

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

南京北郊大气降水中水溶性无机氮和有机氮沉降特征

张佳颖, 于兴娜, 张毓秀, 丁铎, 侯思宇



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2022年7月

第43卷 第7期
Vol.43 No.7

目次

两种模式下中国未来发电行业发展情景及其环境效益分析	刘春景, 吕建毅, 赵汶畅, 徐卿, 金玉佳 (3375)
基于 LEAP 模型的兰州市道路交通温室气体与污染物协同减排情景模拟	庞可, 张芊, 马彩云, 祝禄祺, 陈恒葵, 孔祥如, 潘峰, 杨宏 (3386)
基于半级别的城市空气质量预报评估方法探讨	王晓彦, 朱莉莉, 许荣, 高愈霄, 朱媛媛, 汪巍, 刘冰 (3396)
厦门港大气 PM _{2.5} 中重金属污染特征及健康风险评价	肖思晗, 蔡美君, 李香, 黄屋, 王坚, 朱清墩, 吴水平 (3404)
南京北郊大气降水中水溶性无机氮和有机氮沉降特征	张佳颖, 于兴娜, 张毓秀, 丁铖, 侯思宇 (3416)
晋中盆地主要城市冬季 PM _{2.5} 传输特征分析	王小兰, 王雁, 闫世明, 岳江, 郭伟, 郝振荣 (3423)
鄂尔多斯市夏秋季黑碳气溶胶时间演变特征及其来源解析	孔祥晨, 张连霞, 张彩云, 王红磊, 许晶, 郑佳峰 (3439)
济源冬季 VOCs 污染特征、来源和 SOAP	王芳, 李利霞, 王红果, 赵宗生, 张建平, 张栋 (3451)
长株潭城区 8 月 VOCs 污染特征及来源分析	罗达通, 张青梅, 刘湛, 尤翔宇, 黄杰, 宋云飞, 张敬巧 (3463)
2019 年 7 月石家庄市 O ₃ 生成敏感性控制策略解析	朱家贤, 王晓琦, 欧盛菊, 张新宇 (3473)
华北平原 AOD 时空演化与影响因素	郭霖, 孟飞, 马明亮 (3483)
基于地基太阳光度计观测的长安区气溶胶光学特性变化及其与颗粒物浓度的关系	郑玉蓉, 王旭红, 崔思颖, 冯子豪, 张秀, 刘康 (3494)
基于长时序“地-星”数据的京津冀大气污染时空分布及演变特征	王耀庭, 殷振平, 郑祚芳, 李炬, 李青春, 孟春雷, 李威 (3508)
近十年洪泽湖富营养化状态变化趋势及原因分析	陈天宇, 刘常清, 史小丽, 李云, 范子武, 贾本有, 廖轶鹏 (3523)
高原湖泊周边浅层地下水: 磷素时空分布及驱动因素	杨恒, 李桂芳, 叶远行, 陈清飞, 崔荣阳, 张丹, 陈安强 (3532)
三峡水库不同支流库湾蓄水区溶解氧分层特性及差异性	纪道斌, 方娇, 龙良红, 杨正健, 赵星星, 杨霞, 郭亚丽 (3543)
典型喀斯特城市湖泊溶解性有机质成分特征及来源解析	倪茂飞, 周慧, 马永梅, 苏印, 王晓丹, 王志康 (3552)
骆马湖表层水和沉积物中全氟化合物赋存特征、来源及健康风险评估	黄家浩, 吴玮, 黄天寅, 陈书琴, 项颂, 庞燕 (3562)
千岛湖浮游植物群落结构的垂向分布特征及其影响因素	王吉毅, 霍翟, 国超旋, 朱广伟, 龚志军, 范亚文, 王建军 (3575)
泗河水系沉积物磷的存在形态及其空间分布特征	张子涵, 张鑫茹, 贾传兴, 甘延东, 王世亮 (3587)
降雨径流过程中土地利用优化配置对磷流失的影响	周豪, 陈方鑫, 罗义峰, 龙翼, 周继, 王小燕, 李丹丹, 陈晓燕 (3597)
典型生物滞留设施重金属累积分布特征与风险评价	储杨阳, 杨龙, 周媛, 王喜龙, 王嗣禹, 张敏 (3608)
筑坝蓄水对不同水深浮游微生物群落结构和种间互作模式的影响	王洵, 张佳佳, 袁秋生, 胡斌, 刘胜 (3623)
天津独流减河流域不同等级河流沉积物细菌区系及功能辨识	刘嘉元, 丰玥, 杨雪纯, 张彦, 李德生, 刘福德 (3635)
地表水悬浮态多环芳烃时空变化特征及主要输入源响应机制	彭珂醒, 李瑞飞, 周亦辰, 卓泽铭, 张晋, 李梅, 李雪 (3645)
北京市通州区河流中微塑料组成的空间分布及潜在来源解析	门聪, 李頔, 左剑恶, 邢薇, 刘梦瑶, 魏凡钦, 胡嘉敏, 谢珍雯, 邢鑫, 沈杨贵 (3656)
微塑料对鲫鱼生长、肝脏损伤和肠道微生物组成的影响	胡嘉敏, 左剑恶, 李金波, 张艳艳, 艾翔, 龚大惠, 张继文, 孙丁明 (3664)
不同类型脱水药剂对底泥固化效果和理化性质的影响	任俊, 殷鹏, 王威振, 唐婉莹, 尹洪斌, 朱丽娟 (3672)
微纳米粒径生物炭的结构特征及其对 Cd ²⁺ 吸附机制	马文艳, 裴鹏刚, 高歌, 孙约兵 (3682)
不同生物炭对磷的吸附特征及其影响因素	连宁海, 张树楠, 刘锋, 邢宏霖, 吴金水 (3692)
Mg-La-Fe/沸石复合材料的制备及其处理低浓度含磷废水的性能	印学杰, 宋小宝, 丁陈蔓, 冯彦房, 杨根, 何世颖, 薛利红 (3699)
一体式部分亚硝化-厌氧氨氧化工艺污泥膨胀发生和恢复过程中微生物群落演替及 PICRUS2 功能预测分析	李亚男, 闫冰, 郑蕊, 姚丽, 隋倩雯, 魏源送 (3708)
丝状菌膨胀污泥好氧颗粒化稳定性及微生物多样性	高春娣, 杨箫阳, 欧家丽, 韩颖璐, 程阳阳, 彭永臻 (3718)
2000~2020 年长江流域植被 NDVI 动态变化及影响因素探测	徐勇, 郑志威, 郭振东, 宴世卿, 黄雯婷 (3730)
近 40 年来福建省水稻土有效磷富集效应及潜在生态风险评估	陈中星, 邱龙霞, 陈瀚闾, 范协裕, 毋亭, 沈金泉, 邢世和, 张黎明 (3741)
土地利用变化对西南喀斯特土壤团聚体组成、稳定性以及 C、N、P 化学计量特征的影响	何宇, 盛茂根, 王轲, 王霖娇 (3752)
长江经济带矿山土壤重金属污染及健康风险评价	张浙, 卢然, 伍思扬, 贾智彬, 王宁 (3763)
煤矸石堆积区周边土壤重金属污染特征与植物毒性	尚誉, 桑楠 (3773)
燃煤工业区不同土地利用类型土壤汞含量污染评价	李强, 姚万程, 赵龙, 张朝, 张恩月, 苏迎庆, 刘庚 (3781)
广州市南沙区第四剖面镉富集特征及生物有效性	王芳婷, 包科, 黄长生, 赵信文, 顾涛, 曾敏 (3789)
黔西北山区耕地重金属健康风险评价及环境基准	徐梦琪, 杨文毅, 杨利玉, 陈勇林, 景灏楠, 吴攀 (3799)
土壤重金属生物可利用性影响因素及模型预测	张加文, 田彪, 罗晶晶, 吴凡, 张聪, 刘征涛, 王晓南 (3811)
添加有机物料对豫中烟田土壤呼吸的影响	鲁琪飞, 叶协锋, 韩金, 潘昊东, 张明杰, 王晶, 杨佳豪, 姚鹏伟, 李雪利 (3825)
不同稻作系统土壤的 CH ₄ 产生潜力与产生途径	沈皖豫, 黄琼, 马静, 张广斌, 徐华 (3835)
东部平原矿区复垦土壤微生物群落特征及其组装过程	马静, 董文雪, 朱燕峰, 肖栋, 陈浮 (3844)
同质环境下不同锦鸡儿属植物根际土壤细菌群落结构差异及其影响因素	李媛媛, 徐婷婷, 艾喆, 魏庐潞, 马飞 (3854)
岩溶与非岩溶区水稻土团聚体细菌群落结构和功能类群比较	肖筱怡, 靳振江, 冷蒙, 李雪松, 熊丽媛 (3865)
紫色土中微生物群落结构及功能特征对土壤 pH 的差异响应	王智慧, 蒋先军 (3876)
有机物料还田对稻田土壤 DOM 碳源代谢能力的影响	肖怡, 李峥, 黄容, 汤奥涵, 李冰, 王昌全 (3884)
《环境科学》征订启事 (3403) 《环境科学》征稿简则 (3462) 信息 (3493, 3655, 3834)	

一体式部分亚硝化-厌氧氨氧化工艺污泥膨胀发生和恢复过程中微生物群落演替及 PICRUSt2 功能预测分析

李亚男^{1,2}, 闫冰^{1,3}, 郑蕊⁴, 姚丽^{1,2}, 隋倩雯¹, 魏源送^{1,2,3*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心水污染控制实验室, 北京 100085; 2. 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230026; 3. 江西省科学院能源研究所, 南昌 330096; 4. 河北省安平县弘嘉环保技术有限公司, 衡水 053600)

