

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



2019

Vol.40 No.6

第40卷 第6期

目次

北京城区大气金属元素干湿沉降特征	张国忠, 潘月鹏, 田世丽, 王永宏, 熊秋林, 李广, 顾梦娜, 吕雪梅, 倪雪, 何月欣, 黄威, 刘博文, 王跃思	(2493)
北京城郊 PM _{2.5} 中金属元素的污染特征及潜在生态风险评价	徐静, 李杏茹, 张兰, 陈曦, 杨阳, 刘永桥, 赵清	(2501)
上海城区二次气溶胶的形成: 光化学氧化与液相反应对二次气溶胶形成的影响	高杰, 乔利平, 楼晟荣, 严茹莎, 周敏, 刘瑜存, 冯加良, 黄丹丹	(2510)
天津市 2017 年重污染过程二次无机化学污染特征分析	徐虹, 肖致美, 陈魁, 李立伟, 杨宁, 高璟赞, 李源, 孔君, 毕温凯, 邓小文	(2519)
典型非金属矿物制造工艺过程源成分谱特征	赵雪艳, 于高峰, 王信梧, 张向炎, 殷宝辉, 刘盈盈, 王歆华, 杨文, 赵若杰	(2526)
垃圾焚烧厂排放颗粒物组分粒径分布特征	余卓君, 吴建会, 张裕芬, 张进生, 冯银厂, 李蒲	(2533)
天津市春季样方法道路扬尘碳组分特征及来源分析	马妍, 姬亚芹, 国纪良, 赵静琦, 李越洋, 王士宝, 张蕾	(2540)
霾天气下城市气溶胶吸湿性的观测	杨素英, 田芷洁, 张铁凝, 于兴娜, 李艳伟, 安俊琳, 赵秀勇, 李岩, 王梓航, 吴尚	(2546)
宁东能源化工基地大气 PM _{2.5} 中硝基多环芳烃污染特征及呼吸暴露风险	刘攀亮, 剧媛丽, 毛蒲萱, 黄韬, 高宏, 马建民	(2556)
2014 ~ 2016 年间郑州市控制 PM ₁₀ 和 PM _{2.5} 污染的健康效益评估	韩士杰, 王佳, 燕启社, 杨留明, 赵庆炎, 王申博, 李晨, 张轶舜, 张瑞芹	(2565)
1990 ~ 2017 年中国地区气溶胶光学厚度的时空分布及其主要影响类型	刘莹, 林爱文, 覃文敏, 何利杰, 李霄	(2572)
北京春季一次霾-沙天气污染特性与成因分析	王耀庭, 李青春, 郑祚芳, 窦有俊	(2582)
江苏省内河船舶大气污染物排放清单及特征	徐文文, 殷承启, 许雪记, 张玮	(2595)
亚热带稻区大气 NO ₂ 、HNO ₃ 及硝态氮污染特征及干湿沉降	欧阳秀琴, 王波, 沈健林, 朱潇, 王杰飞, 李勇, 吴金水	(2607)
长江源区降水氢氧稳定同位素特征及水汽来源	汪少勇, 王巧丽, 吴锦奎, 何晓波, 丁永建, 王利辉, 胡召富	(2615)
基于高山湖泊沉积记录的贵州北部大气重金属污染历史重建	梁梦瑶, 刘恩峰, 张恩楼, 纪明, 李小林	(2624)
青岛 4 个海水浴场微塑料的分布特征	罗雅丹, 林千惠, 贾芳丽, 徐功娣, 李锋民	(2631)
鄱阳湖湿地候鸟栖息地微塑料污染特征	刘淑丽, 简敏菲, 周隆胤, 李文华, 吴希恩, 饶丹	(2639)
三峡库区消落带土壤溶解性有机质溯源: 基于氮/碳比值的线性双端元源负荷分析	江韬, Joeri Kaal, 梁俭, 刘江, 张耀玲, 王定勇, 魏世强, 赵铮	(2647)
水生生物光合作用对雪玉洞岩溶水体中 CDOM 的影响	范佳鑫, 蒋勇军, 贺秋芳, 王家楠, 何瑞亮, 张彩云, 马丽娜, 汪啟容	(2657)
水化学和环境同位素对济南东源饮用水源地地下水演化过程的指示	张雅, 苏春利, 马燕华, 刘伟江	(2667)
崇左响水地区地下水水质分析及健康风险评价	周巾枚, 蒋忠诚, 徐光黎, 覃小群, 黄奇波, 张连凯	(2675)
云南荞麦地流域地下水水化学特征及物质来源分析	张勇, 郭纯青, 朱彦光, 于爽	(2686)
鄱阳湖流域多尺度 C、N 输送通量及其水质参数变化特征	陆瑶, 高扬, 贾珺杰, 宋贤威, 陈世博, 马明真, 郝卓	(2696)
合流制面源污染传输过程与污染源解析	房金秀, 谢文霞, 朱玉玺, 沈雷, 马玉坤, 李佳, 姜智绘, 李叙勇, 赵洪涛	(2705)
强化浅基质层干植草沟对道路径流的脱氮效果	段进凯, 李田, 张佳炜	(2715)
水源水库暴雨径流过程水体锰的迁移及其影响	邓立凡, 黄廷林, 李楠, 李凯, 吕晓龙, 毛雪静	(2722)
巢湖十五里河沉积物磷吸收潜力及对外源碳的响应	李如忠, 鲍琴, 张瑞钢, 陈慧	(2730)
金盆水库沉积物磷的来源及分布特征	毛雪静, 黄廷林, 李楠, 徐金兰, 苏露, 吕晓龙, 邓立凡	(2738)
水库水体热分层的水质及细菌群落分布特征	王禹冰, 王晓燕, 庞树江, 杨晓明, 刘洋	(2745)
不同水温分层水库沉积物间隙水营养盐垂向分布与细菌群落结构的关系	王慎, 张思思, 许尤, 官卓宇, 杨正健, 刘德富, 马骏	(2753)
表面流人工湿地长期运行后的底泥营养盐累积特征与释放规律	朱伊梦, 姜翠玲, 朱立琴, 杜观超, 高旭, 陈红卫, 李峰东, 张海阔, 张雪, 秦文凯, 李一平	(2764)
针铁矿改性生物炭对砷吸附性能	朱司航, 赵晶晶, 尹英杰, 商建英, 陈冲, 瞿婷	(2773)
改性稻壳生物炭对水溶液中甲基橙的吸附效果与机制	史月月, 单锐, 袁浩然	(2783)
厌氧膜生物反应器处理含盐废水运行效能及膜污染特性	闫欢沙, 许振钰, 金春姬, 邵梦雨, 郭亮, 赵阳国	(2793)
污水处理厂出水有机磷污染特征及强化去除	王小东, 王子文, 陈明飞, 王燕, 王硕, 李激	(2800)
碱度对沸石序批式反应器亚硝化的影响	王瑞鑫, 陈婧, 汪晓军, 胡浩林, Karasuta Chayangkun	(2807)
活性污泥物理结构对呼吸过程的影响	郭耀, 李志华, 杨成建, 王慧娟, 李亚明, 姜阳	(2813)
好氧颗粒污泥处理畜禽养殖沼液污染物的特性	廖杰, 叶嘉琦, 曾志超, 刘琳, 徐开钦, 刘超翔	(2821)
快速城市化区河流温室内空气排放的时空特征及驱动因素	刘婷婷, 王晓峰, 袁兴中, 龚小杰, 侯春丽	(2827)
生物炭对潜流人工湿地污染物去除及 NO ₃ -N 排放影响	邓朝仁, 梁银坤, 黄磊, 方丹丹, 陈玉成, 杜刚	(2840)
曾用抗生素磺胺二甲嘧啶对稻田 N ₂ O 排放的影响及其微生物机制	吴杰, 李志琳, 徐佳迎, 王珏, 蒋静艳	(2847)
不同施氮水平对紫花苜蓿草地土壤呼吸和土壤生化性质的影响	胡伟, 张亚红, 李鹏, 张鹏, 李满友, 尤璟涛, 田水泉	(2858)
典型城市化区域土壤重金属污染的空间特征与风险评价	何博, 赵慧, 王铁宇, 孟晶, 肖荣波, 刘胜然, 周云桥, 史斌	(2869)
西南高锡地质背景区农田土壤与农作物的重金属富集特征	刘意章, 肖唐付, 熊燕, 宁增平, 双燕, 李航, 马良, 陈海燕	(2877)
基于 GIS 和受体模型的枸杞地土壤重金属空间分布特征及来源解析	白一茹, 张兴, 赵云鹏, 王幼奇, 钟艳霞	(2885)
喀斯特地区小尺度农业土壤砷的空间分布及污染评价	汪花, 刘秀明, 刘方, 唐启琳, 王世杰	(2895)
黄土高原不同植被带人工刺槐林土壤团聚体稳定性及其化学计量特征	瞿晴, 徐红伟, 吴旋, 孟敏, 王国梁, 薛蓑	(2904)
秸秆还田配施氮肥对喀斯特农田微生物群落及有机碳矿化的影响	徐学池, 苏以荣, 王桂红, 刘坤平, 胡亚军, 陈香碧, 郑小东, 何寻阳	(2912)
生物炭施用及老化对紫色土中抗生素吸附特征的影响	阴文敏, 关卓, 刘琛, 何杨, 杨飞, 唐翔宇	(2920)
稳定性同位素 DNA-SIP 示踪中性紫色土的氨氧化过程	刘天琳, 王智慧, 闫小娟, 赵永鹏, 贾仲君, 蒋先军	(2930)
纳米银和银离子对土壤中硝化微生物及其氨氧化速率的影响	伍玲丽, 张旭, 舒慧慧, 张丽, 司友斌	(2939)
农田沟道土壤中锰氨氧化 (Mn-ANAMMOX) 过程的探究	陈湜, 李正魁, 覃云斌, 丁帮环, 陈志浩	(2948)
污泥四环素含量对蚯蚓堆肥中氨氧化菌群的影响	吴颖, 黄魁, 夏慧, 陈景阳	(2954)
《环境科学》征订启事 (2929)	《环境科学》征稿简则 (2947)	信息 (2646, 2656, 2857)

