

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第8期

Vol.38 No.8

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

用于滤膜称重的饱和氯化镁溶液恒湿系统搭建与评估	李晓晓, 张强, 邓建国, 蒋靖坤, 郝吉明 (3095)
钢铁工业排放颗粒物中碳组分的特征	张进生, 吴建会, 马威, 冯银厂 (3102)
常州市大气 PM _{2.5} 中 PAHs 污染特征及来源解析	顾爱军, 刘佳澍, 罗世鹏, 毕承路, 苏亚兰, 叶招莲, 盖鑫磊 (3110)
兰州河谷盆地大气多环芳烃干沉降通量及来源	尉媛丽, 刘攀亮, 于周锁, 高宏, 毛潇萱, 马建民, 黄韬 (3120)
株洲市大气降尘中元素特征及来源分析	王世豪, 张凯, 柴发合, 钟学才, 周广柱, 杨晴, 柯馨妹 (3130)
传统北京烤鸭烤制过程中大气污染物的排放特征	徐敏, 何万清, 聂磊, 韩力慧, 潘涛, 石爱军 (3139)
基于车载测试的重型柴油车尾气典型烷烃排放特征	史纯珍, 郝雪薇, 申现宝, 曹鑫悦, 张伟, 吴辉, 姚志良 (3146)
基于 wavelet-SVM 的 PM ₁₀ 浓度时序数据预测	王平, 张红, 秦作栋, 姚清晨, 耿红 (3153)
广州港船舶停泊工况排放因子实测及排放量初步估算	黄学良, 张洲, 杨威强, 李晟, 朱明, 方华, 何俊杰, 陈俊文, 万承浩, 张艳利, 刘国光, 黄祖照, 王宇骏, 王新明 (3162)
沙尘天气对生物气溶胶中总微生物浓度及粒径分布的影响	李鸿涛, 祁建华, 董立杰, 高冬梅 (3169)
典型生活垃圾处理设施恶臭排放特征及污染评价	芦会杰 (3178)
杭州地区城区降雪中全氟化合物的污染特征	张明, 唐访良, 俞雅雲, 徐建芬, 陈金汉, 余波, 周嫻, 张伟 (3185)
黄浦江流域典型污水中不同粒径胶体的三维荧光光谱特征	聂明华, 晏彩霞, 杨毅, 周俊良, 刘敏 (3192)
漓江地表水体有机碳来源	赵海娟, 肖琼, 吴夏, 刘凡, 苗迎, 蒋勇军 (3200)
夏季热分层效应对典型岩溶水库水化学及溶解无机碳的影响	吴飞红, 蒲俊兵, 李建鸿, 张陶, 李丽, 黄思宇 (3209)
城市不同功能区地表水重金属污染特性比较: 以宁波为例	徐美娟, 童桂华, 孙丹, 李建新, 虞效益 (3218)
地下水主要组分水化学异常识别方法对比: 以柳江盆地为例	张小文, 何江涛, 彭聪, 张昌延, 倪泽华 (3225)
人为扰动背景下城郊溪流底质磷的生物-非生物吸收潜力分析	李如忠, 叶舟, 高苏蒂, 郑悦 (3235)
长江口低氧区沉积物中磷的形态及其环境意义	刘军, 臧家业, 冉祥滨, 赵晨英, 刘季花, 王小静 (3243)
三峡库区小流域不同土地利用类型“土壤-水体”氮磷含量特征及其相互关系	陈成龙, 高明, 木志坚, 倪九派, 祁乐 (3254)
黄土高原降雨驱动下流域碳输移特征及其碳流失评估: 以羊圈沟坝系流域为例	鄂馨卉, 汪亚峰, 高扬, 陈利顶, 陈世博, 陈维梁 (3264)
新型溴代苯酚类消毒副产物的氯化降解机制	李欢, 李正魁, 李爱民, 周庆, 王莹, 潘咏 (3273)
藻形态及混凝剂组成对混凝-超滤过程的影响	张大为, 徐慧, 王希, 门彬, 王东升, 段晋明 (3281)
汝溪河浮游硅藻功能群特征及其与环境因子相关性分析	向蓉, 李巧玉, 喻焱, 张洪波, 董聪聪, 施军琼, 吴忠兴 (3290)
石岩水库叶绿素 a 时空分布及其影响因子分析	宋云龙, 张金松, 郭小雅, 朱佳, 王丽, 陶益, 张丽 (3302)
不同湿地模型中根系微生物的多样性	王林, 李冰, 余家辉, 朱加宾, 朱健 (3312)
北海湖微生物群落结构随季节变化特征	张雅洁, 李珂, 朱浩然, 张洪勋 (3319)
基于高通量测序的流化床生物滤器细菌群落结构分析	张海耿, 宋红桥, 顾川川, 单建军, 张宇雷, 倪琦 (3330)
高效反硝化菌和包埋填料性能及微生物群落分析	孟婷, 杨宏 (3339)
基于城市污水资源化的微藻筛选与污水预处理	韩松芳, 金文标, 涂仁杰, 陈洪一 (3347)
生物膜贴壁培养小球藻净化猪粪沼液废水的效果	王愿珠, 程鹏飞, 刘德富, 刘天中 (3354)
微气泡臭氧催化氧化-生化耦合工艺深度处理煤化工废水	刘春, 周洪政, 张静, 陈晓轩, 张磊, 郭延凯 (3362)
pH 冲击对海洋厌氧氨氧化菌处理含海水污水脱氮效能的影响	于德爽, 周同, 李津, 王晓霞, 吴国栋, 王尧静 (3369)
酒精废水部分亚硝化-厌氧氨氧化脱氮的可行性	周正, 林兴, 王凡, 顾澄伟, 沈婧, 袁砚, 金润 (3377)
模拟废水中钼的微生物回收及其对亚甲基蓝的催化特性	康乃馨, 朱能武, 郭雯颖, 何志心 (3385)
采用颜色空间表征 ANAMMOX 启动与冲击过程	王利君, 李志华, 韩冬, 张天宇, 杨成建 (3393)
CSTR 和 MBR 反应器的短程硝化快速启动	张婷, 吴鹏, 沈耀良, 闫刚, 徐乐中, Samwine Thomas (3399)
硫酸盐还原氨氧化体系中基质转化途径	完颜德卿, 黄勇, 毕贞, 刘忻, 姚鹏程, 张文静 (3406)
不同 TOC/NH ₄ ⁺ -N 对厌氧氨氧化脱氮效能的影响	王凡, 刘凯, 林兴, 周正, 李祥, 黄勇 (3415)
盐度对 EGSB 反应器的运行及厌氧颗粒污泥的影响	谭潇, 黄靛, 杨平, 涂奔州 (3422)
CANON 颗粒污泥工艺的启动与负荷提高策略	孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 李星, 曹相生 (3429)
胞外聚合物对活性污泥吸附去除全氟辛酸磺酸 (PFOS) 的影响	刘鑫彤, 尹华, 彭辉, 李浩榕, 杨萍萍, 曹雅娟 (3435)
不同施肥方式下紫色土 N ₂ O 与 NO _x 的排放特征	胡磊, 刘韵, 朱波 (3442)
地膜覆盖对蔬菜地甲烷排放的影响	张凯莉, 郝庆菊, 冯迪, 石将来, 石孝均, 江长胜 (3451)
模拟的增温增雨对内蒙古温带草原土壤氨氧化微生物的影响	张翠景, 沈菊培, 孙翼飞, 王军涛, 杨中领, 韩红艳, 张丽梅, 万师强, 贺正 (3463)
长期施肥酸性旱地土壤硝化活性及自养硝化微生物特征	徐白璐, 钟文辉, 黄欠如, 秦红益, 邓欢, 韩成 (3473)
施加碳酸钙对酸性土壤微生物氮循环的影响	郭安宁, 段桂兰, 赵中秋, 唐仲, 王杨扬, 王伯勋 (3483)
水稻不同生育期根际与非根际土壤胞外酶对施氮的响应	魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 蔡观, 葛体达, 王久荣, 吴金水 (3489)
凋落物呼吸温度敏感性的变化特征及其影响因素	张彦军 (3497)
西北干旱区农田土壤磁性特征及其环境意义	王新, 夏敦胜, 王博, 陈红, 刘浩 (3507)
小麦秸秆驱动菱铁矿热解制备磁性生物质碳及其吸附 Cd ²⁺ 活性	张如玉, 刘海波, 邹雪华, 庆承松, 李梦雪, 陈冬, 陈天虎 (3519)
交通污染暴露对 DNA 甲基化的影响	汪婷, 丁锐, 黄丹妮, 祝子逸, 章军, 叶怀庄, 徐迎春, 金永堂 (3529)
外接菌种对污泥堆肥效能及堆体细菌群落的影响	杨萍萍, 尹华, 彭辉, 唐少宇, 卢妙, 刘皓 (3536)
中国电动自行车动力铅酸蓄电池生命周期评价	刘巍, 田金平, 陈吕军 (3544)
《环境科学》征稿简则 (3280) 《环境科学》征订启事 (3301) 信息 (3353, 3472, 3535)	

