

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社



2020

Vol.41 No.7
第41卷 第7期

目次

中国钢铁行业大气环境影响	汤铃, 薛晓达, 伯鑫, 贾敏, 郭静, 田军, 黄满堂, 崔维庚, 王彤, 李时蓓, 敬红, 甄瑞卿, 孙露, 成国庆 (2981)
华北地区大气细颗粒物(PM _{2.5})年际变化及其对土地利用/覆被变化的响应	杨伟, 姜晓丽 (2995)
郑州市民运会期间大气PM _{2.5} 改善效果评估	王申博, 姜亚敏, 徐艺斐, 袁明浩, 苏方成, 张瑞芹 (3004)
成都夏冬季PM _{2.5} 中水溶性无机离子污染特征	冯炎鹏, 张军科, 黄小娟, 刘琴, 张巍, 张建强 (3012)
川南自贡市大气颗粒物污染特征及传输路径与潜在源分析	雷雨, 张小玲, 康平, 王浩霖, 青泉, 欧奕含, 卢宁生, 邓中慈 (3021)
四川省典型行业挥发性有机物源成分谱	徐晨曦, 陈军辉, 韩丽, 王继钦, 王波 (3031)
成都市工业挥发性有机物排源成分谱	周子航, 邓也, 周小玲, 吴柯颖, 谭钦文, 尹代娟, 宋丹林, 陈秋宇, 曾文斌 (3042)
郑州市典型工业企业VOCs排放特征及风险评估	齐一谨, 倪经纬, 赵东旭, 杨艺, 韩丽岩, 李博伟 (3056)
阳泉市区夏季挥发性有机物污染特征、来源解析及其环境影响	牛月圆, 刘倬诚, 李如梅, 高千卓, 邓萌杰, 闫雨龙, 胡冬梅, 吴婧, 彭林 (3066)
典型光化学污染期间杭州大气挥发性有机物污染特征及反应活性	景盛翱, 叶旭红, 高雅琴, 彭亚荣, 李英杰, 王倩, 沈建东, 王红丽 (3076)
华北地区典型重工业城市夏季近地面O ₃ 污染特征及敏感性	欧盛菊, 魏巍, 王晓琦, 姚森, 周志博, 关攀博, 段文娇, 姚诗音 (3085)
稳定同位素模型解析大气氨来源的参数敏感性	顾梦娜, 潘月鹏, 何月欣, 田世丽, 王彦君, 吕雪梅, 倪雪, 孙杰, 吴电明, 方运霞 (3095)
苏州市大气中汞的形态分布特征及来源分析	卢仁杰, 吴也正, 张晓婕, 沈莹, 吴福全, 薛媛媛, 邹强, 麻春艳 (3102)
轻型汽油车稳态工况下的尾气排放特征	谢岩, 廖松地, 朱曼妮, 王怡然, 王日超, 张立航, 余飞, 钟庄敏, 白莉, 黄江荣, 刘俊文, 郑君瑜 (3112)
非超低与超低排放煤电机组启动过程NO _x 排放特征对比分析	李辉, 朱法华, 孙雪丽, 王宗爽, 王圣, 裴杰, 谭玉菲, 薛峰, 郭敏, 郑桂博 (3121)
邢台市区道路可悬浮灰尘重金属污染特征及来源识别	宋怡, 卢新卫, 周潇, 葛子赫 (3130)
叶片微观结构变化对其颗粒物滞纳能力的影响	魏文俊, 王兵, 牛香 (3136)
关中平原降水氢氧稳定同位素特征及其水汽来源	赵明华, 陆彦玮, Rachana Heng, 司炳成 (3148)
岩溶流域不同水体硝酸盐的来源解析	田永著, 韩志伟, 赵然, 李耕, 曾祥颖, 黄家琰 (3157)
木沥河流域氮素污染及其污染源解析	齐冉, 徐菲菲, 杨帆, 颜昌宙 (3165)
辽河口沉积物环境要素时空动态及影响因素分析	齐玥, 孙永光, 马恭博, 吴楠, 付元宾 (3175)
鄱阳湖多尺度流域磷源输送特征及其生态效应	王朔月, 高扬, 陆瑶, 贾琰杰, 李兆喜, 马明真, 温学发 (3186)
象山港流域入湾河流水体中重金属风险评价及其来源解析	王磊, 汪文东, 刘懂, 李刚, 于红梅, 黄沙, 徐耀阳 (3194)
乐安河河流水体典型全氟化合物的浓度及其前体物的污染贡献	张慧, 王世亮, 余杨 (3204)
连云港海州湾海域表层水体和沉积物中微塑料的分布特征	李征, 高春梅, 杨金龙, 吴立珍, 张硕, 刘艳华, 靳迪迪 (3212)
茅洲河流域民用井中耐药基因的分布特征与健康风险	吴黛灵, 邹海燕, 何璐茜, 高方舟, 应光国, 何良英 (3222)
金盆水库沉积物铁锰释放规律	路林超, 黄廷林, 李楠, 齐允之, 张晗, 王晨旭, 司凡 (3231)
城市湖泊沉积物微塑料污染特征	王璇, 牛司平, 宋小龙, 饶竹, 战楠 (3240)
西藏尼洋河沉积物中微生物群落结构特征分析	刘晓丹, 黄毅, 王永花, 汪贝贝, 吴兵, 陆光华 (3249)
海水中的红毒素与营养盐对微藻的复合影响	王娜, 赵卫红, 苗辉 (3257)
梯级电站作用下牡丹江底栖动物沿程变化规律	温佳琦, 王皓冉, 陈永灿, 刘昭伟 (3266)
宁波市典型城市下垫面雨水径流污染特征解析	徐宇婕, 龚玥敏, 毕军鹏, 王洋, 程军蕊, 王侃 (3275)
分层型水库藻类垂直演替的水质与细菌种群调控	闫苗苗, 陈胜男, 黄廷林, 贾克宇, 刘凯文, 苗雨甜, 宗容容 (3285)
长距离供水系统中消毒副产物分布特征及二次加氯的影响	毕薇薇, 叶胜, 于建全, 杨玉龙, 陈晨, 李青松, 马晓雁 (3297)
供水管网终端消毒副产物分布特征及预测模型	刘俊萍, 陈镜吉, 宋亚丽, 杨玉龙, 李青松, 马晓雁 (3307)
碱和磁复合改性小麦秸秆生物炭对水体中镉的吸附特性及机制	崔志文, 任艳芳, 王伟, 张黎明, 张陆云, 王曦玥, 何俊瑜 (3315)
弱磁场强化氧化石墨烯负载纳米零价铁(GO-nFe ⁰ /WMF)对水中Cr(VI)的去除特性及机制	计盟, 鲍建国, 朱晓伟, 杜江坤, 郑汉 (3326)
一硫代肟在针铁矿上的吸附及影响因素	廖丹雪, 单慧娟, 张进贤, 彭三曦, 黄健, 陈辉, 赵超然, 曾春芽 (3337)
生物滤池快速启动ANAMMOX运行策略及菌群特征	王晓瞳, 杨宏, 苏杨, 刘旭妍 (3345)
低碳源条件下供氧模式对活性污泥系统脱氮性能的影响	张欣瑞, 池玉蕾, 王倩, 金鑫, 石炬, 金鹏康 (3356)
羟胺对厌氧氨氧化污泥群落的影响	邢崇阳, 范禹辰, 陈璇, 郭劲松, 申渝, 晏楠, 方芳, 陈猷鹏 (3365)
低温下丝状菌膨胀污泥的微生物多样性	高春娣, 张娜, 韩微, 任浩, 李悦, 侯春艳, 王传德, 彭永臻 (3373)
我国剩余污泥厌氧消化的主要影响因素及强化	董滨, 高君, 陈思思, 杨殿海, 戴晓虎 (3384)
城镇河流CO ₂ 及CH ₄ 排放与市政排水管网污水输入的关联影响	李磊, 陈浩, 朱奔, 王宇晖, 聂云汉, 赵昕, 贾其隆, 叶建峰 (3392)
控释尿素对黄河故道沙性潮土N ₂ O排放的影响	姜右锦, 袁俊吉, 丁维新, 刘阳, 张松林 (3402)
我国典型露地蔬菜生产中的温室气体排放	张芬, 程泰鸿, 陈新平, 王孝忠 (3410)
不同母质发育土壤Cd环境行为对水分管理模式的响应差异	黄敬, 李欣阳, 文沙, 蒋凯, 龙坚, 彭佩钦, 侯红波 (3418)
锰基改性生物炭对弱碱性Cd污染土壤团聚体结构以及Cd含量特征的影响	孙彤, 付宇童, 李可, 徐应明, 孙约兵 (3426)
钝化与叶面阻控对不同基因型红菜苔镉累积的影响	曹坤坤, 李成成, 胡学玉, 郭晓, 黄洋 (3434)
叶面喷施2,3-二巯基丁二酸对水稻幼苗镉吸收转运及抗氧化系统的影响	杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 黄益宗, 程六龙, 张长波 (3441)
《环境科学》征订启事 (3011)	《环境科学》征稿简则 (3084)
信息 (3174, 3185, 3391)	