农田沟道土壤中锰氨氧化 (Mn-ANAMMOX) 过程的探究

陈湜, 李正魁*, 覃云斌, 丁帮璟, 陈志浩

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

摘要: 二氧化锰介导的厌氧氨氧化(锰氨氧化)是最近发现的一种新型微生物脱氮途径, 然而很少有研究报道农田沟道中的锰氨氧化过程和反应过程中主要微生物群落锰还原菌. 本研究经过 340 d 锰还原菌富集培养实验, 采用同位素示踪技术和高通量测序技术, 证实了锰氨氧化在农田沟道土壤中的存在. 结果表明, 在锰氨氧化过程中可以观察到氨氮的氧化和 MnO_2 的还原, 以及 NO_2^- 、 NO_3^- 、 $^{30}\text{N}_2$ 和 Mn^{2+} 的产生, 锰氨氧化平均速率为 $2.88 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$, 氨氮平均去除率为 20%, 总氮去除率平均可达 15%. 另外, 高通量测序结果表明, 经过 340 d 富集培养实验, 在门水平上锰还原菌丰度从原来的 27% 增加到了 70%, 其主要的锰还原菌为不动杆菌(*Acinetobacter*)和地发菌属(*Geothrix*), 相对丰度分别为 26.63% 和 4.07%. 实验结果证实了农田沟道中存在二氧化锰介导的厌氧氨氧化过程, 可以认为锰氨氧化是微生物脱氮过程的一条重要路径.

关键词: 锰氨氧化; 锰还原菌; 同位素标记; 高通量测序; 氮去除

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2019)06-2948-06 **DOI:** 10.13227/j.hjks.201812092

Insight into the Process of Mn-ANAMMOX in Soils of Agricultural Drainage Ditches

CHEN Shi, LI Zheng-kui*, QIN Yun-bin, DING Bang-jing, CHEN Zhi-hao

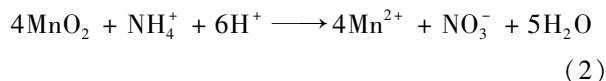
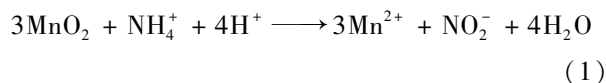
(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation mediated by MnO_2 (termed Mn-ANAMMOX) is a newly discovered microbial nitrogen removal pathway. However, few studies have reported on the Mn-ANAMMOX process and related microbial communities in agricultural drainage ditches. In this study, Mn(IV)-reducing bacteria (MnBR) enrichment cultivation was carried out for 340 days and an isotope tracing technique and high-throughput sequencing technology were used to provide convincing evidence of the occurrence of Mn-ANAMMOX. The results showed that simultaneous NH_4^+ oxidation and MnO_2 reduction occurred during the reaction, and the production of NO_2^- , NO_3^- , $^{30}\text{N}_2$, and Mn^{2+} was detected. Additionally, the average Mn-ANAMMOX rate, ammonium removal rate, and total nitrogen removal rate were $2.88 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$, 20%, and 15%, respectively. Moreover, high-throughput sequencing results showed that after 340 d in the enrichment cultivation experiments, the abundance of MnBR increased from 27% to 70% at the phylum level, and the major genera of MnBR were determined as *Acinetobacter* and *Geothrix*, with relative abundances of 26.63% and 4.07%, respectively. Overall, the occurrence of Mn-ANAMMOX was directly proven during the MnBR enrichment cultivation experiments, and it might play an essential role in the pathway of microbial nitrogen removal.

Key words: Mn-ANAMMOX; Mn(IV)-reducing bacteria; isotope labeling; high-throughput sequencing; nitrogen removal

近年来随着氮肥的过量施用, 沟道土壤中的氮素污染日益严重, 形成的地表径流是导致水环境污染的主要原因之一. 目前土壤环境中最主要的脱氮过程有两类, 一是硝化反硝化, 指微生物将硝酸盐(NO_3^-)还原为氮气(N_2)的过程; 二是厌氧氨氧化, 指微生物利用亚硝酸盐(NO_2^-)为电子受体, 将氨氮(NH_4^+)氧化为氮气的过程. 根据已有的报道, 厌氧氨氧化的脱氮贡献率在土壤中占 1.5% ~ 3.7%^[1~3], 对比而言, 硝化反硝化的脱氮贡献率可高达 47% ~ 98%^[1, 4]. 近年来, 有研究发现一种新型的微生物脱氮过程, 铁氨氧化(Fe-ANAMMOX), 证实土壤中铁还原微生物可以利用三价铁离子参与厌氧氨氧化过程, 最终生成硝酸盐、亚硝酸盐以及氮气^[5~7].