摘要: 以中试规模的一体式部分亚硝化-厌氧氨氧化(CPNA)工艺为研究对象, 通过对其污泥膨胀发生和恢复过程中活性污泥的 16S rRNA 高通量测序数据进行数据挖掘和分析, 结合 PISCUS2 功能预测分析, 旨在揭示一体式 CPNA 工艺污泥膨胀和恢复不同阶段的微生物群落变化及氮、碳代谢特征。结果表明, 污泥膨胀和恢复过程中微生物 α 多样性呈先上升后下降趋势, 污泥膨胀阶段氮素转化菌属 *Nitrosomonas*、*Candidatus_Brocadia* 和 *Thauera* 相对丰度分别从 12.36%、11.86% 和 0.272% 下降至 5.97%、8.30% 和 0.061%, 而 *Candidatus_Kuenenia* 相对丰度保持稳定, 丝状菌 *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Turicibacter* 相对丰度分别从 0.031%、0.018% 和 0.009% 上升至 0.055%、0.025% 和 0.033%。PICRUSt2 功能预测分析结果表明, 总共有 47 个参与氮代谢的功能酶基因, 其中硝化、反硝化、异化性硝酸盐还原(DNRA)、同化硝酸盐还原(ANRA)和固氮反应的功能酶基因相对丰度均发生了变化。污泥膨胀阶段, 部分亚硝化功能基因氨单加氧酶基因(*pmoABC-amoABC*)和羟胺脱氢酶基因 *hao* 相对丰度下降, 硝酸盐还原功能基因相对丰度膨胀初期升高, 随后呈下降趋势。碳代谢分析表明, 乙酸钠对 CPNA 工艺的异养生长具有促进作用, 然而乙酸钠的能量代谢和葡萄糖生成并不活跃。

关键词: 厌氧氨氧化(ANAMMOX); 微生物群落; 多样性; PICRUSt2; 高通量测序; 氮代谢; 碳代谢

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)07-3708-10 DOI: 10.13227/j.hjxx.202109278

Succession and PICRUSt2-based Predicted Functional Analysis of Microbial Communities During the Sludge Bulking Occurrence and Restoration in One-stage Combined Partial Nitritation and ANAMMOX Process

LI Ya-nan^{1,2}, YAN Bing^{1,3}, ZHENG Rui⁴, YAO Li^{1,2}, SUI Qian-wen¹, WEI Yuan-song^{1,2,3*}

(1. Laboratory of Water Pollution Control, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. College of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China; 3. Institute of Energy, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330096, China; 4. Anping Hongjia Environmental Protection Technology Co., Ltd., Hengshui 053600, China)

Abstract: This study was based on the pilot one-stage combined partial nitritation and ANAMMOX process (CPNA), using data mining and analysis of 16S rRNA high-throughput sequencing data of activated sludge in the process of sludge bulking and recovery, combined with PISCUS2. The function prediction analysis aimed to reveal the microbial community changes and the characteristics of nitrogen metabolism and carbon metabolism at different stages of sludge bulking and recovery of the one-stage CPNA process. The results of the study showed that the microbial α -diversity in the sludge bulking and recovery process first increased and then declined. The relative abundance of *Nitrosomonas*, *Candidatus_Brocadia*, and *Thauera* decreased in the sludge-bulking stage from 12.36%, 11.86%, and 0.272% to 5.97%, 8.30%, and 0.061%, whereas the relative abundance of *Candidatus_Kuenenia* remained stable. The relative abundance of *Levilinea*, *Longilinea*, and *Turicibacter* increased from 0.031%, 0.018%, and 0.009% to 0.055%, 0.025%, and 0.033%. The PICRUSt2 function prediction analysis results showed that there were a total of 47 functional enzyme genes involved in nitrogen metabolism, of which nitrification, denitrification, dissimilative nitrate reduction (DNRA), assimilation nitrate reduction (ANRA), and nitrogen fixation were relatively abundant. The degrees of each had changed. During the sludge-bulking stage, the relative abundance of the ammonia monooxygenase gene (*pmoABC-amoABC*) and the hydroxylamine dehydrogenase gene *hao* decreased, whereas the relative abundance of the nitrate-reducing gene increased at the initial stage and then showed a downward trend. Carbon metabolism analysis showed that sodium acetate had a promoting effect on the heterotrophic growth of the CPNA process, but the energy metabolism and glucose production of sodium acetate were not active.

Key words: anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX); microbial community; diversity; PICRUSt2; high-throughput sequencing; nitrogen metabolism; carbon metabolism

厌氧氨氧化(anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)作为一种新型生物脱氮技术,相较于传统的硝化反硝化工艺,具有无需外加碳源、曝气能耗低、环境友好等优点^[1]。厌氧氨氧化是以 NO_2^- -N为电子受体,氧化 NH_4^+ -N生成 N_2 的过程,处理城市污水时常和部分亚硝化(PN)组成部分亚硝化-厌氧氨氧化(combined partial nitritation and anammox process, CPNA)工艺^[2]。相较于分体式 CPNA 工艺,

一体式 CPNA 工艺具有占地面积小、性价比高等优点。目前全世界已经有 100 多座 PNA 工艺投入实际应用,然而有 50% 都遭遇了污泥膨胀问题^[3]。

收稿日期: 2021-09-30; 修订日期: 2021-11-18

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07102-003); 国家自然科学基金项目(21607167); 江西省重点研发计划重点项目(20171ACG70018)

作者简介: 李亚男(1996~),女,硕士,主要研究方向为新型生物脱氮工艺的污泥膨胀及其控制, E-mail: yanan08@mail.ustc.edu.cn

* 通信作者, E-mail: ysw@cees.ac.cn

污泥膨胀是活性污泥法经常面临的问题, 它会使得污泥沉降性能恶化, 导致出水水质难以达标^[4]. 污泥膨胀通常由丝状菌引起, 传统方法一般是通过形态学鉴定膨胀污泥中的丝状菌, 根据丝状菌类型制定特异性控制策略^[5]. 然而, 根据形态学鉴定常常会低估丝状菌的多样性, 而 16S rRNA 高通量测序技术则能更好地识别和描述膨胀污泥中丝状菌的多样性^[6]. 16S rRNA 高通量测序技术已经用于 CPNA 微生物群落分析, 16S rRNA 高通量测序结果表明, CPNA 工艺主要菌门组成是变形菌门 (Proteobacteria)、装甲菌门 (Armatimonadetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、Ignavibacteriae 和浮霉菌门 (Planctomycetes)^[1,7,8]. 然而, 污泥膨胀对 CPNA 工艺中微生物群落组成结构及其演替造成的影响目前还尚未可知.

理论上, 一体式 CPNA 工艺中处理污水时会生成 11% 的 NO_3^- -N, 这造成处理效率下降. 因此, 针对 NO_3^- -N 的生成和积累, 有研究提出投加乙酸钠等易降解有机物促进部分反硝化反应的进行, 既可生成厌氧氨氧化工艺所需的 NO_2^- -N, 又能消除 NO_3^- -N 积累^[9]. 然而, 碳源投加也是引起污泥膨胀的因素^[10]. 此外, 通过 16S rRNA 高通量测序结合 PICRUSt2 基因功能预测分析, 已有研究对一体式 CPNA 工艺中的碳、氮代谢特征进行了相关分析^[11,12]. 然而, 利用 PICRUSt2 对一体式 CPNA 工艺污泥膨胀和恢复过程中碳、氮代谢特征分析还处于空白.

综上, 一体式 CPNA 工艺污泥膨胀的微生物生态学机制仍需进一步研究. 所以, 本文基于 16S rRNA 高通量测序技术和 PICRUSt2 的功能预测探讨, 对一体式 CPNA 工艺污泥膨胀和恢复过程中微生物群落结构演替和碳、氮代谢特征进行分析, 以期为解决一体式 CPNA 工艺污泥膨胀问题提供科学依据.

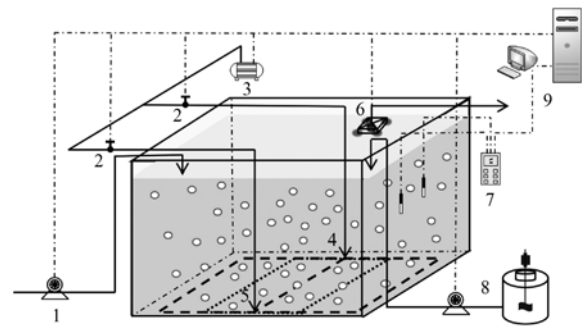
1 材料与方法

1.1 试验装置

如图 1 所示, 一体式 CPNA 反应器为长方体池体结构 (长 $\times$ 宽 $\times$ 高 = 5.4 m $\times$ 5.4 m $\times$ 4 m, 有效体积为 116.6 m³), 反应器配有 pH、溶解氧 (DO) 和温度 (T) 在线监测仪表, 底部装有曝气管, 采用间歇曝气方式, 其中 DO 浓度通过调节风机频率控制, 采用 PLC 自控装置运行, 反应器 pH 为 7~8.

1.2 试验用水与接种污泥

本试验用水为衡水京安污水处理厂出水沼液中投加试剂配制而成的模拟废水, 其中出水沼液不含 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N, $\rho(\text{NH}_4^+ \text{-N})$ 为 (146.57 $\pm$ 39.80)



1. 进水泵, 2. 电磁阀, 3. 鼓风机, 4. 穿孔通风管, 5. 微孔通风管, 6. 浮动污水泵, 7. pH 值、DO 仪表, 8. 加药装置, 9. PLC 自控; 引自文献[13]

图 1 一体式 CPNA 反应器示意

Fig. 1 Schematic diagram of the CPNA reactor

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\rho(\text{COD})$ 为 (95.75 $\pm$ 52.50) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 COD 以碳酸氢铵 (NH_4HCO_3) 固体和乙酸钠 (CH_3COONa) 固体的形式按需投加, 其中 CH_3COONa 投加仅持续 80 d.

反应器试验污泥为成功启动并稳定运行半年的一体式 CPNA 反应器活性污泥, 混合液悬浮固体浓度 (MLSS) 和混合液挥发性悬浮固体浓度 (MLVSS) 分别为 5.76 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 4.79 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MLVSS/MLSS 为 0.83.