基于高通量测序的流化床生物滤器细菌群落结构分析

张海耿, 宋红桥, 顾川川, 单建军, 张宇雷*, 倪琦

(中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 上海 200092)

摘要: 为了解流化床生物滤器内部细菌群落组成及其净水机制, 通过高通量测序方法, 研究了不同时期滤器中表层和底层滤料的细菌群落结构, 分析了滤器不同床层的营养盐变化情况以及水处理性能。结果表明, 滤器的硝化作用主要发生于床层下部, 表层对其的贡献率不显著。稳定工况下, 流化床生物滤器对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN、 BOD_5 和 SS 的去除率达到 $(68.3 \pm 2.24)\%$ 、 $(49.54 \pm 3.56)\%$ 、 $(60.35 \pm 4.98)\%$ 和 $(45.21 \pm 2.11)\%$, 对氨氮的去除负荷达到 $(343.28 \pm 75.5) \text{ g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, 其硝化性能优于常规生物滤器。试验共筛选 31 个门, 490 个细菌属, 其生物多样性显著高于常规生物滤器。自清洗装置的启停对滤器中不同区域载体表面细菌的多样性没有影响, 对各样品的优势菌群略有影响。在滤器稳定运行时, 表层区域的优势细菌基本维持不变, 主要包括厌氧绳菌科、黄杆菌科、红杆菌科、硝化螺菌属、暖绳菌科。而底层区域的优势细菌随着时间的推移有所变化, 主要包括硝化螺菌属、微丝菌属、*Muricauda*、*Defluviimonas*、红杆菌科。

关键词: 流化床生物滤器; 细菌群落结构; 高通量测序; 玻璃微珠; 水处理性能

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)08-3330-09 DOI: 10.13227/j.hjks.201702089

Analysis of Microbial Diversity in a Fluidized-Sand Biofilter Based on High-Throughput Sequencing Technology

ZHANG Hai-geng, SONG Hong-qiao, GU Chuan-chuan, SHAN Jian-jun, ZHANG Yu-lei*, NI Qi

(Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200092, China)

Abstract: In order to understand the microbial community composition and mechanism of purifying aquaculture water with a biofilter that was been applied to spotted parrotfish recirculating aquaculture systems with microglass beads as the biofilter filler, the changes in the nutrients of different biological filter beds and the water treatment performance of a fluidized-sand biofilter were analyzed. By using high-throughput sequencing technology, the microbial community structure of the surface area and bottom area at different times were studied. The results show that the fluidized-sand biofilter successfully start-up after one month under marine culture. Nitrification of the biofilter occurred mainly in the lower bed layer; the surface area played a small role in eliminating the $\text{NH}_4^+\text{-N}$. The average removal rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN, BOD_5 , and SS were $68.3\% \pm 2.24\%$, $49.54\% \pm 3.56\%$, $60.35\% \pm 4.98\%$, and $45.21\% \pm 2.11\%$, respectively. The average $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal load reached $(343.28 \pm 75.5) \text{ g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, which showed a better performance of wastewater treatment. In this experiment, 31 phyla and 490 genera were identified, thus the biological diversity was significantly higher than that of the other conventional microbial biofilter. Start-stop cycling of the self-cleaning device in the biofilter had no effect on the microbial diversity of different regional, but had some effect on the dominant bacterial community of the microglass beads surface. Under opening self-cleaning device regularly condition, the microbial species of the surface and bottom areas became significantly similar. With time, the microbial species of the superficial area and bottom area had no significant change, and the microbial population structure was relatively stable. In the biofilm training period, the diversity of microbial communities was significantly lower than it was after biofilm maturation. At the time of biofilter stable operation, the dominant bacteria of the superficial zone essentially remained unchanged and mainly included Anaerolineaceae_uncultured (8.4%-28%), Flavobacteriaceae_unclassified (1.1%-32%), Rhodobacteraceae_uncultured (2.3%-17%), *Nitrospira* (1%-7%), and Caldilineaceae_uncultured (1%-6%). The dominant bacteria of the bottom zone changed over time and mainly include *Nitrospira* (12.45%-17.06%), *Candidatus_Microthrix* (2.6%-8.8%), *Muricauda* (4.8%-6.3%), *Defluviimonas* (6%-7%), and Rhodobacteraceae_uncultured (2%-6.2%). Among them, the abundance of *Nitrospira* was significantly higher than that in the other biofilter.

Key words: fluidized-sand biofilter; microbial diversity; high-throughput sequencing; microglass beads; performance of purifying effluent

流化床生物滤器是近年来研发出的一种极具开发潜力和竞争力的生物过滤器, 因其具有高效、可

控, 占地面积小等优点, 已逐渐应用于循环水养殖领域(recirculating aquaculture systems, RAS)中^[1]。流

收稿日期: 2016-02-16; 修订日期: 2017-03-14

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2015A02PT01); 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2015CB150703); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-50)

作者简介: 张海耿(1986~), 男, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为循环水养殖及渔业设施设备, E-mail: zhanghaigeng@fmiri.an.cn

* 通信作者, E-mail: zhangyulei@fmiri.an.cn

化床生物滤器一般采用直径 0.2 ~ 0.4 mm 的玻璃微珠或石英砂作为滤料,该滤料比表面积高达 4 000 ~ 20 000 $\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$,可显著提升基质和氧及营养盐的传递效率,其硝化性能显著优于传统生物滤器^[2].

目前,国内外学者对流化床生物滤器从装置本身的结构^[3]、滤器内部的流态^[4]、运行时水力特性^[5,6]及同步硝化反硝化^[7]等方面进行了大量的研究,优化了该滤器的工艺参数,显著提升了该滤器的稳定性及处理效果,降低了装置的能耗.然而,流化床生物滤器在运行过程中,会出现明显的分层现象,即滤器表层的颜色较下层区域更深,并且底部区域和表层区域的滤料互不交换,这可能会导致不同区域细菌群落会有所差别,而滤器中细菌群落的变化情况与滤器的水处理性能密切相关^[8].目前,对于流化床生物滤器内部的细菌群落结构研究还鲜有报道,滤器的净水机制也尚未摸清.高通量测序技术作为新一代测序技术,较 T-RFLP^[9]、PCR-DGGE^[10]和 16S rRNA^[11,12]克隆文库测序手段更为先进,能够一次同时对几十万到几百万条核酸分子进行序列测定,可全面精准地分析不同领域中的细菌^[13~16],运用该技术可为揭示生物滤器这个“黑匣子”提供可能.

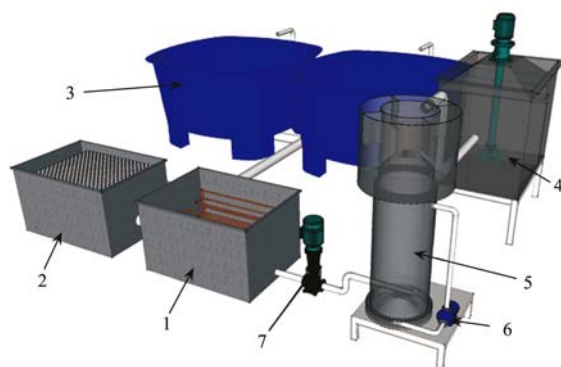
本文选用玻璃微珠为流化床生物滤器的填料,分析了滤器内部不同床层营养盐的变化,探讨了滤器的水处理效率,并采用高通量测序方法,研究了滤器挂膜期、稳定运行期(关闭及开启自清洗装置)时滤器表层及底层填料的细菌群落,旨在摸清流化床不同区域载体表面细菌群落的结构变化、种类及作用,以期了解流化床生物滤器的净水机制,优化该滤器的运行参数提供基础数据,并为其在循环水养殖系统中的高效运作提供一定的技术支持.

