

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第12期

Vol.39 No.12

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(卷终)

中国燃煤电厂大气污染物排放的健康影响特征 秦雨, 张强, 李鑫, 赵红艳, 同丹, 郑逸璇, 耿冠楠, 贺克斌 (5289)

基于 LUR 模型的中国 PM_{2.5} 时空变化分析 刘炳杰, 彭晓敏, 李继红 (5296)

长三角淳安地区二次颗粒物污染形成机制 黄丹丹, 周敏, 余传冠, 朱书慧, 王裕成, 乔利平, 楼晟荣, 陶士康, 杨强, 李莉 (5308)

春季沙尘过程北京市不同粒径大气气溶胶污染特征及来源分析 杨阳, 李杏茹, 陈曦, 刘水桥, 刘雨思, 徐静, 王莉莉, 陶明辉, 王格慧 (5315)

成都双流夏秋季环境中 VOCs 污染特征 邓媛元, 李晶, 李亚琦, 吴蓉蓉, 谢绍东 (5323)

佛山市典型铝型材行业表面涂装 VOCs 排放组成 李霞, 苏伟健, 黎碧霞, 龙森, 黎丽莉, 张洲, 于跃刚, 王云鹏, 王新明 (5334)

四川省人为源大气污染物排放清单及特征 周子航, 邓也, 谭钦文, 吴柯颖, 杨欣悦, 周小玲 (5344)

炼焦工序颗粒物排放特征 王彦辉, 赵亮, 孙文强, 叶竹, 蔡九菊 (5359)

小流域大气氮干湿沉降特征 王焕晓, 庞树江, 王晓燕, 樊彦波 (5365)

流域氮素主要输出途径及变化特征 李文超, 雷秋良, 翟丽梅, 刘宏斌, 胡万里, 刘申, 任天志 (5375)

生物炭配施缓控释肥对稻田田面水氮素动态变化及径流流失的影响 斯林林, 周静杰, 吴良欢, 胡兆平 (5383)

长江上游农业源溪流雨季中 N₂O 间接排放特征 田琳琳, 王正, 朱波 (5391)

不同氮污染特征河流 NO₃⁻ 浓度、释放通量与排放系数 王森, 李亚峰, 雷坤, 杨丽标 (5400)

多种同位素手段的硝酸盐污染源解析, 以会仙湿地为例 彭聪, 潘晓东, 焦友军, 任坤, 曾洁 (5410)

典型岩溶槽谷区土壤水 δD 和 δ¹⁸O 时空分布特征: 以重庆市中梁山岩溶槽谷为例 吴韦, 蒋勇军, 贾亚男, 彭学义, 段世辉, 刘九缠, 王正雄 (5418)

沁河冲洪积扇地下水水化学特征及成因分析 刘江涛, 蔡五田, 曹月婷, 蔡月梅, 边超, 吕永高, 陈远铭 (5428)

2017 年最大降水对再生水受水河道径流组成的影响 廖安然, 宋献方, 张应华, 杨丽虎, 卜红梅, 马英, 韩冬梅, 秦文婧, 杨胜天 (5440)

周村水库主库区水体热分层形成过程中沉积物间隙水 DOM 的光谱演变特征 周石磊, 张艺冉, 黄廷林, 李再兴, 罗晓 (5451)

三峡库区沉积物中镍污染特征评价 张伟杰, 殷淑华, 徐东昱, 高丽, 高博 (5464)

四面山大洪湖底泥/水界面汞的迁移转化规律 郭攀, 孙涛, 杨光, 马明 (5473)

大兴安岭南麓河湿地类型对土壤中甲基汞分布的影响 周心功, 刘玉荣, 李晶, 周志峰 (5480)

模拟三峡库区消落带土壤有机磷酸酯类水释放特征 杨婷, 何明靖, 杨志豪, 魏世强 (5487)

典型旅游城市河流水体及污水厂出水中全氟烷基酸类化合物的空间分布及其前体物的转化 王世亮, 孙建树, 杨月伟, 张敏 (5494)

4 种不同工况生物滤池净化效能与微生物特性分析 江肖良, 李孟, 张少辉, 张世羊 (5503)

微量元素锰对威氏海链藻生长及叶绿素荧光的影响 王木兰, 姜玥璐 (5514)

广东省水库拟柱孢藻 (*Cylindrospermopsis raciborskii*) 的分布特征及影响因素分析 雷敏婷, 彭亮, 韩博平, 雷腊梅 (5523)

磁性壳聚糖接枝聚丙烯酰胺去除水体中腐殖酸 尤雯, 刘海成, 曹家玮, 沈耀良, 陈卫 (5532)

臭氧-生物活性炭对微污染原水中典型持久性有机物的去除效果 兰亚琼, 刘锐, 马正杰, 陈吕军 (5541)

水解酸化/AO 组合工艺处理印染废水色度去除与脱氮性能 顾梦琪, 尹启东, 刘爱科, 吴光学 (5550)

“异养-硫自养”组合工艺去除高浓度高氯酸盐特性 刘颖男, 陶华强, 宋圆圆, 张春青, 逯彩彩, 韩懿, 李海波, 郭建博 (5558)

静压快速启动亚硝酸盐依赖型甲烷厌氧氧化反应 王一因, 胡振, 茹东云, 姜丽萍, 刘华清 (5565)

多级 AO 耦合流离生化工艺流量分配比优化及脱氮机制 王帆, 李军, 边德军, 聂泽兵, 张莉, 孙艺齐 (5572)

主流条件下两级式 PN-ANAMMOX 工艺的高效能脱氮过程 刘文如, 杨殿海, 沈耀良, 王建芳, 吴鹏, 钱飞跃, 陈重军 (5580)

不同基质浓度对 ANAMMOX 菌短期储存的影响 高雪健, 张杰, 李冬, 曹正美, 郭跃洲, 李帅 (5587)

主流厌氧氨氧化工艺的运行优化及其微生物的群落变迁 付昆明, 付冀, 李慧, 姜姍, 仇付国, 曹秀芹 (5596)

厌氧氨氧化污泥恢复过程中的颗粒特性 陈方敏, 顾澄伟, 胡羽婷, 黄勇, 李祥, 陆明羽, 方文辉, 金润 (5605)

低温反硝化菌——施氏假单胞菌 N3 的筛选及脱氮性能 路俊玲, 陈慧萍, 肖琳 (5612)

复垦工业场地土壤和周边河道沉积物重金属污染及潜在生态风险 吴健, 王敏, 张辉鹏, 黄宇驰, 徐志豪, 李青青, 陈昊, 黄沈发 (5620)

不同土地利用类型土壤重金属生态风险与人体健康风险 李春芳, 曹见飞, 吕建树, 姚磊, 吴泉源 (5628)

某大型神渣场地土壤 As 污染特征及生态风险评价 刘庚, 石瑛, 田海金, 李豪, 张蕾, 牛俊杰, 郭观林, 张朝 (5639)

亚热带典型岩溶水库细菌丰度和细菌生产力及其与环境因子的关系 辛胜林, 梁月明, 彭文杰, 宋昂, 靳振江, 朱美娜, 李强 (5647)

岩溶区典型灌丛植物根系从枝菌根真菌群落结构解析 梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧 (5657)

模拟氮沉降对干旱半干旱温带草原土壤细菌群落结构的影响 李宗明, 沈菊培, 张丽梅, 刘国平, 白文明, 贺纪正 (5665)

添加磷素对低磷稻田根际土壤固碳自养微生物数量的影响 柏菁, 李奕霏, 刘守龙, 祝贞科, 李科林, 彭佩钦, 吴小红, 葛体达, 吴金水 (5672)

长期不同施肥对稻田土壤有机碳矿化及激发效应的影响 马欣, 魏亮, 唐美玲, 徐福利, 祝贞科, 葛体达, 吴金水 (5680)

黄土丘陵区撂荒恢复过程中植物群落组成与土壤养分及酶活性变化的关系 乔文静, 戴银月, 张伟, 付淑月, 杨改河, 韩新辉, 陈正兴, 高德新, 冯永忠 (5687)

生活垃圾不同填埋阶段的富里酸对五氯苯酚的降解 刘思佳, 何小松, 张慧, 祖国峰, 席北斗, 李丹, 党秋玲 (5699)

CO₂ 倍增条件下不同生育期水稻碳氮磷含量及其计量比特征 唐美玲, 肖谋良, 袁红朝, 王光军, 刘守龙, 祝贞科, 葛体达, 吴金水 (5708)

基于层次分析法的医疗废物处置技术评价 许晓芳, 谭全银, 刘丽丽, 李金惠 (5717)

中国农田畜禽粪尿氮负荷量及其还田潜力 刘晓永, 王秀斌, 李书田 (5723)

《环境科学》第 39 卷(2018 年) 总目录 (5740)

《环境科学》征订启事 (5343) 《环境科学》征稿简则 (5439) 信息 (5595, 5619, 5638)

低温反硝化菌——施氏假单胞菌 N3 的筛选及脱氮性能

路俊玲, 陈慧萍, 肖琳*

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化国家重点实验室, 南京 210023)

摘要: 通过微生物连续富集分离, 筛选得到 1 株低温下具有反硝化能力的细菌 N3, 鉴定为施氏假单胞菌, 并对其脱氮性能进行研究. 结果表明, N3 在 C/N=8, 硝酸盐负荷为 $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 能够实现硝酸盐的完全去除. 此外, N3 对低温具有良好的适应性. 在 C/N=8, 4°C 条件下, 36 h 内即可将 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸盐完全去除; 反硝化基因 *narG* 和 *nirS* 的表达与 30°C 下的表达量处于同一个数量级, 能够高效表达. 利用聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 和海藻酸钠 (sodium alginate, SA) 对 N3 进行固定化, 在 10°C 下考察固定化 N3 长期运行的稳定性. 结果表明, 固定化 N3 能够在 3 d 内将 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸盐完全去除, 且连续运行 54 d 后仍保持良好的稳定性和去除效果. 菌株 N3 具有的高效反硝化脱氮及低温适应性表明其在冬季硝酸盐水体脱氮方面具有良好的应用潜力.

关键词: 反硝化菌; 低温; 低 C/N; 固定化; 半连续实验

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)12-5612-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201801303

Characterization of a Newly Isolated Strain *Pseudomonas* sp. N3 for Denitrification at Low Temperature

LU Jun-ling, CHEN Hui-ping, XIAO Lin*

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Based on traditional microbiological methods, a novel denitrifier *Pseudomonas* sp. N3 with excellent denitrification capacity at low temperature was isolated and identified using phenotypic and phylogenetic analysis. Complete nitrate removal was achieved at C/N=8, that is, $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate. In addition, the isolate exhibited a great adaptability for low temperature and can reach 100% removal of $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate at a temperature as low as 4°C within 36 h. The denitrification genes of *narG* and *nirS* were highly expressed; they were at the same order of magnitude as those at 30°C . Semicontinuous experiments were conducted to test the stability of N3 immobilized with polyvinyl alcohol and sodium alginate at 10°C . The results show that immobilized N3 can remove $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nitrate completely within three days and maintains a strong mechanical performance and stability during the whole 54 days. The cold resistance and high denitrification ability of the strain N3 make it applicable to nitrogen wastewater treatment in winter.

Key words: denitrifier; low temperature; low C/N; immobilization; semicontinuous experiment

硝酸盐是污水处理厂尾水中氮的主要形式, $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的总氮含量能够满足城镇污水处理厂污染物排放的一级 A 标准, 但仍远超 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的地表水环境 V 类水标准. 硝酸盐的积累导致水体富营养化, 对环境造成极大的危害. 另外, 饮用水中硝酸盐含量过高还可能会引发癌症, 危害人体健康^[1]. 因此, 对低浓度硝酸盐水体的深度处理也日益受到重视.

生物脱氮是一种高效、经济、环保的脱氮方法, 在水体修复过程中经常利用反硝化细菌进行硝酸盐的脱除. 但是反硝化细菌活性受环境影响较大, 如碳源、硝酸盐浓度、pH 和温度等^[2]. 有研究表明, 低温能够抑制酶的活性, 减缓微生物的生长, 导致反硝化作用明显减弱^[3]. 反硝化细菌生长的最佳温度为 $25\sim 35^\circ\text{C}$, 而我国冬季气温通常低于 20°C , 低温成为冬季微生物反硝化脱氮的限制性因素^[4,5]. 目前关于反硝化细菌的研究主要集中于对

硝酸盐去除能力的提高^[6,7], 对低温限制下低浓度硝酸盐水体中反硝化作用的研究仍然较少. Huang 等^[2]报道 *Acinetobacter* sp. Y16 在实验室低温条件下能够取得良好的去除效果, 但没有进一步考察其在水体修复长期应用过程中的稳定性.

本研究分离得到 1 株低温反硝化菌——施氏假单胞菌, 命名为 N3. 在此基础上, 考察了初始硝酸盐浓度、温度, 特别是低温对 N3 反硝化性能的影响. 由于水体中 C/N 普遍较低, 碳源缺少对微生物脱氮产生抑制, 因此本研究分析了不同 C/N 对硝酸盐去除性能的影响.

收稿日期: 2018-01-31; 修订日期: 2018-05-16

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2017ZX07204002)

作者简介: 路俊玲 (1994~), 女, 硕士, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: boluolvest@163.com

* 通信作者, E-mail: xiaolin@nju.edu.cn

1 材料与方法

1.1 培养基

溴百里酚蓝培养基 (BTB, $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): L-天冬氨酸 10; KNO_3 10; KH_2PO_4 10; $\text{FeCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5; CaCl_2 1.5; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10. BTB(1% 乙醇溶液) 10 mL; pH 7.0 ~ 7.3.

反硝化培养基 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 柠檬酸钠 5; KH_2PO_4 1; K_2HPO_4 1; KNO_3 2; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2. pH 7.2 ~ 7.5.

亚硝酸盐培养基 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 柠檬酸钠 5; KH_2PO_4 1; K_2HPO_4 1; NaNO_2 (过滤除菌); $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2. pH 7.2 ~ 7.5.

1.2 菌株的分离和鉴定

将 10 mL 泥水混合物转移到 100 mL 反硝化培养基中, 15℃ 下连续富集培养. 将富集培养后的菌液系列稀释, 分别取 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 浓度下菌液 200 μL , 均匀涂布到 BTB 平板上, 反复分离纯化后挑取蓝色单菌落, 进行后续研究.