根据标准分析方法^[14], $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 测定采用纳氏试剂比色法; $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 测定采用 N -(1-萘基)-乙二胺分光光度法; $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 测定采用紫外分光光度法; COD 测定采用重铬酸钾法; SS、VSS 采用重量法.

1.3 运行方案与污泥样品采集

一体式 CPNA 反应器采用序批式生物反应器 (SBR) 方式运行. SBR 的运行周期为 24 h, 包括进料 1 h, 间歇式运行 20 h, 沉淀 2 h, 排水 1 h. 采用间歇曝气, 通过调节风机频率控制溶解氧 (DO). 前 110 d 反应器不排泥, 将污泥流失考虑在内, 估算 SRT 为 35 d; 110 d 后 SRT 控制为 22 d. 反应器运行 140 d, 分为 4 个阶段, 各操作参数设定如表 1 所示.

在一体式 CPNA 反应器运行过程, 分别在阶段 I、II、III 和 IV 采集污泥样品, 具体在第 12、41、70、82、100 和 116 d 时取反应器内混合均匀的污泥混合液, 编号分别记为 S-12、S-41、S-70、S-82、S-100 和 S-116. 采集的污泥样品经离心后, 于 -80°C 冰箱保存待用. 取样期间反应器运行性能及污泥沉降性能如表 2 所示.

1.4 DNA 提取及高通量测序

采用 FastDNA[®] SPIN Kit for soil (MP Biomedicals, Santa Ana, CA, U. S) 试剂盒提取污泥总 DNA, 具体步骤按照操作说明书; 对提取得到的

表 1 各阶段操作参数

Table 1 Operating parameters of each stage

阶段	运行时间 /d	间歇曝气	曝气时间 占比/%	MLSS /g·L ⁻¹	DO /mg·L ⁻¹	pH	水温/℃	交换比 /%	SVI ₃₀ /mL·g ⁻¹
I	0~41	曝气 2 h, 停 40 min	62.50	4.89±0.37	0.25~0.33	7.81±0.06	29~33	33	174.75±30.93
II	42~77	曝气 2 h, 停 50 min	58.82	4.67±0.46	0.33	7.78±0.10	34~35	22	214.13±20.00
III	78~109	曝气 1.5 h, 停 1 h	50.00	4.68±0.32	0.33	7.63±0.14	35~36	18	220.00±9.67
IV	110~140	曝气 30 min, 停 25 min	45.45	3.88±0.84	0.30~0.34	7.64±0.19	31~34	33	150.00±41.30

表 2 取样期间 CPNA 反应器的运行性能及污泥沉降性能

Table 2 Operation performance and sludge settling performance of the CPNA reactor during sampling

编号	$\rho(\text{NH}_4^+-\text{N})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		$\rho(\text{COD})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		NH_4^+-N 去除率 /%	COD 去除率 /%	TN 去除率 /%	SVI ₃₀ /mL·g ⁻¹
	进水	出水	进水	出水				
S-12	431	99	170	189	77.10	-11.18	65.87	169.34
S-41	466	122	171	98	73.82	42.81	62.98	194.50
S-70	270	62	205	181	77.04	11.71	57.93	242.65
S-82	244	23	239	227	90.57	5.02	49.08	231.48
S-100	242	26	279	285	89.26	-2.15	32.99	219.30
S-116	308	91	298	274	70.45	8.05	48.33	134.41

污泥样品总 DNA 做琼脂糖凝胶电泳进行定性检测,采用分光光度计对 DNA 浓度、纯度进行检测,将取得的污泥总 DNA 放置于 -80℃ 冰箱保存。

针对细菌的 16S rRNA 基因 V4 区,采用通用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增。PCR 扩增的体系如下: 4 μL 的 10 × FastPfu buffer, 2 μL 的 dNTPs (2.5 mmol·L⁻¹), 1 μL 的上下游引物 (5 μmol·L⁻¹), 0.4 μL 的 FastPfu 聚合酶, 1 μL 的 DNA 模板, ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 扩增程序为: 95℃ 预变性 2 min; 95℃ 变性 45 s; 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共循环 27 次后 72℃ 终止延伸 10 min。

PCR 扩增产物经过 2% 的琼脂糖凝胶检测、凝胶回收试剂盒纯化以及定量分析后,构建 MiSeq 文库,采用 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序。本研究测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.5 数据分析

高通量测序得到的原始数据经过质量控制和过滤,去除嵌合体和非特异性扩增序列。将得到的序列与 NCBI 16S rRNA 数据库进行 Blast 对比,采用 Usearch 软件将相似度在 97% 及以上的序列归类 OTU 单元。使用 mothur 计算 Alpha 多样性指数: Shannon、Simpson、Ace、Chao 和 Coverage 指数。采用 PICRUST2 软件对 16S rRNA 高通量测序数据进行功能预测,参考 KEGG (kyoto encyclopedia of genes and genomes) 数据库,得到 KO (KEGG Orthology) 功能的丰度预测及 KEGG 代谢途径 (KEGG pathway) 丰度。数据绘图采用 Origin 2018 (OriginLab, USA) 绘制门水平上物种丰度冲击堆积图,采用 hemI

1.0.1 (USA) 绘制属水平相对丰度热图,采用 hiplot 在线工具 (<https://hiplot.com.cn/>) 绘制氮代谢和碳代谢功能基因相对丰度热图。

2 结果与讨论

2.1 微生物群落演替特征

2.1.1 α 多样性分析

通过对反应器运行 4 个阶段的 6 个污泥样品进行 16S rRNA 高通量测序,得到的 α 多样性指数如表 3 所示。以最少序列数 64 448 进行抽平,将相似性在 97% 及以上的 OTU 序列归类进行 α 多样性分析。Coverage 指数都在 0.994 及以上说明测序深度对样品的覆盖率高,代表了样品的真实情况。Ace、Chao 和 Shannon 指数在阶段 I~III 逐渐升高, Simpson 指数在阶段 I~III 逐渐下降, Ace 指数和 Chao 指数代表物种丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数代表物种多样性,说明随着污泥膨胀,物种丰富度和多样性逐渐上升,而阶段 III 的 S-82 污泥样品 Ace 指数和 Chao 指数下降, Simpson 指数上升,表明第 81 d 停止投加乙酸钠以后群落多样性略有降低。Ace、Chao 和 Shannon 指数在阶段 IV 下降, Simpson 指数上升,表明随着污泥膨胀逐渐恢复,物种丰富度以及多样性逐渐降低,逐渐恢复成功能专一的菌群结构。在以往乙酸钠引起污泥膨胀的研究中,微生物多样性和丰富度都是随着污泥膨胀逐渐下降^[10]。本研究与之不同,主要是整个过程中 MLSS 没有发生明显变化,乙酸钠的持续投加促进异养微生物繁殖,之后经过停止投加乙酸钠 (第 81 d)、调整 SRT (第 111 d) 和调整曝停比 (阶段 IV) 等举措以后异养菌被淘汰,微生物菌群结构调整,逐渐恢复功能专一。

表 3 不同污泥样品的 α 多样性分析

Table 3 The α diversity analysis of different sludge samples

阶段	编号	序列数(抽平后)	Coverage 指数	Ace 指数	Chao 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
I	S-12	64 448	0.996	1 340.888	1 118.798	3.599	0.063
	S-41	64 448	0.994	1 499.057	1 445.000	3.837	0.059
II	S-70	64 448	0.994	1 551.321	1 521.642	4.091	0.048
III	S-82	64 448	0.995	1 545.680	1 511.561	4.147	0.051
	S-100	64 448	0.994	1 713.721	1 681.838	4.544	0.034
IV	S-116	64 448	0.994	1 619.550	1 518.289	4.064	0.063

2.1.2 微生物群落结构演替

门水平和属水平的微生物群落结构如图 2 和图 3 所示。在门水平上,优势菌门主要是变形菌门(Proteobacteria)、装甲菌门(Armatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、Ignavibacteriae、浮霉菌门(Planctomycetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、Latescibacteria、厚壁菌门(Firmicutes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae),它们的相对丰度总和占总丰度的 87.18%~98.41%。

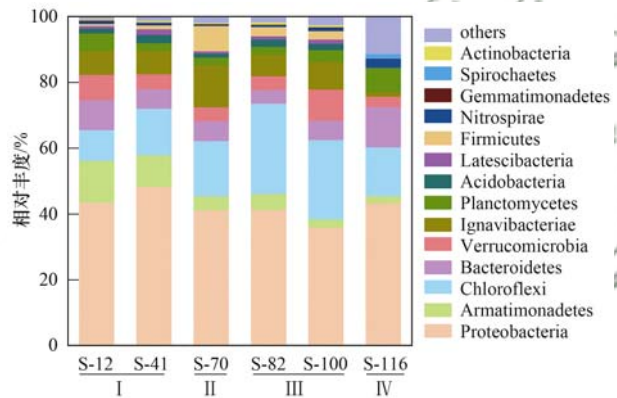


图 2 门水平上的微生物群落结构变化

Fig. 2 Change in microbial community structure at phylum level

变形菌门为一体式 CPNA 体系中的主要优势菌门^[15],其相对丰度在阶段 I 从 43.57% 上升到了 48.44%,在阶段 II、III 中下降到 35.90%,阶段 IV 其相对丰度恢复到 40.67%,说明其相对丰度随着污泥膨胀的发生而下降,随着污泥膨胀的恢复而升高。从属水平上来看,阶段 I 变形菌门相对丰度上升主要归功于 *Thauera*、*Azoarcus* 和 *Labilithrix*, *Thauera*、*Azoarcus* 和 *Labilithrix* 的相对丰度从 S-12 的 11.86%、5.35% 和 0.26% 上升到 S-41 的 16.34%、7.05% 和 1.63%,这主要是乙酸钠作为碳源,促进了它们在反应器中繁殖。*Thauera* 是典型的异养反硝化菌^[16],它和 *Candidatus Kuenenia* 协同负责 ANAMMOX 中的碳氮代谢,和 *Candidatus Kuenenia* 在维生素和氨基酸水平还存在交互营养共生关系。有研究发现 C/N 比与 *Azoarcus* 的 *nirS* 基因呈显著正相关关系^[17],高 C/N 有利于 *Azoarcus* 的部分反硝