1 材料与方法

1.1 斑石鲷循环水养殖系统

在中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所如东中试基地构建一套 RAS,如图 1 所示,系统主要由养殖池,调节池,气浮机,流化床生物滤器及斜管沉淀池 5 大部分组成.试验养殖对象为斑石鲷,初始均重为 (0.43 ± 0.11) kg,投放密度为 $13 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$.RAS 总水体为 8 m^3 ,RAS 每天的换水量为总水体的 5%.

本试验期间,养殖水温控制于 24°C ,盐度 15‰,溶解氧 $> 5.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.初始氨氮 ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) 浓度 $< 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,初始悬浮物 (SS) 浓度 $< 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,初



1. 调节池; 2. 斜管沉淀池; 3. 鱼池; 4. 气浮机;
5. 流化床生物滤器; 6. 增压泵; 7. 离心泵

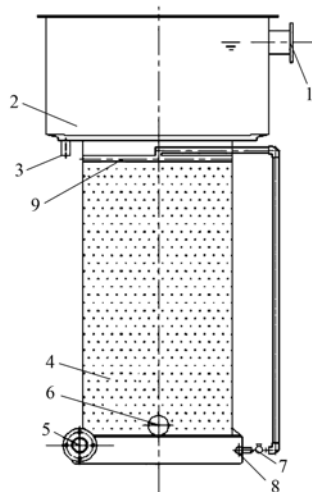
图 1 斑石鲷循环水养殖系统示意

Fig. 1 Schematic diagram of spotted parrotfish recirculating aquaculture systems

始生化需氧量 (BOD_5) $< 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

1.2 流化床生物滤器

流化床生物滤器装置结构如图 2 所示,布水方式采用底部双切向进水方式,两路进水成 180° ,优化了滤器内部的流态,形成的漩涡流推动床层均匀向上膨胀.滤器由床层膨胀区和悬浮物沉淀区两部分组成.其中,床层膨胀区直径 0.5 m,高 1.2 m,上部设有自清洗组件,由一“米”字形吸料管及增压泵组成,主要对表层滤料进行清洗.悬浮物沉淀区位于滤器上部分,直径 0.8 m,高 0.4 m,主要起物理沉淀作用,沉淀养殖水体中的颗粒物及部分滤料.



1. 排水口; 2. 沉淀区; 3. 排污口; 4. 膨胀区; 5. 进水口 1;
6. 排砂口; 7. 增压泵; 8. 进水口 2; 9. “米”字形吸料管

图 2 流化床生物滤器装置结构示意

Fig. 2 Structure diagram of fluidized-sand biofilter

1.3 填料性质

选择粒径为 0.4 ~ 0.6 mm 的玻璃微珠作为流化床生物滤器的填料,该填料的主要成分为 SiO_2 ,

密度 $2.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, 比表面积高达 $10\,000 \sim 20\,000 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$. 此填料均一性好, 且耐磨, 利于形成固液相的高湍流现象, 促进填料表面细菌的生长, 进而提升了固液相之间的传质.

1.4 试验设计

采用直接挂膜法启动流化床生物滤器, 生物膜成熟后, 设定床层膨胀率 150%, 滤器的进水流量 $(7 \pm 0.2) \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, 将流化床生物滤器运行半个月, 监测滤器进出水营养盐的变化情况. 待滤器对营养盐的去除率稳定后, 设计 2 组 NH_4^+ -N 和亚硝氮浓度 (NO_2^- -N), 监测滤器不同沿程 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 变化情况, 连续监测半个月. 而后, 在流化床生物滤器运行至 70 d 时, 连续采集滤器进出口的水样 1 个月, 分析流化床生物滤器对 NH_4^+ -N、氨氮去除负荷、硝氮 (NO_3^- -N)、 BOD_5 、总氮 (TN) 和 SS 的去除效果.

生物膜样品共采集 4 次, 取样 8 个, 采样点分别为滤器表层区域和底层区域, 取样时间分别为滤器挂膜期 1 次 (滤器运行时间 10 d), 滤器稳定运行期 3 次, 其中, 关闭自清洗装置时 1 次, 开启自清洗装置时 2 次 (滤器运行时间分别为 40、70、100 d). 表层区域不同时间段的样品编号分别记为 B1、B2、B3、B4, 统称为组 1 (group 1), 底层区域不同时间段的样品编号分别记为 D1、D2、D3、D4, 统称为组 2 (group 2).

试验在中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所如东中试基地开展, 试验时间为 2015 年 7 月 15 日至 2016 年 4 月 30 日.

1.5 样品预处理及总 DNA 提取

8 个样品采集完毕后, 将样品放置冰上进行融化, 而后取 50 g 样品置于 50 mL 离心管, 并注入 PBS 缓冲液, 高速涡旋振荡 5 min, 反复操作 10 次. 然后收集水样, 将水样在 $15\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min, 取沉淀物用于总 DNA 提取. 总 DNA 采用 E. Z. N. A. Soil DNA 试剂盒 (美国 Omega Bio-tek 公司) 按照试剂盒上的说明书进行提取. 提取的 DNA 用 1% 琼脂凝胶电泳进行检测.

1.6 样品测序

采用细菌通用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对样品 16S rRNA 的 V3 ~ V4 区域进行 PCR 扩增. PCR 反应体系为 20 μL , 反应条件为 95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 45 s, 28 个循环, 72℃ 延伸 10 min. 而后, 将扩增产物使用 2% 琼脂糖进行

凝胶电泳分析, 若 PCR 产物目的条带大小正确, 浓度合适, 则将扩增产物在 Illumina-MiSeq 平台上进行高通量测序. 样品由上海美吉生物医药科技有限公司进行测序分析.

1.7 水质测定方法

温度和溶解氧采用美国 YSI 多参数水质分析仪测定. NO_2^- -N 采用萘乙二胺分光光度法, NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 和 TN 采用哈希试剂盒测试. BOD_5 采用稀释与接种法, SS 采用重量法, 氨氮的去除负荷 [volumetric TAN removal rate, VTR, $\text{g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$] 的计算公式^[17] 分别为:

$$\text{VTR} = Q \times 24 \times (c_{\text{in}} - c_{\text{out}}) / V$$

式中, c_{in} 为进水氨氮浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; c_{out} 为出水氨氮浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Q 为进水流量, $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$; V 为不同床层膨胀率下填料的膨胀体积, m^3 .

水质试验数据采用 SPSS 10.0 软件进行方差分析, 用 Origin 8.0 软件作图.

1.8 生物信息学分析

根据 Index 序列区分各个样本的数据, 将其以 fastq 格式保存, 利用 Qiime (version 1.9.1) 对数据进行检测并去除嵌合体序列. 利用 Uparse (version 7.1) 对样品有效序列进行聚类, 默认将 97% 相似水平的序列类聚成操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU). 采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 OTU 进行分类学分析, 并将 OTU 选取的代表性序列与 silva (SSU123) 库进行对比^[18].

利用 Mothur 软件构建稀释性曲线 (rarefaction curve)^[19], 并计算 Shannon 指数及 Chao1 指数^[20]. 利用 Qiime 计算样品 β 多样性距离矩阵, 用 R 语言 vegan 软件包, 基于 Bray-Curtis 算法计算距离矩阵, 分析主坐标分析^[21] (principal co-ordinates analysis, Pcoa), 并采用非加权组平均法 (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA) 构建多样本相似度树状图.