现有研究表明, 在土壤中四价锰有着和三价铁离子相类似的性质. 有机氮或是氨氮可以在二氧化锰的参与下发生氧化, 并最终生成硝酸盐、亚硝酸盐以及氮气同时还原四价锰为二价锰, 在实验室和野外实验中均证实了锰氨氧化的这一过程[方程式(1)~(3)]^[8, 9].

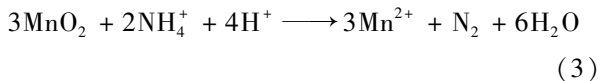


收稿日期: 2018-12-10; 修订日期: 2019-01-09

基金项目: 国家水体污染控制与治理重大专项(2017ZX07204-004)

作者简介: 陈湜(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为生态环境修复, E-mail: 935438118@qq.com

* 通信作者, E-mail: zhkuili@nju.edu.cn



Luther 等^[8]的研究证实在海洋沉积物中存在锰氨氧化过程, 通过热力学计算结果揭示了氮气产生的可能性. Bartlett 等^[10]给出了实验室证据证实了缺氧硝化, 在 Loch Fyne 海湾最深处的锰富集区观察到氨氮的还原以及亚硝酸盐和硝酸盐的积累. Swathi 等^[11]进行了 SBR 实验证实 SBR 反应器中锰氨氧化过程的存在, 在只添加 MnO_2 和 NH_4^+ 的条件下, 观察到氨氮的去除以及硝酸盐、亚硝酸盐的积累. Javanaud 等^[12]利用同位素示踪技术研究海底沉积物中锰氨氧化过程, 通过同时添加 $^{15}\text{NO}_3^-$ 和 $^{14}\text{NH}_4^+$ 检测到 $^{29}\text{N}_2$ 的产生. 但是, 目前的国内外研究主要集中在海洋沉积物中锰氨氧化的过程, 对于陆地生态系统中锰氨氧化的研究十分少见, 尚不清楚在农田沟道中是否存在锰氨氧化这一过程. 另外, 值得注意的是, 沟道土壤中的铁含量远高于锰, 由于土壤中还存在铁氨氧化, 其产生的硝酸盐、亚硝酸盐或氮气会影响锰氨氧化的观察结果, 因此, 在研究土壤中的锰氨氧化过程中排除环境中铁离子对锰氨氧化的影响显得尤为重要. 然而, Thamdrup 等^[13]的研究结果显示锰氨氧化过程并不显著且没有在实验中检测到 NO_3^- 或是 ^{15}N 标记的 N_2 积累. 与 Luther 等^[8]的实验不同, Thamdrup 等^[13]在实验中没有添加新鲜制备的 MnO_2 作为电子受体而是认为海洋底泥中原有的 MnO_2 含量足够供给锰氨氧化反应. 但前人的研究表明, 老化的 MnO_2 不起反应, 新鲜的 MnO_2 才具有反应活性^[14, 15], 因此是否添加新鲜制备的 MnO_2 可能会对实验产生较大影响.

此外, 有研究表明锰氨氧化是一种微生物过程, 且锰还原类微生物可以利用氨氮为电子供体, 锰氧化物为电子受体, 将高价锰还原为二价锰, 因此锰还原类微生物(即锰还原菌)在锰氨氧化过程中发挥关键作用^[10, 12, 14, 16, 17]. Thamdrup 等^[18]在微生物学水平上分析了海底沉积物中厌氧碳氧化过程的锰还原过程, 采用微生物稀释培养计数法和荧光原位杂交(FISH)实验, 发现主要的锰还原菌为 *Shewanella*. Javanaud 等^[12]在菌株水平上研究了锰氨氧化反应, 采用分离纯化培养技术分离了海洋沉积物中的微生物, 并将分离的菌株鉴定为 *Marinobacter daeponensis* 和 *Shewanella*. 但到目前为止有关锰氨氧化过程涉及的锰还原类微生物群落多样性和丰度的研究鲜见报道.

因此, 本研究选取农田沟道作为采样地点, 探究了陆地土壤中锰氨氧化过程. 实验中采用适宜微

生物生长繁殖的凝胶作为载体富集培养土壤中锰氨氧化相关的微生物^[19], 通过添加新鲜制备的 MnO_2 在只存在锰还原菌的条件下探究锰氨氧化过程, 避免了铁离子的干扰. 此外, 运用高通量测序来研究土壤的微生物多样性和结构. 本文结论对农田沟道中锰氨氧化对氮素去除的作用具有理论及实际意义.

1 材料与方法

1.1 样品采集与测试方法

选取中国江苏省无锡市太湖九里河流域农田沟道($120^\circ 51' \text{N}$, $31^\circ 58' \text{E}$)作为采样地点, 采取表层 0~20 cm 土层. 样品采集后立即运回实验室分两份存贮, 分别用于锰还原菌富集培养实验和微生物群落高通量测序分析.

1.2 锰还原菌富集培养实验

将取自农田沟道的土壤样品用来进行长期培养实验, 整个实验过程在厌氧条件下进行. 将 20 g 新鲜土壤置于装有灭菌培养液的 100 mL 血清瓶中, 然后用橡胶塞密封并盖上铝帽, 保存在 25°C 的黑暗环境中在转速 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下的恒温摇床内进行连续培养. 培养液为: NaHCO_3 ($600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($16.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、 KH_2PO_4 ($27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($92 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、0.125 mL 的维生素溶液和 0.125 mL 的微量元素溶液^[20, 21]. 为了富集培养锰还原菌, 培养液事先通入高纯氮气以去除水中溶解氧, 且血清瓶中还添加了作为微生物载体的多孔凝胶^[19]. 血清瓶进水中添加 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{Cl}$ 以及 $6 \text{ mg} \text{MnO}_2$, 每 5 d 换一次水. 其中, 添加的 MnO_2 根据 Lin 等^[15]的合成方法在实验室自主制备. 经过长时间的换水后, 血清瓶中无土壤残留, 只包含负载了微生物的凝胶载体. 本实验同时进行了一组只添加载体凝胶没有微生物存在的空白对照.

1.3 同位素示踪实验

锰氨氧化速率通过同位素示踪技术和膜接口质谱仪(membrane inlet mass spectrometry, MIMS)进行测定, 用以区分不同微生物过程(包括反硝化、厌氧氨氧化和锰氨氧化)所产生的氮气, 与铁氨氧化类似, $^{30}\text{N}_2$ 可以表征锰氨氧化速率^[5~7]. 在锰还原菌培养实验稳定运行之后, 定期向血清瓶中加入氮同位素 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$, 使得血清瓶中 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}-\text{N}$ 的浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 5 d 后, 在出水中采集 15 mL 水样并加入 $100 \mu\text{L} \text{ } 7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ZnCl}_2$ 终止微生物活动, 水样通过 MIMS 分析 $^{30}\text{N}_2$ 的产生速率.