基于菌株的 16S rDNA 序列进行菌种鉴定. 菌体总 DNA 参照 EasyPure Genomic DNA Kit(北京全式金生物工程有限公司)的方法进行提取. 采用细菌通用引物 27f (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') 和 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 进行扩增, PCR 反应体系 (50 μL): 10 \times Buffer 5.0 μL , dNTPs

4.0 μL , 上游引物和下游引物各 1.0 μL , 重蒸水 38 μL , 离心混匀后加入 DNA 模板 0.5 μL , *Taq* 酶 0.5 μL . PCR 反应条件: ① 94℃ 预变性 5 min; ② 94℃ 变性 50 s; ③ 52℃ 退火 60 s; ④ 72℃ 延伸 90 s; ⑤ 72℃, 10 min; ② ~ ④ 步骤循环 30 次. PCR 产物纯化后交由上海生工生物有限公司进行测序.

将获得的细菌 16S rDNA 序列 (MF521886) 提交到 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 利用 Blast 进行比对, 并结合已有研究中得到验证的相关反硝化细菌序列, 进行同源性比较. 利用 MEGA7.0 软件进行多序列比对分析, 并用 Neighbor-Joining 法构建系统发育树.

1.3 理化指标分析方法

亚硝酸盐、硝酸盐、总氮的浓度分别按照 N-(1-萘基)-乙二胺光度法、紫外分光光度法、过硫酸钾氧化-紫外分光光度法测定, 仪器采用 UV 5200 紫外/可见分光光度计. 去除率按照以下公式计算:

$$R(\%) = 100 \times \frac{(c_i - c_t)}{c_i}$$

式中, c_i 代表初始氮浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), c_t 代表终态氮浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

1.4 *NarG*、*nirS* 和 *nosZ* 基因的扩增

反硝化功能基因 *narG*、*nirS* 和 *nosZ* 的扩增引物和条件见表 1, 得到的 PCR 产物用 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测.

表 1 PCR 扩增过程中的引物和程序设计

Table 1 Protocols and parameters for target genes used in PCR analysis

目的基因	引物	程序
<i>narG</i>	1960m2f: TAYGTSGGGCAGGARAAACTG 2050m2r: CGTAGAAGAAGCTGGTCTGTT	95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 15 s, 58℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 30 s
<i>nirS</i>	Cd3aF: AACGYSAAGGARACSGG R3cd: GASTTCGGRTGSGTCTTSAYGAA	95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 15 s, 57℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s
<i>nosZ</i>	1527F: CGCTGTTCHTCGACAGYCA 1773R: ATRTCGATCARCTGBTCGTT	95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 15 s, 54℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 30 s

1.5 环境条件对反硝化功能的影响

分别调节 C/N 为 4、8 和 12, 温度为 4、10、20、30、40、50 和 60℃, 初始硝酸盐浓度为 15、30、40、50、60、70、80、90 和 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 研究不同 C/N、温度、硝酸盐浓度对反硝化过程的影响. 每个实验均设 3 个平行, 同时设空白实验作对照. 除上述单因素影响实验外, 硝酸盐初始浓度为 15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应温度为 30℃, C/N = 8.

1.6 低温对反硝化功能及基因表达的影响

分别于 4、10 和 15℃ 下, 定时检测硝酸盐的去除情况. 在 4、10 和 30℃ 条件下, 分别在反应 36 h

时取一定量的菌液, 6 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清, 用适量无菌生理盐水重悬, 调节 D_{600} 为 1. 各自吸取 2 mL 菌液, 用 Trizol 法(北京全式金生物工程有限公司)提取基因组 RNA, 用 PrimeScriptTM RT reagent Kit(大连宝生物工程有限公司)进行反转录, 随后利用 SYBR Premix Ex *Taq* II(大连宝生物工程有限公司)进行定量 PCR, 对 *narG*、*nirS* 基因的表达活性进行检测. 实验中用到的引物和反应条件详见表 1.

1.7 低温下固定化反硝化菌的运行稳定性实验

用 10 mL 菌体含量为 0.2 g 的湿菌体与 10% 的

PVA 和 1% 的 SA 溶液混合均匀, 缓慢滴入 1% CaCl_2 饱和硼酸溶液中, 4°C 交联 24 h 进行固定化, 制备得到直径为 0.5 cm 左右的均匀小球^[8,9]. 将固定化后的 N3 投加到垂直流装置中, 采用人工配制

的低污染水(水质指标见表 2), 以 2~3 d 为一个进水周期, 在 10°C 下进行半连续实验. 初始 $\text{C/N} = 8$, 稳定运行 4 个周期后, C/N 调为 4. 每 12 h 定时取样, 检测硝酸盐的去除.

表 2 人工配制的低污染水基本水质指标

Table 2 Characteristics of artificial wastewater

水质指标	TN/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TP/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	NO_3^- -N/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	NO_2^- -N/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	NH_4^+ -N/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	COD/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	pH
数值	15.766	0.133	15	0.159	0.592	120	8.03

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离和鉴定

在 15°C 时, 采用反硝化培养基经连续富集培养、BTB 平板筛选, 得到 1 株反硝化细菌. 它能够 在 36 h 内将硝酸盐完全去除, 且没有亚硝酸盐的积累, 命名为 N3.

菌株 N3 在富集培养基平板上培养 24 h, 菌落呈圆形, 淡黄色, 半透明状, 边缘光滑. 细胞为短杆状, 大小为 $(1.5 \sim 2.0 \mu\text{m}) \times (0.8 \sim 1.5 \mu\text{m})$, 革兰氏染色呈阴性. 系统发育树如图 1 所示, 菌株 N3 与施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)在同一分支, 同源性达 99%, 可初步鉴定为施氏假单胞菌.

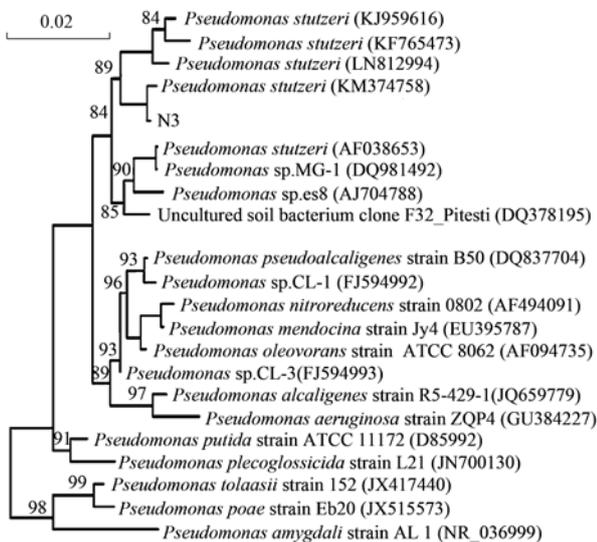


图 1 基于 N3 的 16S rDNA 序列和其他相关序列构建的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA gene sequence of strain N3 and other related sequences

为进一步验证 N3 的反硝化能力, 对 N3 进行了反硝化功能基因的检测. 由图 2 可见, 反硝化功能基因 *narG*、*nirS* 和 *nosZ* 均成功地从 N3 基因组中得到扩增.

