..... 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰(2289)

中国城市污泥中汞含量的时空分布特征 ..... 王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔(2296)

夏季太湖草/藻型湖区N<sub>2</sub>O生成与迁移特征及其影响因素 ..... 郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承(2306)

太湖藻型湖区CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>排放特征及其影响因素分析 ..... 贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥(2316)

内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>O特征 ..... 李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭(2330)

黄土高原成龄苹果园生态系统CO<sub>2</sub>通量特征 ..... 杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森(2339)

生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响 ..... 祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群玲, 汤稼豪(2351)

不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响 ..... 李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯(2360)

ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征 ..... 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇(2368)

不同排海方式城市尾水微生物扩散规律 ..... 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月(2380)

旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例 ..... 吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘(2389)

不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析 ..... 朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇(2400)

生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响 ..... 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺(2412)

铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征 ..... 房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰(2420)

湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构 ..... 康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾克宇(2431)

反硝化菌群的氮代谢与反硝化偶联机制 ..... 张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰(2438)

广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价 ..... 张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹(2446)

三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响 ..... 陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇(2456)

水稻不同生长时期不同组织中抗生内生菌的筛选与鉴定 ..... 王伯勋, 王学东, 段桂兰(2464)

汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征 ..... 李雨琴, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇(2472)

华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价 ..... 徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法(2480)

基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM<sub>2.5</sub>健康效应 ..... 宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟(2489)

中国PM<sub>2.5</sub>污染空间分布的社会经济影响因素分析 ..... 段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波(2498)

《环境科学》征订启事(2094) 《环境科学》征稿简则(2164) 信息(2183, 2411, 2445)

# 湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构

康鹏亮, 张海涵\*, 黄廷林\*, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾竞宇

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055)

**摘要:** 好氧反硝化菌是水环境生物修复的热点研究领域, 本研究从西安市金盆水库、兴庆公园和长乐公园采集沉积物, 在运用传统的间歇曝气富集和选择培养基筛选好氧反硝化菌的基础上, 引入超声波预处理沉积物-水悬液, 成功筛选出 3 组高效好氧反硝化菌群 H-30、X-10 和 C-30, 并对其反硝化能力进行研究. 结果表明, 该 3 组混合好氧反硝化菌群具有高效的脱氮能力, 在溶解氧为  $(7.2 \pm 0.6) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基中, 好氧反硝化菌群 H-30、X-10 和 C-30 总氮 (TN) 去除率分别达到 83.04%, 83.40% 和 82.68%, 仅有少量亚硝氮 ( $\text{NO}_2^-$ -N) 积累. Illumina 高通量 DNA 测序结果表明, 3 组 *nirS* 型好氧反硝化优势混合菌群种群结构差异显著, H-30, X-10 和 C-30 菌群的优势菌种分别是枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*), *Paracoccus pantotrophus* 和斯氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*), 其中斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 在 H-30、X-10 菌群中所占比例差异不显著, *Pseudomonas xiamenensis* 仅存在于 H-30. 本研究筛选的 3 组高效好氧反硝化菌群将为城市内湖污染水体的微生物修复工程提供菌源保障.

**关键词:** 湖库沉积物; 好氧反硝化菌; 脱氮特性; Illumina 高通量测序; 种群结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2431-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201710229

## Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments

KANG Peng-liang, ZHANG Hai-han\*, HUANG Ting-lin\*, CHEN Sheng-nan, SHANG Pan-lu, FENG Ji, JIA Jing-yu

(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

**Abstract:** The effect of aerobic denitrifying bacteria is a hot topic in the field of water environment bioremediation. Aerobic denitrifier communities, H-30, X-10, and C-30, enriched by intermittent aeration, screened with screening culture media, and treated by ultrasonic waves, could perform high denitrification performance at the higher dissolved oxygen concentration of  $(7.2 \pm 0.6) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The total nitrogen (TN) removal rate of aerobic denitrifier communities, H-30, X-10, and C-30, reached 83.04%, 83.40%, and 82.68%, respectively. There is lower nitrite accumulation during the process of denitrification. Illumina high-throughput DNA sequencing revealed that aerobic denitrifier compositions were significantly different among the three communities. The predominant strains of aerobic denitrifier communities, H-30, X-10, and C-30, were *Bacillus subtilis*, *Paracoccus pantotrophus*, and *Pseudomonas stutzeri*, respectively. The proportion of *P. stutzeri* in aerobic denitrifier communities H-30 and X-10 was almost the same, while *Pseudomonas xiamenensis* was only detected in H-30. These three efficient aerobic denitrifier communities provide a bacterium source guarantee for polluted water bioremediation of lakes and reservoirs in cities.

**Key words:** lake and reservoir sediments; aerobic denitrifier; denitrification characteristic; Illumina high throughput sequence; community structure

随着经济社会的发展,天然水体氮污染问题越来越严重,氮污染问题不仅能够引起水体的富营养化<sup>[1]</sup>,且在进行氯消毒的过程中会产生氮的消毒副产物(N-DBPs),N-DBPs对人体健康会造成很大的影响<sup>[2]</sup>.目前,国内许多城市已将湖泊、水库等地表水作为主要供水水源.因此天然水体氮污染的去除成为了研究重点.湖库水体生态环境中营养循环主要受沉积物中的功能微生物种群的综合调控.在整个湖库内源污染物释放和迁移转化过程中,沉积物扮演着非常重要的角色.而沉积物中的功能菌群(如电缆细菌、硝化细菌和反硝化细菌)是整个天然水体生态系统生源要素生物地球化学循环的“驱动