1.4 微生物群落结构探究

将原始土壤样品和富集培养后的微生物样品分别采集并于-80℃保存. 两份微生物样品送往上海美吉生物公司进行 DNA 的提取扩增处理, 扩增引物采用高变区通用引物 V4/V5, 其正向引物是 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'), 反向引物是 907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')^[6], 对各个样品进行 PCR 扩增处理, 纯化后的 PCR 样品再进行 Illumina MiSeq 上机测序. 所得到的数据直接采用上海美吉公司的 I-Sanger 云平台分析, 去除低质量序列, 选用相似水平为 97% 的 OTU 样本, 最终获得微生物群落结构特征.

1.5 常规测定方法与数据分析

锰还原菌富集培养实验循环周期为 5 d, 检测每一次出水中氨氮、硝态氮、亚硝态氮的测定方法分别选用: 纳氏试剂分光光度法、盐酸分光光度法以及 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法^[22], 并采用火焰原子吸收法定期测定出水中 Mn^{2+} 浓度. 数据归纳和图表分析采用 Excel 和 OriginPro 8.1, 数据分析采用 SPSS 17.0.

2 结果与分析

2.1 空白实验

本实验共持续 30 d, 每隔 3 d 采集一次出水分别测定氨氮、硝态氮、亚硝态氮和锰离子含量, 并更换血清瓶中水样, 重新添加氨氮和 MnO_2 . 结果表明, 在没有微生物存在的单独的情况下单独的载体凝胶不能氧化氨氮也不能还原 MnO_2 . 出水中各成分含量几乎没有变化, 氨氮浓度几乎没有减少, 同时硝态氮、亚硝态氮和锰离子浓度均低于检测限(图 1).

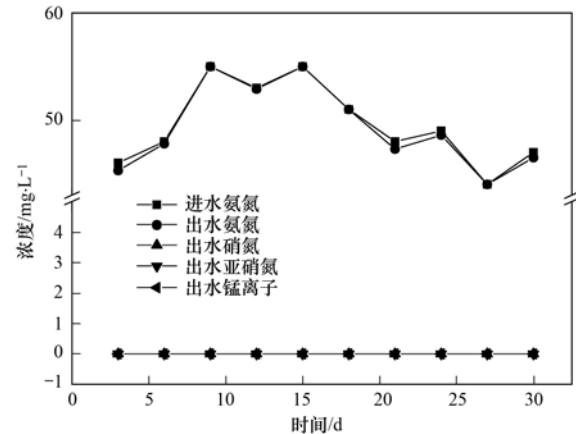


图 1 只有载体凝胶存在条件下锰还原菌富集培养实验中氮、锰浓度变化趋势

Fig. 1 Changes in the forms and concentrations of nitrogen and Mn in MnBR enrichment cultivation experiments

2.2 锰还原菌富集培养实验中氮和锰浓度的变化

在仅有微生物存在的条件下观测锰氨氧化的反应过程, 本实验结果表明, 出水中氨氮浓度显著下降, 硝酸盐和亚硝酸盐浓度显著上升, 且反应过程中检测到了³⁰N₂的产生, 锰离子含量也相对较高. 锰还原菌在血清瓶中连续培养 340 d, 整个培养可以分为 3 个阶段, 即启动阶段(0~50 d)、调整阶段(50~240 d)和适应阶段(240~340 d), 出水中各组分的浓度在第二阶段开始测定(图 2). 本实验结果表明, 当培养趋于稳定时, 出水的硝态氮浓度为 0.1~1 mg·L⁻¹, 亚硝态氮浓度约为 2~8 mg·L⁻¹. 在培养 240 d 后, 氨氮平均去除率超过 20%, 总氮平均去除率也高于 15%, 总氮去除率最高可达到 65.19%. 此外, 当整体培养趋于稳定之后, 定期测定出水水样中溶解的氮气, 出水中锰离子含量也定期检测, 结果见表 1. 结果表明, 锰还原菌富集培养实验直接观测到了³⁰N₂的产生以及 MnO_2 还原, 同时生成硝酸盐、亚硝酸盐, 直接证实了锰氨氧化的存在.

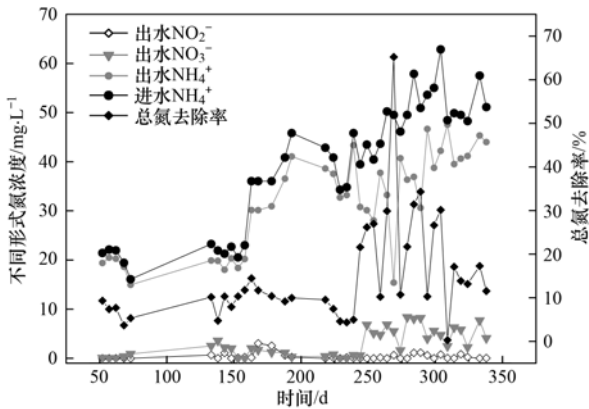


图 2 锰还原菌富集培养实验中不同形式氮浓度变化趋势
Fig. 2 Changes in the forms and concentrations of nitrogen in MnBR enrichment cultivation experiments

表 1 锰还原菌富集培养过程中³⁰N₂产量和锰离子含量变化

Table 1 Changes in the production of ³⁰ N ₂ and Mn(II) in MnBR enrichment cultivation experiments			
时间/d	³⁰ N ₂ 产生速率 /mg·(L·d) ⁻¹	时间/d	Mn(II) 浓度 /mg·L ⁻¹
180	0.616 2	305	2.273 1
200	3.235 8	310	0.260 5
225	3.477 0	320	3.220 7
260	2.208 0	325	3.095 2
320	4.249 8	340	1.764 7

2.3 微生物群落结构在锰还原菌富集培养前后的变化

原始土壤样品和锰还原菌富集培养 300 d 后的微生物群落结构变化如图 3 所示. 在原始土壤中,

在门水平上最丰富的锰还原菌主要是变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes), 其丰度分别为 26.23% 和 0.77% (图 3)。从属水平来看, 土壤样品中包含的最主要的锰还原菌为土杆菌属 (*Geobacter*) 和地发菌属 (*Geothrix*), 其相对丰度分别为 0.070 5% 和 0.006 1% (表 2)。其余可检测到的锰还原菌属水平微生物分别是脱卤脱亚硫酸菌 (*Desulfitobacterium*)、脱硫单胞菌 (*Desulfuromonas*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*) 和希瓦氏菌属 (*Shewanella*)^[23], 然而锰还原菌属水平微生物的相对丰度非常低, 其含量不足总测序数的 1%。此外, 还有一部分微生物 (2.34%) 属于未分类的门。

而在锰还原菌富集培养后, 微生物群落结构和原始土壤中的相比发生了显著的变化 (图 4)。在门水平上, 变形菌门 (Proteobacteria) 依然是最丰富的微生物门类并且相对丰度提高了 20%, 富集培养后变形菌门占总测序数的 49.35%。相对丰度第二位的门水平微生物是一组未被分类的菌占总测序数的 20.26%。相对而言绿弯菌 (*Chloroflexi*) 的相对丰度有所下降, 从原始土壤中的 13.96% 下降到富集培养后的 4.91% (图 3)。在属水平上, 不动杆菌 (*Acinetobacter*) 和未被分类菌属是含量最丰富的锰还原菌, 分别占总测序数的 26.63% 和 20.26%。另外, 地发菌属 (*Geothrix*) 相对丰度也显著增加, 富集培养后占总测序数的 4.07% (图 4 和表 2)。对比锰还原菌富集培养前后的微生物群落结构, 结果表明, 与锰氨氧化相关的微生物在富集培养后显著增加, 而与锰氨氧化无关的微生物在富集培养后大量减少, 锰还原菌富集培养实验成功富集了锰还原菌。