羟胺对厌氧氨氧化污泥群落的影响

邢崇阳^{1,2}, 范禹辰³, 陈璇³, 郭劲松³, 申渝⁴, 晏鹏³, 方芳³, 陈猷鹏^{1,2,3*}

(1. 中国科学院重庆绿色智能技术研究院, 水库水环境重点实验室, 重庆 400714; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045; 4. 重庆工商大学国家智能制造服务国际科技合作基地, 重庆 400067)

摘要: 目前, 由于厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)过程具有高效率、低能耗和污泥量少的优点, 在污水除氮方面具有广阔的应用前景. 羟胺既是厌氧氨氧化代谢的中间产物, 同时也是一种抑制剂, 但是目前关于厌氧氨氧化细菌颗粒如何应对羟胺的压力还没有很好的解释. 通过羟胺批次添加实验, 发现在投加不同浓度的羟胺情况下(40 ~ 80 mg·L⁻¹), 厌氧氨氧化的反应活性受到了抑制作用, 但是无法判断厌氧氨氧化细菌对羟胺的耐受阈值. 然后基于实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)技术检测了不同反应器内肼氧化酶(HZO)的 mRNA 的表达量, 发现 HZO 酶的表达量随着羟胺浓度的增加出现先升高后降低的趋势, 由此本研究推测相对于 3.12 g·L⁻¹ 的厌氧氨氧化颗粒污泥, 其承受的羟胺浓度(以 N 计)阈值介于 60 ~ 70 mg·L⁻¹. 同时利用 16S rRNA 高通量测序的方法对反应器内的颗粒污泥微生物结构与功能进行分析, 发现投加适量的羟胺(50 mg·L⁻¹)有助于增强颗粒污泥中细菌的细胞运动性, 促进厌氧氨氧化细菌的组成, 提供一个更佳的生态平衡.

关键词: 厌氧氨氧化(ANAMMOX); 氮; 羟胺; 群落; 肼氧化酶(HZO); 高通量测序

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)07-3365-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201911244

Effect of Hydroxylamine on Community of ANAMMOX Sludge

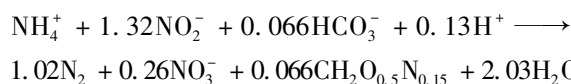
XING Chong-yang^{1,2}, FAN Yu-chen³, CHEN Xuan³, GUO Jin-song³, SHEN Yu⁴, YAN Peng³, FANG Fang³, CHEN You-peng^{1,2,3*}

(1. Key Laboratory of Reservoir Aquatic Environment, Chongqing Institute of Green and Intelligence Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environments (Ministry of Education), Chongqing University, Chongqing 400045, China; 4. National Base of International Science and Technology Cooperation for Intelligent Manufacturing Service, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: At present, the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process has the advantages of high efficiency, low energy consumption, and low sludge quantity, and it therefore has broad application prospects in sewage nitrogen removal. Hydroxylamine is not only an intermediate product of ANAMMOX metabolism but also an inhibitor. However, the effect of hydroxylamine on the activity of ANAMMOX is not clear. Therefore, we investigated the ANAMMOX activity under the condition of adding different concentrations of hydroxylamine (40-80 mg·L⁻¹) through a hydroxylamine batch experiment. It was found that hydroxylamine can inhibit ANAMMOX activity. However, it was impossible to determine the threshold of ANAMMOX bacteria to hydroxylamine. Next, the mRNA levels of hydrazine oxidase (HZO) in different reactors were detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), and it was found that the expression levels of HZO peak and then decrease with an increase of hydroxylamine concentration. It was suggested that the tolerated hydroxylamine concentration was within 60-70 mg·L⁻¹ for 3.12 g·L⁻¹ ANAMMOX granular sludge. Moreover, a 16S rRNA high-throughput sequencing method was used to analyze the structure and function of ANAMMOX granules in microbial communities in the reactor. It was found that the addition of an appropriate concentration of hydroxylamine (50 mg·L⁻¹) helped to enhance the cellular motility of bacteria and promoted the composition of ANAMMOX bacteria, providing a better ecological balance.

Key words: anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX); nitrogen; hydroxylamine; community; hydrazine oxidase (HZO); high-throughput sequencing

据估计, 每年海洋中固定氮损失的 50% 左右可归因于厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)的作用^[1]. 厌氧氨氧化作用是由两种不同氮化合物, 亚硝酸盐(NO₂⁻)和氨(NH₄⁺)结合生成氮气(N₂)的过程^[2]. 在厌氧条件下, 厌氧氨氧化细菌以亚硝酸盐为电子受体, 直接将铵态氮转化为氮气, 如下式所示^[3].



目前有一种公认的氨氧化细菌的代谢途径: 首

收稿日期: 2019-11-26; 修订日期: 2020-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(21876016); 重庆市科学技术项目(cstc2018jcyjAX0366)

作者简介: 邢崇阳(1992~), 男, 博士, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: 1628200263@qq.com

* 通信作者, E-mail: ypcchen@cigit.ac.cn

先,由亚硝酸氧化还原酶(NIR)催化亚硝酸还原为一氧化氮(NO).然后一氧化氮与氨结合生成肼,这一步反应由肼合成酶(hydrazine synthetase,HZS)催化.而通常认为 HZS 酶催化此反应由两步组成:首先,由 HZS 酶的 γ 亚基将一氧化氮还原为羟胺(NH_2OH),然后由 HZS 酶的 α 亚基进一步将羟胺和氨合成肼.最后由肼氧化酶(hydrazine oxidase,HZO)将肼氧化为氮气^[4].

根据目前的推测,羟胺是厌氧氨氧化细菌的基本代谢底物,但同时羟胺也是一种抑制剂,厌氧氨氧化细菌对包括羟胺在内的多种抑制化合物高度敏感^[5,6].厌氧氨氧化细菌对羟胺毒性的敏感性及其生长速度的缓慢可能导致厌氧氨氧化过程在羟胺休克后失效.而目前关于厌氧氨氧化细菌颗粒如何应对羟胺的压力还没有很好的解释.通过测定特定底物(如氨和亚硝酸盐)的去除率,可以研究羟胺对厌氧氨氧化活性的影响.有研究通过实验和数学建模研究了羟胺对厌氧氨氧化细菌肼代谢的影响^[7].结果表明,在无亚硝酸根的情况下,羟胺发生了生物歧化反应,生成了二硝基气体和铵根.并且发现随着羟胺含量的增加,肼的浓度会达到峰值,然后下降,同时会产生少量的氨.结果表明,羟胺能抑制肼转变为氮气,从而抑制厌氧氨氧化的活性^[6].然而,其他研究表明,添加微量羟胺促进了 SBR 体系中 NO_2^- 抑制的恢复^[8,9],并且 NH_2OH 能够刺激重要中间物质 N_2H_4 的产生^[10],说明羟胺也可以作为厌氧氨氧化反应器运行的促进剂.因此,为了准确、灵敏和特异地评价羟胺对厌氧氨氧化活性的影响,迫切需要进行进一步地研究.