泵”.因此,研究沉积物中的功能菌群结构及其多样性,对于解释水环境生态系统提供一个新的视角,进而为修复受污染沉积物及改善水质提供理论数据支持<sup>[3,4]</sup>.天然水体中反硝化菌群对于改善水质发挥关键作用.传统的反硝化细菌通常在厌氧和缺氧环境下生存,因此很难在天然水体中发挥作用.随着好氧反硝化菌的发现,其优势也逐渐显现出来:①好氧反

收稿日期: 2017-10-29; 修订日期: 2017-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(51478378); 陕西省青年科技新星项目(2015KJXX-32)

作者简介: 康鹏亮(1993~),男,硕士,主要研究方向为水体微生物群落结构, E-mail: kangpengliang09@163.com

\* 通信作者, E-mail: zhanghaihan@xauat.edu.cn; huangtinglin@xauat.edu.cn

硝化与硝化能在同一个反应器中进行,可以减少资金投入;②反硝化释放出的  $\text{OH}^-$  可部分补偿硝化反应所消耗的碱,维持系统中酸碱稳定。

近年来,国内外越来越多的好氧反硝化菌株被成功筛分<sup>[5]</sup>。孙菲等<sup>[6]</sup>从活性污泥中筛选出的好氧反硝化菌通过组合成混合菌群生长快速稳定,在相同的实验条件下脱氮效率高于单菌株,48 h 的硝氮去除率为 99%;雍佳君等<sup>[7]</sup>从河流沉积物中筛分出反硝化混合菌群,9 h 内硝氮和总氮去除率为 100% 和 91%,表明混合菌群具有显著的氮素污染物去除优势。目前关于反硝化菌群的研究主要集中于天然河流和活性污泥中,但淡水型湖库沉积物中好氧反硝化菌群脱氮特性及其种群结构、丰度及空间分布特征还鲜为人知。而且,关于好氧反硝化细菌的筛分过程主要包括间歇曝气法和选择性培养基<sup>[5]</sup>。目前要获得新的好氧反硝化细菌是越来越困难,因此改进好氧反硝化细菌的筛分方法迫在眉睫。姜怡等<sup>[8]</sup>运用超声波处理土样分离放线菌,发现土壤悬液经超声波处理后,放线菌的种类和数量会明显增加。本研究在常规分离方法分离好氧反硝化菌群的基础上,再对沉积物-菌悬液进行超声波处理,提高特有菌群筛分效率。

在好氧反硝化细菌细胞内分别由硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、氧化氮还原酶和氧化亚氮还原酶催化实现生物脱氮过程,经过  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$  4 系列生化反应将硝酸盐转化为氮气。生化反应相对应的功能基因为 *nar*、*nir*、*nor* 和 *nos*。可见亚硝酸盐的还原是整个反硝化的制约步骤<sup>[9]</sup>,*nir* 成为限制性基因,一种是 *nirK* 基因,另一种是 *nirS* 基因。文献表明,大部分反硝化细菌胞内均表达 *nirS* 基因<sup>[10-14]</sup>。因此,本研究主要诊断沉积物中 *nirS* 型反硝化菌群结构。

综合国内外研究进展,选取金盆水库,兴庆公园和长乐公园作为研究对象,从沉积物中筛分出优势好氧反硝化菌群,考察其脱氮特性,并运用高通量 DNA 测序技术对沉积物中的 *nirS* 型反硝化细菌种群结构进行诊断,结果对于阐明湖库淡水生态系统好氧反硝化菌群结构、脱氮特征提供科学依据;筛选所得高效脱氮菌群能为城市湖库微污染水体的微生物修复工程提供菌源保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 沉积物与培养基

2016 年 8 月,从西安市金盆水库,兴庆公园和

长乐公园,采用彼得森采泥器采集表层 0 ~ 10 cm 沉积物,然后装于灭菌取样瓶,放置在装有冰袋的采样箱内(8℃),24 h 内运回实验室,待用。

DM 培养基<sup>[15]</sup>:丁二酸钠,4.7 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{KNO}_3$  1 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.5 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5.0 g·L<sup>-1</sup>; 微量元素溶液,2 mL·L<sup>-1</sup>;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g·L<sup>-1</sup>; 调节 pH = 7.2。

微量元素溶液<sup>[15]</sup>:乙二胺四乙酸(EDTA),100 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{ZnSO}_4$ , 4.4 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{CaCl}_2$ , 11 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 10.2 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10 mg·L<sup>-1</sup>;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2.2 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 3.2 mg·L<sup>-1</sup>;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 3.2 mg·L<sup>-1</sup>。

DM 固体培养基<sup>[15]</sup>:丁二酸钠,4.7 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{KNO}_3$  1 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.5 g·L<sup>-1</sup>;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5.0 g·L<sup>-1</sup>; 微量元素溶液,2 mL·L<sup>-1</sup>;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g·L<sup>-1</sup>; 调节 pH = 7.2。琼脂粉 10 g·L<sup>-1</sup>。

### 1.2 好氧反硝化菌群的富集

本研究有效整合间歇曝气法、选择性培养基和超声波预处理的方式富集、筛分好氧反硝化菌。将 3 个取样点采集的表层沉积物各取 200 mL 放入装有 500 mL 液体 DM 培养基的 1 L 烧杯中,放入若干玻璃珠,在摇床上培养(130 r·min<sup>-1</sup>, 20 min),以打散沉积物制成悬液。然后通过空气泵间歇曝气,控制溶解氧在 4 ~ 6 mg·L<sup>-1</sup>。每隔 3 d 补充新鲜的液体 DM 培养基,持续间歇曝气 20 d。第 21 d 时,分别取 10 mL 菌悬液到 5 个装有 3 mL 液体 DM 培养基的无菌试管中<sup>[16]</sup>。为了提高菌株分离效率,将上述样品放入槽式超声波清洗器中(KQ-500DE,温度设定为 20℃;超声功率设定为 40%,其额定功率为 500 W),分别处理 0、10、20、30、40 和 50 s。