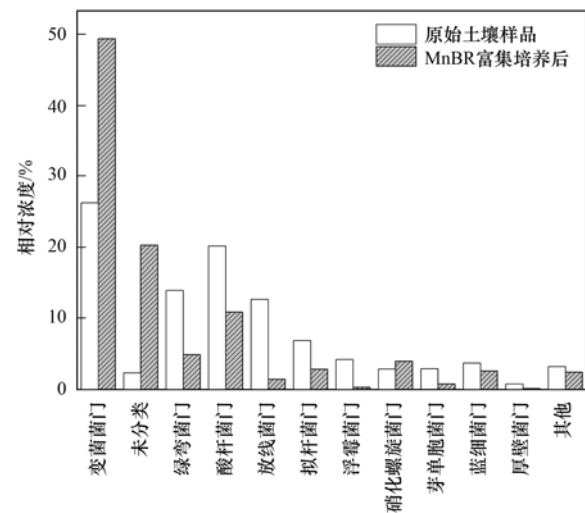


图 3 锰还原菌富集培养前后门水平微生物的变化趋势

Fig. 3 Changes in the microbial community relative abundance before and after the MnBR enrichment cultivation at the phylum level

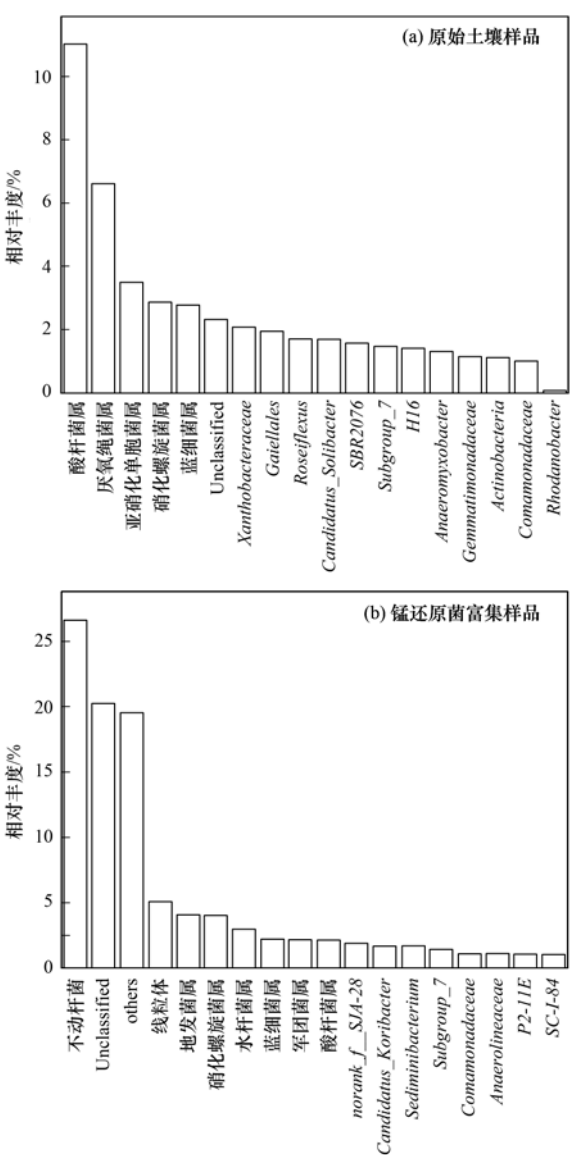


图 4 锰还原菌富集培养前后属水平微生物的相对丰度

Fig. 4 Microbial community relative abundance before and after the MnBR enrichment cultivation at the genus level

表 2 锰还原菌富集培养前后属水平微生物的变化趋势

Table 2 Changes in the microbial community relative abundance before and after MnBR enrichment cultivation at the genus level

微生物属	原始土壤/%	MnBR 富集培养后/%
<i>Acinetobacter</i>	0.003 1	26.63
<i>Norank</i>	2.34	20.26
<i>Mitochondria</i>	0.003 1	5.09
<i>Geothrix</i>	0.006 1	4.07
<i>Nitrospira</i>	2.87	3.99
<i>Aquabacterium</i>	0.003 1	2.99
<i>Cyanobacteria</i>	2.80	2.18
<i>Geobacter</i>	0.070 5	0.18

3 讨论

3.1 锰氨氧化的产生

由于土壤中铁含量远高于锰, 导致很难观测并区分原位土壤中的锰氨氧化过程, 本实验将土壤中

原位微生物负载至凝胶载体,通过不断添加新鲜制备的二氧化锰,富集培养锰氨氧化相关的锰还原菌,以便观察锰氨氧化过程.本研究的实验过程中:①全部实验在厌氧条件下进行,避免了氧气接触导致硝化过程的干扰;②实验过程中添加的含氮化合物只有 NH_4Cl ,避免了其他可能产生氮气的微生物过程(如共脱氮);③血清瓶进水中不含任何含铁化合物,出水中也检测不到铁离子的存在,避免了锰氨氧化过程中受到 Feamox 的干扰.因此,血清瓶出水中检测到的 NO_2^- 、 NO_3^- 和 $^{30}\text{N}_2$ 只可能源自锰氨氧化过程,且对比血清瓶进水和出水,观察到显著的 NH_4^+ 氧化和 MnO_2 还原,直接证实 MnO_2 可以作为 NH_4^+ 氧化的电子受体.因此,血清瓶出水中检测到的 NO_2^- 、 NO_3^- 和 $^{30}\text{N}_2$ 可以证实沟道土壤中存在锰氨氧化过程.

3.2 锰氨氧化过程中的 Mn(IV) 还原

血清瓶出水中 Mn(II) 浓度平均为 $2.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,然而按照方程式(3)的化学计量数计算,出水中的锰离子浓度偏低,不能对应测量得到氮气含量.这里设想了两个可能的原因,一是 MnO_2 本身的一些固有性质,包括强氧化活性、表面不均和阳离子交换反应的能力,可以使其从溶液中吸附各种离子如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 等^[11, 24, 25];二是由于锰元素的生物地球化学循环的复杂性, Mn^{2+} 浓度的测定相比其他金属离子精确度较低.且 Mn(III) 是微生物 Mn(IV) 还原和 Mn(II) 氧化反应的重要中间体,有关学者在自然界中发现了大量的 Mn(III/IV) 氧化物^[24, 26],而由于 Mn(III/IV) 氧化物的不溶性,在出水中几乎检测不到其存在.鉴于上述原因,本实验可能低估了出水中 Mn(II) 浓度.

3.3 锰还原菌的多样性及丰度

本实验测量了原始土壤和富集培养 300 d 后微生物群落组成的变化.在本研究中,所有测量的微生物序列均被鉴定为细菌,对比富集培养前后,微生物群落组成变化显著.富集培养 300 d 后,锰还原菌的丰度显著增加,表明锰还原菌在锰氨氧化中的重要性不容忽视.在门水平上,变形菌门是锰还原菌中最丰富的门,分别占原始土壤和富集培养微生物中的 30% 和 50%.在属水平上,原始土壤中锰还原菌比例很低,而富集培养后锰还原菌丰度显著增加.不动杆菌属和地发菌属是实验中检测到的最丰富的属级别锰还原菌.