目前羟胺的添加被用于一些厌氧氨氧化细菌富集实验研究^[11~15],由于在厌氧氨氧化细菌中添加羟胺产生肼是独特的,因此,羟胺添加后肼的测量可以作为厌氧氨氧化细菌活性的“基准”^[16].但由于肼是一种有毒易爆物质,对于实验操作会提出很高的要求,增加许多不必要的实验麻烦.同时外界扰动会导致细菌新陈代谢的不平衡,从而导致中间产物浓度的可测量变化,因此需要研究更为有效的方法检测羟胺加入后对厌氧氨氧化细菌的影响.由于 mRNA 水平对环境条件变化的快速响应,基于 mRNA 的技术已被用于监测生物量活动^[17].大多数研究表明,生物量活动与相关的 mRNA 水平呈正相关^[18,19].虽然厌氧氨氧化应对羟胺休克反应的活性在一些研究中得到了评估,但很少有研究全面评估关键功能基因在转录水平对羟胺休克反应的影响,特别是 HZO 酶 mRNA 转录产物的丰度与厌氧氨氧化活性之间的关系尚未得到很好地研究.同时由于厌氧氨氧化

细菌颗粒在实验室条件下难以进行纯化培养,纯厌氧氨氧化细菌培养物的缺乏使得对其代谢相关的研究特别具有挑战性.目前多数研究主要用了多种互补的方法来阐明羟胺参与的相关的新陈代谢^[6,8,20~24],而羟胺对于厌氧氨氧化微生物群落结构的影响目前研究得比较少.

因此本研究采用羟胺添加批次实验,利用逆转录酶定量聚合酶链反应(RT-qPCR)的方法,定量测定了厌氧氨氧化细菌主要代谢途径中 HZO 酶的基因转录水平变化,从而确定 NH_2OH 冲击对厌氧氨氧化性能的影响.另外,基于 16S rRNA 高通量测序的方法,探究了在短期羟胺暴露实验中,厌氧氨氧化细菌群落应对羟胺压力的调控机制.通过本研究,可以更详细和深入地了解羟胺在厌氧氨氧化反应中的作用.

1 材料与方法

1.1 羟胺添加批次实验

本研究设置了一系列不同浓度 NH_2OH ,来观察羟胺对厌氧氨氧化活性的影响.采用含有成熟厌氧氨氧化细菌的颗粒污泥进行 3 次分批实验,颗粒污泥挥发性悬浮固体(volatile suspended solid,VSS)浓度为 $3.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.实验前,用去离子水冲洗生物载体 4~5 次.采用文献报道的人工合成废水来培养厌氧氨氧化细菌^[25],其中氨氮与亚硝酸盐比例为 1.58:1.在反应开始前,用氮气或 Ar 冲洗间歇反应器的液相约 15 min,以消除液相和气相中的氧气,也有利于厌氧氨氧化细菌的驯化.然后用丁基橡胶塞子封住间歇反应器,在 $95 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 左右的摇浴中搅拌,摇浴温度保持在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$.利用 HCO_3^- 缓冲系统,使反应器中溶液 pH 值始终保持在 8.0~8.5.并按照以前报道的方法^[9],每 1 h 监测一次氨氮和亚硝酸氮的浓度.

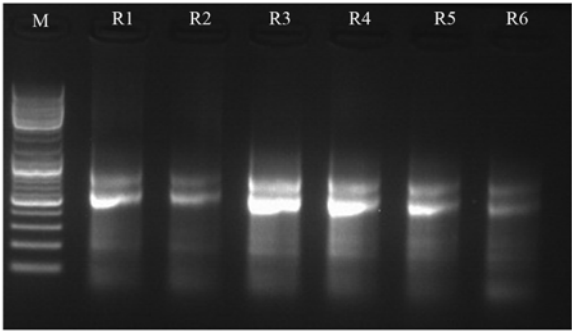
1.2 RNA 提取和实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)技术

采用 TRIzol 试剂(天根,中国)从厌氧氨氧化细菌中分离得到总 RNA.为了进行 RT-qPCR 分析,根据试剂盒的说明,使用逆转录酶(Thermo Scientific™EP0733)从经过 DNaseI 处理的总 RNA 中合成第一链 cDNAs. RT-qPCR 扩增在 96 孔板上用 Biorad IQ5 实时 PCR 系统进行.每个反应包含 $10 \mu\text{L}$ SYBR Green Master Mix 试剂(Takara, Japan)、 $1.0 \mu\text{L}$ cDNA 样品和 $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 基因特异性引物(见表 1),最终体积为 $20 \mu\text{L}$.以厌氧氨氧化细菌 16S rRNA 基因为内参基因.相对表达量的测定按照文献^[26]报道的方法.根据批次实

验安排,提取总 RNA 的样品共分为 6 个样品,分别为反应器 1(R1)、反应器 2(R2)、反应器 3(R3)、反应器 4(R4)、反应器 5(R5)和反应器 6(R6),在不同羟胺浓度(0、40、50、60、70 和 80 mg·L⁻¹,以 N 计)刺激下,厌氧氨氧化细菌的总 RNA,其中反应器 R1 为对照组,其他为实验组,每组进行 3 次重复.并分别检测其纯度和浓度(图1和表2),

表 1 RT-qPCR 所用的特异性引物及核苷酸序列

Table 1 Specific primers and nucleotide sequences for RT-qPCR		
基因名称	引物名称	引物序列
16S rRNA	Amx368FP	TTCGCAATGCCCCGAAAGG
	Amx820RP	AAAACCCCTCTACTTAGTGCCC
HZO	HZO-FP-1	TAGGCATTCAGGCAGTCATCAT
	HZO-RP-1	CATCGCTGACTCTTGTAGACCAC



M 为 DNA Marker,其大小由下到上依次为 100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000、1 200、1 500、2 000、2 500、3 000、3 500、4 000、5 000、6 000、8 000、10 000 bp,其只为检测基因组污染,并不代表 RNA 条带大小

图 1 细菌总 RNA 提取电泳结果

Fig. 1 Bacteria total RNA electrophoresis results

表 2 细菌总 RNA 浓度和吸光度值

Table 2 Bacteria total RNA concentrations and optical density (OD) values					
样品编号	样本类型	260 nm 吸光度值	280 nm 吸光度值	A_{260}/A_{280}	浓度/ng·μL ⁻¹
R1	RNA	4.904	2.369	2.07	196.14
R2	RNA	2.806	1.424	1.97	112.25
R3	RNA	6.065	2.921	2.08	242.59
R4	RNA	5.206	2.518	2.07	208.25
R5	RNA	4.139	2.016	2.05	165.55
R6	RNA	2.81	1.375	2.04	112.42

均符合实验要求.

1.3 16S rRNA 高通量测序方法

反应器运行结束后,将实验用的厌氧氨氧化颗粒污泥进行研磨处理,添加 PBS 缓冲液,然后于 -80℃ 冰箱低温保存.采用生工 DNA 分离试剂盒进行 DNA 提取,使用生工 DNA 试剂盒对原始 DNA 进行定量,然后扩增 DNA 样本,引物序列使用靶向 16S rRNA 的 V3~V4 高变区,后续通过干冰运输送至上海生工生物公司进行高通量测序分析,将测序后采集的数据采用 RDP classifier 贝叶斯算法对相似水平 97% 的 OTU 代表序列进行分类学分析,主要包括 α 多样性分析、物种多样性分析、菌群差异分析、物种分类树分析、β 多样性分析和功能预测分析.