#### 1.2.1 好氧反硝化菌群的初筛

在无菌操作台,采用灭菌玻璃棒将菌液搅拌均匀,从用超声波处理过的沉积物-水混合液(菌悬液)中,取 1 mL 放置到 9 mL 灭菌水的试管中,抽吸 6 次,混合均匀,得到 10<sup>-1</sup> 梯度菌悬液,然后再从次试管中取 1 mL 加入另一个含有无菌水 9 mL 的无菌水试管中,得到 10<sup>-2</sup> 梯度的菌悬液。采用 10 倍稀释法依次得到 10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup> 梯度的菌悬液;取 10<sup>-3</sup> 和 10<sup>-4</sup> 的 0.1 mL 的菌悬液涂布到已制备好的反硝化固体培养基上倒置平板培养皿,放入 30℃ 恒温培养箱中培养<sup>[17]</sup>。

### 1.2.2 好氧反硝化菌群的复筛

待平板中长出菌落, 用 PBS 缓溶液将  $10^{-3}$  梯度菌落洗下来, 作为混合菌种, 取 5 mL 混合菌液接种到装有 150 mL 液体培养基的锥形瓶中 ( $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ), 至对数生长期将其再次按体积比 5% 接种到装有 150 mL 液体培养基的 250 mL 锥形瓶中测其脱氮特性. 混合菌种保存于西安建筑科技大学环境微生物技术研究所.

### 1.3 混合菌群的脱氮特性

将筛选出的优势好氧反硝化菌群 H-30、X-10 和 C-30 按体积比 5% 分别接入装有 150 mL 液体培养基的 250 mL 锥形瓶中进行反硝化脱氮实验 ( $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $30^\circ\text{C}$ ). 混合菌群菌液样品首先使用超声波细胞破碎仪 (Scientz-IIID) 进行处理<sup>[17]</sup>, 然后在  $4^\circ\text{C}$ 、 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min, 将上清液用  $0.22 \mu\text{m}$  的醋酸纤维滤膜过滤, 滤液用于分析总氮 (TN)、氨氮 ( $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ )、硝氮 ( $\text{NO}_3^- \text{-N}$ )、亚硝氮 ( $\text{NO}_2^- \text{-N}$ ) 和总有机碳 (TOC).

### 1.4 好氧反硝化菌群结构诊断

#### 1.4.1 微生物总 DNA 提取

分别取培养至对数生长期的菌液 10 mL 经  $0.22 \mu\text{m}$  醋酸纤维滤膜过滤, 采用 EZ Spin 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒 (美国, Omega) 提取微生物总 DNA, 具体抽提步骤按操作说明进行<sup>[18]</sup>. 利用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提总的 DNA, 测量 DNA 浓度 (Nano Drop 2000), 保存于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱, 备用.

#### 1.4.2 Illumina 高通量测序

好氧反硝化混合菌液中亚硝酸还原酶 *nirS* 功能基因采用引物对 (Cd3AF/R3cdR) 进行扩增<sup>[19, 20]</sup>. PCR 扩增体系 ( $20 \mu\text{L}$ ) 为: DNA 模板 10 ng、dNTPs  $2 \mu\text{L}$  ( $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、缓冲液  $4 \mu\text{L}$ 、DNA 聚合酶  $0.4 \mu\text{L}$ 、R3cdR 引物  $0.8 \mu\text{L}$  ( $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、Cd3AF 引物  $0.8 \mu\text{L}$  ( $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、 $\text{ddH}_2\text{O}$  补至  $20 \mu\text{L}$ . 扩增条件为:  $95^\circ\text{C}$  预变性 4 min,  $95^\circ\text{C}$  变性 40 s,  $56^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 40 s, 28 个循环,  $72^\circ\text{C}$  延伸 10 min. 将同一样品的 PCR 产物混合, 然后用琼脂糖凝胶电泳 (1%) 检测, 使用凝胶回收试剂盒 (Axygen, USA) 纯化回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱、琼脂糖凝胶电泳 (1%) 检测. 将 PCR 产物用 Quanti Fluor<sup>TM</sup>-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega, USA) 分析产物浓度<sup>[20]</sup>. Illumina MiSeq 高通量 DNA 测序在上海美吉生物公司进行.

#### 1.4.3 高通量数据分析

首先对 *nirS* 功能基因测序的原始数据进行质

控, 通过 Fast QC 软件进行质量控制, 低质量的序列被舍弃. 优质序列通过 QIIME 进行处理, 根据序列的相似度, 将有效数据在 97% 水平下聚类为 OTU (operational taxonomic units)<sup>[21-23]</sup>, 依据数据库 (ribosomal database project, RDP) 明确 OTU 分类学信息<sup>[22]</sup>, 丰度小于 0.001 的去除.

### 1.5 菌群生长和脱氮特征测定

以未接种菌种的 DM 培养基作为对照, 菌体生长采用紫外分光光度法测定  $D_{600}$  (日本岛津, UVmini-1240); 总氮 (TN)、硝氮 ( $\text{NO}_3^- \text{-N}$ )、亚硝氮 ( $\text{NO}_2^- \text{-N}$ ) 和氨氮 ( $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ) 等均参照文献<sup>[24]</sup>测定 (日本岛津, 紫外-可见分光光度计, UVmini-1240). 其中, TN 采用碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法;  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  采用紫外分光光度法;  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  采用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法;  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  采用纳氏试剂比色法测定. TOC 采用总有机碳测定仪 (日本岛津, TOC-L), pH 和 DO 采样 HQ30d (美国, Hach) 测定, 溶解性总氮、硝氮、亚硝氮和氨氮的样品经  $0.22 \mu\text{m}$  醋酸纤维滤膜过滤进行预处理, 重复 3 次 ( $n=3$ ).