2 结果与分析

2.1 生物滤器挂膜情况

流化床生物滤器采用自然流水法进行生物挂膜, 养殖水体中初始 NH_4^+ -N 浓度低于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 生物滤器挂膜期间 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的变化情况如图 3 所示, 随着挂膜天数的增加, 出水 NH_4^+ -N 浓度及 NO_2^- -N 浓度低于进水, 表明硝化细菌群正逐步形成, NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 逐渐被转化. 滤器挂膜 1 个月后,

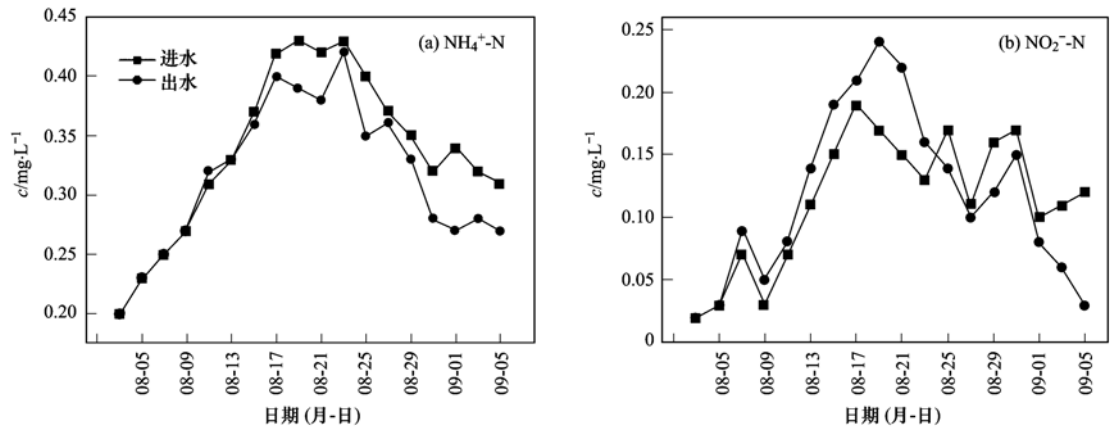


图3 新型流化床生物滤器挂膜期间 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的变化情况

Fig. 3 Changes in NH_4^+-N and NO_2^--N during cultivation with new style of fluidized-sand biofilter

滤料的颜色自下而上变成深灰色,此时经该生物滤器处理后的 NH_4^+-N 浓度低于 $0.26\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NO_2^--N 浓度低于 $0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,说明生物膜已开始成熟^[22].

2.2 流化床生物滤器不同沿程 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 变化情况

图4显示了流化床不同床层高度下 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的浓度变化情况.在2组初始 NH_4^+-N 浓度工

况下,养殖水体中的 NH_4^+-N 浓度在床层底部至30 cm处下降最快,而后趋于平缓. NO_2^--N 浓度变化也显出相同的趋势,说明滤器的硝化作用主要发生于滤器的底部区域,表层区域对其的贡献率不显著.对溶解氧的监测表明,溶解氧浓度从底部区域向表层区域逐渐降低,说明溶解氧浓度影响滤器的硝化作用.

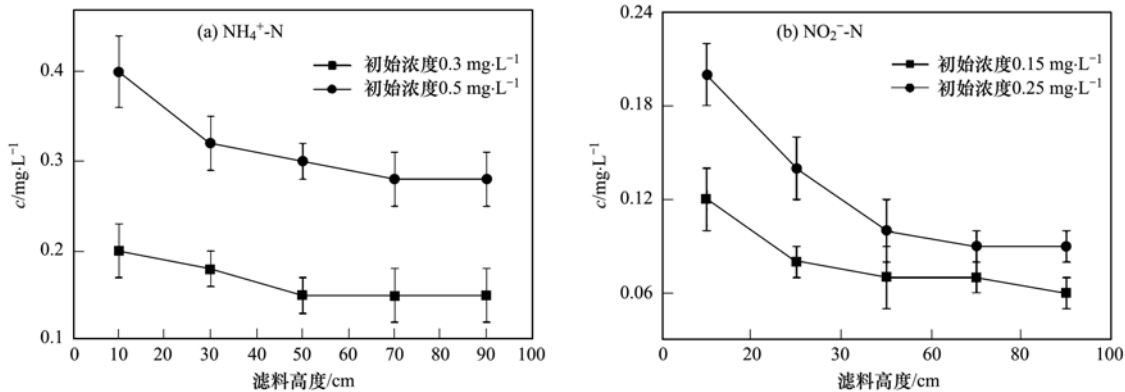


图4 流化床生物滤器不同床层高度下 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 浓度变化情况

Fig. 4 Changes in NH_4^+-N and NO_2^--N at different depths of the fluidized-sand biofilter

2.3 流化床生物滤器水处理性能分析

表1显示了流化床生物滤器在稳定运行工况下的水处理性能,结果表明,滤器对 NH_4^+-N 、TN、 BOD_5 和SS的去除率达到了 $(68.3 \pm 2.24)\%$ 、 $(49.54 \pm 3.56)\%$ 、 $(60.35 \pm 4.98)\%$ 和 $(45.21 \pm 2.11)\%$,对TAN的去除负荷达到了 $(343.28 \pm 75.5)\text{ g}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$.该水质可满足斑石鲷的生长,由于滤器上部悬浮物沉淀区的存在,本装置对SS的去除率显著高于传统生物滤器,有效减轻了系统对悬浮物的去除压力,并且有助于提升滤器的硝化作用^[23].

2.4 流化床生物滤器中细菌群落的多样性

对各样品所测结果整理分析,发现样品的有效

序列超过20 000条,有效 OTU 在 234 ~ 473 之间.由表2可知,挂膜期样品(B1和D1)的 OTU 数量显著少于生物膜成熟期,底层区域样品(D1)的 OTU 数量多于表层区域样品(B1),说明挂膜阶段细菌先附着于底层区域的填料. Chao1 指数和 Shannon 指数表明 B1 和 D1 样品的物种丰富度和多样性均低于其他样品,说明挂膜期载体表面的细菌较少.当开启自清洗装置后,表层区域样品(B3和B4)的物种丰富度和多样性多于 B1 及 B2,说明在该开启自清洗装置有助于增加表层填料细菌的附着量,而底层区域的 Chao1 指数和 Shannon 指数在启停自清洗装置工况时变化不明显.各样品的覆盖率都超过

0.99,说明样品中序列没有被测出的概率极低,即本次测序结果代表了样品中细菌的真实情况.

表 1 流化床生物滤器的水处理性能

Table 1 Performance of purifying effluent of fluidized-sand biofilter

水质指标	NH ₄ ⁺ -N	TN	BOD ₅	SS
进水浓度/mg·L ⁻¹	0.41 ± 0.12	6.55 ± 1.25	5.12 ± 1.01	24.11 ± 2.07
出水浓度/mg·L ⁻¹	0.13 ± 0.04	4.38 ± 1.44	2.03 ± 0.13	13.21 ± 1.77
去除率/%	68.3 ± 2.24	49.54 ± 3.56	60.35 ± 4.98	45.21 ± 2.11

表 2 不同样品细菌群落的多样性

Table 2 Microbial community diversity of the different samples

样品	有效序列	有效 OTU	Chao1 指数	Shannon 指数	覆盖率
B1	26792	234	292	1.74	0.998
B2	36766	325	400	3.48	0.993
B3	38374	473	601	4.49	0.995
B4	20504	444	511	4.33	0.997
D1	35541	357	407	3.48	0.996
D2	32916	324	422	3.91	0.996
D3	34863	378	534	4.05	0.996
D4	32378	393	485	4.17	0.997

2.5 流化床生物滤器群落结构分析

表 3 显示了不同样品载体表面细菌群落门水平的变化,从中可知,在流化床生物滤器挂膜期,表层区域的优势细菌为绿弯菌门(Chloroflexi,29.31%) 和酸杆菌门(Actinobacteria,29.65%),而底层区域的优势细菌为拟杆菌门(Bacteroidetes,54.03%).生物膜成熟后滤器稳定运行工况下,载体表面门水平的细菌种类分布更加丰富与均衡,共筛选出 31 个门,其中各工况下所占比例超过 5% 的细菌共筛选出 6 个门,分别为变形菌门(Proteobacteria,29.2% ~ 38.05%),拟杆菌门(Bacteroidetes,16.81% ~

33.76%),绿弯菌门(Chloroflexi,6.2% ~ 24.18%), 酸杆菌门(Actinobacteria,3.37% ~ 12.66%),硝化螺旋菌门(Nitrospirae,0.89% ~ 14.36%),疣微菌门(Verrucomicrobia,0.05% ~ 5.88%).生物滤器在运行过程中,各个时期的细菌种群有一定的变化,如绿弯菌门(Chloroflexi)在挂膜初期是表层区域的优势种群,在其他时期所占比例显著减少,而硝化螺旋菌门(Nitrospirae)呈现逐渐增加的趋势.表层区域与底部区域的细菌种群所占比例也有所区别,如硝化螺旋菌门(Nitrospirae),底部区域所占比例显著高于表层.