2 结果与讨论

2.1 羟胺的投加对厌氧氨氧化反应的影响

为了探究 NH₂OH 对厌氧氨氧化活性的影响,将厌氧氨氧化颗粒污泥与 NH₂OH、亚硝酸盐盐(NO₂⁻)和铵(NH₄⁺)进行孵育.所有实验反应器的进水 NO₂⁻ 和 NH₄⁺ 的初始浓度都一样,总共设置了 6 组实验,分别为反应器 1(R1)、反应器 2(R2)、反应

器 3(R3)、反应器 4(R4)、反应器 5(R5)和反应器 6(R6),其中反应器 R1 为对照组,其他为实验组,每组进行 3 次重复.如图 2(a)和 2(b)所示,在开始的第一阶段,所有的实验反应器中都不添加羟胺,结果发现实验组的厌氧氨氧化活性均与对照组接近(R1).在第二阶段,对照组 R1 不添加羟胺,但分别在 R2、R3、R4、R5 和 R6 中添加 40、50、60、70 和 80 mg·L⁻¹ NH₂OH,结果发现相比对照组 R1,其他实验组 NO₂⁻-N 和 NH₄⁺-N 降解速率都变慢.对照组 R1 在羟胺添加后的亚硝酸盐的脱氮效率(以 N/VSS 计)为 0.032 8 g·d⁻¹,而 R2、R3、R4、R5 和 R6 的亚硝酸盐脱氮率分别为对照组的 31.5%、22.5%、14.6%、6.8% 和 6.1%,说明羟胺的投加对厌氧氨氧化反应产生了抑制作用.

经过前面的实验,可以看出羟胺会对厌氧氨氧化活性产生抑制作用,但无法判断多大量的羟胺会对厌氧氨氧化活性产生不可逆的抑制.为了探究厌氧氨氧化细菌对羟胺的耐受程度,本研究通过 RT-qPCR 实验测定了不同反应器中的 HZO 酶 mRNA 的相对表达量,以 R1 作为对照.如图 2(c)所示,R2、R3 和 R4 反应器中 HZO 酶 mRNA 的相对表达量要远高于 R1 对照组,说明当羟胺的添加量介于

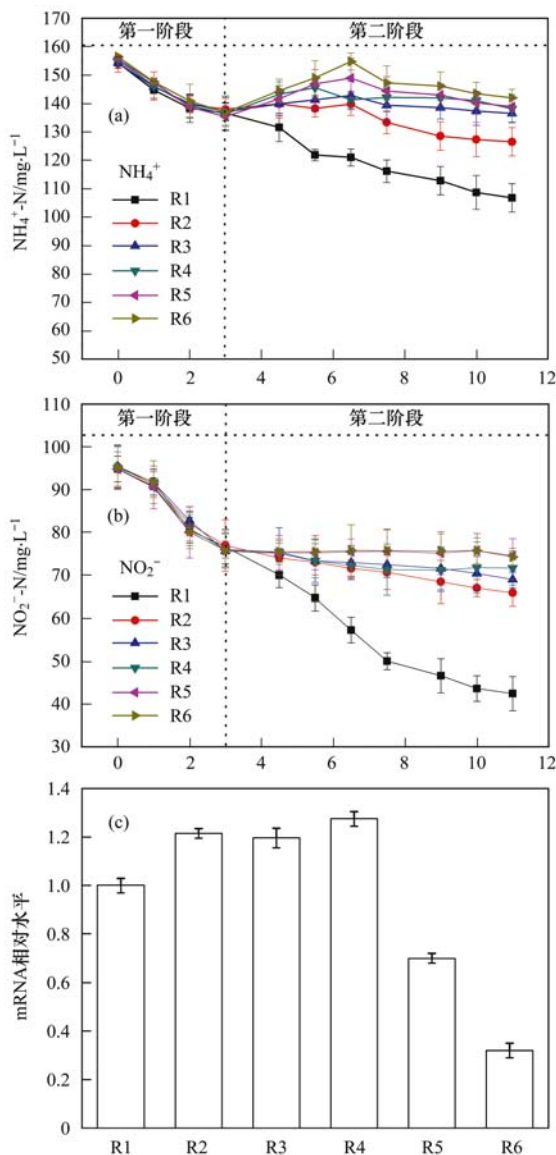


图2 羟胺对厌氧氨氧化活性的影响

Fig. 2 Effect of hydroxylamine on ANAMMOX activity

40 ~ 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,羟胺能够对厌氧氨氧化细菌产生抑制作用,但不足以使厌氧氨氧化细菌失去活性.而厌氧氨氧化细菌会通过提高 HZO 酶的表达量,来抵抗羟胺压力.但是 R5 和 R6 反应器中 HZO 酶 mRNA 的相对表达量要远低于 R1 对照组,说明当羟胺的添加量高于 70 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,羟胺浓度超出了厌氧氨氧化细菌的承受范围,导致厌氧氨氧化细菌失去活性.这也印证文献[7]中高浓度羟胺可能会对厌氧氨氧化过程产生抑制作用.由此笔者推测 3.12 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的厌氧氨氧化细菌颗粒对羟胺的承受压力介于 60 ~ 70 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间. Jetten 等^[16]的研究报道可以根据羟胺添加后胨的生成量作为厌氧氨氧化活性的“基准”,但还不够精确,无法判断厌氧氨氧化细菌对羟胺的耐受极限,本文的实验证实 HZO 的转录水平变化可以更准确地反映厌氧氨氧化活性.

2.2 羟胺对厌氧氨氧化颗粒内部菌群的影响

根据前面的实验结果,本研究选择 3 种不同浓度羟胺进行批次实验,分为对照组 (NH0, 不添加羟胺)、低羟胺浓度组 (NH50, 添加 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 羟胺) 和高羟胺浓度组 (NH80, 添加 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 羟胺),然后对厌氧氨氧化细菌颗粒内部菌群作结构分析. 16S rRNA 测序显示,在 3 组厌氧氨氧化细菌颗粒 DNA 样本中, NH0、NH50 和 NH80 的微生物种类结构差异较大. 3 组样品中共有的菌种有 265 个,而 NH0 独有的菌种有 4 510 个, NH50 独有的菌种有 5 127 个, NH80 独有的菌种有 4 459 个 [图 3(a)], 说明羟胺对厌氧氨氧化细菌颗粒内部菌群结构产生了较大的影响. 通过三元分析 [图 3(b)], 可以看出在 3 个样品中主要富集的物种包括: 酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、未命名 (Candidatus Saccharibacteria)、绿菌门 (Chlorobi)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和浮霉菌门 (Planctomycetes). 结合系统发育进化树分析 [图 3(c)], 在属水平上, 变形菌门的细菌种类最多, 共有 7 种, 分别为 *Thiopfundum*、*Chiayivirga*、*Povalibacter*、*Desulfovermiculus*、*Dechloromonas*、*Azospira* 和 *Lautropia*. 虽然变形菌门在反应器中的细菌种类最多, 但在功能上并没有优势, 这可能与厌氧氨氧化颗粒独特厌氧环境有关. 此外, 有文献报道, 变形菌门的主要作用在于维持厌氧氨氧化反应器内菌群的生态平衡^[27]. 而在功能上最有优势的是浮霉菌门, 浮霉菌门主要包含 4 类细菌, 除了 *Phycisphaera* 其余 3 类都是厌氧氨氧化细菌, 分别为 *Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Anammoxoglobus* 和 *Candidatus Brocadia*, 这 3 类厌氧氨氧化细菌承担了主要的代谢功能. 此外, 绿菌门含有两类细菌, 分别为 *Longiline* 和 *Ornatilinea*. 绿菌门的细菌总是与厌氧氨氧化的细菌一起存在, 二者在功能上相辅相成, 这与之前的报道相符^[27], 其研究报道厌氧氨氧化细菌能够固定 CO_2 , 合成氨基酸, 形成胞外聚合物, 而绿菌门的细菌能够分解胞外聚合物, 运输氨基酸进入胞内. 此外, 厌氧氨氧化细菌和绿菌门的细菌能够分别氧化和还原亚硝酸盐, 形成一个闭合的亚硝酸盐环路. 酸杆菌门主要包含 *Gp3* 和 *Gp10*, 由于酸性细菌很难在实验室中生长, 因此关于它们的代谢作用知之甚少, 后续可以进行更多地研究.