不动杆菌是最丰富的属级别微生物,占富集培养微生物的所有序列的 26.63%.有研究表明,这种菌属可以在厌氧条件下存活^[27, 28].此外据报道,不动杆菌可以在人工湿地^[29]、废水处理系统^[30]和

中试规模的生物反应器^[31]中降解 NH_4^+ .在厌氧条件下,该菌属还可以适应锰作为最终电子受体的能量代谢^[28].由于以上原因,可以解释为什么不动杆菌是富集培养后最丰富的锰还原菌属.本研究中另一个最主要的锰还原菌为地发菌属,是一种革兰氏阴性严格厌氧菌,已知其在金属(如锰)的还原中发挥着积极作用^[17, 24, 32].地发菌属所占相对丰度为 4.07%,相对于原始土壤中的含量,富集培养后地发菌属相对丰度增长了 6600%.线粒体(mitochondria)是血清瓶中检测到的第三大丰富的属级别微生物.据报道 Mn(III) 作为线粒体的辅酶金属离子,通过其还原性,可以消耗 O_2^- 并促进厌氧环境中缺乏 SOD 酶的大肠杆菌的生长^[33].线粒体的富集一定程度上解释了之前提出的 Mn^{2+} 浓度远低于预期的问题,也侧面证实了反应过程中 Mn(III) 的存在.然而,还有一大部分的序列(20.26%)没有被鉴定为任何的属.据推测,这些新型的微生物很可能是尚未得到纯培养的细菌,它们可能在锰氨氧化过程中发挥着非常重要的作用.

4 结论

(1)本研究选取农田沟道土壤为研究对象,利用多孔有机聚合物为锰还原菌微生物的生长载体,持续富集培养来自农田沟道土壤的土著微生物,在仅有微生物存在的条件下,证实了锰氨氧化过程.

(2)在锰还原菌富集的条件下,锰氨氧化平均速率达到 $2.88 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,氨氮平均去除率 20%,总氮平均去除率 15%.锰氨氧化过程中,可以直接观察到 NO_2^- 、 NO_3^- 、 $^{30}\text{N}_2$ 以及 Mn^{2+} 的产生,证实了存在锰氨氧化过程.

(3)微生物富集培养后,在门水平上,主要的微生物是变形菌门(Proteobacteria),相对丰度为 49.35%;在属水平上,不动杆菌(*Acinetobacter*)是主要的菌属,占总测序数的 26.26%.

参考文献:

- [1] Rahman M M, Shan J, Yang P P, *et al.* Effects of long-term pig manure application on antibiotics, abundance of antibiotic resistance genes (ARGs), anammox and denitrification rates in paddy soils[J]. *Environmental Pollution*, 2018, **240**: 368-377.
- [2] Yang X R, Li H, Nie S A, *et al.* Potential contribution of anammox to nitrogen loss from paddy soils in southern China[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, **81**(3): 938-947.
- [3] Zhu G B, Wang S Y, Wang Y, *et al.* Anaerobic ammonia oxidation in a fertilized paddy soil[J]. *The ISME Journal*, 2011, **5**(12): 1905-1912.
- [4] Uusheimo S, Tulonen T, Aalto S L, *et al.* Mitigating agricultural nitrogen load with constructed ponds in northern latitudes: A field study on sedimental denitrification rates [J]. *Agriculture*,

- Ecosystems & Environment, 2018, **261**: 71-79.
- [5] Yang W H, Weber K A, Silver W L. Nitrogen loss from soil through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction [J]. *Nature Geoscience*, 2012, **5**(8): 538-541.
- [6] 丁帮璟, 李正魁, 朱鸿杰, 等. 河岸带表层土壤的铁氨氧化(Feammox)脱氮机制的探究[J]. *环境科学*, 2018, **39**(4): 1833-1839.
- Ding B J, Li Z K, Zhu H J, *et al.* Insight into the mechanism of Feammox in the surface soils of a riparian zone [J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(4): 1833-1839.
- [7] 钟小娟, 王亚军, 唐家恒, 等. 铁氨氧化: 新型的厌氧氨氧化过程及其生态意义[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2018, **47**(1): 1-7.
- Zhong X J, Wang Y J, Tang J H, *et al.* Feammox: a novel anammox process and ecological significance [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2018, **47**(1): 1-7.
- [8] Luther III G W, Sundby B, Lewis B L, *et al.* Interactions of manganese with the nitrogen cycle: Alternative pathways to dinitrogen [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1997, **61**(19): 4043-4052.
- [9] Hulth S, Aller R C, Gilbert F. Coupled anoxic nitrification/manganese reduction in marine sediments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1999, **63**(1): 49-66.
- [10] Bartlett R, Mortimer R J G, Morris K M. The biogeochemistry of a manganese-rich Scottish sea loch: Implications for the study of anoxic nitrification [J]. *Continental Shelf Research*, 2007, **27**(10-11): 1501-1509.
- [11] Swathi D, Sabumon P C, Maliyekkal S M. Microbial mediated anoxic nitrification-denitrification in the presence of nanoscale oxides of manganese [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, **119**: 499-510.
- [12] Javanaud C, Michotey V, Guasco S, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation mediated by Mn-oxides: from sediment to strain level [J]. *Research in Microbiology*, 2011, **162**(9): 848-857.
- [13] Thamdrup B, Dalsgaard T. The fate of ammonium in anoxic manganese oxide-rich marine sediment [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2000, **64**(24): 4157-4164.
- [14] Bartlett R, Mortimer R J G, Morris K. Anoxic nitrification: Evidence from Humber Estuary sediments (UK) [J]. *Chemical Geology*, 2008, **250**(1-4): 29-39.
- [15] Lin H, Taillefert M. Key geochemical factors regulating Mn(IV)-catalyzed anaerobic nitrification in coastal marine sediments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2014, **133**: 17-33.
- [16] Mogollón J M, Mewes K, Kasten S. Quantifying manganese and nitrogen cycle coupling in manganese-rich, organic carbon-starved marine sediments: Examples from the Clarion-Clipperton fracture zone [J]. *Geophysical Research Letters*, 2016, **43**(13): 7114-7123.
- [17] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction [J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2004, **49**: 219-286.
- [18] Thamdrup B, Rosselló-Mora R, Amann R. Microbial manganese and sulfate reduction in Black Sea shelf sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(7): 2888-2897.
- [19] Li Z K, PU P M, Hu W P, *et al.* Improvement of Taihu water quality by the technology of immobilized nitrogen cycle bacteria [J]. *Nuclear Science and Techniques*, 2002, **13**(2): 115-118.
- [20] Zhou G W, Yang X R, Li H, *et al.* Electron shuttles enhance anaerobic ammonium oxidation coupled to Iron(III) reduction [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(17): 9298-9307.
- [21] Lovley D R, Phillips E J P. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, **54**(6): 1472-1480.
- [22] 刘丹丹, 李正魁, 叶忠香, 等. 伊乐藻和氮循环细菌技术对太湖氮素吸收和反硝化的影响[J]. *环境科学*, 2014, **35**(10): 3764-3768.
- Liu D D, Li Z K, Ye Z X, *et al.* Nitrogen uptake and denitrification study on the joint treatment of aquatic vegetation and immobilized nitrogen cycling bacteria in Taihu Lake [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(10): 3764-3768.
- [23] Li X, Huang Y, Liu H W, *et al.* Simultaneous Fe(III) reduction and ammonia oxidation process in Anammox sludge [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, **64**: 42-50.
- [24] 刘进超, 王欧美, 李佳佳, 等. 生物地球化学锰循环中的微生物胞外电子传递机制 [J]. *微生物学报*, 2018, **58**(4): 546-559.
- Liu J C, Wang O M, Li J J, *et al.* Mechanisms of extracellular electron transfer in the biogeochemical manganese cycle [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, **58**(4): 546-559.
- [25] Tebo B M, Bargar J R, Clement B G, *et al.* BIOGENIC MANGANESE OXIDES: Properties and mechanisms of formation [J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2004, **32**: 287-328.
- [26] Simanova A A, Peña J. Time-resolved investigation of cobalt oxidation by Mn(III)-rich δ -MnO₂ using quick X-ray absorption spectroscopy [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(18): 10867-10876.
- [27] Hou J, Zhang F, Wang P F, *et al.* Enhanced anaerobic biological treatment of chlorpyrifos in farmland drainage with zero valent iron [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, **336**: 352-360.
- [28] Davelaar D. Ecological significance of bacterial polyphosphate metabolism in sediments [J]. *Hydrobiologia*, 1993, **253**(1-3): 179-192.
- [29] Du L, Trinh X, Chen Q R, *et al.* Enhancement of microbial nitrogen removal pathway by vegetation in Integrated Vertical-Flow Constructed Wetlands (IVCWs) for treating reclaimed water [J]. *Bioresource Technology*, 2018, **249**: 644-651.
- [30] Zhang S H, Huang Z J, Lu S J, *et al.* Nutrients removal and bacterial community structure for low C/N municipal wastewater using a modified anaerobic/anoxic/oxic (mA²/O) process in North China [J]. *Bioresource Technology*, 2017, **243**: 975-985.
- [31] Liu H, Lu Q, Wang Q, *et al.* Isolation of a bacterial strain, *Acinetobacter* sp. from centrate wastewater and study of its cooperation with algae in nutrients removal [J]. *Bioresource Technology*, 2017, **235**: 59-69.
- [32] Coates J D, Ellis D J, Gaw C V, *et al.* *Geothrix fermentans* gen. nov., sp. nov., a novel Fe(III)-reducing bacterium from a hydrocarbon-contaminated aquifer [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, **49**(4): 1615-1622.
- [33] 饶丹丹, 孙波, 乔俊莲, 等. 三价锰的性质、产生及环境意义 [J]. *化学进展*, 2017, **29**(9): 1142-1153.
- Rao D D, Sun B, Qiao J L, *et al.* The properties, generation and environmental significance of Mn(III) [J]. *Progress in Chemistry*, 2017, **29**(9): 1142-1153.