表 3 不同样品细菌群落结构组成所占比例/%

Table 3 Microbial community composition ratios at the phylum level of the different samples/%

细菌分类	B1	B2	B3	B4	D1	D2	D3	D4
变形菌门(Proteobacteria)	14.73	30.45	29.48	33.7	17.86	38.05	29.96	29.2
拟杆菌门(Bacteroidetes)	15.87	30.13	16.81	33.76	54.03	24.4	22.07	31.52
绿弯菌门(Chloroflexi)	29.31	24.18	30.92	10.9	10.32	10.5	11.17	6.2
酸杆菌门(Actinobacteria)	29.65	3.37	6.18	6.94	8.8	8.56	20.9	12.66
硝化螺旋菌门(Nitrospirae)	0.32	0.89	6.56	7.43	3.1	16.22	12.87	14.36
疣微菌门(Verrucomicrobia)	0.11	5.88	2.22	1.01	4.89	0.72	0.11	0.05
厚壁菌门(Firmicutes)	2.65	0.36	0.82	1.13	0.23	0.34	1.01	4.45
绿菌门(Chlorobi)	1.9	1.87	2.94	1.54	0.13	0.15	0.14	0.16
Candidate_division_WS6	3.62	0.14	2.05	1.53	0.02	0.02	0.1	0.25
others	1.83	2.72	2.02	2.05	0.61	1.03	1.66	1.14
合计	99.99	99.99	100	99.99	99.99	99.99	99.99	99.99

将样品中的细菌继续细分至细菌属可以更深入地了解细菌的种群分布及功能,通过与 silva(SSU123)数据库进行比对,共鉴定出 490 个细菌属,图 5 显示了不同工况下载体表面物种百分比大于 1% 的属水

平分析.从中可知,挂膜期表层区域(B1)丰度最高的细菌为厌氧绳菌科(Anaerolineaceae_uncultured,9.84%),底层区域(D1)丰度最高的细菌为黄杆菌科(Flavobacteriaceae_unclassified,44.68%).在滤

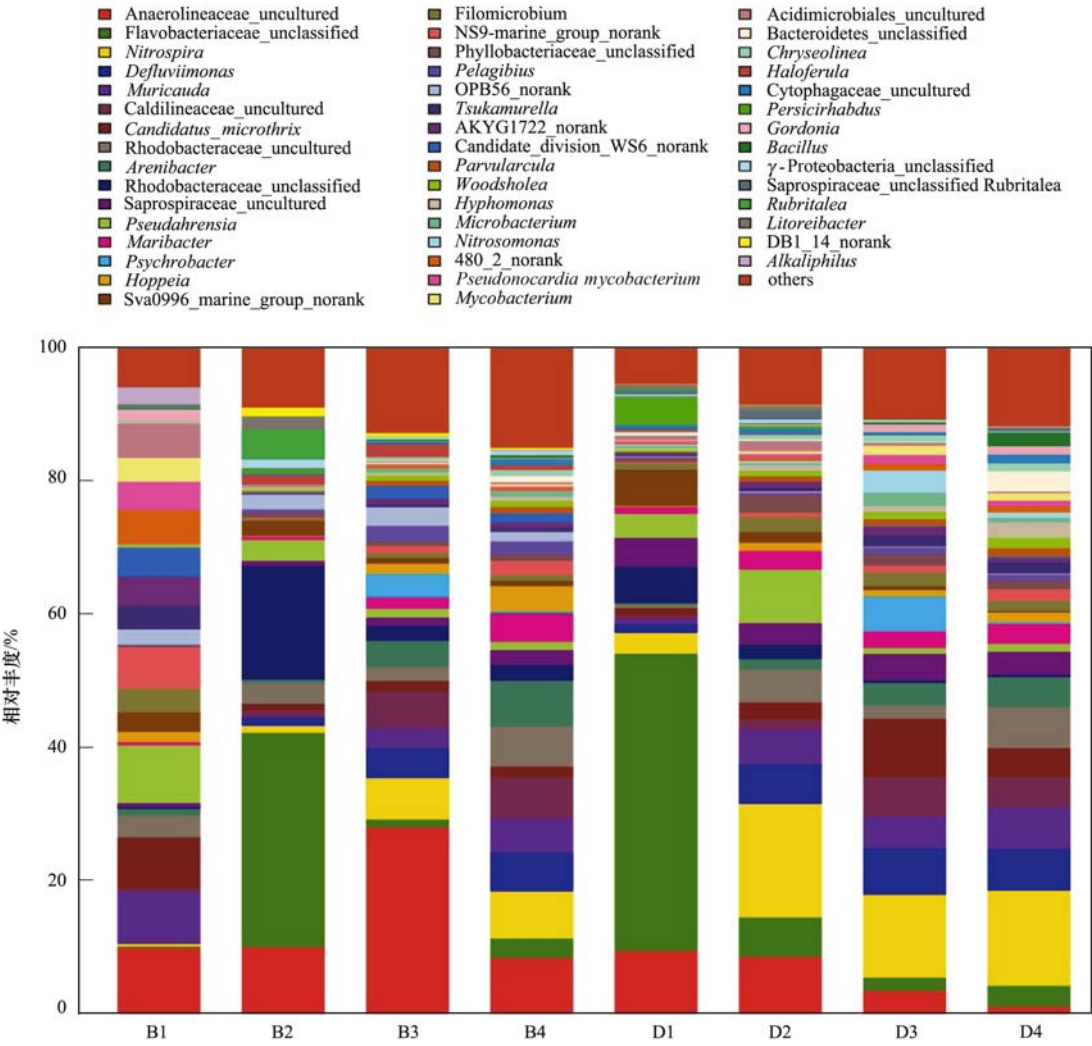


图5 不同样品细菌属水平分析 (>1%)

Fig. 5 Microbial community composition at the genus level for the different samples

器稳定运行时,表层区域的优势细菌基本维持不变,主要包括厌氧绳菌科(Anaerolineaceae_uncultured, 8.4% ~ 28%)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae_unclassified, 1.1% ~ 32%)、红杆菌科(Rhodobacteraceae_uncultured, 2.3% ~ 17%)、硝化螺菌属(Nitrospira, 1% ~ 7%)、暖绳菌科(Caldilineaceae_uncultured, 1% ~ 6%)。而底层区域的优势细菌随着时间的推移有所变化,主要包括硝化螺菌属(Nitrospira, 12.45% ~ 17.06%),微丝菌属(Candidatus_microthrix, 2.6% ~ 8.8%)、Muricauda (4.8% ~ 6.3%)、Defluviimonas (6% ~ 7%)、红杆菌科(Rhodobacteraceae_uncultured, 2% ~ 6.2%)。开启或关闭自清洗装置对不同滤器中的不同区域载体表面细菌的多样性没有影响,对各样品的优势菌群略有影响。另外,筛选出一批丰度不高,但在水处理中起重要作用的功能性细菌,如亚硝化单胞菌

(Nitrosomonas, 0.04% ~ 3.3%),芽胞杆菌属(Bacillus, 0.1% ~ 2%)等。

2.6 各样品细菌群落的相似性分析

PCoA分析是一种非约束性的数据降维分析方法,可用来研究样本群落组成的相似性或差异性。由图6(a)可知,B1样品与其他样品相似性最低,说明表层滤料载体表面的细菌群落随着时间的推移,物种进行了一定的更替。当滤器稳定运行期间,在不开启自清洗装置工况下,表层滤料和底部滤料的相似性较高(B2和D2),在定期开启自清洗装置工况下,滤器中细菌种群与之前工况相比差异性较高(B2和B3及B4; D2和D3及D4),而在该工况下运行一段时间发现,滤器中各样品的相似性较高(B3、B4、D3和D4),并且由聚类分析图可知,随着滤器的运行,表层滤料及底层滤料表面的细菌未发生显著的变化,即样品间的相似性较高(B3和B4;