化反应。阶段 II 和 III 变形菌门相对丰度下降主要归功于 AOB 菌 *Nitrosomonas*、反硝化菌 *Thauera* 和 *Azoarcus*, *Nitrosomonas*、*Thauera* 和 *Azoarcus* 相对丰度从 S-41 的 9.08%、16.34% 和 7.05% 分别下降到 S-100 的 5.97%、8.30% 和 1.87%。AOB 菌 *Nitrosomonas* 主要存在絮体污泥中,容易随着污泥流失,也有研究发现随着 AOB 菌相对丰度下降,污泥沉降性能逐渐恶化^[18],而反硝化菌 *Thauera*、*Azoarcus* 相对丰度也由于污泥膨胀和停止投加乙酸钠双重原因而下降。阶段 IV 除了 *Thauera* 和 *Comamonas* 以外,变形菌门其他菌属相对丰度都有所上升, *Nitrosomonas*、*Azoarcus* 和 *Dokdonella* 上升幅度最大,表明随着污泥膨胀逐渐恢复,变形菌门及其菌属相对丰度逐渐恢复。装甲菌门的相对丰度在阶段 I~IV 从 12.75% 下降到 2.04%,结合属水平的结果来看,主要菌属 *Armatimonadetes_gp5* 和 *Armatimonadetes_gp3* 相对丰度从阶段 I~IV 逐渐下降,其中 *Armatimonadetes_gp5* 相对丰度从 S-12 的 11.33% 下降到 S-116 的 2.22%。绿弯菌门作为活性污泥的支架结构,它可以利用 ANAMMOX 细菌产生的有机物^[19],而且有许多丝状菌属于绿弯菌门,例如 *Anaerolineaceae* 科的丝状菌。在阶段 I~III,其相对丰度从 9.32% 上升到 24.06%,阶段 IV 下降到 1.32%。从属水平上分析,主要为 *Ornatilinea*、*Aggregatilinea* 和 *Thermanaerotherix*,但它们的相对丰度总和不超过 8%,说明污泥膨胀阶段绿弯菌门下的许多低丰度菌属出现,这些相对丰度水平很低的菌属与污泥沉降性能相关。*Ignavibacteriae* 可以利用凋亡的 ANAMMOX 细菌作为碳源进行异养生长^[19],从阶段 I~III,其相对丰度从 S-12 的 7.17% 上升到 S-70 的 12.74% 又下降至 S-100 的 8.39%,阶段 IV 下降至 1.38%。属水平上主要是 *Ignavibacterium*,它的相对丰度从 S-12 的 6.69% 上升到 S-70 的 11.83% 又下降到 S-100 的 7.32%。Zhang 等^[20]的研究发现 *Ignavibacterium* 是 ANAMMOX 体系中利用乙酸钠的主要菌属。浮霉菌门相对丰度在阶段 I~III 从 5.40% 下降至 3.58%,阶段 IV 上升至

7.36% . 属水平上主要是 ANAMMOX 菌 *Candidatus Kuenenia* 和 *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Brocadia* 相对丰度从 S-12 的 0.272% 下降到 S-110 的 0.061%, 而 *Candidatus Kuenenia* 相对丰度从 S-12 的 0.893% 下降到 S-110 的 0.657%, 表明污泥膨胀期间 *Candidatus Kuenenia* 比 *Candidatus Brocadia* 更加稳定, 这可能是 *Candidatus Kuenenia*

和硝化菌、反硝化菌构成了负责氮、碳代谢的微生物网络^[21], 这种营养交互共生策略有利于维持 *Candidatus Kuenenia* 在体系中的稳定. *Nitrospirae* 在 S-12 ~ S-82 的平均相对丰度为 0.48%, 在阶段 III 的 S-100 上升到 0.91%. 相应的 NOB 菌 *Nitrospira* 在 S-100 也上升到 0.80%, 这主要是污泥膨胀后期出现的 NO_2^- -N 积累所导致的.

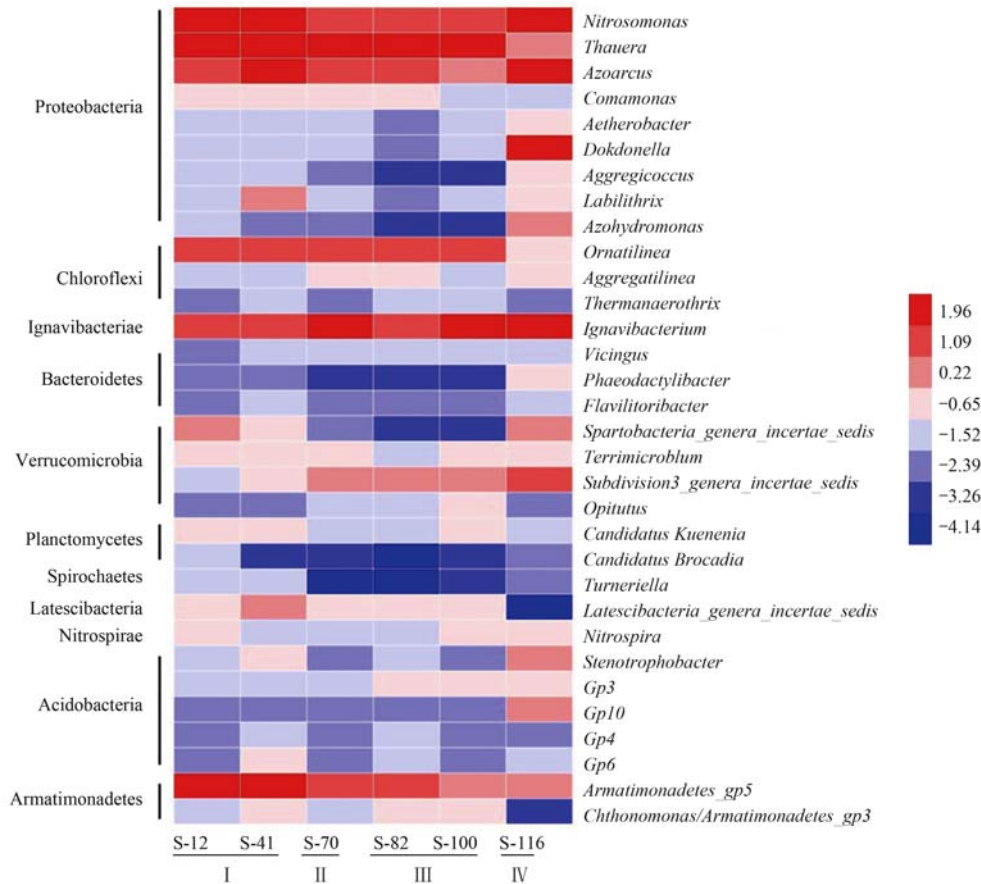


图3 属水平上的微生物群落结构变化

Fig. 3 Change in microbial community structure at genus level

2.2 各特定菌属分析

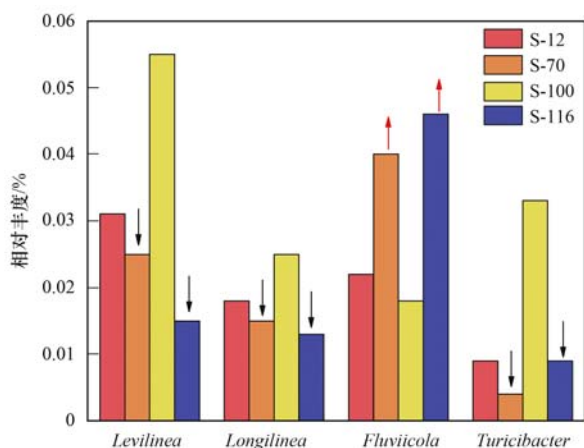
2.2.1 丝状菌属变化特征

如图4所示,高通量测序得到的丝状菌分别是 *Levilinea*、*Longilinea*、*Fluviicola* 和 *Turicibacter*, 而常见的污泥膨胀相关丝状菌如微丝菌 *Microthrix parvicella*、*Haliscomenobacter hydrossis*^[22,23] 等并没有在污泥样品中检测到. 这4种丝状菌相对丰度在 CPNA 体系中都处于较低的水平, 其中 *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Fluviicola* 都能够在厌氧条件下利用乙酸和丙酸酯等有机物^[24,25], 它们在污泥膨胀初期 (S-12) 都能保持一定丰度. 随着污泥逐渐膨胀 (S-70), *Levilinea* 和 *Longilinea* 丰度下降, *Fluviicola* 丰度升高, 有研究发现 *Fluviicola* 在低曝气条件下具有较强黏附性^[26], 并且作为去除 COD 的核心微生物^[27]. 停加乙酸钠以后, 污泥膨胀仍没有恢复, 此时

(S-100) *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Turicibacter* 的丰度升高, 成为主要丝状菌, *Fluviicola* 丰度下降. 其中 *Levilinea* 还能进行部分反硝化反应^[28], *Longilinea* 在有机负荷波动下具有一定的复原性和稳定性^[29]. 污泥膨胀恢复以后 (S-116), *Fluviicola* 丰度升高, 而 *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Turicibacter* 丰度下降. 结果表明 *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Turicibacter* 是此次污泥膨胀的主要丝状菌.