CONTENTS

Concurrent Measurement of Wet and Bulk Deposition of Trace Metals in Urban Beijing	ZHANG Guo-zhong, PAN Yue-peng, TIAN Shi-li, <i>et al.</i> (2493)
Concentration and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in PM _{2.5} Collected in Urban and Suburban Areas of Beijing	XU Jing, LI Xing-ru, ZHANG Lan, <i>et al.</i> (2501)
Secondary Aerosol Formation in Urban Shanghai: Insights into the Roles of Photochemical Oxidation and Aqueous-Phase Reaction	GAO Jie, QIAO Li-ping, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (2510)
Secondary Inorganic Pollution Characteristics During Heavy Pollution Episodes of 2017 in Tianjin	XU Hong, XIAO Zhi-mei, CHEN Kui, <i>et al.</i> (2519)
Characterization of PM ₁₀ and PM _{2.5} Source Profiles for Emissions from Nonmetal Mineral Products Manufacturing Processes	ZHAO Xue-yan, YU Gao-feng, WANG Xin-wu, <i>et al.</i> (2526)
Characteristics of Component Particle Size Distributions of Particulate Matter Emitted from a Waste Incineration Plant	YU Zhuo-jun, WU Jian-hui, ZHANG Yu-fen, <i>et al.</i> (2533)
Characteristics and Source Apportionment of Carbon Components in Road Dust PM _{2.5} and PM ₁₀ During Spring in Tianjin Derived by Using the Quadrat Sampling Method	MA Yan, JI Ya-qin, GUO Ji-liang, <i>et al.</i> (2540)
Urban Aerosol Hygroscopicity During Haze Weather	YANG Su-ying, TIAN Zhi-jie, ZHANG Tie-ning, <i>et al.</i> (2546)
Atmospheric Pollution Characteristics and Inhalation Exposure Risk of Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in PM _{2.5} at the Ningdong Energy and Chemical Industry Base, Northwest China	LIU Pan-liang, JU Yuan-li, MAO Xiao-xuan, <i>et al.</i> (2556)
Health Benefit Evaluation for PM ₁₀ and PM _{2.5} Pollution Control in Zhengzhou, China, 2014-2016	HAN Shi-jie, WANG Jia, YAN Qi-she, <i>et al.</i> (2565)
Spatial-temporal Distribution of Aerosol Optical Depth and Its Main Influence Types in China During 1990-2017	LIU Ying, LIN Ai-wen, QIN Wen-min, <i>et al.</i> (2572)
Research on the Pollution Characteristics and Causality of Haze-sand Air Pollution in Beijing in Spring	WANG Yao-ting, LI Qing-chun, ZHENG Zuo-fang, <i>et al.</i> (2582)
Vessel Emission Inventories and Emission Characteristics for Inland Rivers in Jiangsu Province	XU Wen-wen, YIN Cheng-qi, XU Xue-ji, <i>et al.</i> (2595)
Atmospheric Nitrogen Dioxide, Nitric Acid, Nitrate Nitrogen Concentrations, and Wet and Dry Deposition Rates in a Double Rice Region in Subtropical China	OUYANG Xiu-qin, WANG Bo, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (2607)
Characteristics of Stable Isotopes in Precipitation and Moisture Sources in the Headwaters of the Yangtze River	WANG Shao-yong, WANG Qiao-li, WU Jin-kui, <i>et al.</i> (2615)
Historical Trends of Atmospheric Trace Metal Pollution in Northern Guizhou Province as Reconstructed from Alpine Lake Sediments	LIANG Meng-yao, LIU En-feng, ZHANG En-lou, <i>et al.</i> (2624)
Distribution Characteristics of Microplastics in Qingdao Coastal Beaches	LUO Ya-dan, LIN Qian-hui, JIA Fang-li, <i>et al.</i> (2631)
Pollution Characteristics of Microplastics in Migratory Bird Habitats Located Within Poyang Lake Wetlands	LIU Shu-li, JIAN Min-fei, ZHOU Long-yin, <i>et al.</i> (2639)
Use of the Nitrogen/Carbon Ratio (N/C) and Two End-Member Sources Mixing Model to Identify the Origins of Dissolved Organic Matter from Soils in the Water-Level Fluctuation Zones of the Three Gorges Reservoir	JIANG Tao, JOERI Kaal, LIANG Jian, <i>et al.</i> (2647)
Effects of Photosynthesis of Submerged Aquatic Plants on CDOM in a Karst Water System: A Case Study from Xueyu Cave, Chongqing, China	FAN Jia-xin, JIANG Yong-jun, HE Qiu-fang, <i>et al.</i> (2657)
Indicators of Groundwater Evolution Processes Based on Hydrochemistry and Environmental Isotopes: A Case Study of the Dongyuan Drinking Water Source Area in Ji'nan City	ZHANG Ya, SU Chun-li, MA Yan-hua, <i>et al.</i> (2667)
Water Quality Analysis and Health Risk Assessment for Groundwater at Xiangshui, Chongzuo	ZHOU Jin-mei, JIANG Zhong-cheng, XU Guang-li, <i>et al.</i> (2675)
Chemical Characteristics of Groundwater and Material Sources Analysis in Buckwheat Field, Yunnan Province	ZHANG Yong, GUO Chun-qing, ZHU Yan-guang, <i>et al.</i> (2686)
C and N Transport Flux and Associated Changes of Water Quality Parameters from a Multiscale Subtropical Watershed in the Poyang Lake Area	LU Yao, GAO Yang, JIA Jun-jie, <i>et al.</i> (2696)
Pollutant Transport Analysis and Source Apportionment of the Entire Non-point Source Pollution Process in Combined Sewer Systems	FANG Jin-xiu, XIE Wen-xia, ZHU Yu-xi, <i>et al.</i> (2705)
Nitrogen Removal Efficiencies from Road Runoff by Dry Grass Swales with a Shallow Substrate Layer	DUAN Jin-kai, LI Tian, ZHANG Jia-wei (2715)