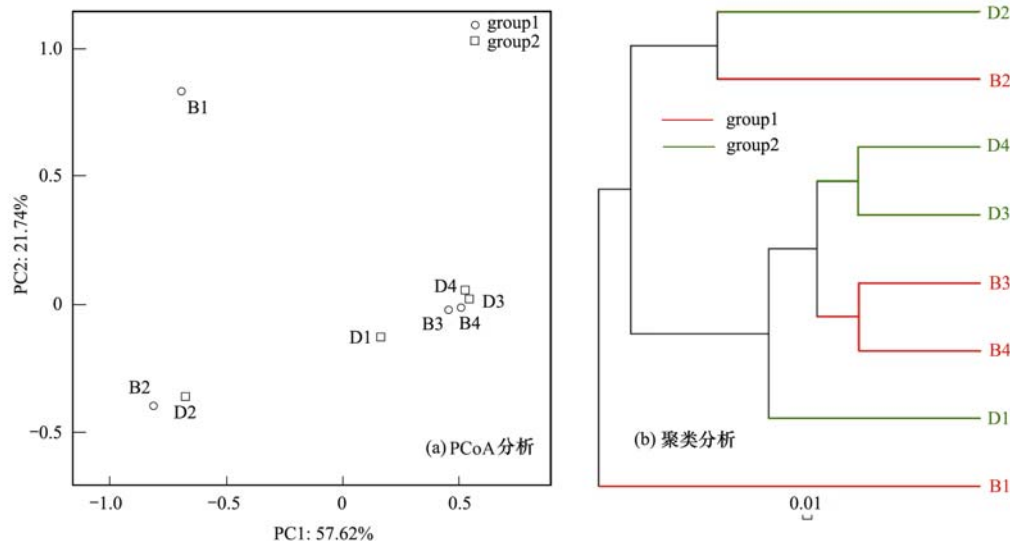


图6 不同样品 PCoA 分析和聚类分析

Fig. 6 PCoA and hierarchical cluster analysis plots of the different samples

D3 和 D4),说明定期开启自清洗不影响滤料表面细菌的生长及繁殖。

3 讨论

3.1 流化床生物滤器挂膜时间分析

在海水工况下,养殖水体中的营养盐负荷较低,常规生物滤器存在挂膜时间长和运行性能不稳定等问题。本试验装置经过1个月的自然挂膜,即可实现成功启动,挂膜时间显著短于其他学者研究^[22,24]。一方面可能是选择的填料比表面积较高,为细菌生长与繁殖提供了足够的场所,另一方面可能是合理的布水结构为滤器创造一个良好的流态,并且定期开启自清洗装置,提升了基质和氧及营养盐的传递效率,进而提高了滤器的水处理性能。

3.2 流化床生物滤器净水机制分析

通过水化学检测分析, NH_4^+ -N和 NO_2^- -N浓度在床层底部至30 cm处下降最快,而后趋于平缓,说明滤器的底部区域对 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N的去除效果明显,表层对其的贡献率不显著。通过高通量测序分析,滤器中主要的功能性细菌,如硝化螺菌属和亚硝化单胞菌等,主要集中于滤器的底部区域,表层所占的比例相对较少,说明滤器的硝化作用主要在底部区域。原因可能是由于表层的滤料附着了过量的悬浮物,导致生物膜过厚,不利于功能性细菌的附着与生长,进而影响了基质与营养盐的传递效率。另一方面,溶解氧浓度从底部到表层是逐渐降低的,故在底部区域好氧细菌更易随着与生长,特别是硝化螺菌属等功能性细菌。罗荣强等^[25]对海水生物滤器

氨氮沿程转化规律模型研究表明,生物滤器中氨氮的去除主要发生在填料高度0~10 cm处,10~70 cm处氨氮去除量很少,本试验结果与其相似。

开启自清洗装置可增加底部区域和表层区域滤料的相互接触,在碰撞的过程中,滤料表面的微生物可能会发生变化。通过高通量测序发现,自清洗装置的启停对滤器内部不同区域载体表面细菌的多样性没有显著影响,对各样品的优势菌群略有影响。在开启自清洗装置情况下,表层区域的Anaerolineaceae_uncultured和Nitrospira显著增加,而Flavobacteriaceae_unclassified和Defluviimonas显著减少。在定期开启自清洗装置工况下,表层区域和底部区域的细菌种类的相似性显著提高,随着时间的推移,表层区域和底部区域载体表面的细菌未发生显著改变,种群结构较为稳定,说明开启自清洗装置有助于提升装置的性能。

在稳定工况下,流化床生物滤器对氨氮的去除负荷达到了 $(343.28 \pm 75.5) \text{ g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,对 NH_4^+ -N、TN、 BOD_5 和SS也保持了较高的去除率。Liu等^[26]研究了微珠生物滤器,以直径2~3 mm微珠为滤料,当氨氮浓度为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,滤器对氨氮的平均去除负荷 $172 \text{ g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 。本试验结果显著优于前人研究。通过高通量测序,本试验共筛选31个门,490个细菌属,其生物多样性显著高于常规生物滤器^[27],说明选用该填料有助于微生物的附着与生长。其中,筛选出的Nitrospira所占比例显著高于其他学者的研究结果^[28,29],证实了该生物滤器可实现较高的硝化性能,特别是在海水养殖等寡营养条件

下,能显示出其性能的优越性. 国外学者^[30]对海水循环水养殖系统中生物滤器的细菌种类研究表明,主要氨氮化细菌为 *Nitrosomonas* 和 *Nitrosococcus*, 主要亚硝酸盐氧化细菌为 *Nitrospira*, 本试验结果与其相似. 另外,筛选出了一批丰度不高,但对养殖水体中营养盐的去除起关键作用的功能性细菌. 黄杆菌属(*Flavobacterium*)是一类兼性厌氧细菌,能在低氧情况下将硝酸盐转化成各种还原性产物,进而降低养殖水体中的氮含量. 占 α -Proteobacteria 纲一定比例的 *Rhodobacter* 菌属是一种紫色非硫细菌(purple nonsulfur bacteria),能利用多种有机物作为碳源进行异养的光合代谢反应,降低水体中 BOD_5 浓度^[27].

4 结论

(1)在海水养殖工况下,流化床生物滤器经过 1 个月的自然挂膜,即可成功启动. 稳定运行期,滤器对 NH_4^+-N 、TN、 BOD_5 和 SS 的去除率达到了 $(68.3 \pm 2.24)\%$ 、 $(49.54 \pm 3.56)\%$ 、 $(60.35 \pm 4.98)\%$ 和 $(45.21 \pm 2.11)\%$,对氨氮的去除负荷达到了 $(343.28 \pm 75.5) \text{g} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,其硝化性能优于常规生物滤器.

(2)流化床生物滤器的硝化作用主要发生于床层下部,表层对其的贡献率不显著. 自清洗装置的启停对不同滤器中的不同区域载体表面细菌的多样性没有影响,对各样品的优势菌群略有影响. 在定期开启自清洗装置工况下,表层区域和底部区域的细菌种类的相似性显著提高,随着时间的推移,表层区域和底部区域载体表面的细菌未发生显著改变,种群结构较为稳定.

(3)本试验共筛选 31 个门,490 个细菌属,在挂膜期,细菌群落的多样性显著少于生物膜成熟期. 在滤器稳定运行时,表层区域的优势细菌基本维持不变,主要包括厌氧绳菌科、黄杆菌科、红杆菌科、硝化螺菌属、暖绳菌科. 而底层区域的优势细菌随着时间的推移有所变化,主要包括硝化螺菌属、微丝菌属、*Muricauda*、*Defluviimonas* 和红杆菌科.

参考文献:

- [1] Tsukuda S, Christianson L, Kolb A, et al. Heterotrophic denitrification of aquaculture effluent using fluidized sand biofilters[J]. Aquacultural Engineering, 2015, **64**: 49-59.
- [2] 张海耿, 张宇雷, 张业韡, 等. 循环水养殖系统中流化床水处理性能及硝化动力学分析[J]. 环境工程学报, 2014, **8** (11): 4743-4750.
Zhang H G, Zhang Y L, Zhang Y W, et al. Performance of purifying effluent and nitrification kinetics of fluidized-sand biofilter in recirculating aquaculture system[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, **8**(11): 4743-4750.
- [3] Summerfelt S T. Design and management of conventional fluidized-sand biofilters[J]. Aquacultural Engineering, 2006, **34**(3): 275-302.
- [4] Liu Y, Song X F, Liang Z L, et al. Application of CFD modeling to hydrodynamics of cyclobio fluidized sand bed in recirculating aquaculture systems[J]. Journal Ocean University of China, 2014, **13**(1): 115-124.
- [5] 柳瑶, 宋协法, 梁振林, 等. 工厂化循环水养殖中生物流化床的流化特性研究[J]. 中国海洋大学学报, 2014, **44**(1): 41-45.
Liu Y, Song X F, Liang Z L, et al. Study on fluidization characteristics of Cyclo-Bio fluidized sand biofilters in aquaculture recirculating system [J]. Periodical of Ocean University of China, 2014, **44**(1): 41-45.
- [6] 张海耿, 吴凡, 张宇雷, 等. 涡旋式流化床生物滤器水力特性试验[J]. 农业工程学报, 2012, **28**(18): 69-74.
Zhang H G, Wu F, Zhang Y L, et al. Hydraulic characteristics of swirling fluidized-sand biofilter [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, **28**(18): 69-74.
- [7] Zhang C Y, Wang L, Yan N, et al. Air-lift internal loop biofilm reactor for realized simultaneous nitrification and denitrification [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2013, **36**(5): 597-602.
- [8] Li H, Huang S B, Wei Z D, et al. Performance of a new suspended filler biofilter for removal of nitrogen oxides under thermophilic conditions and microbial community analysis [J]. Science of the Total Environment, 2016, **562**: 533-541.
- [9] Michaud L, Lo Giudice A, Troussellier M, et al. Phylogenetic characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system[J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, **107**(6): 1935-1946.
- [10] Tal Y, Watts J E M, Schreier H J. Anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria and associated activity in fixed-film biofilters of a marine recirculating aquaculture system[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(4): 2896-2904.
- [11] Zhu P, Ye Y F, Pei F F, et al. Characterizing the structural diversity of a bacterial community associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of *Scortum barcoo* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2012, **58**(3): 303-310.
- [12] Sugita H, Nakamura H, Shimada T. Microbial communities associated with filter materials in recirculating aquaculture systems of freshwater fish[J]. Aquaculture, 2005, **243**(1-4): 403-409.
- [13] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. 环境科学, 2016, **37**(7): 2652-2658.
Chen Z J, Zhang H Q, Wang Y Q, et al. Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on high-throughput Sequencing[J]. Environmental Science, 2016, **37**(7): 2652-2658.
- [14] 端正花, 潘留明, 陈晓欧, 等. 低温下活性污泥膨胀的微生物群落结构研究[J]. 环境科学, 2016, **37**(3): 1070-1074.
Duan Z H, Pan L M, Chen X O, et al. Changes of microbial

- community structure in activated sludge bulking at low temperature[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(3): 1070-1074.
- [15] 宋云龙, 张金松, 朱佳, 等. 基于高通量测序的微生物强化污泥减量工艺中微生物群落解析[J]. *中国环境科学*, 2016, **36**(7): 2099-2107.
- Song Y L, Zhang J S, Zhu J, *et al.* Analysis of microbial community in in-situ sludge reduction process by bioaugmentation using high-throughput sequencing technology [J]. *China Environmental Science*, 2016, **36**(7): 2099-2107.
- [16] 梅楚刚, 王洪程, 咎林森, 等. 基于高通量测序的动物基因组研究进展[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2016, **44**(3): 43-51.
- Mei C G, Wang H C, Zan L S, *et al.* Research progress on animal genome research based on high-throughput sequencing technology[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2016, **44**(3): 43-51.
- [17] Pfeiffer T J, Wills P S. Evaluation of three types of structured floating plastic media in moving bed biofilters for total ammonia nitrogen removal in a low salinity hatchery recirculating aquaculture system [J]. *Aquacultural Engineering*, 2011, **45**(2): 51-59.
- [18] Quast C, Priesse E, Yilmaz P, *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, **41**(D1): D590-D596.
- [19] Amato K R, Yeoman C J, Kent A, *et al.* Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes[J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(7): 1344-1353.
- [20] Schloss P D, Gevers D, Westcott S L. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(12): e27310.
- [21] Wang Y, Sheng H F, He Y, *et al.* comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of Illumina Tags[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, **78**(23): 8264-8271.
- [22] 傅雪军, 马绍赛, 曲克明, 等. 循环水养殖系统生物挂膜的消氨效果及影响因素分析[J]. *渔业科学进展*, 2010, **31**(1): 95-99.
- Fu X J, Ma S S, Qu K M, *et al.* Ammonia removal by bio-film and its impact factors in recirculation aquaculture systems[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, **31**(1): 95-99.
- [23] Zhu S M, Chen S L. Effects of organic carbon on nitrification rate in fixed film biofilters[J]. *Aquacultural Engineering*, 2001, **25**(1): 1-11.
- [24] 柳瑶, 宋协法, 雷霖霖, 等. 循环水养殖旋转式生物流化床生物过滤功能[J]. *农业工程学报*, 2015, **31**(3): 249-254.
- Liu Y, Song X F, Lei J L, *et al.* Biofiltration of cyclo-bio fluidized sand bed in recirculating aquaculture system [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, **31**(3): 249-254.
- [25] 罗荣强, 侯沙沙, 沈加正, 等. 海水生物滤器氨氮沿程转化规律模型[J]. *环境科学*, 2012, **33**(9): 3189-3196.
- Luo R Q, Hou S S, Shen J Z, *et al.* Model of regularity of ammonia transformation along marine biological aerated filter[J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(9): 3189-3196.
- [26] Liu H, Che X, Zhang Y L. Performance of sequencing microbead biofilters in a recirculating aquaculture system [J]. *Aquacultural Engineering*, 2013, **52**(2): 80-86.
- [27] 黄志涛, 宋协法, 李勋, 等. 基于高通量测序的石斑鱼循环水养殖生物滤池微生物群落分析[J]. *农业工程学报*, 2016, **32**(S1): 242-247.
- Huang Z T, Song X F, Li X, *et al.* Analysis of microbial diversity of submerged biofilters in recirculating aquaculture system (RAS) for grouper (*Epinephelus moara*) based on high-throughput DNA sequencing[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016, **32**(S1): 242-247.
- [28] Lee D E, Lee J, Kim Y M, *et al.* Uncultured bacterial diversity in a seawater recirculating aquaculture system revealed by 16S rRNA gene amplicon sequencing[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, **54**(4): 296-304.
- [29] Zhu X B, Tian J P, Liu C, *et al.* composition and dynamics of microbial community in a zeolite biofilter-membrane bioreactor treating coking wastewater [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(19): 8767-8775.
- [30] Schreier H J, Mirzoyan N, Saito K. Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2010, **21**(3): 318-325.