NarG 基因编码膜结合硝酸盐还原酶, 能够在

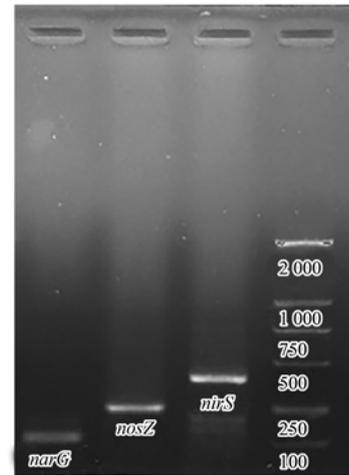


图 2 反硝化过程中功能基因 *narG*、*nirS* 及 *nosZ* 的扩增

Fig. 2 Gene amplification of *narG*, *nirS*, and *nosZ* genes during denitrification

缺氧条件下催化硝酸盐还原为亚硝酸盐, 是反硝化过程的第一步. 生成的亚硝酸盐进一步被还原为 NO , 这是反硝化过程中的限速步骤, 因此编码亚硝酸盐还原酶的基因 *nirS* 和 *nirK* 被认为是区分反硝化和其它氮还原过程的关键基因^[10]. Heylen 等^[11] 的研究表明, 相比 *nirK*, 由 *nirS* 编码的亚硝酸盐还原酶更容易接受电子, 进行反硝化. N3 中 *nirS* 的存在部分解释了菌株 N3 所具有的高效反硝化能力. 尤其重要的是 N3 中含有 *nosZ* 基因, 其编码的氧化亚氮还原酶能够催化 N_2O 转化为 N_2 , 这表明利用 N3 进行反硝化脱氮能够减少温室气体 N_2O 的释放.

2.2 不同环境因子对反硝化作用的影响

2.2.1 不同 C/N 对反硝化作用的影响

水体中的硝酸盐不仅能够通过反硝化作用从水体中脱除, 还可以通过微生物同化作用转化为自身生物量, 或者经异化还原作用重新以铵根离子的形式释放到水体中^[12]. 因此仅凭硝酸盐浓度的减少不能判断为反硝化脱氮, 还需与水体中总氮的去除效果进行比较. 如图 3, 在 C/N 为 8 和 12 时, N3

在 8 h 即可实现总氮的完全去除; 当 C/N = 4 时, 14 h 亦可实现 90% 的总氮去除率. 这与水体中硝酸盐的去除效果基本一致, 表明 N3 主要通过反硝化作用完成整个脱氮过程.

在微生物反硝化过程中, 碳源不仅为菌体生长提供能量, 也是硝酸盐还原的主要电子来源^[13]. 目前我国污水处理厂尾水中 C/N 普遍较低, 在对尾水进行进一步处理时, 碳源供应不足严重抑制了反硝化细菌的生长, 导致硝酸盐去除率不高^[14-16]. Taylor^[17]的研究发现 *Providencia rettgeri* YL 在 C/N = 10 时去除性能最佳, Chen 等^[18]也得出了相似的结论. 而本研究得到的菌株 N3 在 C/N = 8 时去除效果最佳, 在 8 h 内即可完全去除硝酸盐, 平均去除速率为 $1.87 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$. 当 C/N 进一步增加到 12 时, 去除率并没有太大变化, 甚至出现轻微下降, 这与 Joo 等^[19]的研究结果相一致, 可能是因为此时菌体生长所需的能量充足, 碳源成为非限制性因素^[20] (图 3). 即使在 C/N = 4 时, N3 在 14 h 内仍可达到 90% 的去除率, 能够满足低 C/N 水体中硝酸盐去除的需要. 在 2 ~ 8 h 存在亚硝酸盐积累的峰值, 但其积累量低于 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 并迅速降低. 这可能是因为反硝化过程中氧化还原电位高的硝酸盐对电子的竞争能力大于亚硝酸盐, 从而导致少量亚硝酸盐的积累, 与李卫芬等^[21]的研究结果相一致.

当以亚硝酸盐为唯一氮源时, 总氮与亚硝酸盐的去除基本一致, 表明 N3 可以利用亚硝酸盐为底物进行反硝化. 如图 4 所示, N3 在 C/N 为 8 和 12 时均能在 6 h 内将硝酸盐完全去除. 在 C/N = 4 时, N3 反硝化速率相对较慢, 但 8 h 后脱氮率仍能达到 95.54%. 总之, N3 可利用硝酸盐和亚硝酸盐为底物进行代谢, 这与牟东阳等^[22]的实验结果一致. 上述结果表明, N3 能在短时间内实现良好的反硝化效果, 对低 C/N 水体中硝酸盐的去除具有重要意义.

2.2.2 不同硝酸盐浓度对反硝化作用的影响

作为反硝化作用的底物, 硝酸盐对反硝化过程产生重要影响. Mulholland 等^[23]的研究表明, 随着硝酸盐浓度增加, 反硝化脱氮量也随之增加, 但是氮去除速率却呈现下降趋势. 在水体修复过程中, 经常出现水体受外界冲击, 硝酸盐负荷过高的情况, 因此有必要研究硝酸盐浓度对 N3 反硝化过程的影响.

如图 5 所示, 在硝酸盐浓度低于 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

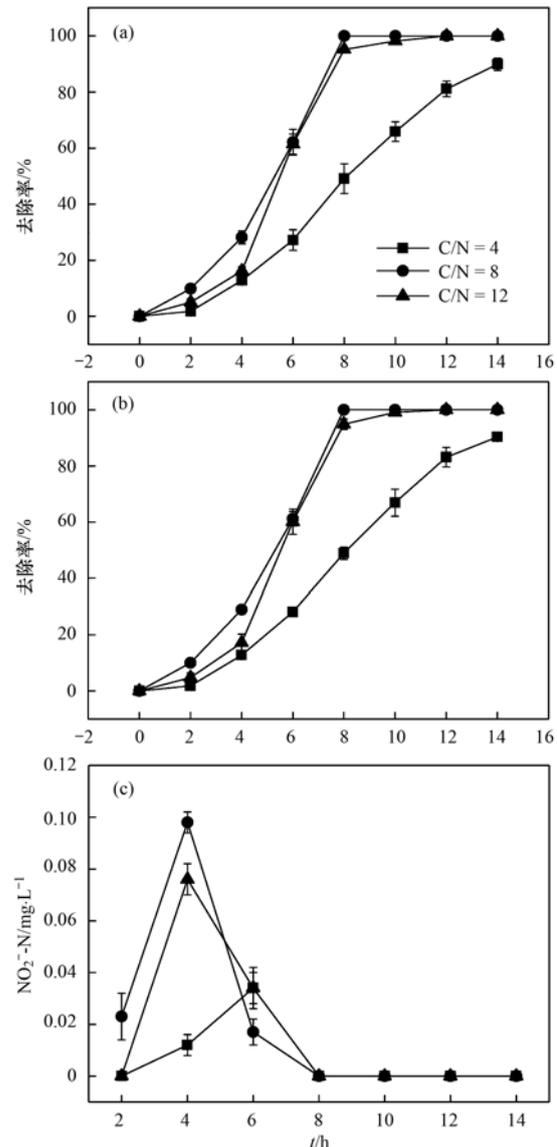


图 3 不同 C/N 下硝酸盐与总氮的去除及亚硝酸盐的积累
 Fig. 3 Nitrate removal efficiency, total nitrogen efficiency, and accumulation of nitrite at different C/N ratios

时, N3 能够在 48 h 内将硝酸盐完全去除. 随着硝酸盐浓度继续增加, 去除率略有下降. 可能是由于高渗透压对微生物的活性产生抑制作用. 另外, 消耗的碳源也随着硝酸盐浓度的增加而增加, 最终因电子供应不足导致硝酸盐不能被完全还原, 去除效果下降. 在硝酸盐浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, N3 仍然能够实现 80% 的脱氮率, 脱氮效果良好. 总体看来, 硝酸盐浓度低于 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, N3 受硝酸盐浓度影响不大, 能够满足水体中硝酸盐去除的需要.