2.2.2 氮素转化菌属变化特征

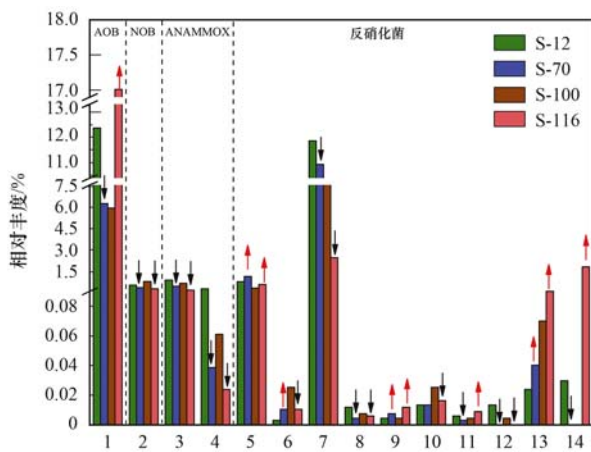
图5是对一体式 CPNA 反应器中主要的氮素转化菌属进行分析, 主要列举了15种参与生物脱氮的菌属, 根据功能将其分为 AOB 菌、NOB 菌、ANAMMOX 菌和反硝化菌, 其中 AOB 菌是 *Nitrosomonas*, NOB 菌是 *Nitrospira*, ANAMMOX 菌有 *Candidatus Kuenenia* 和 *Candidatus Brocadia*^[30,31], 其



红箭头表示相对丰度升高,黑箭头代表相对丰度下降

图 4 丝状菌属相对丰度变化

Fig. 4 Relative abundance of filamentous bacteria



1. *Nitrosomonas*, 2. *Nitrospira*, 3. *Candidatus Kuenenia*, 4. *Candidatus Brocadia*, 5. *Comamonas*, 6. *Denitratisoma*, 7. *Thauera*, 8. *Devosia*, 9. *Hydrogenophaga*, 10. *Hyphomicrobium*, 11. *Mesorhizobium*, 12. *Nitratreductor*, 13. *Novosphingobium*, 14. *Acinetobacter*; 红箭头表示相对丰度升高,黑箭头代表相对丰度下降

图 5 氮素转化功能菌相对丰度变化

Fig. 5 Relative abundance of nitrogen-transforming bacteria

余都属于反硝化菌。

Nitrosomonas 相对丰度最高,在污泥膨胀阶段 (S-12 ~ S-70),相对丰度发生明显下降;停加碳源后 (S-100),相对丰度仅轻微下降;污泥膨胀恢复后 (S-116),相对丰度上升。*Nitrospira* 和 *Vicingus* 在污泥膨胀过程中相对丰度变化不明显,并没有随着污泥膨胀而在系统中发生变化。*Candidatus Kuenenia* 和 *Candidatus Brocadia* 随着污泥膨胀的发生相对丰度下降, *Candidatus Brocadia* 下降更为明显, ANAMMOX 菌中 *Candidatus Kuenenia* 逐渐占据优势^[32],其中停加乙酸钠后 (S-100) *Candidatus Brocadia* 相对丰度有一定的上升,最后污泥膨胀恢复后,相对丰度下降。反硝化菌中 *Thauera* 和 *Comamonas* 相对丰度最高,其他都处于较低的丰度

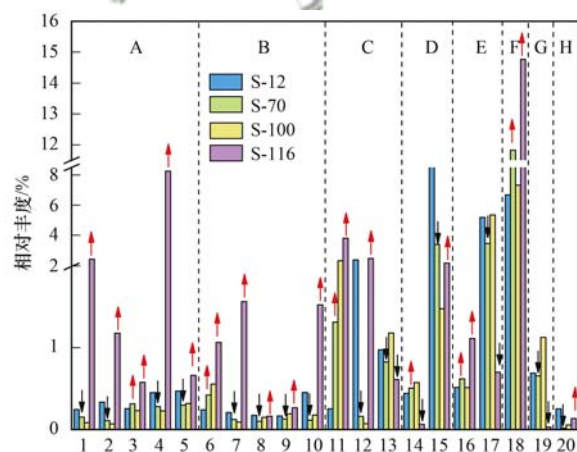
水平,在污泥膨胀初期,有 4 种反硝化菌属相对丰度升高,5 种反硝化菌属相对丰度下降,一种保持不变。其中 *Thauera* 在整个过程中相对丰度下降,而反硝化菌 *Comamonas*、*Acinetobacter* 和 *Novosphingobium* 相对丰度却与之相反,有所上升。

可以看到,氮素转化功能菌群 AOB 菌 *Nitrosomonas* 和 *Candidatus Brocadia* 的相对丰度由于污泥膨胀而下降,NOB 菌和 *Candidatus Kuenenia* 的相对丰度并没有受到明显影响,反硝化菌 *Thauera* 的相对丰度下降;污泥膨胀恢复后 *Nitrosomonas*、*Acinetobacter* 和 *Novosphingobium* 的相对丰度上升。

2.2.3 其他菌胶团菌变化特征

图 6 所列是相对丰度排名前 20 的菌胶团菌属,它们分别属于变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、装甲菌门 (Armatimonadetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、Chlorobi、Latescibacteria 和 Spirochaetes,前 6 个菌门是厌氧氨氧化体系常见菌门^[7]。

首先是变形菌门 (Proteobacteria) 中除了 *Labilithrix* 以外,其他 4 个菌胶团菌的相对丰度都随着污泥膨胀而下降,随着污泥膨胀恢复而升高。酸杆菌门 (Acidobacteria) 与变形菌门 (Proteobacteria) 一致,除了 *Gp3* 以外,其他 4 个菌胶团属都随着污泥膨胀而下降。疣微菌门 (Verrucomicrobia) 中,



1. *Azohydromonas*, 2. *Aggregicoccus*, 3. *Labilithrix*, 4. *Dokdonella*, 5. *Aetherobacter*, 6. *Gp3*, 7. *Gp10*, 8. *Gp4*, 9. *Gp6*, 10. *Stenotrophobacter*, 11. *Subdivision3_genera_incertainae_sedis*, 12. *Spartobacteria_genera_incertainae_sedis*, 13. *Terrimicrobium*, 14. *Armatimonadetes_gp3*, 15. *Armatimonadetes_gp5*, 16. *Aggregatilinea*, 17. *Ornatilinea*, 18. *Ignavibacterium*, 19. *Latescibacteria_genera_incertainae_sedis*, 20. *Turneriella*; A. Proteobacteria, B. Acidobacteria, C. Verrucomicrobia, D. Armatimonadetes, E. Chloroflexi, F. Chlorobi, G. Latescibacteria, H. Spirochaetes; 红箭头表示相对丰度升高,黑箭头代表相对丰度下降

图 6 菌胶团菌属相对丰度变化

Fig. 6 Relative of floc-forming bacteria

Spartobacteria_genera_incertae_sedis 受到污泥膨胀的影响最强, 相对丰度发生大幅度地下降. 而 *Subdivision3_genera_incertae_sedis* 相对丰度在整个过程却呈上升趋势. 装甲菌门 (*Armatimonadetes*) 中, *Armatimonadetes_gp5* 丰度随污泥膨胀下降, 有研究发现 *Armatimonadetes_gp5* 在 CPNA 工艺也能发挥硝化和反硝化作用^[33], 而 *Armatimonadetes_gp3* 丰度随污泥膨胀上升. 绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 中, *Aggregatilinea* 相对丰度上升, *Ornatilinea* 相对丰度下降. 而在 *Chlorobi* 中, *Ignavibacterium* 相对丰度上升. 值得注意的是, *Ornatilinea*、*Ignavibacterium* 和 *Gp4* 与 *Candidatus Kuenenia* 存在显著正相关关系^[34], 它们直接或间接与 *Candidatus Kuenenia* 作用, 使得 *Candidatus Kuenenia* 并没有随着污泥膨胀而发生大幅度地下降.

2.3 PICRUSt2 功能预测分析

2.3.1 氮代谢分析

为了揭示一体式 CPNA 反应器污泥膨胀和恢复过程中氮代谢生物机制, 利用 KEGG 数据库, 通过 PICRUSt2 预测筛选出与氮代谢相关的功能酶基因, 其相对丰度热图如图 7 所示, 一共找到了 47 个参与氮代谢的功能酶基因, 其中有 26 个功能酶基因参与 5 个氮转化过程, 包括硝化、反硝化、异化性硝酸盐还原 (DNRA)、同化硝酸盐还原 (ANRA) 和固氮反应. 硝化反应主要功能酶基因包括氨单加氧酶基因 (*pmoABC-amoABC*)、羟胺脱氢酶基因 *hao*、羟胺还原酶基因 *hcp* 和亚硝酸盐氧化酶基因 *narGH*. 氨单加氧酶基因 (*pmoABC-amoABC*) 和羟胺脱氢酶基因 *hao* 相对丰度从阶段 I 到 III 呈下降趋势, 阶段 IV 上升, S-82 略有升高, 与 AOB 菌 *Nitrosomonas* 的相对丰度变化相似. 羟胺脱氢酶基因 *hao* 的相对丰度是羟胺还原酶基因 *hcp* 的 5.6 ~ 15.6 倍, 说明羟胺脱氢酶基因 *hao* 占主要地位, 但 *hao/hcp* 比值在 S-100 的时候最低, 说明污泥膨胀对 *hao* 有明显影响. 亚硝酸盐氧化酶基因 *narGH* 相对丰度在阶段 I 升高, 在阶段 II ~ IV 一直呈下降趋势, *hao* 相对丰度是 *narGH* 的 1.1 ~ 8.39 倍, 且随着污泥膨胀 *hao/narGH* 比值降到了 1.1, 污泥膨胀恢复后, *hao/narGH* 比值升高到 8.39, 污泥膨胀对部分亚硝化反应具有明显影响.