然后本研究进一步对 3 组反应器所含的细菌在属水平上的种类组成进行详细分析 [图 4(a)], 并进行了不同组别之间对比分析. 通过对比 NH0 组、NH50 组和 NH80 组所含的菌群 [图 4(b) 和 4

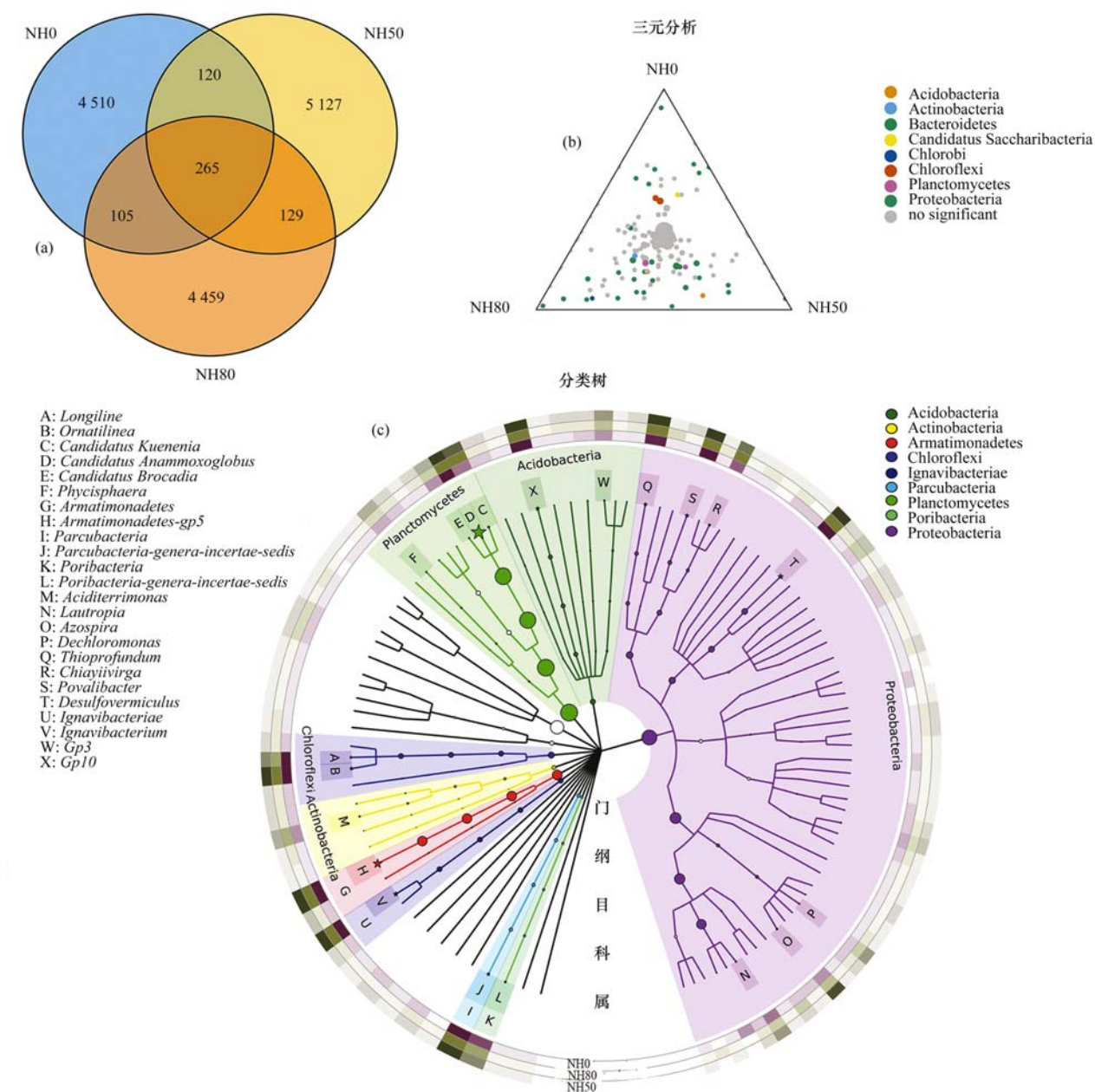


图3 厌氧氨氧化颗粒群落的结构变化

Fig. 3 Structural changes of ANAMMOX granules in microbial communities

(c)],可以看出,相比较 NH0 组和 NH80 组,NH50 组都显著增加了 *Candidatus Anammoxoglobus*,说明添加适量羟胺 ($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,以 N 计)可以促进厌氧氨氧化细菌的富集.同时相比较 NH0 组,NH50 组都显著减少了 unclassified 和 *Ornatilinea*,这个结果也进一步证明了羟胺可以通过抑制其他细菌的生长来促进厌氧氨氧化细菌的活性^[28].笔者发现相比较 NH0 组和 NH80 组,NH50 组也显著增加了 *Armatimonadetes_gp5*. Zhao 等^[29]的研究发现,装甲菌门(*Armatimonadetes*)可为厌氧氨氧化细菌提供生长因子叶酸和钼辅因子,这也侧面说明适量羟胺添加也有助于与厌氧氨氧化细菌共生菌的增加,维持较好的生态平衡.但是相比较 NH0 组,厌氧氨氧化

细菌并没有在 NH80 组中富集[图 4(d)],说明高剂量的羟胺 ($80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 浓度抑制了所有细菌的活性,这与批次实验的结果也是一致的.根据文献[30],厌氧氨氧化细菌由于对环境极其敏感,因此目前还无法在实验室获得纯培养.根据本研究的实验结果,通过在反应器中添加适量 ($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的羟胺,利用羟胺的毒性,可以抑制其他细菌的生长,但并不影响厌氧氨氧化细菌的生长,从而让反应器内厌氧氨氧化细菌处于更优的状态.