CONTENTS

Evaluation and Development of a Weighing Chamber by Using Saturated MgCl_2 Solution	LI Xiao-xiao, ZHANG Qiang, DENG Jian-guo, <i>et al.</i> (3095)
Characteristics Research on Carbonaceous Component of Particulate Matter Emitted from Iron and Steel Industry	ZHANG Jin-sheng, WU Jian-hui, MA Xian, <i>et al.</i> (3102)
Pollution Characteristics and Source Identification of PAHs in Atmospheric $\text{PM}_{2.5}$ in Changzhou City	GU Ai-jun, LIU Jia-shu, LUO Shi-peng, <i>et al.</i> (3110)
Atmospheric Dry Deposition Fluxes and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Lanzhou Valley, Northwest China	JU Yuan-li, LIU Pan-liang, YU Zhou-suo, <i>et al.</i> (3120)
Characteristics and Sources of Elements in Atmospheric Dust Fall in Zhuzhou City, Central China	WANG Shi-hao, ZHANG Kai, CHAI Fa-he, <i>et al.</i> (3130)
Atmospheric Pollutant Emission Characteristics from the Cooking Process of Traditional Beijing Roast Duck	XU Min, HE Wan-qing, NIE Lei, <i>et al.</i> (3139)
Exhaust Emission Characteristics of Typical Alkanes from Heavy-Duty Diesel Vehicles Based on a Portable Emission Measurement System	SHI Chun-zhen, HAO Xue-wei, SHEN Xian-bao, <i>et al.</i> (3146)
PM_{10} Concentration Forecasting Model Based on Wavelet-SVM	WANG Ping, ZHANG Hong, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (3153)
Emission Factors and Preliminary Emission Estimates of Air Pollutants from Ships at Berth in the Guangzhou Port	HUANG Xue-liang, ZHANG Zhou, YANG Wei-qiang, <i>et al.</i> (3162)
Influence of Dust Events on the Concentration and Size Distribution of Microorganisms in Bioaerosols	LI Hong-tao, Qi Jian-hua, DONG Li-jie, <i>et al.</i> (3169)
Odor Emission Characteristics and Pollution Evaluation from Typical Household Rubbish Disposal Facilities	LU Hui-jie (3178)
Perfluorinated Compounds in Snow from Downtown Hangzhou, China	ZHANG Ming, TANG Fang-liang, YU Ya-yun, <i>et al.</i> (3185)
Fluorescence Characterization of Fractionated Colloids in Wastewaters Received by Huangpu River	NIE Ming-hua, YAN Cai-xia, YANG Yi, <i>et al.</i> (3192)
Sources of Organic Carbon in the Surface Water of Lijiang River	ZHAO Hai-juan, XIAO Qiong, WU Xia, <i>et al.</i> (3200)
Impacts of Thermal Stratification on the Hydrochemistry and Dissolved Inorganic Carbon in a Typical Karst Reservoir in Summer	WU Fei-hong, PU Jun-bing, LI Jian-hong, <i>et al.</i> (3209)
Comparison of Heavy Metal Contamination Characteristics in Surface Water in Different Functional Areas; A Case Study of Ningbo	XU Mei-juan, TONG Gui-hua, SUN Dan, <i>et al.</i> (3218)
Comparison of Identification Methods of Main Component Hydrochemical Anomalies in Groundwater; A Case Study of Liujiang Basin	ZHANG Xiao-wen, HE Jiang-tao, PENG Cong, <i>et al.</i> (3225)
Biotic and Abiotic Uptake of Phosphorus in Benthic Sediments of Suburban Streams Under Intense Human Disturbance Scenario	LI Ru-zhong, YE Zhou, GAO Su-di, <i>et al.</i> (3235)
Sedimentary Phosphorus Speciation in the Coastal Hypoxic Area of Changjiang Estuary and Its Environmental Significance	LIU Jun, ZANG Jia-ye, RAN Xiang-bin, <i>et al.</i> (3243)
Characteristics and the Relationship of Nitrogen and Phosphorus in Soil and Water of Different Land Use Types of a Small Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	CHEN Cheng-long, GAO Ming, MU Zhi-jian, <i>et al.</i> (3254)
Characteristics of Carbon Transportation Under Rainfall Events and Associated Carbon Loss Evaluation in Loess Plateau, China; A Case Study of Yangjuangou Dam Watershed	E Xin-hui, WANG Ya-feng, GAO Yang, <i>et al.</i> (3264)
New Bromated Phenolic Disinfection Byproducts: Mechanism of Their Decomposition During Chlorination	LI Huan, LI Zheng-kui, LI Ai-min, <i>et al.</i> (3273)
Effects of Algal Morphology and Al Species Distribution on the Coagulation-Ultrafiltration Process	ZHANG Da-wei, XU Hui, WANG Xi, <i>et al.</i> (3281)
Functional Group Characteristics of Planktonic Diatoms and Their Relationship with Environmental Factors in the Ruxi River	XIANG Rong, LI Qiao-yu, YU Yi, <i>et al.</i> (3290)
Spatiotemporal Variations of Chlorophyll <i>a</i> and Its Relationship to Environmental Factors in Shiyan Reservoir	SONG Yun-long, ZHANG Jin-song, Guo Xiao-ya, <i>et al.</i> (3302)
Rhizosphere Microbial Diversity in Different Wetland Microcosms	WANG Lin, LI Bing, YU Jia-hui, <i>et al.</i> (3312)
Community Structure of Microorganisms and Its Seasonal Variation in Beihai Lake	ZHANG Ya-jie, LI Ke, ZHU Hao-ran, <i>et al.</i> (3319)
Analysis of Microbial Diversity in a Fluidized-Sand Biofilter Based on High-Throughput Sequencing Technology	ZHANG Hai-geng, SONG Hong-qiao, GU Chuan-chuan, <i>et al.</i> (3330)
Analysis of High-efficiency Denitrifying Bacteria and Embedding Filler Performance and Microflora	MENG Ting, YANG Hong (3339)
Selection of Microalgae for Biofuel Using Municipal Wastewater as a Resource	HAN Song-fang, JIN Wen-biao, TU Ren-jie, <i>et al.</i> (3347)
Purification Effect of Piggery Wastewater with <i>Chlorella pyrenoidosa</i> by Immobilized Biofilm-Attached Culture	WANG Yuan-zhu, CHENG Peng-fei, LIU De-fu, <i>et al.</i> (3354)
Combination of Microbubble Catalytic Ozonation and Biological Process for Advanced Treatment of Biotreated Coal Chemical Wastewater	LIU Chun, ZHOU Hong-zheng, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (3362)
Effect of pH Shock on Nitrogen Removal Performance of Marine Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria Treating Saline Wastewater	YU De-shuang, ZHOU Tong, LI Jin, <i>et al.</i> (3369)
Removal of Nitrogen from Alcohol Wastewater by PN-ANAMMOX	ZHOU Zheng, LIN Xing, WANG Fan, <i>et al.</i> (3377)
Biorecovery of Palladium from Simulated Wastewaters and Its Catalytic Property for Methylene Blue	KANG Nai-xin, ZHU Neng-wu, GUO Wen-ying, <i>et al.</i> (3385)
Investigation of Initiation and Shock Process of ANAMMOX Based on Color Space	WANG Li-jun, LI Zhi-hua, HAN Dong, <i>et al.</i> (3393)
Fast Start-up of Shortcut Nitrification in a CSTR and an MBR	ZHANG Ting, WU Peng, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (3399)
Conversion Pathways of Substrates in Sulfate-Reducing Ammonia Oxidation System	WANYAN De-qing, HUANG Yong, BI Zhen, <i>et al.</i> (3406)
Effect of Different TOC to NH_4^+ -N Ratios on Nitrogen Removal Efficiency in the ANAMMOX Process	WANG Fan, LIU Kai, LIN Xing, <i>et al.</i> (3415)
Effects of Salinity on the Operation of EGSB Reactors and the Anaerobic Granular Sludge	TAN Xiao, HUANG Liang, YANG Ping, <i>et al.</i> (3422)
Start-up of Granule CANON Process and the Strategy for Enhancing Total Nitrogen Removal Rate	SUN Yan-fang, HAN Xiao-yu, ZHANG Shun-jun, <i>et al.</i> (3429)
Effect of Extracellular Polymeric Substance (EPS) on the Adsorption of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) onto Activated Sludge	LIU Xin-tong, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3435)
Characteristics of N_2O and NO_x Emissions from Purple Soil Under Different Fertilization Regimes	HU Lei, LIU Yun, ZHU Bo (3442)
Effect of Plastic Film Mulching on Methane Emission from a Vegetable Field	ZHANG Kai-li, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (3451)
Responses of Soil Ammonia Oxidizers to Simulated Warming and Increased Precipitation in a Temperate Steppe of Inner Mongolia	ZHANG Cui-jing, SHEN Ju-peí, SUN Yi-fei, <i>et al.</i> (3463)
Nitrification Activity and Autotrophic Nitrifiers in Long-term Fertilized Acidic Upland Soils	XU Bai-lu, ZHONG Wen-hui, HUANG Qian-ru, <i>et al.</i> (3473)
Effects of CaCO_3 Application on Soil Microbial Nitrogen Cycle in an Acid Soil	GUO An-ning, DUAN Gui-lan, ZHAO Zhong-qiu, <i>et al.</i> (3483)
Responses of Extracellular Enzymes to Nitrogen Application in Rice of Various Ages with Rhizosphere and Bulk Soil	WEI Liang, TANG Zhen-zhu, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3489)
Variation in the Temperature Sensitivity of Surface Litter Respiration and Its Influencing Factors	ZHANG Yan-jun (3497)
Magnetic Properties of Farmland Soils in Arid Regions in Northwest China and Their Environmental Implications	WANG Xin, XIA Dun-sheng, WANG Bo, <i>et al.</i> (3507)
Preparation of Magnetic Biomass Carbon by Thermal Decomposition of Siderite Driven by Wheat Straw and Its Adsorption on Cadmium	ZHANG Ru-yu, LIU Hai-bo, ZOU Xue-hua, <i>et al.</i> (3519)
Effects of Traffic-related Air Pollution Exposure on DNA Methylation	WANG Ting, DING Rui, HUANG Dan-ni, <i>et al.</i> (3529)
Effects of Exogenous Microorganism Inoculation on Efficiency and Bacterial Community Structure of Sludge Composting	YANG Ping-ping, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3536)
Life Cycle Assessment of Traction Lead-acid Batteries for Electric Bikes in China	LIU Wei, TIAN Jin-ping, CHEN Lü-jun (3544)