## 2 结果与讨论

### 2.1 高效好氧反硝化菌群的筛分

3 种不同的好氧反硝化混合菌群从不同的生态环境中筛分出来. 在传统的利用间歇曝气富集, 选择培养基筛选好氧反硝化细菌的基础上, 将泥水菌悬液置于槽式超声波清洗器中 (KQ-500DE, 温度设定为  $20^\circ\text{C}$ ; 超声功率设定为 40%, 其额定功率为 500 W), 分别处理 0、10、20、30、40 和 50 s. 共得到 12 组混合菌种, 经初步脱氮实验, 发现 3 组混合菌种 (H-30、X-10 和 C-30) 的脱氮效果最佳, 并进行深入研究.

### 2.2 混合菌群的脱氮特性

将活化好的优势好氧反硝化混合菌种转接于液体培养基中, 于  $30^\circ\text{C}$  恒温振荡培养箱摇瓶培养, 期间每隔 3 h 测定  $D_{600}$  和氮素指标用以监测菌体长势及氮素降解率变化.

由图 1 可知, 混合菌群 H-30 经过短暂的迟滞期, 大约 6 h 后菌体生长活跃, 菌群总量迅速增长, 培养 48 h 菌密度  $D_{600}$  达到最大, 为 1.26, 显著高于单菌株的菌密度. 48 h 后, 菌体进入衰亡期. 通过生长曲线可掌握了该混合菌群的生长规律, 为研究它的脱氮特性奠定基础. 第 6~24 h, 硝氮、总氮浓度下降明显, 总有机碳也表现出同样的下降趋势, 表明异养-好氧-反硝化的发生; 菌体对氮素降解速

率在此范围内迅速增大,这与该时期菌体总量的不断增多有关.在此阶段,硝氮、总氮和总有机碳去除速率分别达到 $7.30$ 、 $6.52$ 和 $29.94\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ . $24\text{ h}$ 时, $93.81\%$ 的硝氮、 $83.04\%$ 的总氮、 $63.29\%$ 的总有机碳被去除.在反硝化初期,亚硝氮有短暂积累,但很快消失.这可能是由于反硝化初期硝氮去除率较高造成亚硝氮大量积累,之后随着硝氮的去除达到平衡,而亚硝氮的去除率提高.菌体生长比硝氮的去除有个滞后过程,可能是菌体在吸收完硝氮以及其他营养物质后需要一个同化时间.这和Huang等的研究相一致<sup>[17]</sup>.

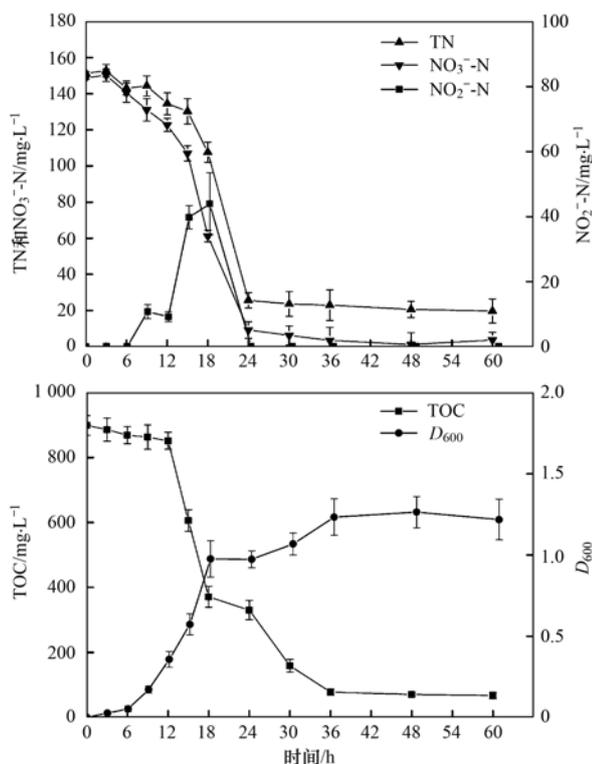


图1 好氧反硝化菌群 H-30 氮素、总有机碳去除及生长曲线  
Fig. 1 Nitrogen, TOC removal, and microbial growth performance of the aerobic denitrifier community H-30

图2解释了好氧反硝化混合菌群X-10细胞生长和好氧反硝化能力.在起始的 $6\text{ h}$ ,细菌处于迟缓期,硝氮浓度从 $147.92\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 缓慢地降到 $140.96\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,同时 $D_{600}$ 值从 $0$ 缓慢增长到 $0.15$ .随后 $6\sim 24\text{ h}$ ,观察到硝氮显著地从 $140.96\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降到 $2.64\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,平均硝氮去除速率达到 $7.68\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ .TN和TOC的去除具有和硝氮相同的趋势,在 $24\text{ h}$ 时其去除率分别为 $83.40\%$ 和 $73.43\%$ ,在此阶段, $D_{600}$ 值从 $0.15$ 增长到 $1.43$ .这表明好氧反硝化混合菌群X-10具有异养好氧反硝化能力. $30\text{ h}$ 后,混合菌群进入稳定期.在反硝化

整个过程中,有个短期的亚硝氮积累,但很快消失.相比好氧反硝化混合菌群H-30和C-30,好氧反硝化混合菌群X-10的亚硝氮积累要显著小.这可能是 $nirS$ 基因的丰度相对较高的缘故.