2.2.3 不同温度对反硝化作用的影响

长期以来, 温度一直被认为是影响反硝化作用的重要因素. 在适宜的温度范围内, 温度越高, 微

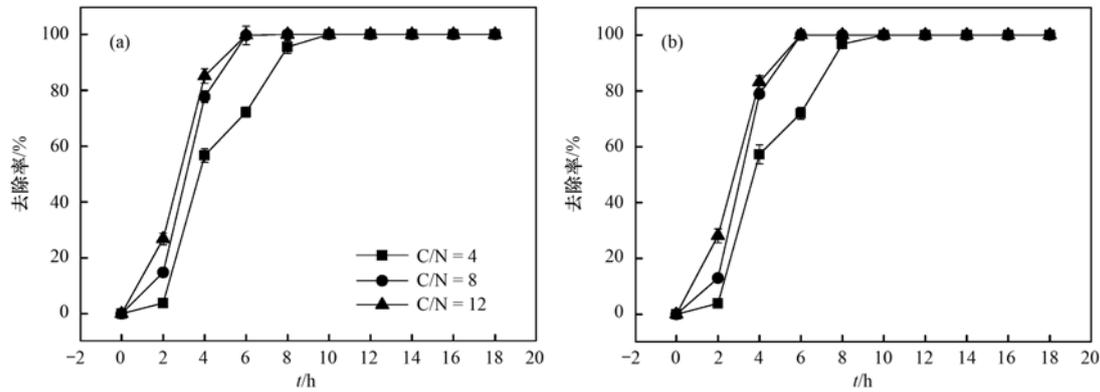


图 4 不同 C/N 下亚硝酸盐和总氮的去除率

Fig. 4 Nitrite removal efficiency and total nitrogen efficiency at different C/N ratios

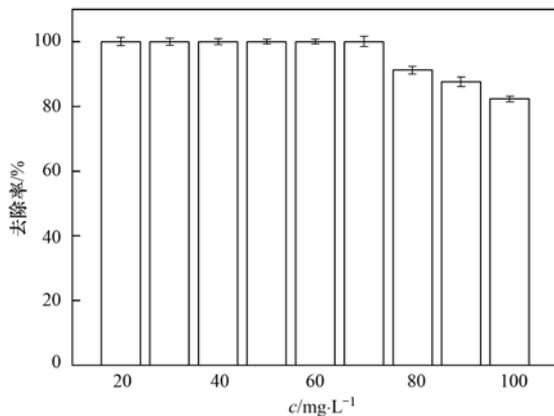


图 5 不同硝酸盐浓度下菌株 N3 在 48 h 后的硝酸盐去除效果

Fig. 5 Nitrate removal performance of the strain N3 with different initial concentrations after 48 h

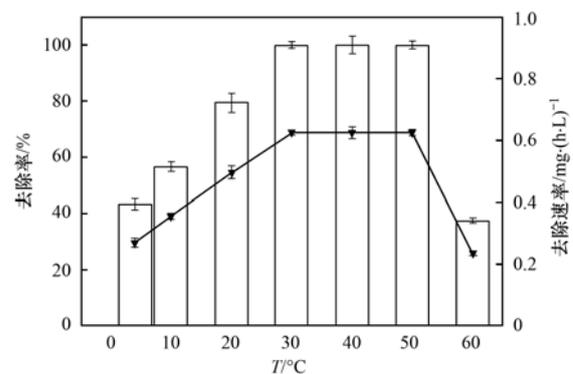


图 6 不同温度条件下的硝酸盐去除效果

Fig. 6 Nitrate removal performance of strain N3 at different temperatures after 24 h

生物生长越快,酶活性也越高.一般来说,温度低于 20℃时,对微生物表现出明显的抑制作用^[4,5].在 10℃时 *Pseudomonas stutzeri* YZN-001 和 *Bacillus* sp. strain YX-6 几乎不生长^[4,5],而 N3 在 4℃时仍然具有 40% 以上的去除率(图 6).且在 50℃高温时,仍然能够去除 80% 以上的硝酸盐.当温度继续升高到 60℃时,去除率只有 30%,可能是因为高温破坏酶的结构,抑制细胞正常的代谢活动,导致去除率下降^[24].在 4~30℃范围内,N3 的硝酸盐去除速率由 0.27 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 上升到 0.63 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$.当温度继续升高,速率保持不变,直至 60℃时,反应速率下降到 0.23 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$,这与其去除率的变化保持一致.李卫芬等^[21]筛选得到的反硝化细菌 F1 在温度低于 25℃或高于 35℃时菌株的生长即受到抑制.相比之下,N3 在 4~50℃范围内均能实现 40% 以上的去除率,具有更宽广的温度适应范围.尤其重要的是,N3 对低温的适应性为冬季水体中硝酸盐的去除提供了一个潜在解决方案.

2.3 N3 对低温的适应性

2.3.1 低温下 N3 的硝酸盐去除效果及反硝化功能基因的表达检测

低温对酶的活性有强烈的抑制作用,进而影响微生物的生长和代谢,导致反硝化细菌冬季脱氮效果不理想^[2].如图 7 所示,在刚开始的 20 h,N3 对低温有一个适应期,硝酸盐去除表现出延滞作用.随后去除率迅速增加,最终在 36 h 内实现对硝酸盐的完全去除.冬季人工湿地水力停留时间一般在 2~10 d^[25],良好的低温适应性使得 N3 成为冬季人工湿地中反硝化脱氮的候选菌株,具有良好的应用前景.

采用定量 PCR 技术对反硝化基因 *narG*、*nirS* 在 4、10 与 30℃条件下的表达进行检测,结果如图 8 所示.在各温度下,*narG* 的基因丰度在 $2.03 \times 10^8 \sim 2.99 \times 10^8 \text{ copies}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间,*nirS* 的基因含量在 $2.27 \times 10^8 \sim 2.83 \times 10^8 \text{ copies}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间,各温度之间相差不大.而对于基因表达来说,4℃和 10℃下,*narG* 的表达量在 $1.74 \times 10^7 \sim 1.95 \times 10^7 \text{ transcripts}\cdot\text{mL}^{-1}$ 菌液之间,*nirS* 的表达量在 $1.56 \times$

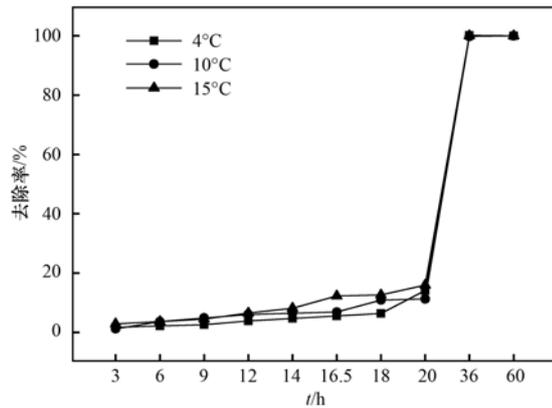


图7 N3在4、10及15°C下对硝酸盐的去除

Fig. 7 Nitrate removal performance of strain N3 at 4, 10, and 15°C

$10^7 \sim 1.74 \times 10^7$ transcripts $\cdot \text{mL}^{-1}$ 菌液之间, 为 30°C 下表达量的 1/3 ~ 1/2. 低温通过抑制反硝化基因的表达影响菌的生长和酶的活性, 进而导致反硝化速率的下降, 但是反硝化能力的高低还可能与 mRNA 的寿命及蛋白质的活性等有关, 需要进一步地研究进行验证^[26].