2.3 羟胺对厌氧氨氧化细菌颗粒内部菌群的代谢通路的影响

经过前期实验,可以看出添加低浓度羟胺会对厌氧氨氧化活性产生抑制作用,但不会使厌氧氨氧

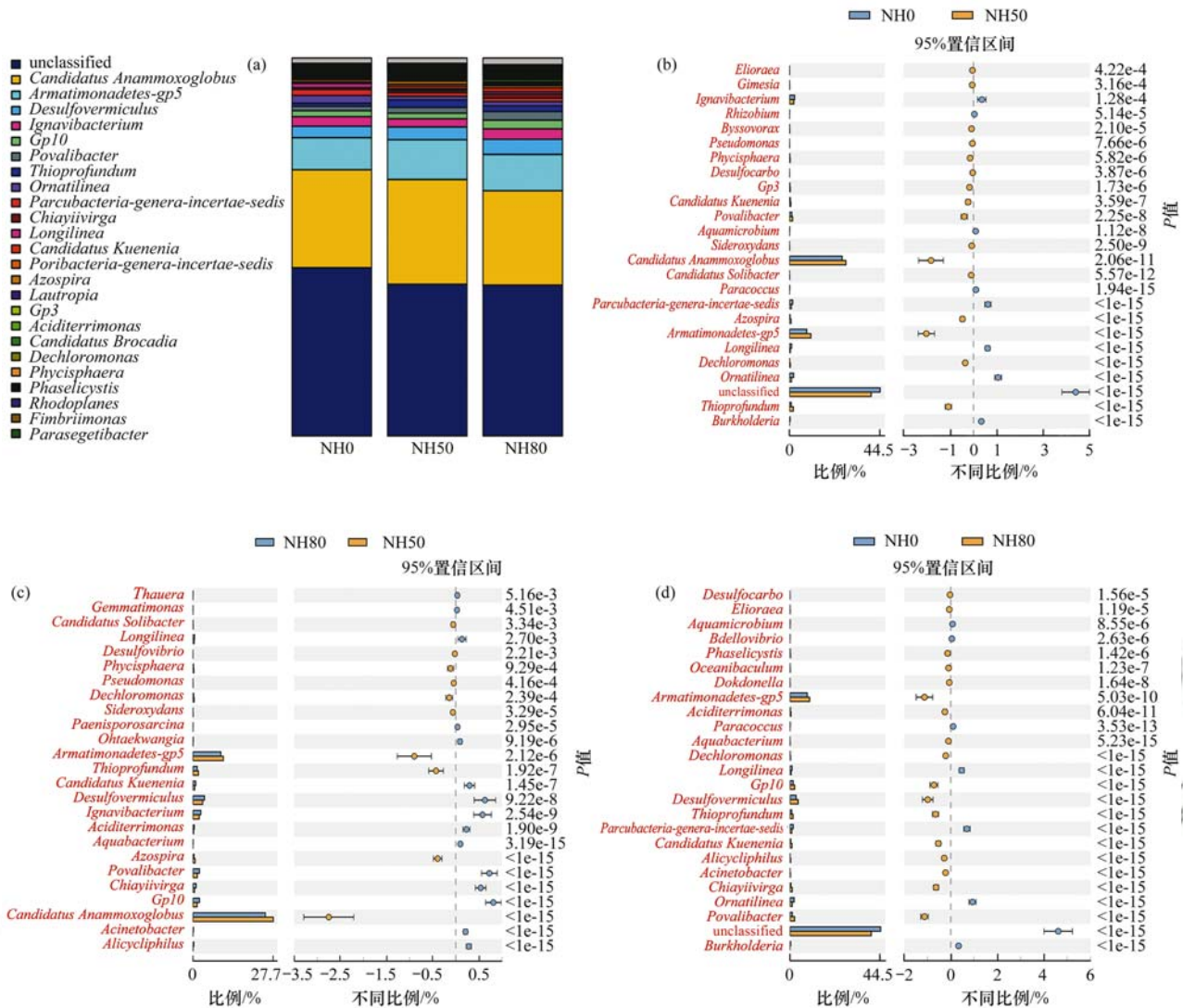


图4 属水平微生物群落种类组成分析

Fig. 4 Analysis of the species composition of the microbial community (genus level)

化细菌失去活性,说明厌氧氨氧化细菌可能通过某些方式在抵抗羟胺压力. 有研究结果表明^[7],厌氧氨氧化细菌会通过相关代谢酶将羟胺歧化生成 N_2 和 NH_4^+ ,并进一步生成脒. 而对于厌氧氨氧化颗粒细菌群落如何抵抗压力的机制还知之甚少,因此本研究又进行了 KEGG 代谢功能分析. KEGG 代谢功能主要包括代谢、膜转运、信号传递、细胞周期等相关细胞生化过程分析. 图 5(a) 显示在 3 组样品中所含的主要代谢功能分布,而后进行不同组别之间的比对分析. 通过对比 NH0 和 NH50 组可以发现[图 5(b)],在细胞运动性、新陈代谢、细胞运动过程和信号等方面,NH50 组要明显优于 NH0 组,说明虽然低剂量的羟胺可能会对厌氧氨氧化代谢产生一定抑制作用,但同时也促进细胞产生更强的运动性,这可能也是细胞抵抗羟胺压力的一种方式. 而膜运输、碳水化合物代谢等方面 NH50 组要明显低于 NH0 组,这也从深层面水平说明细菌在面对羟胺压力时,羟

胺可能通过抑制膜相关蛋白运输和能量代谢的方式来抑制细菌的活性. 通过对比 NH50 和 NH80 组可以看出[图 5(c)],在能量代谢方面 NH80 组要低于 NH50 组,这与羟胺批次实验结果一致,羟胺浓度越高对细菌的抑制作用越强. 结合图 5(d),可以发现异种生物降解和代谢方面 NH80 组要同时优于 NH50 和 NH0 组,说明在高浓度羟胺的压力下,细菌可能会通过分解其他物质来应对羟胺压力.

3 结论

(1) HZO 酶的转录水平变化可以更精确地测定厌氧氨氧化颗粒对羟胺的耐受范围. 相对于 $3.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的厌氧氨氧化颗粒污泥,其承受的羟胺浓度的阈值介于 $60 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

(2) 羟胺的投加可以有效地抑制颗粒污泥内细菌的活性,适量的羟胺 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,以 N 计)能够增强厌氧氨氧化细菌的组成,提供一个更佳的生态

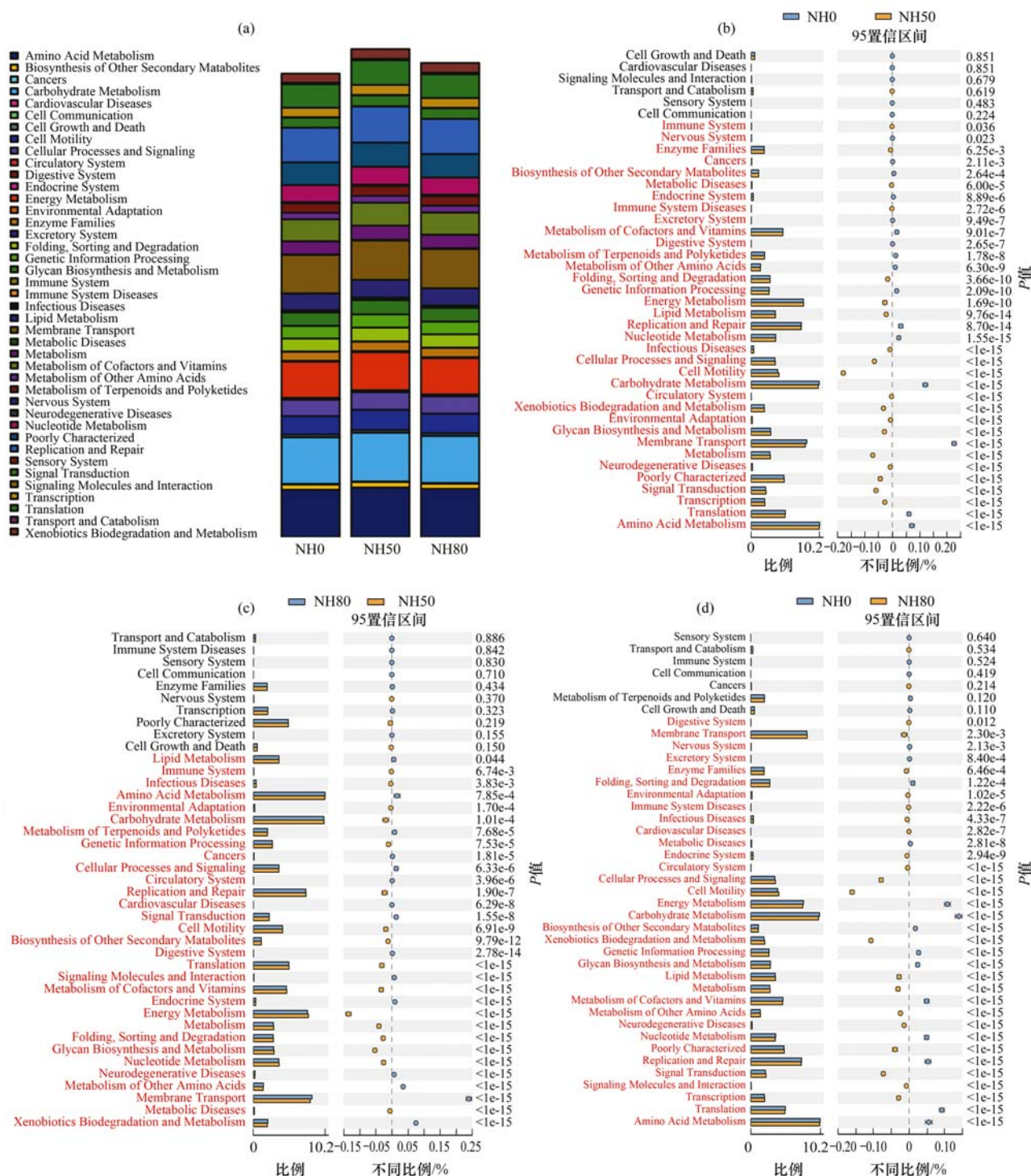


图5 KEGG 代谢功能分析

Fig. 5 Metabolic function analysis of KEGG

平衡.