Migration Characteristics of Manganese During Rainfall Events and Its Impacts on Water Quality in a Drinking Water Source Reservoir	DENG Li-fan, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (2722)
Potential for Phosphorus Uptake by Bed Sediments and Its Response to Carbon Additions in the Shiwuli River, Chaohu Lake Basin	LI Ru-zhong, BAO Qin, ZHANG Rui-gang, <i>et al.</i> (2730)
Sources and Distribution of Phosphorus in Sediments of the Jinpen Reservoir	MAO Xue-jing, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (2738)
Water Quality Characteristics and Distribution of Bacterial Communities During Thermal Stratification in the Miyun Reservoir	WANG Yu-bing, WANG Xiao-yan, PANG Shu-jiang, <i>et al.</i> (2745)
Relationship Between the Vertical Distribution of Nutrients and Bacterial Community Structures in Sediment Interstitial Waters of Stratified Reservoirs with Different Water Temperatures	WANG Shen, ZHANG Si-si, XU You, <i>et al.</i> (2753)
Accumulation Characteristics and Release Regularity of Nutrients in Sediments of a Surface-flow Constructed Wetland After Long-term Operation	ZHU Yi-meng, JIANG Cui-ling, ZHU Li-qin, <i>et al.</i> (2764)
Application of Goethite Modified Biochar for Arsenic Removal from Aqueous Solution	ZHU Si-hang, ZHAO Jing-jing, YIN Ying-jie, <i>et al.</i> (2773)
Effects and Mechanisms of Methyl Orange Removal from Aqueous Solutions by Modified Rice Shell Biochar	SHI Yue-yue, SHAN Riu, YUAN Hao-ran (2783)
Performance and Membrane Fouling Properties in an Anaerobic Membrane Bioreactor for Salty Wastewater	YAN Huan-xi, XU Zhen-yu, JIN Chun-ji, <i>et al.</i> (2793)
Pollution Characteristics and Enhanced Removal of Organic Phosphorus in Effluent from a Wastewater Treatment Plant	WANG Xiao-dong, WANG Zi-wen, CHEN Ming-fei, <i>et al.</i> (2800)
Effects of Alkalinity on Partial Nitrification in a Zeolite Sequencing Batch Reactor	WANG Rui-xin, CHEN Jing, WANG Xiao-jun, <i>et al.</i> (2807)
Effects of the Physical Structure of Activated Sludge on Respiration Processes	GUO Yao, LI Zhi-hua, YANG Cheng-jian, <i>et al.</i> (2813)
Performance of an Aerobic Granular Reactor Treating Biogas Slurry from Pig Farm	LIAO Jie, YE Jia-qi, ZENG Zhi-chao, <i>et al.</i> (2821)
Spatial-temporal Characteristics and Driving Factors of Greenhouse Gas Emissions from Rivers in a Rapidly Urbanizing Area	LIU Ting-ting, WANG Xiao-feng, YUAN Xing-zhong, <i>et al.</i> (2827)
Influences of Biochar on Pollutant Removal Efficiencies and Nitrous Oxide Emissions in a Subsurface Flow Constructed Wetland	DENG Chao-ren, LIANG Yin-kun, HUANG Lei, <i>et al.</i> (2840)
Effects of the Veterinary Antibiotic Sulfamethazine on N ₂ O Emissions and the Associated Microbiological Mechanism in a Rice Field	WU Jie, LI Zhi-lin, XU Jia-ying, <i>et al.</i> (2847)
Effects of Different Levels of Nitrogen Fertilization on Soil Respiration Rates and Soil Biochemical Properties in an Alfalfa Grassland	HU Wei, ZHANG Ya-hong, LI Peng, <i>et al.</i> (2858)
Spatial Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Soils from a Typical Urbanized Area	HE Bo, ZHAO Hui, WANG Tie-yu, <i>et al.</i> (2869)
Accumulation of Heavy Metals in Agricultural Soils and Crops from an Area with a High Geochemical Background of Cadmium, Southwestern China	LIU Yi-zhang, XIAO Tang-fu, XIONG Yan, <i>et al.</i> (2877)
Spatial Distribution Characteristics and Source Apportionment of Soil Heavy Metals in Chinese Wolfberry Land Based on GIS and the Receptor Model	BAI Yi-ru, ZHANG Xing, ZHAO Yun-peng, <i>et al.</i> (2885)
Spatial Distribution and Pollution Assessment of As at a Small Scale in Agricultural Soils of the Karst Region	WANG Hua, LIU Xiu-ming, LIU Fang, <i>et al.</i> (2895)
Soil Aggregate Stability and Its Stoichiometric Characteristics in <i>Robinia pseudoacacia</i> Forest within Different Vegetation Zones on the Loess Plateau, China	QU Qing, XU Hong-wei, WU Xuan, <i>et al.</i> (2904)
Straw Returning Plus Nitrogen Fertilizer Affects the Soil Microbial Community and Organic Carbon Mineralization in Karst Farmland	XU Xue-chi, SU Yi-rong, WANG Gui-hong, <i>et al.</i> (2912)
Effects of Biochar Application and Ageing on the Adsorption of Antibiotics in Purple Soil	YIN Wen-min, GUAN Zhuo, LIU Chen, <i>et al.</i> (2920)
Ammonia Oxidation in a Neutral Purple Soil Measured by the ¹³ C-DNA-SIP Method	LIU Tian-lin, WANG Zhi-hui, YAN Xiao-juan, <i>et al.</i> (2930)
Effects of Silver Nanoparticles and Silver Ions on Soil Nitrification Microorganisms and Ammonoxidation	WU Ling-li, ZHANG Xu, SHU Kun-hui, <i>et al.</i> (2939)
Insight into the Process of Mn-ANAMMOX in Soils of Agricultural Drainage Ditches	CHEN Shi, LI Zheng-kui, QIN Yun-bin, <i>et al.</i> (2948)
Effects of Different Concentrations of Tetracycline in Sludge on Ammonia Oxidizers During Vermicomposting	WU Ying, HUANG Kui, XIA Hui, <i>et al.</i> (2954)