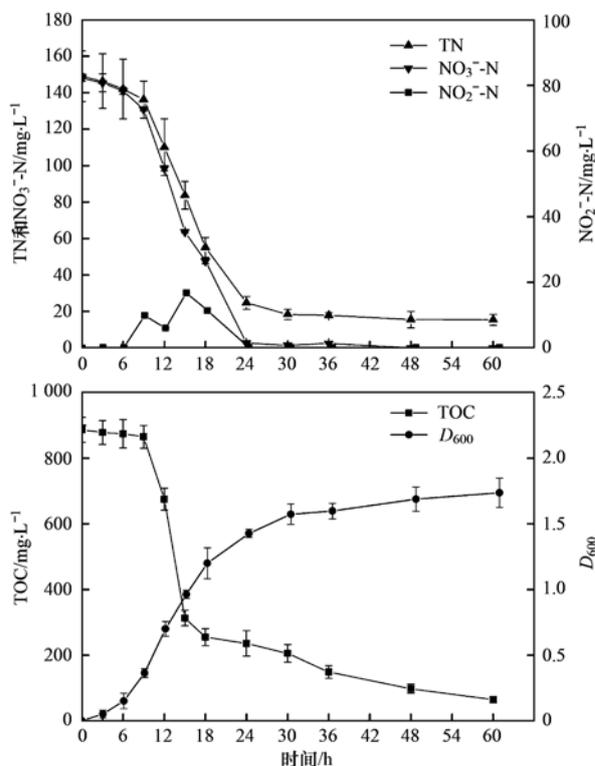


图2 好氧反硝化菌群 X-10 氮素、总有机碳去除及生长曲线  
Fig. 2 Nitrogen, TOC removal, and microbial growth performance of the aerobic denitrifier community X-10

由图3可知,经过 $6\text{ h}$ 细菌增殖,细菌 $D_{600}$ 值增长到 $0.15$ .随后细菌进入对数期,在 $6\sim 18\text{ h}$ , $D_{600}$ 值从 $0.15$ 急剧增长到 $1.29$ ,在此阶段,硝氮从 $137.39\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降到 $29.06\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,可以得出细菌 $\text{NO}_3^-$ -N降解能力与表示细菌生长情况的 $D_{600}$ 是呈正相关关系.在好氧条件下,总氮和总有机碳去除模式和硝氮去除相一致.经过 $24\text{ h}$ 的培养,TN和总有机碳的去除率分别达到 $82.68\%$ 和 $83.01\%$ .

相比分离的单一好氧反硝化菌株,混合菌株的脱氮能力更显著且混合菌群H-30、X-10和C-30的菌密度( $D_{600}$ )显著大于纯菌株的<sup>[17]</sup>.混合菌群生长及降解曲线测定结果表明,菌群长势越好,降解能力越强;相关研究结果表明,混合好氧反硝化菌群反硝化速率显著高于单株好氧反硝化<sup>[6]</sup>.单一菌种在实际工程应用中,不能很好地适应生态环境,但是混合菌群对生态环境的适应能力要显著强于单一菌种.

### 2.3 反硝化菌群结构组成解析

采用Illumina MiSeq高通量DNA测序分析测定

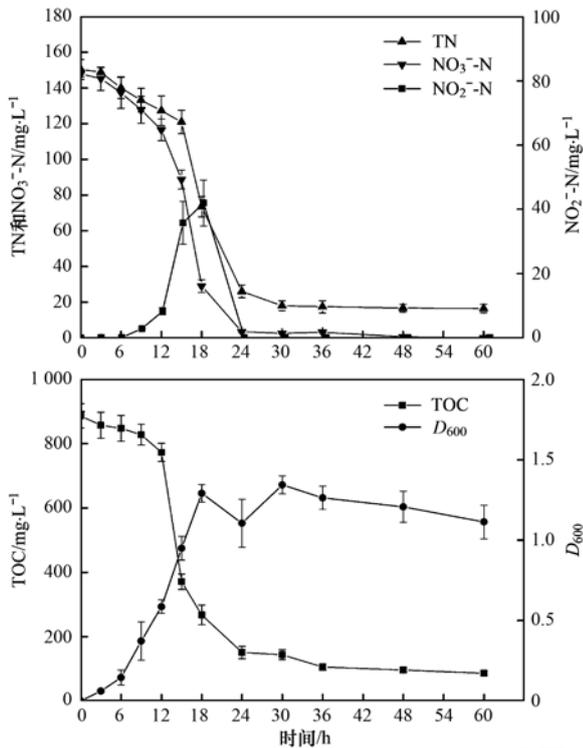


图3 好氧反硝化菌群 C-30 氮素、总有机碳去除及生长曲线

Fig. 3 Nitrogen, TOC removal, and microbial growth performance of the aerobic denitrifier community C-30

两种优势好氧反硝化菌群结构及比例。在种水平, 优势好氧反硝化菌群 H-30 的类别如下, 枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*, 59.9%)、斯氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*, 39.5%)、*Pseudomonas xiamenensis* (0.5%)、*Paracoccus pantotrophus* (0.1%); 优势好氧反硝化菌群 X-10 的类别如下, *P. pantotrophus* (58.8%)、斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*, 37.9%)、枯草芽胞杆菌 (*B. subtilis*, 3.3%) 优势好氧反硝化菌群 C-30 的类别如下, 斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*, 81.7%)、*P. pantotrophus* (18.2%)、*Bacillus subtilis* (0.04%); 由图 4 可知, 3 组优势好氧反硝化菌群结构存在显著差异, 但都是主要的好氧反硝化菌属。这可能是 3 组优势好氧反硝化菌群所处的自然生态环境不同的缘故。不同的自然生态环境支持不同的优势菌种。经过长时间的富集过程, 枯草芽胞杆菌 (*B. subtilis*)、*Paracoccus pantotrophus*、斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 和 *Pseudomonas xiamenensis* 成为优势菌种, 其他 *nirS* 型好氧反硝化细菌被逐渐淘汰。优势混合菌种 H-30, X-10 和 C-30 的最优势菌种分别是枯草芽胞杆菌 (*B. subtilis*)、*Paracoccus pantotrophus* 和斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*), 其中斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 在 H-30 和 X-10 两种混合菌种中所占比例