(3) 厌氧氨氧化颗粒污泥可能通过提高细胞运动性、新陈代谢、细胞运动过程和信号以及异种生物降解和代谢等方面代谢活性来抵抗羟胺的压力.

参考文献:

- [1] Schmid M C, Maas B, Dapena A, *et al.* Biomarkers for in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71** (4): 1677-1684.
- [2] Peng M W, Yu X L, Guan Y, *et al.* Underlying promotion

mechanism of high concentration of silver nanoparticles on anammox process [J]. *ACS Nano*, 2019, **13** (12): 14500-14510.

- [3] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al.* The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998, **50** (5): 589-596.
- [4] Dietl A, Ferosi C, Maalcke W J, *et al.* The inner workings of the hydrazine synthase multiprotein complex [J]. *Nature*, 2015, **527** (7578): 394-397.
- [5] Maalcke W J, Reimann J, de Vries S, *et al.* Characterization of

- anammox hydrazine dehydrogenase, a key N_2 -producing enzyme in the global nitrogen cycle[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, **291**(33): 17077-17092.
- [6] Shimamura M, Nishiyama T, Shigetomo H, *et al.* Isolation of a multiheme protein with features of a hydrazine-oxidizing enzyme from an anaerobic ammonium-oxidizing enrichment culture[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(4): 1065-1072.
- [7] van der Star W R L, van de Graaf M J, Kartal B, *et al.* Response of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria to hydroxylamine[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, **74**(14): 4417-4426.
- [8] Strous M, Kuenen J G, Jetten M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(7): 3248-3250.
- [9] Zekker I, Kroon K, Rikmann E, *et al.* Accelerating effect of hydroxylamine and hydrazine on nitrogen removal rate in moving bed biofilm reactor[J]. *Biodegradation*, 2012, **23**(5): 739-749.
- [10] Hu A H, Zheng P, Mahmood Q, *et al.* Characteristics of nitrogenous substrate conversion by anammox enrichment[J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(2): 536-542.
- [11] Egli K, Fanger U, Alvarez P J J, *et al.* Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate[J]. *Archives of Microbiology*, 2001, **175**(3): 198-207.
- [12] Kartal B, Rattray J, van Niftrik L A, *et al.* *Candidatus* "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2007, **30**(1): 39-49.
- [13] Kartal B, van Niftrik L, Rattray J, *et al.* *Candidatus* "Brocadia fulgida": an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, **63**(1): 46-55.
- [14] Schmid M, Walsh K, Webb R, *et al.* *Candidatus* "Scalindua brodae", sp. nov., *Candidatus* "Scalindua wagneri", sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2003, **26**(4): 529-538.
- [15] van Dongen U, Jetten M S M, van Loosdrecht M C M. The SHARON® -Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater[J]. *Water Science & Technology*, 2001, **44**(1): 153-160.
- [16] Jetten M, Schmid M, van de Pas-Schoonen K, *et al.* Anammox organisms: enrichment, cultivation, and environmental analysis[J]. *Methods in Enzymology*, 2005, **397**: 34-57.
- [17] Park H, Rosenthal A, Ramalingam K, *et al.* Linking community profiles, gene expression and N-removal in anammox bioreactors treating municipal anaerobic digestion reject water[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(16): 6110-6116.
- [18] Saleh-Lakha S, Shannon K E, Henderson S L, *et al.* Effect of nitrate and acetylene on *nirS*, *cnorB*, and *nosZ* expression and denitrification activity in *Pseudomonas mandelii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(15): 5082-5087.
- [19] Bollmann A, Schmidt I, Saunders A M, *et al.* Influence of starvation on potential ammonia-oxidizing activity and *amoA* mRNA levels of *Nitrosospora briensis* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(3): 1276-1282.
- [20] Cirpus I E Y, de Been M, den Camp H J M O, *et al.* A new soluble 10 kDa monoheme cytochrome *c*-552 from the anammox bacterium *Candidatus* "Kuenenia stuttgartiensis" [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, **252**(2): 273-278.
- [21] Schalk J, de Vries S, Kuenen J G, *et al.* Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation[J]. *Biochemistry*, 2000, **39**(18): 5405-5412.
- [22] Huston W M, Harhangi H R, Leech A P, *et al.* Expression and characterisation of a major c-type cytochrome encoded by gene *kustc0563* from *Kuenenia stuttgartiensis* as a recombinant protein in *Escherichia coli* [J]. *Protein Expression and Purification*, 2007, **51**(1): 28-33.
- [23] Strous M, Pelletier E, Manganot S, *et al.* Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome[J]. *Nature*, 2006, **440**(7085): 790-794.
- [24] Kartal B, Kuypers M M M, Lavik G, *et al.* Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, **9**(3): 635-642.
- [25] Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, *et al.* Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. *Nature*, 1999, **400**(6743): 446-449.
- [26] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [27] Lawson C E, Wu S, Bhattacharjee A S, *et al.* Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules[J]. *Nature Communications*, 2017, **8**(1): 15416.
- [28] Ganesan S, Vadivelu V M. Effect of external hydrazine addition on anammox reactor start-up time [J]. *Chemosphere*, 2019, **223**: 668-674.
- [29] Zhao Y P, Liu S F, Jiang B, *et al.* Genome-centered metagenomics analysis reveals the symbiotic organisms possessing ability to cross-feed with anammox bacteria in anammox consortia [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **52**(19): 11285-11296.
- [30] Lackner S, Terada A, Smets B F. Heterotrophic activity compromises autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: results of a modeling study [J]. *Water Research*, 2008, **42**(4-5): 1102-1112.