2.3.2 低温下固定化反硝化菌的运行稳定性实验

在实验室条件下, N3 具有良好的低温反硝化效果. 但是游离菌对不良环境抵抗力差, 容易流失, 在水体修复过程中具有一定的局限性. 固定化技术能有效提高微生物对不良条件的抗性, 防止菌种流失^[2]. 本研究采用 PVA 和 SA 对 N3 进行固定化, 进行低温半连续实验.

如图 9 所示, 在运行的前 4 个周期内, 单个周期内反硝化细菌 12 h 的脱氮率即达到 50%, 24 h 去除率大于 90%. 调整 C/N = 4 后, 初期受低浓度

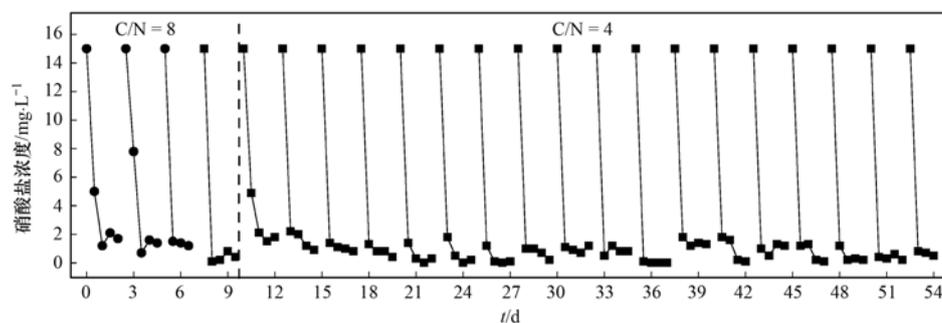


图9 固定化反硝化菌的半连续实验

Fig. 9 Semicontinuous culture experiment for immobilized denitrifiers

3 结论

(1) 从富营养化水体中分离得到 1 株低温反硝化细菌 N3, 革兰氏阴性菌. 菌株鉴定结果表明, N3 为施氏假单胞菌.

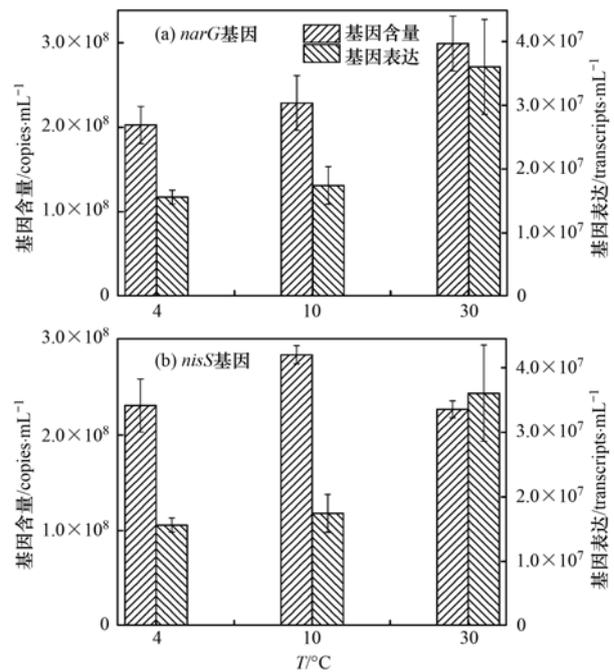


图8 4、10及30°C条件下 narG 及 nirS 的基因丰度及表达情况

Fig. 8 Gene abundance and gene expression of *narG* and *nirS* genes at 4, 10, and 30°C

碳源的限制, 硝酸盐去除效果较之前有所下降, 但仍能实现 90% 的去除率. 运行 15 d 后, 硝酸盐的去除达到稳定, 去除率始终保持在 95% 以上, 具有良好的稳定性. 另外, 经固定化 N3 处理后的水体始终清澈, 没有因反硝化产气而破裂, 也观察不到菌体外泄现象, N3 始终保持较好的活性. 在连续运行的 54 d 内固定化 N3 保持良好的机械强度及去除稳定性, 能够满足水体处理的需要.

(2) 菌株 N3 在 C/N = 8, 硝酸盐浓度低于 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 能实现硝酸盐的完全去除. N3 具有良好的低温适应性, 4°C 时可在 36 h 内实现对 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸盐的完全去除; 反硝化基因 *narG*、*nirS* 的表达与 30°C 处于同一个数量级. 在 10°C 下的低

温半连续实验中, 固定化 N3 在运行的 54 d 中无菌体外泄情况且去除效果稳定, 可作为低温低 C/N 下的反硝化候选菌株, 对于冬季水体中硝酸盐的去除具有良好的应用潜力。

参考文献:

- [1] Su L H, Li K, Zhang H B, *et al.* Electrochemical nitrate reduction by using a novel $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{Ti}$ cathode [J]. *Water Research*, 2017, **120**: 1-11.
- [2] Huang X F, Li W G, Zhang D Y, *et al.* Ammonium removal by a novel oligotrophic *Acinetobacter* sp. Y16 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification at low temperature [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **146**: 44-50.
- [3] Yao S, Ni J R, Ma T, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature by a newly isolated bacterium, *Acinetobacter* sp. HA2 [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **139**: 80-86.
- [4] Song Z F, An J, Fu G H, *et al.* Isolation and characterization of an aerobic denitrifying *Bacillus* sp. YX-6 from shrimp culture ponds [J]. *Aquaculture*, 2011, **319**(1-2): 188-193.
- [5] Zhang J B, Wu P X, Hao B, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001 [J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(21): 9866-9869.
- [6] Chen Q, Ni J R. Ammonium removal by *Agrobacterium* sp. LAD9 capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, **113**(5): 619-623.
- [7] Zhao B, He Y L, Hughes J, *et al.* Heterotrophic nitrogen removal by a newly isolated *Acinetobacter calcoaceticus* HNR [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**(14): 5194-5200.
- [8] Ali M, Oshiki M, Rathnayake L, *et al.* Rapid and successful start-up of anammox process by immobilizing the minimal quantity of biomass in PVA-SA gel beads [J]. *Water Research*, 2015, **79**: 147-157.
- [9] 王莹, 汪航, 曾日中, 等. 海藻酸钠-聚乙烯醇交联微球制备参数优化研究 [J]. *热带作物学报*, 2015, **36**(12): 2254-2259.
- Wang Y, Wang H, Zeng R Z, *et al.* Optimization of producing immobilized ball by sodium alginate and polyvinyl alcohol [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2015, **36**(12): 2254-2259.
- [10] 胡金星. 好氧反硝化细菌的分离鉴定及反硝化特性的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
- Hu J X. Isolation and identification of aerobic denitrifiers and study on denitrification characteristics [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012.
- [11] Heylen K, Gevers D, Vanparys B, *et al.* The incidence of *nirS* and *nirK* and their genetic heterogeneity in cultivated denitrifiers [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(11): 2012-2021.
- [12] 陶怡乐, 温东辉. 细菌硝酸盐异化还原成铵过程及其在河口生态系统中的潜在地位与影响 [J]. *微生物学通报*, 2016, **43**(1): 172-181.
- Tao Y L, Wen D H. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium; the potential and impacts in estuarine regions [J]. *Microbiology China*, 2016, **43**(1): 172-181.
- [13] 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 等. 1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性 [J]. *环境科学*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- Wang Z Y, Chen G Y, Jiang K, *et al.* Identification and denitrification characteristics of a psychrotolerant facultative basophilic aerobic denitrifier [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- [14] Hu X, Xie L, Shim H, *et al.* Biological nutrient removal in a full scale anoxic/anaerobic/aerobic/pre-anoxic-MBR plant for low C/N ratio municipal wastewater treatment [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2014, **22**(4): 447-454.
- [15] 全向春, 岑艳, 钱殷. 2 株好氧反硝化菌的筛选及其强化贫营养生物膜脱氮效果 [J]. *环境科学*, 2013, **34**(7): 2862-2868.
- Quan X C, Cen Y, Qian Y. Isolation, identification of two aerobic denitrifiers and bioaugmentation for enhancing denitrification of biofilm under oligotrophic conditions [J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(7): 2862-2868.
- [16] Gao F, Zhang H M, Yang F L, *et al.* Study of an innovative anaerobic (A)/oxic (O)/anaerobic (A) bioreactor based on denitrification - anammox technology treating low C/N municipal sewage [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, **232**: 65-73.
- [17] Taylor S M, He Y L, Zhao B, *et al.* Heterotrophic ammonium removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Providencia rettgeri* YL [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, **21**(10): 1336-1341.
- [18] Chen Q, Ni J R. Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by novel isolated bacteria [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, **38**(9): 1305-1310.
- [19] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4 [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, **100**(2): 184-191.
- [20] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 1 株海洋异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(2): 647-654.
- Sun Q H, Yu D S, Zhang P Y, *et al.* Identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain Isolated from marine environment [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(2): 647-654.
- [21] 李卫芬, 傅罗琴, 邓斌, 等. 1 株好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性研究 [J]. *环境科学*, 2011, **32**(8): 2403-2408.
- Li W F, Fu L Q, Deng B, *et al.* Identification and denitrification characteristics of an aerobic denitrifier [J]. *Environmental Science*, 2011, **32**(8): 2403-2408.
- [22] 牟东阳, 靳鹏飞, 彭永臻, 等. 1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(11): 4763-4773.
- Mu D Y, Jin P F, Peng Y Z, *et al.* Identification and nitrogen removal characteristics of the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacterial strain DK1 [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(11): 4763-4773.
- [23] Mulholland P J, Helton A M, Poole G C, *et al.* Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading [J]. *Nature*, 2008, **452**(7184): 202-205.
- [24] 郝敏娜. 一株高温好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性 [D]. 太原: 太原理工大学, 2014.
- Hao M N. Isolation and identification of a thermophilic aerobic

- denitrifier and its denitrification characteristics [D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2014.
- [25] Saeed T, Sun G Z. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media[J]. *Journal of Environmental Management*, 2012, **112**: 429-448.
- [26] 王晓君, 陈少华, 张兆基, 等. 利用氧化亚氮还原酶基因 (*nosZ*) 评价人工湿地系统中的反硝化菌[J]. *环境科学*, 2012, **33**(4): 1306-1312.
- Wang X J, Chen S H, Zhang Z J, *et al.* Denitrifying bacteria of constructed wetland system based on nitrous oxide reductase gene (*nosZ*) [J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(4): 1306-1312.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2018年11月1日,中国科技论文统计结果发布会在北京举行,会议公布了“百种中国杰出学术期刊”获奖名单。《环境科学》连续17次荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定。该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响。