参与 NO_3^- -N 还原的则有 ANRA、DNRA 和反硝化反应. ANRA 主要功能酶基因为 *nasAB* 和 *nirA*, *nasA* 相对丰度高出 *nirA* 两个数量级, 说明 ANRA 中主要是进行 NO_3^- -N 还原成 NO_2^- -N 这一步. *nasA* 相对丰度在阶段 I 升高, 阶段 II ~ IV 逐渐下降. DNRA 主要功能酶基因为 *narI*、*napAB*、*nirBD* 和 *nrfAH*,

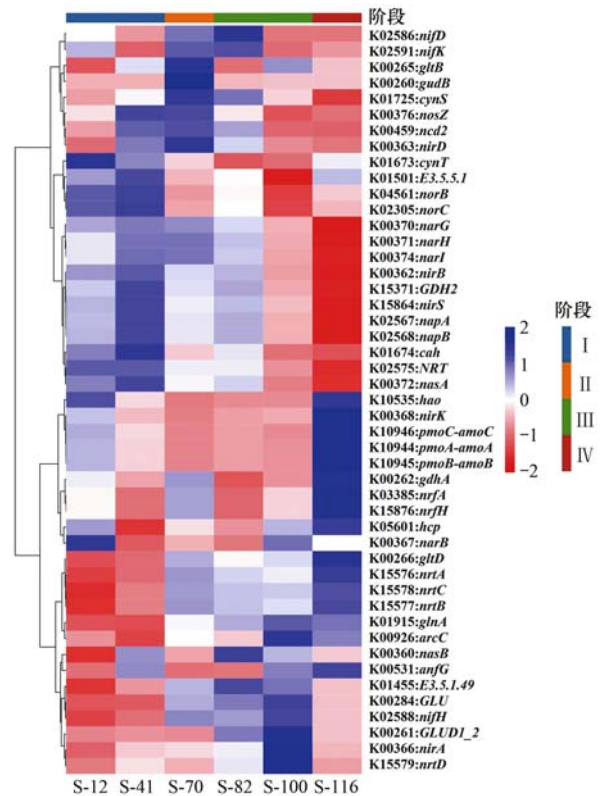


图 7 氮代谢相关 KO 基因相对丰度热图

Fig. 7 Heat map of relative abundance of KO genes related to nitrogen metabolism

nrfAH 相对丰度比 *narI*、*napAB* 和 *nirBD* 都低很多, 所以主要由 *narI*、*napAB* 和 *nirBD* 负责将 NO_3^- -N 还原成 NH_4^+ -N, 它们的相对丰度阶段 I 升高, 从阶段 II 到 IV 逐渐下降. 反硝化反应主要功能酶基因为 *nirK*、*nirS*、*norBC* 和 *nosZ*, *nirS* 的相对丰度是 *nirK* 的 2.2 ~ 4 倍, 所以 *nirS* 占主要地位, *nirS*、*norBC* 和 *nosZ* 相对丰度阶段 I 升高, 阶段 II ~ IV 逐渐下降. 综上, 污泥膨胀初期硝酸盐还原在反应器内增强, 主要是通过 ANRA、DNRA 和反硝化这 3 种途径; 之后, 从污泥膨胀到恢复过程, 硝酸盐还原反应逐渐减弱, 这种变化与反应器内反硝化菌 *Thauera*、*Comamonas* 的相对丰度变化趋势一致.

NH_4^+ -N 和 L-谷氨酸 (L-Glu) 还存在相互转化关系, 参与 NH_4^+ -N 转化成 L-Glu 的主要功能酶基因 *glnA*、*gltD* 和 *GLU* 相对丰度在阶段 I ~ III 中呈上升趋势, 表明污泥膨胀阶段 L-Glu 生物合成活跃, 这也印证了污泥膨胀期间 α 多样性呈增加变化.

综上, 随着污泥逐渐膨胀, 部分亚硝化功能基因相对丰度呈下降趋势, 部分亚硝化反应逐渐减弱, NO_3^- -N 还原功能基因相对丰度呈先上升后下降趋势, 说明乙酸钠在初期对 NO_3^- -N 还原具有一定促进作用, 随着污泥膨胀严重, NO_3^- -N 还原反应也逐渐减弱, NH_4^+ -N 转化成 L-Glu 代谢路径活跃, 细菌蛋白生

成活跃。污泥膨胀恢复以后,相应的部分亚硝化功能基因相对丰度上升,部分亚硝化反应得到恢复。

2.3.2 碳代谢分析

由于一体式 CPNA 反应器运行前 80 d 持续投

加乙酸钠,为了研究该反应器污泥膨胀及恢复过程中碳代谢生物机制的变化,基于 KEGG 数据库,通过 PICRUSt2 功能预测筛选与乙酸钠代谢相关的功能酶基因,如图 8 所示。

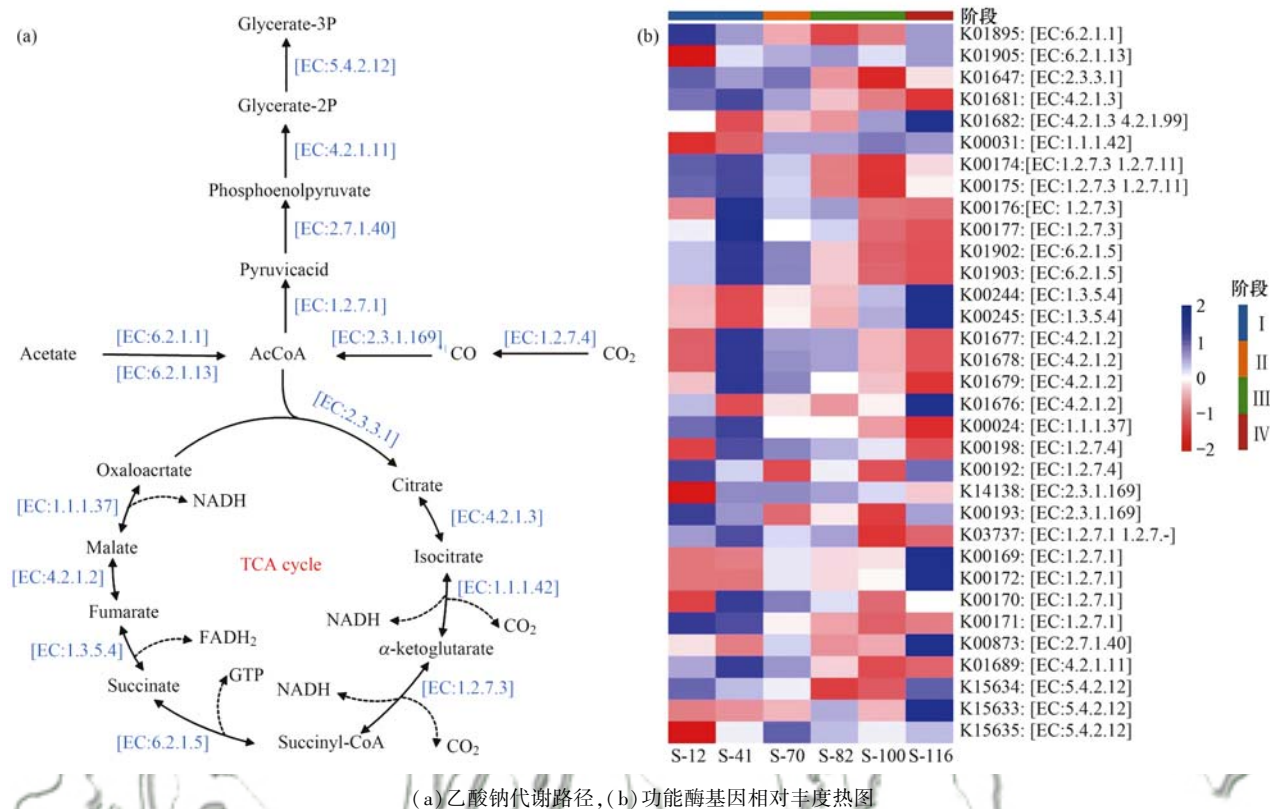


图 8 碳代谢相关 KO 基因相对丰度热图

Fig. 8 Heat map of relative abundance of KO genes related to carbon metabolism

ANAMMOX 细菌以无机碳为碳源并且通过 Wood-Ljungdahl pathway (WLP) 固定 CO_2 [35]。检测发现参与 CO_2 固定的相关酶 [EC: 1.2.7.4] 和 [EC: 2.3.1.169] 的相对丰度在阶段 I 从 0.003% 下降到 0.001%, 从阶段 II ~ IV 逐渐恢复至 0.003% 和 0.002%。相反的, 负责将乙酸钠转化成乙酰 CoA 的乙酰 CoA 合成酶 [EC: 6.2.1.1] (0.082% ~ 0.09%) 的相对丰度从 S-12 ~ S-82 逐渐升高, 之后呈下降趋势, 说明是乙酸钠的存在抑制了反应器中的自养生长, 促进了异养生长。乙酰 CoA 是三羧酸循环 (TCA cycle) 和葡萄糖生成通路的关键中间物, 相应的代谢功能酶基因都已通过筛选找到。TCA 循环中柠檬酸合酶 [EC: 2.3.3.1] (0.076% ~ 0.085%) 相对丰度从阶段 I ~ III 逐渐升高, 阶段 IV 下降。负责将异柠檬酸转化成 α -酮戊二酸的异柠檬酸脱氢酶 [EC: 1.1.1.42] (0.074% ~ 0.086%) 相对丰度在阶段 I ~ IV 一直呈下降趋势, 该过程产生 1 分子的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 共计 3 分子 ATP, 而 [EC: 1.2.7.3] (0.055% ~ 0.065%)、[EC: 6.2.1.5] (0.065% ~ 0.074%) 和 [EC: 1.1.1.37] (0.053% ~ 0.070%) 负责的过程共产生 2 分子 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 和一

分子 GTP 共计 7 分子 ATP, 它们的相对丰度在阶段 I 降低, 阶段 II ~ IV 逐渐升高, 而 [EC: 1.3.5.4] (0.002% ~ 0.012%) 负责的过程中产生 1 分子 FADH_2 计 2 分子 ATP, 它的相对丰度阶段 I 升高, 随后逐渐降低。综合来看, 阶段 I 产生的 ATP 减少, 阶段 II 到 IV 由于 ATP 产生上升和下降相互抵消, 没有明显变化, 说明随着污泥膨胀, CPNA 中能量产生逐渐减少。葡萄糖生成通路中, 将乙酰 CoA 转化成 3P-甘油酸的相关酶功能基因 [EC: 1.2.7.1]、[EC: 2.7.1.40] 和 [EC: 5.4.2.12] 在阶段 I ~ IV 呈下降趋势, 说明该过程中葡萄糖合成通路并不活跃。