基本一致, 而 *Pseudomonas xiamenensis* 相对丰度最低为 0.5%, 而且仅在 H-30 中检测到。在受污染水体微生物修复过程中, 将复合微生物菌剂进行城市富营养化湖泊的治理修复, 可以在一定程度上降低富营养化程度、改善城市湖库水质, 作为一种安全、经济高效、无二次污染的治理手段具广阔的市场前景。因此, 本研究所筛选高效菌群可以作为高效微生态菌剂, 扩充现有菌剂库, 并应用于我国城市湖库富营养化水体的微生物修复工程。

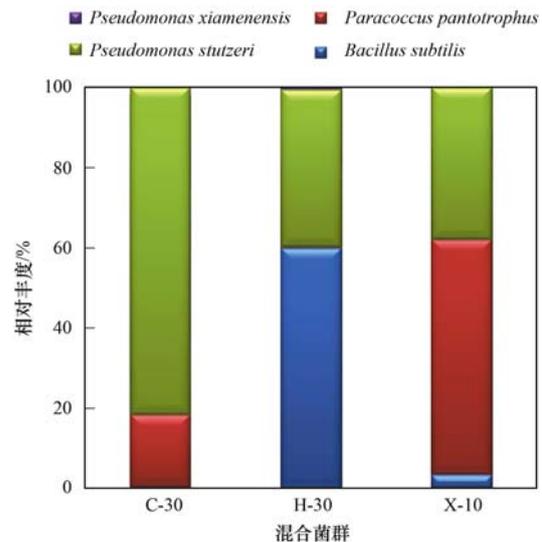


图4 好氧反硝化细菌群落结构组成

Fig. 4 Aerobic denitrifier community structure

通常生活在沉积物中的细菌被沉积物颗粒包裹着, 经过前期的振荡和间歇曝气, 细菌不易从沉积物颗粒中释放出来。因此, 采用超声波处理沉积物-水悬液, 使沉积物颗粒中的细菌扩散出来, 再用平板稀释法分离好氧反硝化混合菌群, 显著提高了菌体筛分效率和稀有高效菌株的筛出率。另外, 传统的好氧反硝化菌筛选均为采用稀释涂布平板技术, 然后通过纯化过程得到单一好氧反硝化菌株, 研究其脱氮特性, 再通过菌株配对方式形成混合菌群。这样存在人为配对因素, 而不是自然配对的菌群。本研究设计出在无需得到单一纯菌的基础上, 通过筛选混合菌群来研究脱氮效果, 该过程省时省力, 并且所得菌群是自然筛分过程配伍形成的、具有稳定性和高效性。不同种属的好氧反硝化细菌组成的混合菌群具有更稳定、更高效的氮污染去除效果。不同的好氧反硝化细菌形成了共生关系, 菌株之间产生群体感应、相互之间产生协同作用, 更有利于水体中氮、有机物的去除。

史佳媛<sup>[25]</sup>从河道沉积物中筛选出优势好氧反硝化菌群, 从优化培养和扩大培养的菌液中共检测

到 204 种菌. 其中, 假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)、粪产碱菌属 (*Alcaligenes* sp.)、牦牛瘤胃菌属 (*Proteiniclasticum* sp.)、无色杆菌属 (*Achromobacter* sp.)、甲基芽孢杆菌属 (*Methylobacillus* sp.) 为菌液中的优势菌. 本次筛选的优势好氧反硝化菌群中的细菌种类显著少于史佳媛从河道沉积物中筛选出的优势好氧反硝化菌群. 这可能是运用超声波对作为菌种源的沉积物进行前期处理和长时间的间歇曝气的缘故, 使得其他劣势菌属逐渐被淘汰. 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 通常在生活废水中, 很少存在于天然水体中<sup>[26]</sup>. Kim 等<sup>[27]</sup> 从夜间土壤处理系统中分离出来好氧反硝化细菌——枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*), 并且发现具有异养硝化-好氧反硝化的能力<sup>[26]</sup>. 文献检索表明, 在天然水体中枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 作为 *nirS* 型反硝化细菌的研究报道极为罕见. 因此, 枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 作为可培养的新型反硝化菌种, 扩充天然水体菌种资源库, 为后续的菌剂制备提供菌源保障.

本研究发现与优势混合菌群 H-30 相比, 好氧反硝化细菌 *Paracoccus pantotrophus* 在混合菌群 X-10 和 C-30 中的占比要显著高, 可能是不同湖库沉积物具有不同的理化性状所决定的. 副球菌属 (*Paracoccus* sp.) 通常存在于高氮素的环境中<sup>[28, 29]</sup>, 而兴庆公园和长乐公园污染严重的沉积物为高占比的 *P. pantotrophus* 提供了一个合理的解释. 假单胞菌属作为已知反硝化菌中最大的分类群之一. 该属中的多个种已被作为研究反硝化过程的典型模式菌株. 假单胞菌属的好氧反硝化细菌广泛存在于自然生态环境中, 目前, 在活性污泥<sup>[30]</sup>、河流沉积物、水库沉积物<sup>[17]</sup>、湖泊沉积物<sup>[31]</sup> 和海洋沉积物<sup>[32]</sup> 中均筛选出假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 的好氧反硝化菌. 斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 在混合菌群 H-30 和 X-10 中的占比分别为 39.5% 和 37.9%, 是两种混合菌群的主要优势菌属, 在脱氮过程中起到十分重要的作用. 而斯氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 在混合菌群 C-30 中的占比为 81.7%, 表明在混合菌群 C-30 的脱氮过程中起到最主要的作用. 前期关于西安市区 6 个典型景观水体 *nirS* 型反硝化细菌种群结构的研究表明副球菌属 (*Paracoccus* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 同样是水体的优势菌属, 从侧面也说明了水体和沉积物之间的相互影响关系. 而从水库中筛选出的混合菌群中的枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 却不是景观水体中的优势菌<sup>[33]</sup>.