CONTENTS

Contribution of Emissions from the Iron and Steel Industry to Air Quality in China	TANG Ling, XUE Xiao-da, BO Xin, <i>et al.</i> (2981)
Interannual Characteristics of Fine Particulate Matter in North China and Its Relationship with Land Use and Land Cover Change	YANG Wei, JIANG Xiao-li (2995)
Evaluation of the Reduction in PM _{2.5} Concentration During the National Traditional Games of Ethnic Minorities in Zhengzhou	WANG Shen-bo, LOU Ya-min, XU Yi-fei, <i>et al.</i> (3004)
Pollution Characteristics of Water-soluble Inorganic Ions in Chengdu in Summer and Winter	FENG Yan-peng, ZHANG Jun-ke, HUANG Xiao-juan, <i>et al.</i> (3012)
Analysis of Transport Pathways and Potential Sources of Atmospheric Particulate Matter in Zigong, in South of Sichuan Province	LEI Yu, ZHANG Xiao-ling, KANG Ping, <i>et al.</i> (3021)
Source Composition Spectrum of Volatile Organic Compounds in Typical Industries in Sichuan	XU Chen-xi, CHEN Jun-hui, HAN Li, <i>et al.</i> (3031)
Source Profiles of Industrial Emission-Based VOCs in Chengdu	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, ZHOU Xiao-ling, <i>et al.</i> (3042)
Emission Characteristics and Risk Assessment of Volatile Organic Compounds from Typical Factories in Zhengzhou	QI Yi-jin, NI Jing-wei, ZHAO Dong-xu, <i>et al.</i> (3056)
Characteristics, Source Apportionment, and Environmental Impact of Volatile Organic Compounds in Summer in Yangquan	NIU Yue-yuan, LIU Zhuo-cheng, LI Ru-mei, <i>et al.</i> (3066)
Characteristics and Reactivity of VOCs in Hangzhou During a Typical Photochemical Pollution Episode	JING Sheng-ao, YE Xu-hong, GAO Ya-qin, <i>et al.</i> (3076)
Pollution Characteristics and Sensitivity of Surface Ozone in a Typical Heavy-Industry City of the North China Plain in Summer	OU Sheng-ju, WEI Wei, WANG Xiao-qi, <i>et al.</i> (3085)
Source Apportionment of Atmospheric Ammonia; Sensitivity Test Based on Stable Isotope Analysis in R Language	GU Meng-na, PAN Yue-peng, HE Yue-xin, <i>et al.</i> (3095)
Distribution Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Mercury Speciation in Suzhou	LU Ren-jie, WU Ye-zheng, ZHANG Xiao-jie, <i>et al.</i> (3102)
Emission Characteristics of Light-Duty Gasoline Vehicle Exhaust Based on Acceleration Simulation Mode	XIE Yan, LIAO Song-di, ZHU Man-ni, <i>et al.</i> (3112)
Comparative Analysis of NO _x Emission Characteristics of Non-Ultra-Low- and Ultra-Low-Emission Coal-Fired Power Units During the Start-Up Process	LI Hui, ZHU Fa-hua, SUN Xue-li, <i>et al.</i> (3121)
Source Identification and Pollution Characteristics of Heavy Metals in Suspended Particles of Urban Road Dust from Xingtai City	SONG Yi, LU Xin-wei, ZHOU Xiao, <i>et al.</i> (3130)
Impacts of Leaf Surface Micromorphology Variation on the Ability to Capture Particulate Matter	WEI Wen-jun, WANG Bing, NIU Xiang (3136)
Analysis of Hydrogen and Oxygen Stable Isotope Characteristics and Vapor Sources of Precipitation in the Guanzhong Plain	ZHAO Ming-hua, LU Yan-wei, Rachana Heng, <i>et al.</i> (3148)
Analysis of Nitrate Sources in Different Waters of a Karst Basin	TIAN Yong-zhu, HAN Zhi-wei, ZHAO Ran, <i>et al.</i> (3157)
Analysis of Nitrogen Pollution and Its Pollution Sources in the Muli River Basin	QI Ran, XU Fei-fei, YANG Fan, <i>et al.</i> (3165)
Temporal and Spatial Variation Patterns of the Environmental Elements in the Sediments of the Liaohu Estuary and the Related Influencing Factors	QI Yue, SUN Yong-guang, MA Gong-bo, <i>et al.</i> (3175)
Transport Characteristics of Phosphorus Sources at the Multi-scale Watershed and the Associated Ecological Effects on Poyang Lake	WANG Shuo-yue, GAO Yang, LU Yao, <i>et al.</i> (3186)
Risk Assessment and Source Analysis of Heavy Metals in the River of a Typical Bay Watershed	WANG Lei, WANG Wen-dong, LIU Dong, <i>et al.</i> (3194)
Concentrations of Typical Perfluoroalkyl Acids and Contributions of Their Precursors in the Water of the Le'an River in China	ZHANG Hui, WANG Shi-liang, YU Yang (3204)
Distribution Characteristics of Microplastics in Surface Water and Sediments of Haizhou Bay, Lianyungang	LI Zheng, GAO Chun-mei, YANG Jin-long, <i>et al.</i> (3212)
Profiles and Risk of Antibiotic Resistance Genes in Domestic Wells in the Maozhou River Basin	WU Dai-ling, ZOU Hai-yan, HE Lu-xi, <i>et al.</i> (3222)
Release Mechanisms of Iron and Manganese from Sediments in Jinpen Reservoir	LU Lin-chao, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (3231)
Characterization of Microplastic Pollution of Sediments from Urban Lakes	WANG Xuan, NIU Si-ping, SONG Xiao-long, <i>et al.</i> (3240)
Structural Characteristics of Microbial Communities in the Sediments of the Niyang River in Tibet	LIU Xiao-dan, HUANG Yi, WANG Yong-hua, <i>et al.</i> (3249)
Combined Effects of Erythromycin and Nutrients on Microalgae in Seawater	WANG Na, ZHAO Wei-hong, MIAO Hui (3257)
Longitudinal Distribution of Benthic Macroinvertebrates Affected by a Hydropower Plant Cascade in the Mudan River	WEN Jia-qi, WANG Hao-ran, CHEN Yong-can, <i>et al.</i> (3266)
Analysis of Rainwater Runoff Pollution Characteristics of Various Typical Underlying Surfaces in Ningbo	XU Yu-jie, GONG Yue-min, BI Jun-peng, <i>et al.</i> (3275)
Water Quality and Bacterial Population Driving Mechanism of Algae Vertical Succession in Stratified Reservoir	YAN Miao-miao, CHEN Sheng-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (3285)
Distribution Characteristics of Disinfection By-Products and the Effects of Booster Chlorination in Long-Distance Water Supply Systems	BI Wei-wei, YE Sheng, YU Jian-quan, <i>et al.</i> (3297)
Occurrence and Prediction Model of Disinfection By-Products in Tap Water	LIU Jun-ping, CHEN Jing-ji, SONG Ya-li, <i>et al.</i> (3307)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Cadmium in Water by Alkali and Magnetic Composite Modified Wheat Straw Biochar	CUI Zhi-wen, REN Yan-fang, WANG Wei, <i>et al.</i> (3315)
Enhanced Chromate (VI) Removal Characteristics and Mechanism Using Graphene Oxide Immobilized Nanoscale Zero-Valent Iron Coupled with a Weak Magnetic Field (GO-nFe ⁰ /WMF)	JI Meng, BAO Jian-guo, ZHU Xiao-wei, <i>et al.</i> (3326)
Characteristics and Influencing Factors of Monothioarsenate Adsorption on Goethite	LIAO Dan-xue, SHAN Hui-mei, ZHANG Jin-xian, <i>et al.</i> (3337)
Fast Start-Up ANAMMOX Operation Strategy and Flora Characteristics of a Biofilter	WANG Xiao-tong, YANG Hong, SU Yang, <i>et al.</i> (3345)
Effects of Aeration Strategy on Denitrifying Performance of Activated Sludge Processes in Treating Low-Carbon-Source Municipal Wastewater	ZHANG Xin-ni, CHI Yu-lei, WANG Qian, <i>et al.</i> (3356)
Effect of Hydroxylamine on Community of ANAMMOX Sludge	XING Chong-yang, FAN Yu-chen, CHEN Xuan, <i>et al.</i> (3365)
Microbial Diversity of Filamentous Sludge Bulking at Low Temperature	GAO Chun-di, ZHANG Na, HAN Hui, <i>et al.</i> (3373)
Main Influencing Factors and Strengthening of Anaerobic Transformation of Excess Sludge in China	DONG Bin, GAO Jun, CHEN Si-si, <i>et al.</i> (3384)
Relationship Between CO ₂ and CH ₄ Emissions in Urban Rivers and Sewage Discharging from a Municipal Drainage Network	LI Lei, CHEN Hao, ZHU Yi, <i>et al.</i> (3392)
Effects of Controlled-Release Urea Application on N ₂ O Emission in Maize-Cultivated Sandy Loam Soil	JIANG You-jin, YUAN Jun-ji, DING Wei-xin, <i>et al.</i> (3402)
Greenhouse Gas Emissions for Typical Open-Field Vegetable Production in China	ZHANG Fen, CHENG Tai-hong, CHEN Xin-ping, <i>et al.</i> (3410)
Effects of Water Management on Soil Properties and Cd Behavior of Typical Paddy Soils	HUANG Jing, LI Xin-yang, WEN Sha, <i>et al.</i> (3418)
Effect of Mn-Modified Biochar on the Characteristics of Aggregate Structure and the Content of Cd in Weakly Alkaline Cd-Contaminated Soil	SUN Tong, FU Yu-tong, LI Ke, <i>et al.</i> (3426)
Effects of the Immobilization of Cadmium in Soil Alone or Combined with Foliar Application of Selenium on Cadmium Accumulation in the Plants of Different Genotypes of Tsai-tai	CAO Kun-kun, LI Cheng-cheng, HU Xue-yu, <i>et al.</i> (3434)
Effects of Foliar Spraying of 2,3-dimercaptosuccinic Acid on Cadmium Uptake, Transport, and Antioxidant System in Rice Seedlings	YANG Xiao-rong, HUANG Yong-chun, LIU Zhong-qi, <i>et al.</i> (3441)