综上所述, 随着乙酸钠的投加, 虽然将乙酸钠转化成乙酰 CoA 的功能酶基因表达上调, 相应的参与 CO_2 固定的酶基因表达下调, 但 TCA 循环途径以及葡萄糖生成通路相关酶基因表达下调, 表明乙酸钠的投加对系统的能量代谢以及葡萄糖生成没有产生促进作用。

3 结论

(1) 16S rRNA 高通量测序结果表明, 随着污泥

膨胀,微生物多样性逐渐上升,主要归功于绿弯菌门,其相对丰度从 9.32% 上升到 24.06%,而 CPNA 工艺中其他菌门、菌属相对丰度主要呈下降趋势。

(2)引起污泥膨胀的主要丝状菌是 *Levilinea*、*Longilinea* 和 *Turicibacter*,主要脱氮功能菌 AOB 菌 *Nitrosomonas*、ANAMMOX 菌 *Candidatus Brocadia*、反硝化菌 *Thauera* 相对丰度都随着污泥膨胀呈下降趋势,大多数菌胶团菌属相对丰度都随着污泥膨胀而逐渐下降。

(3)随着污泥逐渐膨胀,部分亚硝化功能基因相对丰度逐渐下降, NO_3^- -N 还原功能基因相对丰度在膨胀初期由于乙酸钠而上升,之后逐渐下降,而 L-谷氨酸生物合成活跃。

(4)随着乙酸钠的投加,细菌的异养生长活跃,自养生长受到抑制。而乙酸钠的能量代谢和葡萄糖合成却处于不活跃状态。

参考文献:

- [1] Wu Y, Wang Y X, De Costa Y G, et al. The co-existence of anammox genera in an expanded granular sludge bed reactor with biomass carriers for nitrogen removal[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, **103**(3): 1231-1242.
- [2] Cao Y S, van Loosdrecht M C M, Daigger G T. Mainstream partial nitritation-anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, **101**(4): 1365-1383.
- [3] Lackner S, Gilbert E M, Vlaeminck S E, et al. Full-scale partial nitritation/anammox experiences-an application survey [J]. *Water Research*, 2014, **55**: 292-303.
- [4] 杨敏, 杨思敏, 范念斯, 等. 微丝菌诱发污泥膨胀生长特性控制策略研究进展[J]. *环境工程学报*, 2019, **13**(2): 253-263.
- [5] Yang M, Yang S M, Fan N S, et al. Progress in sludge bulking caused by *Microthrix parvicella* and its control strategy [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019, **13**(2): 253-263.
- [6] Liu Y, Liu Q S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors [J]. *Biotechnology Advances*, 2006, **24**(1): 115-127.
- [7] Zhang M, Yao J Q, Wang X Y, et al. The microbial community in filamentous bulking sludge with the ultra-low sludge loading and long sludge retention time in oxidation ditch[J]. *Scientific Reports*, 2019, **9**(1), doi: 10.1038/S41598-019-50086-3.
- [8] 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.
- [9] Wang B, Wang Z H, Wang S Y, et al. Recovering partial nitritation in a PN/A system during mainstream wastewater treatment by reviving AOB activity after thoroughly inhibiting AOB and NOB with free nitrous acid [J]. *Environment International*, 2020, **139**, doi: 10.1016/j.envint.2020.105684.
- [10] Li J L, Li J W, Peng Y Z, et al. Insight into the impacts of organics on anammox and their potential linking to system performance of sewage partial nitrification-anammox (PN/A): a critical review [J]. *Bioresource Technology*, 2020, **300**, doi: 10.1016/j.biortech.2019.122655.
- [11] 高春娣, 张娜, 韩徽, 等. 碳源对膨胀污泥微生物多样性的影响研究[J]. *北京工业大学学报*, 2021, **47**(2): 169-178.
- [12] Gao C D, Zhang N, Han H, et al. Effect of carbon source on microbial diversity in bulking sludge [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2021, **47**(2): 169-178.
- [13] Wang S K, Yu H, Su Q X, et al. Exploring the role of heterotrophs in partial nitritation-anammox process treating thermal hydrolysis process-anaerobic digestion reject water [J]. *Bioresource Technology*, 2021, **341**, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125762.
- [14] Sun H W, Jiang T T, Zhang F, et al. Understanding the effect of free ammonia on microbial nitrification mechanisms in suspended activated sludge bioreactors [J]. *Environmental Research*, 2021, **200**, doi: 10.1016/j.envres.2021.111737.
- [15] Zuo F M, Sui Q W, Zheng R, et al. In situ startup of a full-scale combined partial nitritation and anammox process treating swine digestate by regulation of nitrite and dissolved oxygen [J]. *Bioresource Technology*, 2020, **315**, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123837.
- [16] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [17] Tang X, Guo Y Z, Jiang B, et al. Metagenomic approaches to understanding bacterial communication during the anammox reactor start-up [J]. *Water Research*, 2018, **136**: 95-103.
- [18] Zhang T Q, Yin Q D, Shi Y H, et al. Microbial physiology and interactions in anammox systems with the intermittent addition of organic carbons [J]. *Bioresource Technology*, 2020, **319**, doi: 10.1016/j.biortech.2020.124226.
- [19] Weng R, He Y, Wang J H, et al. Quantitative characterization and genetic diversity associated with N-cycle pathways in urban rivers with different remediation techniques [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, **804**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150235.
- [20] van den Akker B, Beard H, Kaeding U, et al. Exploring the relationship between viscous bulking and ammonia-oxidiser abundance in activated sludge: a comparison of conventional and IFAS systems [J]. *Water Research*, 2010, **44**(9): 2919-2929.
- [21] Kindaichi T, Yuri S, Ozaki N, et al. Ecophysiological role and function of uncultured *Chloroflexi* in an anammox reactor [J]. *Water Science & Technology*, 2012, **66**(12): 2556-2561.
- [22] Zhang S C, Zhang Z J, Xia S B, et al. The potential contributions to organic carbon utilization in a stable acetate-fed Anammox process under low nitrogen-loading rates [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **784**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147150.
- [23] Zhang T Q, Wei N, Wu G X. Autotrophic nitrogen removal and potential microbial interactions in anammox systems with different ammonia and organic carbon concentrations [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2020, **37**, doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101493.
- [24] Rossetti S, Tomei M C, Nielsen P H, et al. "Microthrix parvicella", a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems: a review of current knowledge [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, **29**(1): 49-64.
- [25] Jiao E L, Gao C D, Li R F, et al. Energy saving control strategies for *Haliscomenobacter hydrossis* filamentous sludge bulking in the A/O process treating real low carbon/nitrogen

- domestic wastewater[J]. *Environmental Technology*, 2018, **39** (16): 2117-2127.
- [24] Shi J X, Huang W P, Xu C Y, *et al.* Enhanced anaerobic degradation of quinoline and indole with the coupling of sodium citrate and polyurethane[J]. *Environmental Technology*, 2021, **42**(26): 4090-4103.
- [25] Saha S, Jeon B H, Kurade M B, *et al.* Interspecies microbial nexus facilitated methanation of polysaccharidic wastes [J]. *Bioresource Technology*, 2019, **289**, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121638.
- [26] Zhang Q Y, Jie Y W, Loong W L C, *et al.* Characterization of biofouling in a lab-scale forward osmosis membrane bioreactor (FOMBR)[J]. *Water Research*, 2014, **58**: 141-151.
- [27] Zhou H X, Li X K, Chu Z R, *et al.* Effect of temperature downshifts on a bench-scale hybrid A/O system: process performance and microbial community dynamics [J]. *Chemosphere*, 2016, **153**: 500-507.
- [28] Hemp J, Ward L M, Pace L A, *et al.* Draft genome sequence of *Levilinea saccharolytica* KIBI-1, a member of the *Chloroflexi* class *Anaerolineae* [J]. *Genome Announcements*, 2015, **3** (6): e01357-15.
- [29] Schwan B, Abendroth C, Latorre-Pérez A, *et al.* Chemically stressed bacterial communities in anaerobic digesters exhibit resilience and ecological flexibility [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, **11**, doi: 10.3389/fmicb.2020.00867.
- [30] Francis C A, Benan J M, Kuypers M M M. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation[J]. *The ISME Journal*, 2007, **1** (1): 19-27.
- [31] Speth D R, Hu B L, Bosch N, *et al.* Comparative genomics of two independently enriched “*Candidatus* Kuenenia stuttgartiensis” anammox bacteria [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, **3**, doi: 10.3389/fmicb.2012.00307.
- [32] Ke Y C, Azari M, Han P, *et al.* Microbial community of nitrogen-converting bacteria in anammox granular sludge [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, **103**: 105-115.
- [33] Antwi P, Zhang D C, Luo W H, *et al.* Performance, microbial community evolution and neural network modeling of single-stage nitrogen removal by partial-nitrification/anammox process [J]. *Bioresource Technology*, 2019, **284**: 359-372.
- [34] 李亚男, 姚丽, 隋倩雯, 等. 厌氧氨氧化细菌富集培养过程微生物结构与功能解析[J]. *环境科学学报*, 2021, **41**(1): 92-101.
- Li Y N, Yao L, Sui Q W, *et al.* Evolution of microbial structures and functions during the enrichment of Anammox bacteria [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, **41**(1): 92-101.
- [35] Song Y, Lee J S, Shin J, *et al.* Functional cooperation of the glycine synthase-reductase and Wood-Ljungdahl pathways for autotrophic growth of *Clostridium drakei* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, **117**(13): 7516-7523.