### 3 结 论

(1) 基于传统的好氧反硝化菌筛分技术, 本研究首次将超声波处理方法引入湖库沉积物好氧反硝化菌群的筛分过程, 提高了筛出效率, 并成功筛分出 3 组高效好氧反硝化菌群 H-30, X-10 和 C-30.

(2) 3 组混合好氧反硝化菌群具有高效的脱氮能力, 在好氧条件下, H-30、X-10 和 C-30 菌群总氮去除率分别达到 83.04%, 83.40% 和 82.68%.

(3) Illumina MiSeq 高通量 DNA 测序结果表明, 3 组 *nirS* 型好氧反硝化优势混合菌群种群结构差异显著, H-30, X-10 和 C-30 菌群的优势菌种分别是枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、*Paracoccus pantotrophus* 和斯氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*).

(4) 筛选的 3 组高效好氧反硝化菌群将为我国城市湖库污染水体的微生物修复工程提供菌源保障.

#### 参考文献:

- [1] Giannopoulos G, Sullivan M J, Hartop K R, et al. Tuning the modular *Paracoccus denitrificans* respirome to adapt from aerobic respiration to anaerobic denitrification [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, **19**(12): 4953-4964, doi: 10.1111/1462-2920.13974.
- [2] Chu W H, Gao N Y, Yin D Q, et al. Impact of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Pre-oxidation on the formation of haloacetamides and other nitrogenous disinfection byproducts during chlorination [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(20): 12190-12198.
- [3] Wan Y, Ruan X H, Zhang Y P, et al. Illumina sequencing-based analysis of sediment bacteria community in different trophic status freshwater lakes [J]. *MicrobiologyOpen*, 2017, **6**(4): e00450.
- [4] Hou J, Song C L, Cao X Y, et al. Shifts between ammonia-oxidizing bacteria and archaea in relation to nitrification potential across trophic gradients in two large Chinese lakes (Lake Taihu and Lake Chaohu) [J]. *Water Research*, 2013, **47**(7): 2285-2296.
- [5] Ji B, Yang K, Zhu L, et al. Aerobic denitrification: a review of important advances of the last 30 years [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2015, **20**(4): 643-651.
- [6] 孙菲, 方金武, 蔡昌凤, 等. 好氧反硝化菌群的筛选及其培养条件的研究 [J]. *安徽工程科技学院学报*, 2010, **25**(2): 36-39, 79.  
Sun F, Fang J W, Cai C F, et al. Screening of aerobic denitrifying bacteria and determination of the culture conditions [J]. *Journal of Anhui University of Technology and Science*, 2010, **25**(2): 36-39, 79.
- [7] 雍佳君, 成小英. 蠡河底泥中反硝化复合菌群富集及菌群结构研究 [J]. *环境科学*, 2015, **36**(6): 2232-2238.  
Yong J J, Cheng X Y. Enrichment and characterization of a denitrifying bacteria consortium from Lihe River's sediment [J]. *Environmental Science*, 2015, **36**(6): 2232-2238.
- [8] 姜怡, 曹艳茹, 赵立兴, 等. 超声波处理土样分离放线菌 [J]. *微生物学报*, 2010, **50**(8): 1094-1097.  
Jiang Y, Cao Y R, Zhao L X, et al. Ultrasonic treatment of soil