CONTENTS

Patterns of Mortality from Air Pollutant Emissions in China's Coal-fired Power Plants	QIN Yu, ZHANG Qiang, LI Xin, <i>et al.</i> (5289)
Analysis of the Temporal and Spatial Variation of PM _{2.5} in China Based on the LUR Model	LIU Bing-jie, PENG Xiao-min, LI Ji-hong (5296)
Physicochemical Properties of the Aerosol Particles and Their Impacts on Secondary Aerosol Formation at the Background Site of the Yangtze River Delta HUANG Dan-dan, ZHOU Min, YU Chuan-guan, <i>et al.</i> (5308)
Analysis of Different Particle Sizes, Pollution Characteristics, and Sources of Atmospheric Aerosols During the Spring Dust Period in Beijing	YANG Yang, LI Xing-ru, CHEN Xi, <i>et al.</i> (5315)
Characteristics of Ambient VOCs at the Shuangliu Site in Chengdu, China, During Summer and Autumn	DENG Yuan-yuan, LI Jing, LI Ya-qi, <i>et al.</i> (5323)
Source Profiles and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Surface Coating of Aluminum Products in Foshan, China	LI Xia, SU Wei-jian, LI Bi-xia, <i>et al.</i> (5334)
Emission Inventory and Characteristics of Anthropogenic Air Pollutant Sources in the Sichuan Province	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, TAN Qin-wen, <i>et al.</i> (5344)
Characteristics of Particulate Matter Emissions from the Coking Process	WANG Yan-hui, ZHAO Liang, SUN Wen-qiang, <i>et al.</i> (5359)
Dry and Wet Deposition of Atmospheric Nitrogen in Small Catchments	WANG Huan-xiao, PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, <i>et al.</i> (5365)
Seasonal Changes of the Pathways of Nitrogen Export from an Agricultural Watershed in China	LI Wen-chao, LEI Qiu-liang, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (5375)
Dynamics and Runoff Losses of Nitrogen in Paddy Field Surface Water Under Combined Application of Biochar and Slow/Controlled-Release Fertilizer SI Lin-lin, ZHOU Jing-jie, WU Liang-huan, <i>et al.</i> (5383)
Indirect Nitrous Oxide Emissions from an Agricultural Headwater Stream During the Rainy Season in the Upper Reach of the Yangtze River	TIAN Lin-lin, WANG Zheng, ZHU Bo (5391)
Concentration, Flux, and Emission Factor of N ₂ O in Rivers with Different Nitrogen Pollution Features	WANG Miao, LI Ya-feng, LEI Kun, <i>et al.</i> (5400)
Identification of Nitrate Pollution Sources Through Various Isotopic Methods: A Case Study of the Huixian Wetland	PENG Cong, PAN Xiao-dong, JIAO You-jun, <i>et al.</i> (5410)
Temporal and Spatial Distribution of the Soil Water δD and δ ¹⁸ O in a Typical Karst Valley: A Case Study of the Zhongliang Mountains, Chongqing City WU Wei, JIANG Yong-jun, JIA Ya-nan, <i>et al.</i> (5418)
Hydrochemical Characteristics of Groundwater and the Origin in Alluvial-proluvial Fan of Qinhe River	LIU Jiang-tao, CAI Wu-tian, CAO Yue-ting, <i>et al.</i> (5428)
Impact of Maximum Precipitation in 2017 on the Runoff Component of Reclaimed Water-Intaking River	LIAO An-ran, SONG Xian-fang, ZHANG Ying-hua, <i>et al.</i> (5440)
Spectral Evolution Characteristics of DOM in Sediment Interstitial Water During the Formation Stage of Thermal Stratification in the Main Reservoir Area of the Zhoucun Reservoir ZHOU Shi-lei, ZHANG Yi-ran, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (5451)
Pollution Characteristic of Ni in Sediments in the Three Gorges Reservoir	ZHANG Wei-jie, YIN Shu-hua, XU Dong-yu, <i>et al.</i> (5464)
Migration and Transformation of Mercury at Sediment-Water Interface of the Dahong Lake Reservoir in the Simian Mountains	GUO Pan, SUN Tao, YANG Guang, <i>et al.</i> (5473)
Effects of Wetland Types on Distribution of Soil Methylmercury Based on the Region of Nanweng River in the Greater Xing'an Mountains	ZHOU Xin-quan, LIU Yu-rong, LI Jing, <i>et al.</i> (5480)
Simulation of the Migration and Release Characteristics of Organophosphate Esters in Fluctuation Zone Soil of the Three Gorges Reservoir During Flooding YANG Ting, HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, <i>et al.</i> (5487)
Spatial Distribution of Perfluoroalkyl Acids and Transformation of Their Precursors in River Water Samples and Effluents of Wastewater Treatment Plants in a Typical Tourism City WANG Shi-liang, SUN Jian-shu, YANG Yue-wei, <i>et al.</i> (5494)
Purification Efficiency and Microbial Characteristics of Four Biofilters Operated Under Different Conditions	JIANG Xiao-liang, LI Meng, ZHANG Shao-hui, <i>et al.</i> (5503)
Effects of Manganese on the Growth and Fluorescence Induction Kinetics of <i>Conticribra weisflogii</i>	WANG Mu-lan, JIANG Yue-lu (5514)
Distribution and Factors Affecting <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> in Guangdong Reservoirs	LEI Min-ting, PENG Liang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (5523)
Removal of Humic Acid from Water by Magnetic Chitosan-Grafted Polyacrylamide	YOU Wen, LIU Hai-cheng, CAO Jia-wei, <i>et al.</i> (5532)
Ozone-Biological Activated Carbon for Advanced Removal of Typical Persistent Organic Pollutants from Micro-Polluted Source Water in the Yangtze Delta Region LAN Ya-qiong, LIU Rui, MA Zheng-jie, <i>et al.</i> (5541)
Color and Nitrogen Removal from Synthetic Dye Wastewater in an Integrated Hydrolysis/Acidification and Anoxic/Aerobic Process	GU Meng-qi, YIN Qi-dong, LIU Ai-ke, <i>et al.</i> (5550)
Removal Characteristics of High Concentrations of Perchlorate Using a "Heterotrophic Sulfur Autotrophic" Combination Process	LIU Ying-nan, TAO Hua-qiang, SONG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (5558)
Rapid Start-up of a Nitrite-Dependent Methane Anaerobic Oxidation Reaction Under Static Pressure Conditions	WANG Yi-nan, HU Zhen, RU Dong-yun, <i>et al.</i> (5565)
Optimization of the Flow Distribution Ratio and Mechanism of Nitrogen Removal in a Multi-level AO Coupled Flow Biochemical Process	WANG Fan, LI Jun, BIAN De-jun, <i>et al.</i> (5572)
High-rate Nitrogen Removal in a Two-stage Partial Nitrification-ANAMMOX Process Under Mainstream Conditions	LIU Wen-ru, YANG Dian-hai, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (5580)
Effects of Different Substrate Concentrations on the Short-term Storage of ANAMMOX Bacteria	GAO Xue-jian, ZHANG Jie, LI Dong, <i>et al.</i> (5587)
Optimization of the Mainstream Anaerobic Ammonia Oxidation Process and Its Changes of the Microbial Community	FU Kun-ming, FU Chao, LI Hui, <i>et al.</i> (5596)
Granular Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Sludge During the Recovery Process	CHEN Fang-min, GU Cheng-wei, HU Yu-ting, <i>et al.</i> (5605)
Characterization of a Newly Isolated Strain <i>Pseudomonas</i> sp. N3 for Denitrification at Low Temperature	LU Jun-ling, CHEN Hui-ping, XIAO Lin (5612)
Heavy Metal Pollution and Potential Ecological Risk of Soil from Reclaimed Industrial Sites and Surrounding River Sediments	WU Jian, WANG Min, ZHANG Hui-peng, <i>et al.</i> (5620)
Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals for Different Types of Land Use and Evaluation of Human Health	LI Chun-fang, CAO Jian-fei, LÜ Jian-shu, <i>et al.</i> (5628)
Soil Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of As at a Large-scale Arsenic Slag-contaminated Site	LIU Geng, SHI Ying, TIAN Hai-jin, <i>et al.</i> (5639)
Relationship Between the Bacterial Abundance and Production with Environmental Factors in a Subtropical Karst Reservoir	XIN Sheng-lin, LIANG Yue-ming, PENG Wen-jie, <i>et al.</i> (5647)
Structure Analysis of Arbuscular Mycorrhizal in Roots from Different Shrubs in Karst Regions	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (5657)
Effects of Stimulated Nitrogen Deposition on the Bacterial Community Structure of Semiarid Temperate Grassland	LI Zong-ming, SHEN Ju-pei, ZHANG Li-mei, <i>et al.</i> (5665)
Effect of Phosphorus Addition on the Abundance of Autotrophic CO ₂ -Fixation Microorganisms in Rhizospheric Soil from a Phosphorus-Limited Paddy Field BAI Jing, LI Yi-fei, LIU Shou-long, <i>et al.</i> (5672)
Effects of Varying Long-term Fertilization on Organic Carbon Mineralization and Priming Effect of Paddy Soil	MA Xin, WEI Liang, TANG Mei-liang, <i>et al.</i> (5680)
Relationship Between the Vegetation Community and Soil Nutrient and Enzyme Activity During the Restoration of Abandoned Land in the Loess Hilly Region QIAO Wen-jing, DAI Yin-yue, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (5687)
Degradation of Pentachlorophenol by Fulvic Acid in a Municipal Solid Waste Landfill	LIU Si-jia, HE Xiao-song, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (5699)
Effect of CO ₂ Doubling and Different Plant Growth Stages on Rice Carbon, Nitrogen, and Phosphorus and Their Stoichiometric Ratios TANG Mei-ling, XIAO Mou-liang, YUAN Hong-zhao, <i>et al.</i> (5708)
Assessment of Medical Waste Disposal Technologies Based on the AHP	XU Xiao-fang, TAN Quan-yin, LIU Li-li, <i>et al.</i> (5717)
Livestock and Poultry Faeces Nitrogen Loading Rate and Its Potential Return to Farmland in China	LIU Xiao-yong, WANG Xiu-bin, LI Shu-tian (5723)