CONTENTS

Development Scenarios and Environmental Benefits Analysis of Future Power Generation Industry Under Two Modes in China	LIU Chun-jing, LÜ Jian-yi, ZHAO Wen-chang, <i>et al.</i>	(3375)
Forecasting of Emission Co-reduction of Greenhouse Gases and Pollutants for the Road Transport Sector in Lanzhou Based on the LEAP Model	PANG Ke, ZHANG Qian, MA Cai-yun, <i>et al.</i>	(3386)
Discussion of Air Quality Forecasting Evaluation for Cities Based on Half-level Method	WANG Xiao-yan, ZHU Li-li, XU Rong, <i>et al.</i>	(3396)
Characterization and Health Risk Assessment of Heavy Metals in PM _{2.5} in Xiamen Port	XIAO Si-han, CAI Mei-jun, LI Xiang, <i>et al.</i>	(3404)
Deposition Characteristics of Water-soluble Inorganic Nitrogen and Organic Nitrogen in Atmospheric Precipitation in the Northern Suburbs of Nanjing	ZHANG Jia-ying, YU Xing-na, ZHANG Yu-xiu, <i>et al.</i>	(3416)
Analysis of PM _{2.5} Transmission Characteristics in Main Cities of Jinzhong Basin in Winter	WANG Xiao-lan, WANG Yan, YAN Shi-ming, <i>et al.</i>	(3423)
Temporal Evolution and Source Apportionment of Black Carbon Aerosol in Ordos During Summer and Autumn 2019	KONG Xiang-chen, ZHANG Lian-xia, ZHANG Cai-yun, <i>et al.</i>	(3439)
Characteristics, Sources, and SOAP of VOCs During Winter in Jiyuan	WANG Fang, LI Li-xia, WANG Hong-guo, <i>et al.</i>	(3451)
Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds in August in the Chang-Zhu-Tan Urban Area	LUO Da-tong, ZHANG Qing-mei, LIU Zhan, <i>et al.</i>	(3463)
Ozone Sensitivity Analysis and Control Strategy in Shijiazhuang City in July 2019	ZHU Jia-xian, WANG Xiao-qi, OU Sheng-ju, <i>et al.</i>	(3473)
Spatiotemporal Variation and Influencing Factors of AOD in the North China Plain	GUO Lin, MENG Fei, MA Ming-liang	(3483)
Aerosol Optical Characteristics with Ground-based Measurements via Sun Photometer and Its Relationship with PM Particle Concentration in Chang'an	ZHENG Yu-rong, WANG Xu-hong, CUI Si-ying, <i>et al.</i>	(3494)
Spatial-temporal Distribution and Evolution Characteristics of Air Pollution in Beijing-Tianjin-Hebei Region Based on Long-term "Ground-Satellite" Data	WANG Yao-ting, YIN Zhen-ping, ZHENG Zuo-fang, <i>et al.</i>	(3508)
Ten-year Trend Analysis of Eutrophication Status and the Related Causes in Lake Hongze	CHEN Tian-yu, LIU Chang-qing, SHI Xiao-li, <i>et al.</i>	(3523)
Shallow Groundwater Around Plateau Lakes: Spatiotemporal Distribution of Phosphorus and Its Driving Factors	YANG Heng, LI Gui-fang, YE Yuan-hang, <i>et al.</i>	(3532)
Characteristics and Differences of Dissolved Oxygen Stratification in Different Tributaries of Three Gorges Reservoir During Impoundment Period	Ji Dao-bin, FANG Jiao, LONG Liang-hong, <i>et al.</i>	(3543)
Dissolved Organic Matter Component and Source Characteristics of the Metropolitan Lakes and Reservoirs in a Typical Karst Region	NI Mao-fei, ZHOU Hui, MA Yong-mei, <i>et al.</i>	(3552)
Characteristics, Sources, and Risk Assessment of Perfluoroalkyl Substances in Surface Water and Sediment of Luoma Lake	HUANG Jia-hao, WU Wei, HUANG Tian-yin, <i>et al.</i>	(3562)
Vertical Distribution Characteristics and Influencing Factors of Phytoplankton Community Structure in Qiandao Lake	WANG Ji-yi, HUO Di, GUO Chao-xuan, <i>et al.</i>	(3575)
Chemical Forms and Spatial Distribution of Phosphorus in the Sediment of Sihe River	ZHANG Zi-han, ZHANG Xin-ru, JIA Chuan-xing, <i>et al.</i>	(3587)
Influence of Optimal Land Use Allocation on Phosphorus Loss in the Process of Rainfall and Runoff	ZHOU Hao, CHEN Fang-xin, LUO Yi-feng, <i>et al.</i>	(3597)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Accumulated Heavy Metals in Bioretention Systems	CHU Yang-yang, YANG Long, ZHOU Yuan, <i>et al.</i>	(3608)
Effects of Damming and Impoundment on Planktonic Microbial Community Structure and Interspecific Interaction Patterns in Different Water Depths	WANG Xun, ZHANG Jia-jia, YUAN Qiu-sheng, <i>et al.</i>	(3623)
Identification of Bacterial Flora and Metabolic Function of Sediments in Different Channels of Duliujian River Basin, Tianjin	LIU Jia-yuan, FENG Yue, YANG Xue-chun, <i>et al.</i>	(3635)
Spatiotemporal Distribution and Source Apportionment of Suspended Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Water	PENG Ke-xing, LI Rui-fei, ZHOU Yi-chen, <i>et al.</i>	(3645)
Spatial Variation and Potential Sources of Microplastics in Rivers in Tongzhou District, Beijing	MEN Cong, LI Di, ZUO Jian-e, <i>et al.</i>	(3656)
Effects of Microplastic Exposure on Crucian Growth, Liver Damage, and Gut Microbiome Composition	HU Jia-min, ZUO Jian-e, LI Jin-bo, <i>et al.</i>	(3664)
Influence of Different Types of Dewatering Agents on the Solidification Effect and Physical and Chemical Properties of Sediment	REN Jun, YIN Peng, WANG Wei-zhen, <i>et al.</i>	(3672)
Structural Characteristics of Micro-nano Particle Size Biochar and Its Adsorption Mechanism for Cd ²⁺	MA Wen-yan, PEI Peng-gang, GAO Ge, <i>et al.</i>	(3682)
Phosphorus Adsorption Characteristics of Different Biochar Types and Its Influencing Factors	LIAN Shen-hai, ZHANG Shu-nan, LIU Feng, <i>et al.</i>	(3692)
Development of Zeolite Loaded Mg-La-Fe Ternary (hydr)oxides for Treatment of Low Concentration Phosphate Wastewater	YIN Xue-jie, SONG Xiao-bao, DING Chen-man, <i>et al.</i>	(3699)
Succession and PICRUSt2-based Predicted Functional Analysis of Microbial Communities During the Sludge Bulking Occurrence and Restoration in One-stage Combined Partial Nitrification and ANAMMOX Process	LI Ya-nan, YAN Bing, ZHENG Rui, <i>et al.</i>	(3708)
Aerobic Granulation Stability and Microbial Diversity of Filamentous Bulking Sludge	GAO Chun-di, YANG Xiao-yang, OU Jia-li, <i>et al.</i>	(3718)
Dynamic Variation in Vegetation Cover and Its Influencing Factor Detection in the Yangtze River Basin from 2000 to 2020	XU Yong, ZHENG Zhi-wei, GUO Zhen-dong, <i>et al.</i>	(3730)
Enrichment and Ecological Risk Assessment of Available Phosphorus in Paddy Soil of Fujian Province Over Past 40 years	CHEN Zhong-xing, QIU Long-xia, CHEN Han-yue, <i>et al.</i>	(3741)
Effects of Land Use Change on Constitution, Stability, and C, N, P Stoichiometric Characteristics of Soil Aggregates in Southwest China Karst	HE Yu, SHENG Mao-yin, WANG Ke, <i>et al.</i>	(3752)
Heavy Metal Pollution and Health Risk Assessment of Mine Soil in Yangtze River Economic Belt	ZHANG Zhe, LU Ran, WU Si-yang, <i>et al.</i>	(3763)
Pollution Characteristics and Phytotoxicity of Heavy Metals in the Soil Around Coal Gangue Accumulation Area	SHANG Yu, SANG Nan	(3773)
Evaluation of Mercury Pollution in Soil of Different Land Use Types in Coal-fired Industrial Area	LI Qiang, YAO Wan-cheng, ZHAO Long, <i>et al.</i>	(3781)
Cadmium Enrichment and Bioavailability of Quaternary Profiles in Nansha District, Guangzhou, China	WANG Fang-ting, BAO Ke, HUANG Chang-sheng, <i>et al.</i>	(3789)
Health Risk Assessment and Environmental Benchmark of Heavy Metals in Cultivated Land in Mountainous Area of Northwest Guizhou Province	XU Meng-qi, YANG Wen-tao, YANG Li-yu, <i>et al.</i>	(3799)
Effect Factors and Model Prediction of Soil Heavy Metal Bioaccessibility	ZHANG Jia-wen, TIAN Biao, LUO Jing-jing, <i>et al.</i>	(3811)
Effect of Organic Material Amendments on Soil Respiration in Tobacco Fields of Central Henan	LU Qi-fei, YE Xie-feng, HAN Jin, <i>et al.</i>	(3825)
Methane Production Potential and Methanogenic Pathways in Paddy Soils Under Different Rice-based Cropping Systems	SHEN Wan-yu, HUANG Qiong, MA Jing, <i>et al.</i>	(3835)
Characteristics and Assembly Process of Reclaimed Soil Microbial Communities in Eastern Plain Mining Areas	MA Jing, DONG Wen-xue, ZHU Yan-feng, <i>et al.</i>	(3844)
Differences in Bacterial Community Structure in Rhizosphere Soil of Three <i>Caragana</i> Species and Its Driving Factors in a Common Garden Experiment	LI Yuan-yuan, XU Ting-ting, AI Zhe, <i>et al.</i>	(3854)
Comparison of Bacterial Community Structure and Functional Groups of Paddy Soil Aggregates Between Karst and Non-karst Areas	XIAO Xiao-yi, JIN Zhen-jiang, LENG Meng, <i>et al.</i>	(3865)
Contrasting Responses of the Microbial Community Structure and Functional Traits to Soil pH in Purple Soils	WANG Zhi-hui, JIANG Xian-jun	(3876)
Effects of Agricultural Organic Waste Incorporation on the Metabolic Capacity of Microbial Carbon Sources of Dissolved Organic Matter in Paddy Soil	XIAO Yi, LI Zheng, HUANG Rong, <i>et al.</i>	(3884)