- samples for actinomycete isolation [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, **50**(8): 1094-1097.
- [9] Sun Y L, Li A, Zhang X N, *et al.* Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, **99**(7): 3243-3248.
- [10] 姚炎红, 王明霞, 左小虎, 等. 典型油田多环芳烃污染对土壤反硝化微生物群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2016, **37**(12): 4750-4759.
- Yao Y H, Wang M X, Zuo X H, *et al.* Effects of PAHs pollution on the community structure of denitrifiers in a typical oilfield[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(12): 4750-4759.
- [11] Zhou S L, Huang T L, Zhang C H, *et al.* Illumina MiSeq sequencing reveals the community composition of *nirS*-Type and *nirK*-Type denitrifiers in Zhoucun reservoir-a large shallow eutrophic reservoir in northern China[J]. *RSC Advances*, 2016, **6**(94): 91517-91528.
- [12] Li F G, Li M C, Shi W C, *et al.* Distinct distribution patterns of proteobacterial *nirK*-and *nirS*-type denitrifiers in the Yellow River estuary, China[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2017, **63**(8): 708-718.
- [13] 程建华, 窦智勇, 孙庆业. 铜陵市河流沉积物中硝化和反硝化微生物分布特征[J]. *环境科学*, 2016, **37**(4): 1362-1370.
- Cheng J H, Dou Z Y, Sun Q Y. Distribution characteristics of nitrifiers and denitrifiers in the river sediments of Tongling City [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(4): 1362-1370.
- [14] Gu Y F, Wang Y Y, Xiang Q J, *et al.* Implications of wetland degradation for the potential denitrifying activity and bacterial populations with *nirS* genes as found in a succession in Qinghai-Tibet plateau, China [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2017, **80**: 19-26.
- [15] Zhu L, Ding W, Feng L J, *et al.* Isolation of aerobic denitrifiers and characterization for their potential application in the bioremediation of oligotrophic ecosystem. [J]. *Bioresource Technology*, 2012, **108**: 1-7.
- [16] 黄廷林, 周娜, 张海涵, 等. 3 株贫营养好氧反硝化细菌的分离鉴定及反硝化特性[J]. *环境工程学报*, 2014, **8**(12): 5507-5513.
- Huang T L, Zhou N, Zhang H H, *et al.* Isolation and identification of three oligotrophic aerobic denitrifying bacteria and denitrification characteristics [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, **8**(12): 5507-5513.
- [17] Huang T L, Guo L, Zhang H H, *et al.* Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **196**: 209-216.
- [18] Osaka T, Shirotani K, Yoshie S, *et al.* Effects of carbon source on denitrification efficiency and microbial community structure in a saline wastewater treatment process [J]. *Water Research*, 2008, **42**(14): 3709-3718.
- [19] Michotey V, Méjean V, Bonin P. Comparison of methods for quantification of cytochrome *cd<sub>1</sub>*-denitrifying bacteria in environmental marine samples[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(4): 1564-1571.
- [20] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis Å, *et al.* Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**(3): 401-417.
- [21] Zhang H H, Huang T L, Chen S N, *et al.* Abundance and diversity of bacteria in oxygen minimum drinking water reservoir sediments studied by quantitative PCR and pyrosequencing[J]. *Microbial Ecology*, 2015, **69**(3): 618-629.
- [22] Zhang H H, Huang T L, Chen S N. Ignored sediment fungal populations in water supply reservoirs are revealed by quantitative PCR and 454 pyrosequencing [J]. *BMC Microbiology*, 2015, **15**: 44.
- [23] Zhang H H, Chen S N, Huang T L, *et al.* Vertical distribution of bacterial community diversity and water quality during the reservoir thermal stratification [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2015, **12**(6): 6933-6945.
- [24] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [25] 史佳媛. 脱氮优势菌群筛选及其固定化应用于河道底泥修复[D]. 南京: 东南大学, 2015. 33-34.
- Shi J Y. Screening of predominant denitrification bacteria and the application in sediment remediation by using the immobilized technology[D]. Nanjing: Southeast University, 2015. 33-34.
- [26] Yang X P, Wang S M, Zhang D W, *et al.* Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1 [J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(2): 854-862.
- [27] Kim J K, Park K J, Cho K S, *et al.* Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains [J]. *Bioresource Technology*, 2005, **96**(17): 1897-1906.
- [28] Read-Daily B L, Sabba F, Pavissich J P, *et al.* Kinetics of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) formation and reduction by *Paracoccus pantotrophus* [J]. *AMB Express*, 2016, **6**: 85.
- [29] Hasegawa-Kurusu K, Otani Y, Hanaki K. Evaluation of nitrate removal by continuous culturing of an aerobic denitrifying bacterium, *Paracoccus pantotrophus* [J]. *Water Science and Technology*, 2006, **54**(8): 219-228.
- [30] Ji B, Yang K, Wang H Y, *et al.* Aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* C3 incapable of heterotrophic nitrification [J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2015, **38**(2): 407-409.
- [31] Li C E, Yang J S, Wang X, *et al.* Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24 [J]. *Bioresource Technology*, 2015, **182**: 18-25.
- [32] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 海洋菌株 y3 的分离鉴定及其异养硝化-好氧反硝化特性[J]. *环境科学*, 2016, **37**(3): 1089-1097.
- Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, *et al.* Isolation, identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification Strain y3 Isolated from marine environment[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(3): 1089-1097.
- [33] 康鹏亮, 黄廷林, 张海涵, 等. 西安市典型景观水体水质及反硝化细菌种群结构[J]. *环境科学*, 2017, **38**(12): 5174-5183.
- Kang P L, Huang T L, Zhang H H, *et al.* Water quality and diversity of denitrifier community structure of typical scenic water bodies in Xi'an [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(12): 5174-5183.

## CONTENTS

Estimation of Fine Particle (PM <sub>2.5</sub> ) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)
Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in PM <sub>2.5</sub> in summertime Shanghai, China	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in PM <sub>2.5</sub> in the Southern Suburbs of Beijing	GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust PM <sub>2.5</sub> During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method	ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)
HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China	TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)
Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes	HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)
Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)
Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers	LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)
Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales	PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)
Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR	JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)
Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)
Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary	ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)
Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China	LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)
Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau	MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)
Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River	LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)
Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors	ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)
Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir	ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)
Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin	WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)
Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR	SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)
Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)
Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir	WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)
Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams	YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)
Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch	LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)
Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions	XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)
Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate	SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)
Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -graphene Hybrid	XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars	LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior	LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)
Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant	SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)
Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater	LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)
Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater	TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)
Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR	FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)
Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes	GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)
Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants	WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)
Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge	DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)
Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules	LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)
Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China	WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)
Characteristics of N <sub>2</sub> O Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer	ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)
Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu	JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)
Dynamics of CO <sub>2</sub> and N <sub>2</sub> O in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia	LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)
Characteristics of CO <sub>2</sub> Flux in a Mature Apple ( <i>Malus domestica</i> ) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau	YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)
Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)
Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil	LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)
Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)
Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater	LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)
Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing	LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)
Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology	ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)
Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil	YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)
Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings	FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)
Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments	KANG Peng-liang, ZHANG Hai-han, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431)
Investigation of the Coupling Mechanism Between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification	ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)
Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)
Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)
Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues ( <i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages	WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)
Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area	LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)
Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain	XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)
Health Effects of PM <sub>2.5</sub> Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice	SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)
Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of PM <sub>2.5</sub> Concentrations in China: An Exploratory Analysis	DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)